



GABRIELA DE BARROS SILVA HADDAD

**EFEITO DO CONGELAMENTO NOS PROCESSOS DE
MATURAÇÃO ÚMIDA E A SECO DA CARNE DE GADO
ZEBUÍNO**

LAVRAS - MG

2020

GABRIELA DE BARROS SILVA HADDAD

**EFEITO DO CONGELAMENTO NOS PROCESSOS DE MATURAÇÃO ÚMIDA E A
SECO DA CARNE DE GADO ZEBUÍNO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em 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).**

Haddad, Gabriela de Barros Silva.

Efeito do congelamento nos processos de maturação úmida e a seco da carne de gado zebuino / Gabriela de Barros Silva Haddad. - 2020.

115 p. : il.

Orientador(a): Eduardo Mendes Ramos.

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

Bibliografia.

1. dry aging. 2. qualidade sensorial. 3. qualidade microbiológica. I. Ramos, Eduardo Mendes. II. Título.

GABRIELA DE BARROS SILVA HADDAD

**EFEITO DO CONGELAMENTO NOS PROCESSOS DE MATURAÇÃO ÚMIDA E A
SECO DA CARNE DE GADO ZEBUÍNO**

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

APROVADA em 20 de fevereiro de 2020.

Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos	UFLA
Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli	UFLA
Dra. Monalisa Pereira Dutra Andrade	UFVJM
Dr. Paulo Rogério Fontes	UFV

Dr. Eduardo Mendes Ramos
Orientador (UFLA)

LAVRAS – MG

2020

*À Deus, minha fortaleza;
Aos meus pais Elza e João, meus maiores mestres;
Ao meu marido Guilherme, meu porto seguro;
Aos meus irmãos Viviane e Ewerton, meus incentivadores;
Aos meus sobrinhos Mariana e Lucas, minha alegria;
A todos vocês, os maiores amores da minha vida, dedico esta vitória!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me guiar na conclusão desta jornada, pelas bênçãos e pelos fortes alicerces (família e amigos) concedidos. Para Ele toda honra e glória.

Agradeço aos meus pais, marido, irmãos, cunhados, sobrinhos e sogros por todo amor, força e incentivo. Não tenho palavras para descrever o quanto são essenciais em minha vida. Para vocês todo meu amor e gratidão.

Agradeço aos amigos do LabCarnes, não só a equipe atual e sim a todos que por aqui passaram nesses mais de dez anos de trabalho, por tornarem a jornada mais leve. Obrigada pela participação ativa de vocês neste e em outros projetos, assim como pelo companheirismo e momentos de descontração. Para vocês minha eterna amizade e reconhecimento.

Agradeço ao meu orientador, professor Eduardo, e também a professora Alcinéia, por toda disponibilidade, presença e conhecimento compartilhado em todos estes anos. Agradeço também a banca examinadora pelas valiosas contribuições a esta pesquisa.

Agradeço à Universidade Federal de Lavras, em especial, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade da formação acadêmica.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto de pesquisa (processo 430206/2016-0) e pela concessão da bolsa de Doutorado.

Recebam meu sincero e afetuoso, obrigada!

RESUMO

Avaliou-se o efeito do congelamento prévio a maturação a seco e ao armazenamento refrigerado de carnes de gado zebuino (*Bos indicus*) em dois tratamentos, controle (não congelado) e congelado (-20 °C / 7 dias), nos seguintes tempos: 0, 14, 28 ou 42 dias. Assim, amostras de contrafilé (*Longissimus thoracis*) foram analisadas a fim de verificar a qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial, além do perfil de compostos voláteis e de ácidos graxos. Foi constatado, que o congelamento pode reduzir ($P < 0,05$) o tempo de maturação de 28 para 14 dias alcançando a mesma maciez sensorial e força de cisalhamento de carnes maturadas por 42 dias, entretanto os resultados do índice de fragmentação sugerem que essa redução no armazenamento refrigerado ocorre devido aos danos criogênicos, enquanto na maturação a seco esta redução é atribuída à proteólise. De forma geral, em ambos os casos, o congelamento: não afetou ($P > 0,05$) ou reduziu ($P < 0,05$) a percepção sensorial de suculência; aumentou ($P < 0,05$) a perda de água; reduziu ($P < 0,05$) a intensidade da cor e a capacidade redutora do músculo, aumentando ($P < 0,05$) os teores de MMb; não influenciou ($P > 0,05$) ou aumentou ($P < 0,05$) a contagem de microrganismos mesófilos; aumentou ($P < 0,05$) a contagem de bactérias do ácido lático e psicrotóxicos, sendo que no caso do armazenamento refrigerado este aumento só foi observado no tempo zero. Quanto ao perfil de voláteis, maior concentração ($P < 0,05$) de álcoois, cetonas e éster foi observada nas amostras maturadas a seco, especialmente nas amostras congeladas, enquanto maiores concentrações de hidrocarbonetos foram observadas ($P < 0,05$) nas amostras não congeladas e maturadas a vácuo. A análise de componentes principais mostrou que, em amostras maturadas a vácuo, o congelamento gerou maior associação com maior número de compostos. Sendo que, em ambos os sistemas de maturação, o congelamento e o aumento do tempo de maturação estão associados a diferentes compostos que conferem sabores desejáveis. O congelamento/descongelamento e o tempo de maturação apresentaram poucas influências no perfil de ácidos graxos da carne, porém, carnes maturadas a seco apresentaram mais ($P < 0,05$) ácidos graxos insaturados e monoinsaturados que as maturadas embaladas a vácuo. Dentre as características analisadas, nota-se que os efeitos deletérios são pequenos, tornando o processo vantajoso.

Palavras-chaves: Maturação a seco. Maturação úmida, *Bos indicus*, maciez, análise sensorial, vida útil.

ABSTRACT

The effect of freezing before dry aging and cold storage of meat from Zebu cattle (*Bos indicus*) was evaluated in two treatments, control and frozen (-20 °C / 7 days), in the following aging times: 0, 14, 28 or 42 days. Thus, samples of loins (*Longissimus thoracis*) were analyzed to verify the technological, microbiological and sensory quality, the volatile compounds and fatty acids in beef profile. It was found that freezing can reduce ($P < 0,05$) the aging time from 28 to 14 days reaching the same sensory tenderness and shear force of meat aged for 42 days, however, the results of the fragmentation index suggest that this reduction in cold storage occurs due to cryogenic damage, while in dry aged this reduction is attributed to proteolysis. In general, in both cases, freezing: did not affect ($P > 0,05$) or reduced ($P < 0,05$) the sensory perception of juiciness; increased ($P < 0,05$) water loss; reduced ($P < 0,05$) the color intensity of the meat and the reducing capacity of the muscle, increasing ($P < 0,05$) the levels of MMb; did not influence ($P > 0,05$) or increased ($P < 0,05$) the count of mesophilic microorganisms; increased ($P < 0,05$) the count of lactic and psychotropic bacteria, and in the case of cold storage this increase was only observed in time zero. As for the volatile profile, a higher concentration ($P < 0,05$) of alcohols, ketones and ester was observed in dry-aged samples, especially in frozen samples, while higher concentrations of hydrocarbons were observed ($P < 0,05$) in wet aged and not frozen samples. The principal component analysis showed that, in wet aged samples, freezing generated a greater association with a greater number of compounds. Since, in both aged systems, freezing and higher maturation time are associated with different compounds that give desirable flavors. Freezing / thawing and maturation time had little influence on the fatty acid profile of the meat, however, dry-aged meats presented more ($P < 0,05$) unsaturated and monounsaturated fatty acids than wet-aged. Among the characteristics analyzed, it is noted that the deleterious effects are small, making the process advantageous.

Keywords: *Wet- and dry-aged, Bos indicus*, tenderness, sensory analysis, shelf-life.

SUMÁRIO

PARTE UM	09
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Bovinocultura no Brasil.....	12
2.2 Maciez da carne bovina	13
2.3 O processo de maturação.....	15
2.4 Maturação a seco	17
2.5 Efeito do congelamento na carne bovina.....	21
2.6 Perfil de compostos voláteis da carne maturada.....	25
2.7 Perfil de ácidos graxos da carne maturada	26
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERENCIAS	29
PARTE DOIS - ARTIGOS	35
ARTIGO 1	36
ARTIGO 2	63
ARTIGO 3	96

PARTE UM

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, os produtos *gourmet*, termo relativo à comida pertencente a alta gastronomia e, por isso, de custo elevado, tem alcançado cada vez mais mercados e segmentos. No setor de carnes, aquelas maturadas a seco, processo mais conhecido pelo termo em inglês *dry aging*, vem ganhando destaque.

A maturação é um processo de amaciamento da carne realizado pela ação de enzimas naturalmente presentes no músculo, e que tem sido uma alternativa eficiente para resolução das diferenças de maciez entre grupos genéticos distintos, promovendo produtos mais homogêneos e aumentando seu valor de mercado. No processo de maturação a seco, a carne é mantida, sem embalagem, em uma câmara sob refrigeração, umidade relativa e fluxo de ar controlados, até alcançar a maciez desejada, enquanto, no processo tradicional, usualmente utilizado pela indústria, a carne é maturada embalada a vácuo. Em ambos os processos, ocorrem o amaciamento da carne, porém a maturação a seco surge como uma alternativa para incrementar as características sensoriais como sabor e suculência.

O processo de maturação a seco normalmente utiliza como matéria-prima cortes selecionados de animais de raças europeias (taurinos), que possuem carnes mais macias e com maior teor de marmoreio que o gado zebu (zebuínos). No entanto, alguns trabalhos têm relatado que o processo de maturação a seco pode ser uma alternativa eficiente para melhoria da palatabilidade de carnes com baixo grau de maciez.

Outra técnica sugerida para promover a maciez da carne é o uso do processo de congelamento/descongelamento prévio à maturação. Entretanto, este processo também possui desvantagens, como redução na estabilidade oxidativa, deterioração da cor e aumento da perda de exsudados e da contagem microbiana, sendo necessário avaliar sua viabilidade.

Poucos trabalhos científicos relatam os efeitos do congelamento prévio na maturação a seco, principalmente em relação às alterações sensoriais. Assim como, existem poucos relatos deste tipo de maturação em gado zebuínos. Além disso, no Brasil a maturação a seco não é legislada e trabalhos que avaliem o gado zebuínos, que compõe a grande maioria do rebanho bovino brasileiro, podem fornecer subsídios às agências fiscalizadoras.

Em contraste com o mercado *gourmet*, a venda em larga escala no Brasil ainda é de carnes não maturadas. Assim que a carne é desossada e embalada a vácuo, os frigoríficos enviam para os

revendedores que os armazenam em gôndolas refrigeradas (4 - 7 °C), onde são mantidas até o momento da venda. É reconhecido que em carnes de gado zebuíno é necessário um armazenamento de aproximadamente 21 dias para que a maturação seja eficiente no aumento da maciez, sendo que o congelamento/descongelamento tem sido uma alternativa para reduzir este período. Além disso, o congelamento já é um processo muito utilizado para aumentar a vida útil da carne e resolver problemas relativos à sua oferta e distribuição, podendo ser incorporado ao fluxograma de produção sem acarretar grande aumento do custo para indústria e, conseqüentemente, para o consumidor. Entretanto, não foram encontrados trabalhos que relatem os efeitos do congelamento no armazenamento refrigerado sob vácuo em tempos superiores a 21 dias.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do congelamento/descongelamento prévio à maturação úmida e a seco na qualidade tecnológica, sensorial e microbiológica da carne de gado zebuíno da raça Nelore e seus efeitos nos perfis de compostos voláteis e de ácidos graxos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Bovinocultura no Brasil

O relatório anual de 2019 da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC, 2020) afirma que, em 2018, o Brasil foi o maior produtor e exportador de carne bovina do mundo e que a bovinocultura de corte representou 8,7% do PIB total brasileiro. O País possui 214,68 milhões de cabeças de gado, sendo que a maior parte do rebanho está localizada na região centro-oeste. Em 2018, mais de 44,23 milhões de animais foram abatidos e 20,1% da carne produzida foi destinada à exportação.

Segundo a Associação dos Criadores de Nelore do Brasil (ACNB, 2020) mais de 80% do gado de corte presente no país é Nelore ou anelorado (*Bos indicus*). A história da raça Nelore, ou Ongole, como é conhecida em outros países, começou antes da era cristã, quando os arianos levaram os animais para o continente indiano destinando-os principalmente para produção leiteira. Os primeiros animais, vindos da Índia, desembarcaram no Brasil por volta de 1868. Devido à excelente adaptação com as condições climáticas brasileiras (temperatura, umidade e parasitas), houve um intenso melhoramento genético da raça, a qual foi direcionada quase que exclusivamente à produção de carne.

Entretanto, animais zebuínos são reconhecidos por apresentarem menor potencial de crescimento e produzirem carne com maior resistência ao corte que animais taurinos. A diferença na maciez se deve, principalmente, à maior quantidade de calpastatina presente no músculo de animais zebuínos, e conseqüentemente a maior inibição das calpaínas, principais proteases envolvidas no processo de maturação (AROEIRA et al, 2016; KOOHMARAIE, 1994; WHIPPLE et al., 1990). Porém, diferentemente dos zebuínos, os taurinos não se adaptaram tão bem ao clima tropical e subtropical do Brasil (WHIPPLE et al., 1990), sendo que a maior parcela dos animais deste genótipo está localizada região sul, devido as temperaturas mais amenas em relação ao restante do país.

2.2 Maciez da carne bovina

Dentre os fatores de aceitabilidade sensorial de carnes, a maciez é o fator mais influente, sendo determinante na decisão de compra do produto (PAZ; LUCHIARI FILHO, 2000). Definida como textura que proporciona baixa resistência ao corte, a maciez é determinada pela junção de diversos fatores inerentes ao animal ou à criação e ao abate. Dentre os fatores relacionados ao animal, pode-se citar: raça ou genótipo, sexo, idade, componente miofibrilar, teor e solubilidade do colágeno, teor de gordura de marmoreio e capacidade de retenção de água. São considerados fatores extrínsecos: a alimentação, confinamento ou local de pastagem, uso da estimulação elétrica, forma de suspensão da carcaça, manejo de câmara fria, uso da injeção de cloreto de cálcio, o preparo adequado, dentre outros (BIANCHINI et al, 2007; HEINEMANN et al, 2003).

Como citado anteriormente, a raça do animal influencia a maciez, principalmente, pelo teor de calpastatina comum a cada genótipo. Outro importante fator induzido pelo genótipo é o teor de gordura distribuída entre as fibras musculares, conhecida como gordura intramuscular ou de marmoreio, sendo que animais taurinos possuem maior tendência em acumular este tipo de gordura (MARSHALL, 1994) que confere melhor sensação de suculência e, conseqüentemente, de maciez. Porém, além do genótipo, o teor de gordura intramuscular também está relacionado ao sexo, tipo de criação, localização do músculo e alimentação animal, sendo a principal característica relacionada com a qualidade da carne em sistemas de classificação (USDA, 2016).

Já a idade do animal e a intensidade de esforço físico, feito durante sua vida, influenciam negativamente a maciez por gerar aumento do número de ligações cruzadas termoestáveis entre as moléculas de colágeno, afetando sua solubilidade e aumentando sua resistência (RODRIGUES, 2017). Carnes ricas em tecido conectivo devem ser preparadas sob aquecimento úmido e prolongado e em temperaturas acima de 60 °C para que as ligações cruzadas sejam rompidas e proporcionem a gelatinização do colágeno. Se preparadas sem a presença de água o colágeno encolhe e expulsa água, com conseqüente aumento da dureza. No preparo de carnes pobres em colágeno, entretanto, as carnes se mantem mais suculentas quanto mais rápido sua temperatura interna se aproxima dos 70 °C, sendo dessa forma aconselhado que o cozimento seja rápido e em altas temperaturas (GOMIDE et al, 2013).

A manutenção da suculência da carne ocorre porque até 70 °C as alterações proteicas não são tão intensas e, assim, não afetam drasticamente a Capacidade de Retenção de Água (CRA),

resultando em menores perdas por cozimento. A CRA também está indiretamente ligada ao estado de contração da estrutura miofibrilar, uma vez que quanto mais contraída a estrutura menor o espaço para as moléculas de água, que podem ser expulsas por efeito estérico (RAMOS; GOMIDE, 2017). Além da sensação de suculência a maior presença de água na carne também facilita o ato da mastigação e deglutição.

A integridade das proteínas miofibrilares e o estado de contração do sarcômero são uns dos principais fatores que afetam a maciez da carne (KOOHMARAIE, 1996). A integridade das proteínas é afetada pela ação das enzimas naturalmente presentes na carne. Este processo é denominado maturação e será descrito com mais detalhes no tópico seguinte. Com objetivo de acelerar e intensificar a maturação pode-se adicionar cloreto de cálcio à carne, este composto eleva o teor de cálcio para ativar a enzima m-calpaína.

O sarcômero, por sua vez, pode ser definido como a unidade básica de contração das miofibrilas, sendo representado pela distância entre duas linhas Z, onde estão dispostas uma banda A (composta por actina e miosina) e duas metades de banda I (composta apenas pela actina). O seu comprimento influencia a maciez, uma vez que durante o processo de contração os filamentos de actina deslizam sobre os de miosina ocasionando a diminuição das bandas I. Assim, a sobreposição dos miofilamentos (formação do complexo de actomiosina) reduz o comprimento do sarcômero e, conseqüentemente, aumenta a resistência da carne ao corte (ZEOLA et al., 2007).

O encurtamento definitivo do sarcômero é gerado pelo estabelecimento do *rigor mortis*, ou seja, pela intensa e irreversível contração muscular que ocorre quando as reservas de energia do músculo chegam ao fim, impedindo a quebra do complexo actomiosina (GOMIDE et al, 2013). Porém esse encurtamento pode ser mais severo se houver redução excessiva da temperatura (abaixo de 15 °C) antes do estabelecimento do *rigor mortis*. A queda da temperatura faz com que organelas sarcoplasmáticas responsáveis em controlar a liberação de cálcio percam essa capacidade, liberando-o no descontroladamente enquanto ainda há ATP no músculo, o que propicia uma contração cerca de três vezes mais intensa que a estabelecida no *rigor mortis*, reduzindo, consideravelmente, o comprimento do sarcômero e gerando encurtamento severo das fibras (ZEOLA, 2007). Este fenômeno é conhecido como encolhimento pelo frio.

Desta forma, carnes que alcançam o *rigor mortis* mais cedo são menos propícias a sofrerem os efeitos do encolhimento pelo frio. A forma mais utilizada para reduzir o tempo de conclusão do *rigor mortis*, possibilitando a refrigeração mais rápida da carcaça e evitando a contaminação

microbiológica, é a prática da estimulação elétrica, que consiste na aceleração da contração muscular post mortem, pela aplicação de um estímulo elétrico externo que pode favorecer a maciez (LAWRIE, 2006).

Entretanto, nem todos os músculos da carcaça estão livres para encolher, ao manter o músculo tensionado, não há movimentação livre dos miofilamentos finos sobre os grossos, evitando a compactação mesmo quando exposto a temperaturas abaixo de 15 °C no estado pré-rigor. Sendo assim, a forma de suspensão ou pendura determina quais músculos serão beneficiados.

De acordo com estes fatores, uma série de análises podem nos proporcionar resultados que serão relacionados a maciez da carne, dentre ela podemos citar métodos objetivos como a força de cisalhamento, o teor de colágeno solúvel e insolúvel, o grau de fragmentação miofibrilar e a capacidade de retenção de água, e métodos subjetivos como a análise sensorial.

2.3 O processo de maturação

A maturação da carne é um processo que envolve alterações bioquímicas e físico-químicas que melhoram a palatabilidade do produto, em especial sua maciez (CAMPBELL et al., 2001) e que consiste no acondicionamento da carne *in natura* à temperatura de refrigeração (0 a 4 °C), acima do seu ponto de congelamento (-1,5 °C). As alterações durante a maturação são geradas pela extensão da atividade proteolítica de enzimas naturalmente presentes na carne, uma vez que essas enzimas são responsáveis pela desestruturação das fibras musculares e pelo enfraquecimento dos tecidos conjuntivos. O sistema das calpaínas, as catepsinas lisossomais e o complexo multicatalítico de proteases (MCP) são os sistemas enzimáticos envolvidos na maturação da carne (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006; NOWAK, 2011).

O sistema das calpaínas é formado basicamente por duas enzimas dependentes de cálcio, a μ -calpaína ou calpaína I (ativada por concentrações micromolares de cálcio) e a m-calpaína ou calpaína II (ativada por concentrações milimolares de cálcio), e também pelo inibidor calpastatina (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006). As calpaínas, também conhecidas como proteases neutras, pois possuem atividade ótima em pH de 7,0 a 7,5, ou ainda como proteases sarcoplasmáticas ativadas por cálcio, possuem temperatura ótima entre 10 e 25 °C. Essas proteases atuam no amaciamento da carne degradando a linha Z e as proteínas desmina, titina, nebulina, tropomiosina, troponina e proteína C (AROEIRA, 2014).

A μ -calpaína é ativada por volta de 6 horas *post mortem*, enquanto o pH se encontra acima de 6,0 e a concentração de íons cálcio no sarcoplasma por volta de 5 a 100 μ M (NOWAK, 2011), enquanto a m-calpaína é ativada por volta de 1 mM de íons cálcio. Por impedir a ação das calpaínas, o inibidor calpastatina, que também é uma proteína cálcio-dependente presente no sarcoplasma, apresenta uma grande correlação com a maciez da carne maturada. Tanto que, a atividade das calpastatinas, determinada 24 horas pós-abate, tem sido considerada até mais precisa que a atividade das calpaínas para predizer a maciez (GOMIDE et al, 2013). A quantidade e atividade da calpastatina é relacionada ao genótipo, ao corte e à fatores como pH, temperatura e concentração de cálcio (AROEIRA, 2014).

As catepsinas são proteases ácidas (pois tem atividade máxima em pH menor que 6,0) liberadas dos lisossomos quando o pH muscular atinge valores próximos de 6,0. Essas enzimas agem nas proteínas do tecido conectivo, em especial sobre as ligações cruzadas do colágeno, tornando-o solúvel, e também na degradação do disco Z, das troponinas e da proteína C, além de degradarem lentamente a tropomiosina, nebulina e α -actinina (CALKINS; SEDEIMAN, 1988). As catepsinas também são caracterizadas por degradar as proteínas miofibrilares actina e miosina, porém essa degradação só ocorre em valores de pH abaixo de 5,5 ou em temperaturas elevadas (25-35 °C), condições improváveis para o armazenamento da carne *in natura* (GOMIDE et al, 2013).

Já a ação do complexo proteinase multicatalítico (MPC) não é completamente compreendida. Rechster, Hoffman e Dubiel, (1993) acreditam que o MPC esteja ligado à proteólise intracelular, enquanto Koohmaraie (1994) afirma que o complexo não atua significativamente sobre a maciez da carne.

Dentre as proteínas degradadas na maturação, a desmina, proteína responsável pela ligação de duas miofibrilas, na altura da linha Z (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005), é possivelmente um substrato chave que determina a maciez da carne. Assim, a extensão de sua degradação pode ser um indicativo do grau de proteólise na maturação (RODRIGUES, 2017).

Existem, basicamente, dois processos de maturação: úmida (*wet aging*), e a seco (*dry aging*). A maturação *wet aging* é o processo tradicionalmente utilizado pela indústria brasileira e consiste na manutenção das carnes embaladas a vácuo sob refrigeração por um período de 14 a 21 dias, antes da sua comercialização. Este tipo de processo foi desenvolvido durante a década de 1960 e ganhou amplo reconhecimento na indústria de carne por ser mais prático, devido à sua conveniência durante o armazenamento e transporte, e por ter poucas perdas durante a maturação

(DEGEER et al., 2009). O processo de maturação a seco será visto com mais detalhes no próximo tópico.

2.4 Maturação a seco

A maturação a seco, ou *dry aging*, consiste na manutenção da carne sem embalagem ou com embalagem permeável a gases, em condições de refrigeração, com acompanhamento da temperatura, umidade relativa e fluxo do ar (AHNSTRÖM et al., 2006; SAVELL, 2008; SMITH et al., 2008). Devido à ausência de embalagem protetora, perde-se muita água, o que resulta na concentração de compostos relacionados ao sabor e a suculência, aprimorando a palatabilidade do produto (SAVELL, 2008).

Antes de 1960, a maturação a seco era a única opção, porém, com o surgimento da embalagem a vácuo, a maturação úmida, também conhecida pelo termo *wet aging*, ganhou o mercado devido à extensão da vida útil, redução de perdas e praticidade (SAVELL, 2008). Desde então, o método *dry aging* é utilizado por um pequeno número de comerciantes, restaurantes e boutiques de carnes que acreditam no diferencial deste produto. Assim, nos últimos anos, carnes que passam por este processo são consideradas nobres, *gourmet*, sendo apresentadas ao consumidor como carnes com textura suave e um sabor único e intenso, que pode ser descrito apenas como *dry aged* (SAVELL, 2008).

As carnes destinadas à maturação a seco, normalmente, correspondem a cortes nobres, como peças de contrafilé (*M. Longissimus thoracis et lomborum*) e filé mignon (*M. Psoas menor*). É comum que estas carnes sejam classificadas, sendo o teor de gordura de marmoreio a principal característica utilizada em sistemas de classificação (USDA, 2016). Segundo Dashdorj et al (2016) o processo de maturação a seco requer carnes com alto teor de marmoreio para garantir produtos com sabor e suculência característicos.

Assim, poucos trabalhos abordam os efeitos deste tipo de maturação em carnes com menor marmoreio e maciez. Berger et al (2018) avaliaram ambos processos de maturação, úmida e a seco, em carne de gado alimentado com capim comercial, a qual é caracterizada por apresentar sabor menos acentuado, menor maciez e menor teor de marmoreio que a carne de animais alimentados com grãos. Estes autores constataram que a maturação a seco foi capaz de melhorar atributos de qualidade e agregar valor à esta carne.

Apesar de ser obtida por um processo simples, a carne *dry aged* possui um custo mais elevado do que a maturada a vácuo, devido à maior necessidade de espaço refrigerado e ao menor rendimento (SMITH et al., 2008). Na maturação a seco há maiores perdas de peso, tanto pela maior perda de água (purga e evaporação) como pela toailete realizada nas peças de carne após saírem da câmara, uma vez que boa parte da superfície ou crosta, que é formada devido à circulação de ar frio e à baixa umidade relativa, deve ser removida devido à aparência escura e textura seca (PARRISH et al., 1991). Dashdorj et al (2016), em seu trabalho de revisão sobre o tema, citam que a purga pode variar de 6 a 15% enquanto a perda na toailete de 3 a 24%, conforme o corte e os parâmetros utilizados no processo. DeGeer et al. (2009), Dashdorj et al (2016) e O'Sullivan et al (2018) afirmam que maturar a carne ainda com o osso resulta em vantagens econômicas por reduzir estas perdas.

Laster et al. (2008) avaliaram carnes maturadas a seco por 14, 21, 28 e 35 dias e encontraram rendimento entre 51,6 a 72,2% enquanto em carnes maturadas embaladas a vácuo este foi de 75,9 a 88,4%, sendo que nas carnes maturadas a seco, aquelas maturadas por 14 e 21 dias apresentaram maior rendimento que as maturadas por 28 e 35 dias. Kim et al (2016), por sua vez, encontraram rendimento médio 46,7% para carnes maturadas a seco e 55,1% para carnes maturadas úmidas, ambas maturadas por 21 dias.

Segundo Savell (2008), os principais parâmetros relacionados ao processo de maturação a seco são: tempo de maturação, temperatura de armazenamento, umidade relativa e fluxo de ar. Ao realizarem uma revisão sobre maturação a seco em carne bovina, Dashdorj et al (2016) afirmaram que o período de maturação mais comum está entre 14 e 40 dias, porém há relatos de casas de carnes que chegaram 240 dias de maturação. Em relação à temperatura, os autores citam que na maioria dos trabalhos a variação entre 0 e 4 °C, enquanto a umidade relativa deve variar entre 61 e 85% e o fluxo de ar entre 0,5 e 2,0 m/s. É conveniente que a escolha da temperatura esteja relacionada ao tempo de maturação, assim, quando a carne é maturada por períodos mais prolongados é aconselhável que a temperatura esteja mais próxima a 0°, a fim de reduzir o risco de contaminação. Altas umidades relativas e baixos fluxos de ar também podem aumentar o risco de contaminação do produto e gerar alterações indesejáveis no sabor, textura e aparência, já que a superfície do corte torna-se pegajosa. O inverso pode gerar ressecamento excessivo do produto e, conseqüentemente, menor rendimento (DASHDORJ et al, 2016).

De acordo com Campbell et al (2001), a carne maturada a seco é caracterizada por um sabor de “assada”, que é considerado mais desejável do que o sabor de “sangue” ou “metálico” característico da carne maturada embalada a vácuo. Porém, Vilella (2016) cita que o desenvolvimento do sabor aprimorado da carne maturada a seco não parece estar completamente consolidado na literatura científica, uma vez que parte dos autores, como Stenström et al (2014) e Warren e Kastner (1992), relatam diferenças sensoriais entre as carnes maturadas a seco e as maturadas de forma convencional, enquanto outra parte, como Laster et al. (2008) e Parrish et al (1991) indicam que os produtos não apresentam diferenças sensoriais. Há ainda trabalhos como o Sitz et al (2006) que relataram uma maior aceitação dos consumidores pela carne *wet aged*.

Kim et al. (2016), por sua vez, ao compararem carnes *dry aged* e *wet aged*, constataram que não há diferença significativa em relação à maciez e à suculência, porém carnes maturadas a seco apresentaram maiores notas em relação ao sabor e aceitação global. Tal resultado é coerente com a análise metabólica realizada no trabalho, que mostrou que 7 metabólitos (triptofano, fenilalanina, valina, tirosina, glutamato, inosina monofosfato, isoleucina e leucina), dentre eles alguns precursores de sabor, eram mais abundantes na carne maturada a seco. Este resultado sugere que além da proteólise gerada pelas enzimas responsáveis pela maturação, ocorre a degradação química de proteínas e gorduras que geram aumento da maciez e um sabor mais robusto à carne. Polak et al (2007) estudaram o teor de diferentes aminoácidos em carnes não maturadas e maturadas a seco por 14 e 28 dias, constatando que o período de maturação influencia positivamente no teor de aminoácidos livres. Dentre esses, Vilella (2016) acredita que o ácido glutâmico ou glutamato, um dos compostos que geram o gosto umami, tem maior influência na melhoria do sabor da carne.

Laster et al (2008) avaliaram diferentes cortes maturados pela maturação úmida e seca por 14, 21, 28 e 35 dias, como já citado, e constataram que para a maioria dos cortes os provadores não verificaram diferença significativa para aceitação, sabor, maciez e suculência. Porém, os autores afirmaram que houve interação entre o tempo e o sistema de maturação, sendo que até aproximadamente 30 dias de maturação a carne *wet aged* foi mais aceita, enquanto a carne *dry aged* passa a obter maiores notas do 30º ao 35º dia de maturação.

Richardson, Nute e Wood (2016) avaliaram os efeitos dos diferentes tipos de maturação em raças com genótipo *Bos taurus*. Após 21 dias de maturação, os autores concluíram que a maturação a seco influenciou positivamente a maciez e a suculência e que não houve diferença significativa em relação ao sabor. O aumento da suculência foi justificado pela concentração da gordura

provocada pela perda de umidade durante a maturação a seco (CAMPBELL et al., 2001), enquanto a maior maciez foi relacionada à maior tensão sofrida pelo músculo devido à presença do osso.

Segundo Kim et al (2016), os conflitos em relação à melhoria ou não de sabor, maciez e suculência entre as carnes maturadas úmidas e a seco, provavelmente, são associados ao descontrole ou inconsistência dos parâmetros temperatura, umidade relativa e fluxo de ar aplicados na maturação a seco. DeGeer et al (2009) levantaram a hipótese de que a preferência dos consumidores entre as carnes pode ser influenciada pela familiarização com o produto, já que dentre os consumidores de carne bovina, praticamente todos já consumiram e consomem com certa frequência a carne maturada a vácuo, ocorrendo o inverso com a carne maturada a seco, que ainda é pouco conhecida pela maioria dos consumidores. Além disso, Smith et al (2014), ao avaliarem diferentes músculos maturados a seco e embalados a vácuo, afirmaram que, de acordo com a análise sensorial realizada, sabor, maciez e suculência variaram entre os diferentes cortes analisados, o que também explica parte da inconsistência dos resultados.

No que diz respeito à microbiologia de carnes maturadas a seco, Algino et al (2007) e Savell (2008) citam que o processo é seguro, sendo capaz inclusive de reduzir patógenos em carcaças de bovinos. Entretanto, trabalhos como o de Campbell et al. (2001) mostraram que carnes maturadas a seco tiveram maior contagem de aeróbios em comparação com aquelas não maturadas, porém, o período de maturação não aumentou a contagem, o que foi atribuído ao ressecamento da superfície externa, pois à baixa atividade de água torna-se um fator limitante para o desenvolvimento alguns microrganismos. Já Parrish et al (1991), ao avaliarem carnes maturadas pelos sistemas seco e úmido por 21 dias, constataram que as carnes maturadas a seco apresentaram menor contagem de bactérias do ácido lático, mesófilos e psicrotóxicos.

Outra vantagem da carne *dry aged* é a possível presença do fungo *Thamnidium*. Este fungo apresenta-se na forma de colônias cinzas claras que podem surgir nas partes gordurosas do corte a partir da terceira semana de maturação. O *Thamnidium* é desejável uma vez que este fungo libera proteases e enzimas colagênicas capazes de penetrar na carne e quebrar os tecidos musculares e conjuntivos, aprimorando a maciez e o sabor (DASHDORJ et al, 2016).

Não existe uma legislação específica que regulamente o processo de maturação a seco no Brasil, sendo o mesmo realizado, em sua maioria, de forma empírica. Os locais que produzem a carne maturada a seco se respaldam pelo cumprimento das normas já estabelecidas pela vigilância sanitária para comercialização de carnes (TERRITÓRIO DA CARNE, 2018).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos define a carne maturada a seco como carne maturada sem embalagem a vácuo, por período de tempo variável (geralmente 10 dias a 6 semanas) sob temperatura (2 °C a 6 °C), umidade e fluxo de ar controlados (USDA, 2005). Esta norma cita ainda que a umidade pode variar de 70 a 90% conforme a preferência dos fabricantes e que a luz ultravioleta pode ser usada para reduzir a carga microbiana na sala de envelhecimento. Nos Estados Unidos não é necessário relatar o período de maturação no rótulo quando a carne é rotulada como maturada a seco.

A realização de estudos científicos que avaliem os efeitos da maturação a seco em carne de animais *Bos indicus* ou zebuínos, os quais representam mais de 80% do gado de corte presente no Brasil (ACNB, 2020), é necessária também para que os órgãos legisladores tenham mais informações sobre este processo.

2.5 Efeito do congelamento na carne bovina

A aplicação do congelamento aumenta a vida útil da carne e de outros alimentos, sendo muito comum para resolver problemas de sazonalidade, oferta e distribuição (BERNARDO et al, 2019; LAGERSTEDT et al., 2008). O congelamento é baseado na redução da temperatura até que a água presente no produto passe do estado líquido para o estado sólido, ocasionando redução da atividade de água e consequente inibição da multiplicação dos microrganismos, até que as condições voltem a ser favoráveis para seu desenvolvimento (AROEIRA, 2014).

Durante o congelamento, os cristais de gelo formados podem provocar deslocamento de água do meio intracelular para o extracelular, desidratando a célula e podendo ocasionar, inclusive, a desnaturação de algumas proteínas (AROEIRA, et al 2016). Além disso, os cristais podem provocar danos mecânicos às células, rompendo organelas que liberam enzimas e outras substâncias que poderão estar presentes no exsudado gerado (THYHOLT; ISAKSSON, 1997). A velocidade do congelamento (lento ou rápido) irá determinar o tamanho e a localização dos cristais formados, o que no caso da carne, irá modificar suas características após o descongelamento (BERNARDO et al, 2019).

O congelamento lento é aquele em que temperatura do produto permanece próximo ao ponto inicial de congelamento por um tempo considerável, enquanto no congelamento rápido a temperatura cai rapidamente abaixo deste ponto. Assim, Lawrie (2006) define o tipo de

congelamento com base no tempo gasto para sair da faixa crítica de $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, alcançando temperaturas inferiores, pois neste intervalo ocorre a máxima formação de cristais de gelo.

No congelamento lento, a cristalização irá ocorrer primeiramente no espaço extracelular, uma vez que o fluido extracelular tem menor quantidade de soluto que o intracelular e, portanto, requer menor decréscimo da temperatura para se cristalizar. Tal cristalização aumenta a concentração de solutos no meio extracelular, fazendo com que a água das células migre para este meio, formando grandes cristais de gelo (MACHADO, 2009).

No congelamento rápido, entretanto, os danos são minimizados, pois a cristalização ocorre praticamente de forma simultânea nos espaços extra e intracelulares, não havendo grande deslocamento de água. Desta forma, são produzidos pequenos cristais de gelo, distribuídos uniformemente na peça (KIM et al., 2015; MACHADO, 2009).

No caso da carne, os danos mecânicos às células podem ocasionar a desestruturação das miofibrilas e o rompimento das membranas celulares, facilitando a liberação das proteases responsáveis pela maturação e aprimorando a maciez (AROEIRA, et al 2016). Koohmaraie (1990) e Whipple e Koohmaraie (1992), entretanto, acreditam que o congelamento influencia positivamente a maciez da carne, principalmente, pela sensibilidade da calpastatina a baixas temperaturas. Estes autores observaram que, após o congelamento da carne, a calpastatina apresenta queda de atividade como inibidor, enquanto as calpaínas tem atividade relativamente estável, o que proporciona um aumento da atividade proteolítica.

Este efeito pode ser verificado através de análises da fragmentação miofibrilar, força de cisalhamento e análise sensorial. Em relação à fragmentação miofibrilar, Aroeira et al (2016) e Grayson et al (2014) observaram menor índice de fragmentação em amostras congeladas, o que representa uma maior degradação miofibrilar e conseqüentemente maior maciez (AROEIRA et al., 2016; RAMOS; GOMIDE, 2017).

Lagerstedt et al (2008), Enfalt et al (2004) e Grayson et al (2014) verificaram, através da força de cisalhamento, que o congelamento foi capaz de acelerar a proteólise na carne bovina. Lagerstedt et al (2008) ao analisarem carnes maturadas por 2, 7 e 14 dias, com subsequente congelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 meses, verificaram que as amostras congeladas apresentaram menores valores de força de cisalhamento que amostras refrigeradas. Carnes maturadas por 2 dias e então congeladas, apresentaram força de cisalhamento semelhante à carne maturada por 7 dias e refrigerada, assim como aquelas maturadas por 7 dias e congeladas foram semelhantes às

maturadas por 14 dias e refrigeradas. Da mesma forma, Enfalt et al (2004) constataram que carnes maturadas por 7 dias e, em seguida, congeladas e descongeladas apresentaram os mesmos valores da força de cisalhamento que carnes maturadas por 21 dias e apenas refrigeradas. Grayson et al (2014) também constataram que bifes congelados por 2 dias e maturados por 12 dias apresentaram a mesma força de cisalhamento daqueles não congelados e maturados por 28 dias, sendo bifes congelados por 14 dias e maturados por 14 dias mais macios que ambos. Estes autores afirmaram que o congelamento prévio à maturação pode reduzir de 10 a 20% a força de cisalhamento.

Entretanto, no que diz respeito à maciez sensorial, há poucas evidências que comprovem este efeito. Vieira et al. (2009) avaliaram a maciez e suculência de carnes maturadas por 3 ou 10 dias e, posteriormente, congeladas por 30, 75 ou 90 dias a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Quanto à maciez, os autores não encontraram diferenças significativas nas carnes maturadas por 10 dias, mas carnes maturadas por 3 dias foram avaliadas como mais macias após o congelamento. Já em relação à suculência, não houve diferenças significativas em ambos os tempos de maturação. Lagerstedt et al (2008) também analisaram estes atributos em carnes congeladas por 24 horas após a maturação de 7 dias. Na análise utilizando de provadores semi-treinados, os provadores atribuíram maiores notas às amostras que não passaram pelo processo de congelamento, em ambos os atributos, porém, quando provadores não treinados foram questionados sobre a preferência entre as amostras, não houve distinção entre elas.

No entanto, o processo de congelamento também pode gerar algumas desvantagens, como a redução do rendimento, oxidação de lipídeos e alterações na cor. Aroeira et al (2016), Lagerstedt et al. (2008) e Sales et al (2020) avaliaram carnes congeladas e maturadas pelo sistema *wet aging*, constatando maior purga nas carnes congeladas que nas amostras controle, com tendência de aumento durante o período de maturação. Bernardo et al. (2019) comprovaram que o aumento de perdas ocorre também em carnes maturadas pelo processo *dry aging*.

O congelamento, principalmente se lento, danifica a integridade estrutural da membrana celular devido à formação de cristais de gelo, o que gera aumento da vazão de água da região intracelular para a extracelular após o descongelamento (GRUJIC´ et al., 1993; KIM et al., 2015; LEYGONIE et al., 2012). Assim, durante o período de maturação, a água extracelular da carne é progressivamente drenada através dos canais de gotejamento formados, resultando no aumento da purga com o tempo.

Segundo Aroeira et al. (2016), além de interferir no rendimento do produto, o aumento da purga em carnes maturadas pelo sistema *wet aging* gera a presença de exsudato na embalagem, causando uma má impressão aos consumidores e pode ser um substrato para a multiplicação de microrganismos.

Em relação às alterações na cor, Sales et al (2020) afirmaram que em carnes congeladas e maturadas pelo sistema *wet aging*, a MRA (atividade da metamioglobina redutase) foi maior nas amostras controle que nas amostras congeladas e descongeladas. Este resultado sugere que o processo de congelamento pode acelerar a deterioração da coloração da carne, que tende a ficar amarronzada, já que quanto menor a MRA menor a taxa de redução da MMb (metamioglobina) a Mb⁺ (mioglobina reduzida) (AROEIRA et al, 2017, MCKENNA et al., 2005).

Provavelmente, isso ocorre devido ao aumento da perda de exsudados gerado pelo congelamento, pois cofatores como o NADH podem ser perdidos. Além disso, o aumento na concentração de solutos pode gerar a oxidação das enzimas envolvidas na MRA e/ou desnaturação das proteínas (AÑÓN; CALVELO, 1980).

No caso da TCO (taxa de consumo de oxigênio), a redução indicaria que mais oxigênio estaria disponível para se ligar à Mb, desfavorecendo a formação de MMb (KING et al, 2010; MCKENNA et al, 2005). Mas não há um efeito claro do congelamento sobre esta enzima (SALES et al, 2020)

Aroeira et al (2017) e Jeong et al (2011) encontraram maior teor de MMb em carnes congeladas e maturadas, o que pode ocorrer pela redução da MRA e também pelos danos celulares sofridos a partir da ruptura física provocada pelos cristais de gelo durante o processo de congelamento/descongelamento das carnes. Estes danos podem ocasionar um maior contato da mioglobina e de lipídeos com substâncias catalisadoras da oxidação, gerando deterioração da cor e aumento da oxidação lipídica (CHU et al., 1987). Segundo Greene et al. (1971), os consumidores rejeitam a compra da carne quando o teor de MMb atinge valores próximos a 40%.

Com relação à luminosidade, Aroeira et al. (2017) e Sales et al. (2020) afirmaram que o congelamento tende a tornar as amostras mais escuras (menores valores de L*), o que pode ocorrer devido à maior absorção da luz gerada pela grande concentração de solutos, especialmente de pigmentos heme. Esta concentração é ocasionada pelo aumento de exsudados gerado pelo congelamento e descongelamento.

Bernardo et al. (2019) avaliaram a cor de carnes congeladas ou não e maturadas a seco por 28 dias. Os autores verificaram que o congelamento prévio à maturação reduziu os valores de a^* , b^* , C^* e h^* , comprometendo a estabilidade da cor da carne. Aroeira et al. (2017), Bressan et al. (2011) e Vieira et al. (2009) também observaram a redução de alguns destes índices em carnes congeladas e maturadas pelo sistema *wet aging*.

Em relação as alterações microbiológicas, poucos trabalhos relatam a influência do congelamento. Bernardo et al. (2019) não encontraram efeito do congelamento na contagem de mesófilos e psicrotróficos de carnes maturadas a seco por 28 dias, porém encontraram maior contagem de BAL (bactérias do ácido lático) em carnes previamente congeladas em relação às não congeladas. Já Vieira não encontraram efeito do congelamento na contagem de BAL em carnes maturadas pelo sistema *wet aging*, mas verificaram aumento da contagem de psicrotróficos em carnes congeladas. Entretanto, ambos os autores citam que, independente de passarem ou não pelo processo de congelamento, as amostras apresentaram baixa contagem de microrganismos.

Coombs et al (2017) relatam que embora existam indícios de que a deterioração de carnes descongeladas seja mais rápida que a de carnes frescas, faltam estudos que relatem o perfil dos microrganismos que deterioram o produto.

2.6 Perfil de compostos voláteis da carne maturada

O perfil de compostos voláteis da carne é relacionado à fatores que possam alterar a composição e, conseqüentemente, os precursores de aroma da carne. Logo, são fatores que podem modificar o perfil de voláteis da carne: raça, sistema de criação, dieta, sexo, idade de abate e maturação (FRANCISCO, 2016).

Na maturação a atividade proteolítica das calpaínas e catepsinas faz com que compostos precursores de aroma e sabor, como açúcares, ácidos orgânicos, peptídeos, aminoácidos livres, e metabólitos de ATP, sejam qualitativa e quantitativamente alterados (BREWER, 2007). Além disso, a maturação pode aumentar carbonilas derivadas da oxidação de lipídios (BREWER, 2007).

Durante o processo de cocção reações como Maillard, oxidação lipídica e degradação da tiamina (vitamina B1) geram compostos relacionados ao aroma, sabor e cor característicos de carne assada, dentre eles diversos compostos voláteis (DONALD, 1998). A oxidação lipídica junto da reação de Maillard contribui significativamente para a formação do aroma desejável característico

de carne. No entanto, a oxidação de lipídios é também responsável pelo desenvolvimento de odores anormais (*off flavors*), como os odores rançosos (RESCONI et al., 2013). Segundo estes autores, aldeídos e cetonas são os principais derivados da oxidação, porém hidrocarbonetos, alcoóis, lactonas, ácidos, benzenóides e benzaldeídos também podem resultar desta reação.

Na carne bovina assada já foram encontrados compostos das seguintes classes: alcanos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas, éteres, furanos, piridinas, pirazinas, pirroles, oxazoles, tiazoles, oxazolinas, tiazolininas, tiofenos e compostos sulfurados, sendo os sulfurados e os que contém o grupo carbonila os que mais contribuem para o aroma predominante em carne (SHAHIDI, 1994).

O'Quinn et al. (2016) correlacionaram a análise sensorial descritiva à análise de compostos voláteis e afirmaram que a aceitação da carne bovina foi positivamente correlacionada com as concentrações de diacetil (2, 3-butanodiona), acetoína (3-hidroxi-2-butanona), 3-metilbutanal e pentanal e negativamente correlacionada com sulfeto de dimetil. Dentre os sabores correlacionados com os compostos voláteis estavam: gorduroso, amanteigado, grelhado, terroso, sabor de cogumelos, sabor de nozes, sabor de nozes torradas, azedo, amargo, doce, etc.

Gredell et al (2018) analisaram hambúrgueres produzidos com carne maturada a seco ou carne fresca e observaram que 11 compostos voláteis estavam presentes em maiores concentrações na carne maturada a seco, gerando alterações tanto positivas, quanto negativas no sabor da carne. Os autores afirmaram que estes compostos eram derivados da oxidação lipídica, metabolismo microbiano ou da reação de Maillard.

2.7 Perfil de ácidos graxos da carne maturada

A composição de ácidos graxos da carne é influenciada por fatores como raça, sexo, alimentação, sistema de criação e outros que podem refletir na deposição de gordura e, consequentemente, na composição de ácidos graxos. Por exemplo, a carne de animais terminados a pasto apresenta maior teor de ácido linolênico e menor de ácidos oleico e linoleico, quando comparados com animais terminados em confinamento (ELMORE et al, 2004).

Normalmente, os ácidos graxos são classificados pela presença ou ausência de duplas ligações na cadeia, como: saturados (sem dupla ligação) e insaturados (com dupla ligação), sendo os insaturados com apenas uma dupla ligação chamados de monoinsaturados, aqueles com duas ou

mais duplas ligações de poli-insaturados. Freitas (2006) afirmaram que novilhos Nelore recriados em pastagem e terminados em confinamento apresentaram cerca de 54,8% ácidos graxos saturados, 41,6% de monoinsaturados e 3,2% de poli-insaturados.

Segundo Domene (2002), estão presentes em boas quantidades na carne bovina os ácidos palmítico (27%) e esteárico (13%), ambos saturados, e o ácido oleico, que é monoinsaturado e representa cerca de 40% do total de ácidos graxos. Dos ácidos graxos poli-insaturados os mais representativos são o linoleico e o araquidônico, ambos ômega-6.

Estudos epidemiológicos mostram fortes correlações positivas entre a ingestão de ácidos graxos saturados e a incidência de doenças cardiovasculares, ou seja, acredita-se que a medida que a ingestão de ácidos graxos saturados aumenta, há aumento do colesterol sérico de baixa densidade (LDL). No entanto, nem todos os ácidos graxos saturados têm o mesmo impacto no colesterol sérico. Por exemplo, o ácido láurico (C12:0) e o ácido mirístico (C14:0) têm um efeito de aumento de colesterol total maior do que o ácido palmítico (C16:0), enquanto o ácido esteárico (C18:0) tem um efeito neutro na concentração do colesterol total, incluindo nenhum impacto aparente nem no LDL, nem no HDL (DALEY et al., 2010). O'Quinn et al. (2016) relataram que a maioria dos ácidos graxos saturados não influencia a aceitação da carne bovina.

O ácido oleico, ácido mais abundante na carne bovina, possui ação hipocolesterolêmica em sua forma cis, atuando na proteção contra doenças coronarianas. Além disso, possui efeito positivo na aceitação sensorial da carne, assim como a maioria dos ácidos graxos monoinsaturados (O'QUINN et al., 2016).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O congelamento prévio a maturação a seco ou ao armazenamento refrigerado pode reduzir o tempo de maturação de 28 para 14 dias, alcançando a mesma maciez sensorial e força de cisalhamento de carnes maturadas por 42 dias. Em ambos os processos, o congelamento aumentou as perdas de água, porém, como o congelamento possibilita a redução do tempo de maturação essas perdas, que também aumentam com o tempo, podem ser compensadas ou reduzidas.

As análises relacionadas à cor das carnes indicaram que, independente do sistema de maturação, o congelamento gera maior degradação e menor intensidade da cor durante o armazenamento, entretanto, em amostras maturadas a seco, os índices de cor só se modificaram no 42º dia.

Em relação a qualidade microbiológica, o congelamento não influenciou ou reduziu a contagem de microrganismos mesófilos e aumentou a contagem de bactérias do ácido lático e psicrotóxicos, sendo que, no caso do armazenamento refrigerado, este aumento só foi observado no tempo zero. Entretanto, mesmo após 42 dias de maturação, as contagens eram bem menores que os padrões de aceitabilidade mais exigentes.

Já para o perfil de compostos voláteis, maior concentração de álcoois, cetonas e éster foi observada nas amostras maturadas a seco, especialmente nas amostras congeladas, enquanto maiores concentrações de hidrocarbonetos foram observadas nas amostras não congeladas e maturadas a vácuo. O acúmulo de álcoois, éster e, especialmente, cetonas nas carnes pode ser um indicativo de uma maior oxidação lipídica. Observou-se também que, em ambos os sistemas de maturação, o congelamento e o aumento do tempo de maturação estão associados a diferentes compostos que conferem sabores desejáveis. O congelamento teve pouca influência no perfil de ácidos graxos, entretanto, houve influência do sistema de maturação, sendo que carnes maturadas a seco apresentaram mais ácidos graxos insaturados e monoinsaturados que as maturadas embaladas a vácuo.

Dentre as características analisadas, nota-se que os efeitos indesejáveis são pequenos, tornando o processo vantajoso.

REFERENCIAS

- AHNSTRÖM, M. L. et al. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. **Meat Science**, v.73, n.4, p.674-679, 2006.
- ALGINO, R. J., INGHAM, S. C., ZHU, J. Survey of antimicrobial effects of beef carcass intervention treatments in very small state-inspected slaughter plants. **Journal of Food Science**, v.72, p.173-179, 2007.
- AÑÓN, M. C.; CALVELO, A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. **Meat Science**, v. 4, p. 1–14, 1980.
- AROEIRA, C. N. **Efeitos do congelamento prévio à maturação na maciez e cor da carne de tourinos Nelore e Aberdeen Angus**. 2014. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- AROEIRA, C. N. et al. Freezing , thawing and aging effects on beef tenderness from Bos indicus and Bos taurus cattle. **Meat Science**, v. 116, p. 118–125, 2016.
- AROEIRA, C. N., et al. Effect of freezing prior to aging on myoglobin redox forms and CIE color of beef from Nelore and Aberdeen Angus cattle. **Meat Science**, v.125, p.16-21, 2017.
- ABIEC. **Perfil da Pecuária no Brasil – 2019**. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes, 49 p. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/PublicacoesLista.aspx> Acesso em: 21/01/2020
- ACNB. **Nelore**. Associação Brasileira de Criadores de Nelore. Disponível em: <http://www.nelore.org.br/Raca> Acesso em: 21/01/2020
- BERGER et al. Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. **Meat Science**, v. 14, p. 285–291, 2018.
- BERNARDO et al. Effects of freezing and thawing on microbiological and physicalchemical properties of dry-aged beef. **Meat Science**, v. 161, p. 1-9, 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**, v. 36, n. 6, p. 2109–2117, 2007.
- BRAD KIM, Y. H, KEMP, R., SAMUELSSON, L. M. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. **Meat Science**, v.111, p.168–176, 2016.
- BRESSAN, M. C. et al. Physicochemical properties of meat from Bos taurus and Bos indicus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1250-1259, 2011.

BREWER S. **The Chemistry of Beef Flavor - Executive Summary**. Natl Cattlemen's Beef Association. 2007, 16p.

CALKINS, C. R.; SEDEIMAN, S. C. Relationships among calcium dependent protease, cathepsins b and h, meat tenderness and the response of muscle to aging. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, p. 1186-1193, 1988.

CAMPBELL, R. E. et al. Dry-Aging Effects on Palatability of Beef Longissimus Muscle. **Journal of Food Science**, v.66, n.2, p.196-199, 2001.

CHU Y.H., HUFFMAN D.L., TROUT G.R., EGBERT W.R. Color and Color Stability of Frozen Restructured Beef Steaks: Effect of Sodium Chloride, Tripolyphosphate, Nitrogen Atmosphere, and Processing Procedures. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 869-875, 1987.

COOMBS, C.E.O. et al. Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. **Meat Science**, v.125, p.84–94, 2017.

DALEY, C.A. et al. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. **Nutrition Journal**, v.9, n.10, 2010.

DASHDORJ, D. et al. Dry aging of beef; Review. **Journal of Animal Science and Technology**, v.58, n.20, p.1-11, 2016.

DEGEER, S.L. et al. Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. **Meat Science**, v.83, p.768–774, 2009.

DOMENE, S.M.A. A contribuição da carne bovina para uma alimentação saudável. In: **Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas**. Anais, Uberaba, 2002.

DONALD S.M. Flavour formation in meat and meat products: a review. **Food Chemistry**, n. 62, p. 415–424, 1998.

DRANSFIELD, E. Modelling post-mortem tenderisation - V: inactivation of calpains. **Meat Science**, Barking, v. 37, p. 391–409, 1994.

ELMORE J.S. et al. A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. **Meat Science**, n.68, p.27–33, 2004.

ENFALT, A. C. et al. Tenderness in M. longissimus dorsi from cows – effect of pelvic suspension and ageing time. In 50th INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, **Proceedings...** p. 82, 2004.

FRANCISCO, V.C. **Análise de compostos voláteis em carne bovina proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento.** 2016. 89p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

FREITAS, A.K. **Características da carcaça, da carne e perfil dos ácidos graxos de novilhos Nelore inteiros ou castrados em duas idades.** 2006. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.

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

GRAYSON, A. L. et al. Freezing and thawing or freezing , thawing , and aging effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 2735–2740, 2014.

GREDELL, D. A. et al. Palatability Characterization of Fresh and Dry-Aged Ground Beef Patties. **Meat and Muscle Biology**, v.2, n.1, p.265-276, 2018.

GREENE, B. E., HSIN, I.-M., ZIPSER, M. Y. W. Retardation of oxidative color changes in raw ground beef. **Journal of Food Science**, v.36, n.6, p.940-942, 1971.

GRUJIC´, R., PETROVIC, L., PIKULA, B., & AMIDZ´IC, L. Definition of the optimum freezing rate: 1. Investigation of structure and ultrastructure of beef muscle Longissimus dorsi frozen at different freezing rates. **Meat Science**, v.33, p.301–318, 1993.

HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F.; PONSANO, E. H. G.; PERRI, S. H. V. Método Simples Para Estimar Encurtamento Pelo Frio Em Carne Bovina. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 335–339, 2002.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat : The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, v. 71, p. 194–204, 2005.

JEONG, J.Y.; KIM, G.D.; YANG, H.S.; JOO, S.T. Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. **Food Research International**, v. 44, n.10, p. 3222-3228, 2011.

KIM, Y. H. B.; LIESSE, C.; KEMP, R.; BALAN, P. Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. **Meat Science**, v. 110, p. 40–45, 2015.

KING D.A. et al. Contribution of genetic influences to animal-to-animal variation in myoglobin content and beef lean color stability. **Journal of Animal Science**, v.88, p.1160-1167, 2010.

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

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, p. 93–104, 1994.

- KOOHMARAIE, M. Quantification of Ca²⁺-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 659–665, 1990.
- 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**, v. 74, n. 1, p. 34–43, 2006.
- LAGERSTEDT, A. et al. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 80, p. 457–461, 2008.
- LASTER, M. A. et al. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. **Meat Science**, v.80, p.795–804, 2008.
- LAWRIE, R.A. **Lawrie's Meat Science**. 7th Edition. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006. 336p.
- LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Oxidative stability of previously frozen ostrich *Muscularis iliofibularis* packaged under different modified atmospheric conditions. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1171–1178, 2011.
- MACHADO, M. M. **Efeito do congelamento e estocagem sobre a qualidade da carne bovina**. 2009. 35p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- MARSHALL, D. M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. **Journal of animal science**, v. 72, n. 10, p. 2745-2755, 1994.
- MCKENNA D.R. et al. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of bovine muscles. **Meat Science**, v.70, p.665-682, 2005.
- NOWAK, D. Enzymes in Tenderization of Meat – The System of Calpains and Other Systems – a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, n. 4, p. 231–237, 2011.
- O'QUINN, T. G. et al. Identifying consumer preferences for specific beef flavor characteristics in relation to cattle production and postmortem processing parameters. **Meat Science**, 112, 90-102, 2016.
- O'SULLIVAN, M.G., CRUZ-ROMERO, M.C. AND KERRY, J.P. Sensory and Physiochemical Comparison of Traditional Bone-In Dry-Aged Beef Loin with Bone-Less Dry Ageing and Ageing Using a Moisture Permeable Bag. **Food and Nutrition Science**, v.9, p.1078-1098, 2018.
- PARRISH, F. C. JR., BOLES, J. A., RUST, R. E., OLSON, D. G. Dry and wet aging effects on palatability attributes of beef loin and rib steaks from three quality grades. **Journal of Food Science**, v.56, p.601–603, 1991

PAZ, C.C.P. de; LUCHIARI FILHO, A. Melhoramento genético e diferenças de raças com relação à qualidade da carne bovina. **Pecuária de Corte**, n.101, p. 58-63, 2000.

POLAK, T., GASPERLIN, L., ZLENDER, B. Various instrumental and biochemical parameters as ageing indicators of beef Longissimus dorsi muscle and their relation to creatine and creatinine content. **European Food Research and Technology**, v.255, p.849-855, 2007.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. Viçosa: Editora UFV, 2ª ed, 2017. 473p

RECHSTER, M., HOFFMAN, L., DUBIEL, W. The multicatalytic and 26S proteases. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 268, n. 9, 6065-6068., 1993.

RESCONI V.C., ESCUDERO A., CAMPO M.M. The development of aromas in ruminant meat. **Molecules**, n.18, v.6, 6748–6781, 2013.

RICHARDSON, R.I., NUTE, G.R., WOOD, J.D. **Effect of wet vs. dry ageing on eating quality of beef from traditional breeds**, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265809819>

RODRIGUES, L.M. **Efeitos da radiação gama e do congelamento prévios a maturação sobre a maciez da carne bovina**. 2017. 68p. . Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

SALES, L. A. et al. Effects of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color and oxidative properties of beef. **Meat Science**, v. 161, p. 1-9, 2020

SAVELL, J. W. **Dry-aging of Beef: Executive Summary**. Center for research and Knowledge management National Cattlemen’s Beef Association, 12 p, 2008.

SHAHIDI F. Flavor of meat and meat products - an overview. In: Shahidi F. **Flavor of Meat and Meat Products**. Boston, MA: Springer, p. 1–3, 1994.

SITZ et al. Consumer sensory acceptance and value of wet-aged and dry-aged beef steaks. **Journal of Animal Science**, v.84, p.1221–1226, 2006.

SMITH, A.M. et al. Retail yields and palatability evaluations of individual muscles from wet-aged and dry-aged beef ribeyes and top sirloin butts that were merchandised innovatively. **Meat Science**, v.97, p.21–26, 2014.

SMITH, R. D. et al. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. **Meat Science**, v.79, n.4, p.631-639, 2008.

STENSTRÖM et al. Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. **Meat Science**, v.96, p. 661–666, 2014.

Território da Carne. Dry-Aged está liberado? Disponível em: <https://www.oterritoriodacarne.com.br/artigo/dry-aged-esta-liberado> Acesso em: 03/04/2018.

THYHOLT, K.; ISAKSSON, T. Differentiation of frozen and unfrozen beef using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, p. 525-532, 1997.

United States Department of Agriculture (USDA). **United States Standards for Grades of Carcass Beef**. 2016, 16p.

United States Department of Agriculture (USDA). **Food Standards and Labeling Policy Book**. 2005, 188 p.

VIEIRA, C.; DIAZ, M. T.; MARTÍNEZ, B.; GARCÍA-CACHÁN, M. D. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 398–404, 2009.

VILELLA, G.F. **Efeito dos processos de maturação úmido e seco e suas combinações nos atributos físicos, químicos e sensoriais em filé de costela bovino**. 2016. 78p. Dissertação (Mestrado em em Tecnologia de alimentos) Universidade Estadual de Campinas, 2016.

WARREN, K. E., KASTNER, C. L. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef striploins. **Journal of Muscle Foods**, v.3, p.151-157, 1992.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect *longissimus* muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 2716-2728, 1990.

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 10, p. 3081–3085, 1992.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Parâmetros qualitativos da carne ovina : um enfoque à maturação e marinação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 215–224, 2007.

PARTE DOIS - ARTIGOS

ARTIGO 1

Artigo redigido conforme a norma do periódico
Journal of the Science of Food and Agriculture
“Versão Preliminar”

Efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial da carne de gado Nelore durante o armazenamento refrigerado

Effects of freezing/thawing on technological, microbiological and sensorial quality of beef from Nelore cattle during chilling storage

Resumo

INTRODUÇÃO: Na maioria dos países em desenvolvimento a satisfação do consumidor quanto a maciez da carne bovina não pode ser garantida, pois estas são comercializadas sem o uso da maturação prévia para melhorar sua palatabilidade. Nestes mercados, o processo de amaciamento da carne deve ser acelerado, o que pode ser alcançado com o congelamento/descongelamento antes do armazenamento. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do congelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial de carnes bovinas (*Longissimus thoracis*) embaladas a vácuo durante o período de comercialização (42 days at 4 °C).

RESULTADOS: Os valores de pH, atividade de água, capacidade de retenção de água, perdas por cozimento e fragmentação miofibrilar não foram afetados ($P > 0.05$) pelo congelamento. O congelamento aumentou as perdas por exsudação durante o armazenamento e reduziu ($P < 0.05$) o tempo de amaciamento máximo da carne para 14 dias, alcançando a mesma força de cisalhamento e maciez sensorial de carnes não-congeladas aos 28 dias. A taxa de consumo de oxigênio e a capacidade redutora das carnes foram menores ($P < 0.05$) nas amostras congeladas, mas a cor e sua estabilidade de oxigenação durante armazenamento não foram ($P > 0.05$) afetadas. As bactérias do ácido lático não foram afetadas pelo tratamento, mas as contagens mesófilas e psicotróficas foram maiores ($P < 0.05$) nas carnes descongeladas.

CONCLUSÃO: O congelamento/descongelamento favorece a maciez da carne embalada a vácuo em um menor tempo, sem alterar a qualidade da carne e sua vida útil. No entanto, as maiores perdas

por exsudação oriundos do congelamento deve ser consideradas, pois pode afetar a comercialização da carne.

PALAVRAS-CHAVE: Maciez, suculência, capacidade de retenção de água, cor, psicotróficos.

INTRODUÇÃO

É bem reconhecido que o armazenamento *post mortem* gera melhorias substanciais na maciez, sabor e suculência da carne devido à desestruturação das fibras musculares por proteases endógenas (Huff-Lonergan *et al.*, 2010). Assim, o processo de maturação consiste em manter as carnes em temperaturas de refrigeração por tempo suficiente para maximizar a sua palatabilidade antes da sua comercialização. Industrialmente, a maturação é conduzida mantendo-se as carnes embaladas a vácuo sob temperaturas imediatamente acima do seu ponto de congelamento (-1 a 1 °C) por um período de 14 a 21 dias (Gomide *et al.*, 2013).

O processo de maturação tem uma importância muito grande no Brasil onde as carnes são oriundas de gados criados em sistema de pastos e cuja genética é fortemente influenciada pelas raças zebu (*Bos indicus*) (Ferraz and Felício, 2010). A proteólise na carne de gado zebu durante a maturação é reconhecidamente menor do que na de gado Europeu ou da América do Norte (*Bos taurus*), sendo necessário mais tempo de maturação para se alcançar o mesmo grau de maciez (Aroeira *et al.* 2016). No entanto, assim como em outros países da América Latina, os cortes de carne bovina no Brasil são direcionados aos revendedores assim que são desossados e embalados, ou seja, são comercializados entre 2 e 7 dias após a morte, sem o uso da maturação para melhorar sua palatabilidade, tornando difícil garantir a satisfação do consumidor (de Faria Vilella *et al.*, 2019).

Recentemente, tem-se sugerido que a maciez desejada da carne pode ser alcançada pelo congelamento e descongelamento da carne antes da maturação (Grayson *et al.*, 2014, Aroeira *et al.*, 2016, Kim and Kim, 2017, Sales *et al.*, 2020). O congelamento é um processo eficiente para aumentar a vida útil da carne, resolvendo problemas como distribuição e armazenamento (Kim *et al.*, 2015), e pode ser facilmente incorporado industrialmente para melhorar a maciez da carne. Os cristais de gelo formados no congelamento rompem as estruturas físicas do músculo, desestruturando grande parte das miofibrilas e favorecendo a maciez da carne (Grujić *et al.*, 1993), além de aumentar a proteólise *post mortem*, reduzindo o tempo necessário para se alcançar a maciez desejada (Aroeira *et al.*, 2016). No entanto, a formação de cristais de gelo pode levar a uma série

de alterações que também são indesejáveis, como redução na estabilidade oxidativa, deterioração da cor e aumento da perda de exsudados e da contagem microbiana (Vieira *et al.*, 2009, Aroeira *et al.*, 2017, Coombs *et al.*, 2017). Desta forma, os efeitos adversos dos processos de congelamento/maturação também devem ser avaliados durante toda a comercialização da carne.

Devido as condições comerciais no Brasil e na América Latina, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica e microbiológica da carne de animais zebuínos durante o armazenamento (4 °C) prolongado sob vácuo. Além disso, uma vez que os efeitos do congelamento na maciez da carne têm sido relatados por análises instrumentais (força de cisalhamento), também foi avaliado os efeitos na percepção sensorial de maciez e suculência da carne.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizados 12 contrafilés (músculo *Longissimus thoracis*) de 6 carcaças (peso médio de 273 ± 34 kg) de bovinos machos da raça Nelore, obtidos 48 horas *post mortem* diretamente de um frigorífico com Inspeção Federal em Contagem, MG, Brasil. Os contrafilés desossados, refrigerados e embalados a vácuo foram transportados para o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) da Universidade Federal de Lavras, MG, onde o experimento foi realizado.

Cada contrafilé foi desembalado e fracionado em quatro seções transversais de aproximadamente 10 cm (peças), que foram individualmente pesadas e embaladas a vácuo (BS420; R.Baião, Ubá, MG, Brasil), em embalagens de náilon-polietileno (90 µm de espessura e taxa de transmissão de oxigênio de 30 a 60 cm³/m²/dia/atm), e aleatorizadas nos quatros tempos de armazenamento: 0 (relativo a 3 dias *post mortem*), 14, 28 e 42 dias. As peças provenientes dos contrafilés direitos foram destinadas diretamente ao armazenamento (tratamento controle), sem congelamento, enquanto as dos contrafilés esquerdos foram destinadas ao tratamento congelado, sendo previamente congeladas em congelador comercial (-20 °C) e mantidas congeladas por 7 dias antes do descongelamento (4 °C/24h) e subsequente armazenamento. O armazenamento das peças foi conduzido em geladeira comercial de 4 portas (modelo GREP-4P; Gelopar; Chapada Araucária, PR, Brasil), com temperatura média de $4,5 \pm 1$ °C, sendo que a disposição de cada peça nas

prateleiras da câmara foi alterada, aleatoriamente, a cada 7 dias. Para condução das análises, apenas a região de área do olho-de-lombo das peças foi utilizada.

Perdas e capacidade de retenção de água

Em cada tempo de armazenamento, as peças foram desembaladas, secas em papel toalha e pesadas novamente para determinar a purga, medida pela diferença de massa nas peças antes e depois da embalagem, sendo expressa em porcentagem. Nas peças congeladas, a purga consistiu nas perdas por descongelamento e por exsudação. A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada pelo método de pressão em papel filtro (MPPF). Cerca de 300 mg de carne foi disposta em papel filtro e prensada por um peso de 5 kg durante 5 min. O MPPF foi expresso como a razão da área delimitada pela carne prensada (A_c) pela área delimitada pelo exsudado (A_e), obtidas utilizando o software ImageJ® 1.42q (National Institute of Health, USA). Para determinação da perda de massa por cozimento (PMC), uma amostra retangular (8,0 x 4,0 cm) foi obtida de um bife de cerca de 2,54 cm de espessura, pesada, embalada a vácuo e cozida em banho-maria a 80 °C até temperatura interna de 71 °C (Rodrigues *et al.*, 2020). Após resfriada (a 4 °C) por 1 h, a amostra foi seca com papel toalha, novamente pesada e o percentual de perda de peso calculado, pela diferença entre a pesagem da amostra antes e após o cozimento.

pH, composição e atividade de água

O pH foi medido por penetração, em três diferentes pontos da peça, utilizando um pHmetro portátil Testo 206-pH2 (Testo do Brasil, Campinas, SP, Brasil). Uma porção de cada peça foi removida e triturada para determinação da composição centesimal (umidade, proteína, gordura e cinzas), conduzida pela análise do infravermelho próximo em aparelho FoodScan™ (FOSS Analytical A/S, Hillerod, Dinamarca), e para determinação da atividade de água (A_w), conduzida em aparelho Aqualab® CX2 (Decagon Devices Inc., Pullman, Estados Unidos).

Teor de colágeno

As frações solúveis e insolúveis do colágeno foram separadas após aquecimento a 77 °C por 70 min e o teor de colágeno quantificado pela determinação do aminoácido hidroxiprolina (Bergman and Loxley, 1963). Para conversão do teor de hidroxiprolina em colágeno (mg/g), foram utilizados os fatores 7,52 para a fração solúvel e 7,25 para a insolúvel (Cross *et al.*, 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.

Fragmentação miofibrilar

O grau de degradação miofibrilar durante o armazenamento foi determinado pelo índice de fragmentação (IF) proposto por Davis *et al.* (1980), com modificações descritas por Aroeira *et al.* (2016), aferindo-se o peso dos fragmentos retidos após trituração em solução de extração (a uma razão de 1:5 p/v) e filtração em malha de 250 μm : $\text{IF} = \text{peso (em g) dos fragmentos retidos na malha} \times 100$.

Força de cisalhamento

A maciez instrumental foi determinada pelo método *Warner-Bratzler square Shear Force* (WBsSF), proposto por Silva *et al.* (2015), utilizando um texturômetro TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK). De cada bife cozido na determinação da PPC, seis seções retangulares (1,0 x 1,0 x 2,5 cm) foram obtidas no sentido das fibras musculares e cisalhadas transversalmente (3,33 mm/s), por uma lâmina tipo *Warner-Bratzler*. A força máxima (N) necessária para cisalhar por completo cada amostra foi medida e tomada a média das leituras para cada bife.

Análise sensorial

A maciez e a suculência das amostras também foram analisadas por um painel sensorial composto por 14 membros (8 mulheres e 6 homens, com idades entre 18 e 50 anos), selecionados e treinados, conforme descrito por Cross *et al.* (1978). Para análise das amostras, bifes de 2,54 cm de espessura foram grelhados (Grill Mega; Britânia, PR, Brasil) até temperatura interna de 71 °C e seções retangulares (1,0 x 1,0 x 2,5 cm) foram cortadas no sentido das fibras musculares e avaliadas em 3 sessões (repetições). As amostras foram servidas de forma monádica, ainda quentes (~40 °C), sendo pedido aos avaliadores que registrassem suas respostas quanto a maciez e suculência em escalas estruturadas de 8 pontos, onde a nota 1 representava as amostras “extremamente duras” ou “pouco suculentas” e a nota 8 as amostras “extremamente macias” ou “suculentas”.

Características tecnológicas associadas à cor

As análises de cor foram realizadas utilizando um espectrofotômetro portátil CM-700 (Kônica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão), com abertura de porta de 8 mm, iluminante A e ângulo de 10° para o observador, em ambos os modos de luz especular excluída (SCE) e incluída (SCI).

Taxa de consumo de oxigênio (TCO) e atividade redutora de metamioglobina (MRA)

A TCO e a MRA foram avaliadas, segundo procedimentos descritos por Rodrigues *et al.* (2020). A TCO foi determinada pela conversão da oximioglobina (O₂Mb) a deoximioglobina (Mb⁺) após 20 min sob vácuo, sendo expressa como a porcentagem de O₂Mb consumida. A MRA foi determinada pela proporção da redução de metamioglobina (MMb) a nitrosomioglobina (NoMb) na superfície da carne, formada por oxidação com solução de nitrito de sódio 0,3%, após 2 horas sob vácuo (atividade redutora de MMb óxido nítrico; NORA). A proporção de metamioglobina inicial (MMbi) imediatamente após a oxidação das amostras com nitrito também foi registrada e utilizada como indicativo da MRA.

Proporção de pigmentos heme e cor instrumental

Bifes com 2,54 cm de espessura foram obtidos e expostos ao ar atmosférico por 30 min à temperatura ambiente para oxigenação (*blooming*). A análise de cor foi conduzida com cinco leituras em diferentes pontos da superfície exposta. Os valores de reflectância (400 a 710 nm) registrados no modo SCI foram utilizados na estimativa das proporções dos pigmentos heme (MMb, O₂Mb e Mb⁺), calculados pelo método matemático de Krzywicki (1979). A partir dos dados obtidos no modo SCE, os índices de cor da *Commission Internationale de L'éclairage* (CIE), luminosidade (*L**), índices de vermelho (*a**) e de amarelo (*b**), saturação (*C**) e ângulo de tonalidade (*h*, graus) foram registrados.

Análises microbiológicas

A qualidade microbiológica das peças foi avaliada pela contagem de mesófilos totais, psicrotróficos e bactérias do ácido lático (BAL). Cerca de 25 g de amostra foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, adicionadas de 225 mL de água peptonada (0,1%), homogeneizadas por 3 min em Stomacher (Metroterm, Brasil; 490 golpes/min) e plaqueadas após diluições decimais sucessivas. O meio *Trypticase Soy Agar* (TSA) foi usado na análise de mesófilos, incubados a 37

°C por 48h, e de psicrotróficos, incubados a 7 °C por 7 dias. Na quantificação de BAL, foi utilizado o ágar *Man Rogasa & Sharpe* (MRS) e empregada a técnica de plaqueamento em profundidade com sobrecamada, sendo as placas incubadas a 30 °C por 48 horas.

Análise estatística

O experimento foi disposto em um delineamento em blocos casualizados (DBC), em que cada animal constituiu um bloco (6 repetições). Os dados foram arranjados em um esquema fatorial 2 (tratamentos) x 4 (tempos de armazenamento). No caso das análises sensoriais, também foi usado um DBC, porém sendo os avaliadores considerados como blocos. Os dados foram submetidos à ANOVA, considerando um nível de significância de 5% e, quando significativos, as médias foram comparadas, utilizando o teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas no *software* Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição e características físico-químicas

A Tabela 1 apresenta os efeitos do tratamento e do tempo de armazenamento nos valores de pH, atividade de água (A_w), capacidade de retenção de água (CRA), purga, perda de massa por cozimento (PMC) e composição centesimal. Apenas os valores de purga apresentaram interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos e os tempos de armazenamento, sendo a interação decomposta e representada na Figura 1.

Nas amostras congeladas, a purga foi superior ($P < 0,05$) ao controle em todos os tempos de armazenamento, o que se deve às perdas oriundas do descongelamento. Como as amostras foram embaladas a vácuo antes do congelamento e apenas removidas das embalagens no tempo de armazenamento destinado às análises, os valores de purga nas amostras congeladas referem-se à perda de massa por descongelamento (PMD) no tempo zero de armazenamento e à perda por exsudação associada à PMD nos demais tempos de armazenamento.

O congelamento tem um forte impacto na perda de água da carne, já que a integridade estrutural da membrana celular é danificada pela formação de cristais de gelo, permitindo a saída de água da região intracelular para a extracelular após o descongelamento (Grujić *et al.*, 1993). Assim, no tempo zero de armazenamento, a purga (2,22%) observada nas amostras congeladas foi oriunda apenas da PMD.

Tabela 1 Efeitos do tratamento (T) e do tempo de armazenamento (A) nos valores de pH, atividade de água, capacidade de retenção de água (CRA), purga, perda de massa por cozimento (PMC) e composição centesimal de contrafilés provenientes de gado zebuino.

Característica	Tratamento		Tempo de armazenamento				EPM	Pr > F ¹		
	Controle	Congelado	0 dia	14 dias	28 dias	42 dias		T	A	TxA
pH	5,50	5,49	5,57 ^{ab}	5,63 ^a	5,47 ^{bc}	5,31 ^c	0,02	0,786	<0,001	0,053
Atividade de água	0,989	0,991	0,992	0,988	0,991	0,988	0,000	0,423	0,415	0,801
CRA	0,32	0,36	0,30	0,36	0,35	0,36	0,02	0,200	0,351	0,055
Purga (%)	2,41	7,73	1,11	4,98	6,61	7,58	0,59	<0,001	<0,001	<0,001
PMC (%)	23,63	23,10	22,05 ^{bc}	19,94 ^c	24,92 ^{ab}	26,55 ^a	0,66	0,532	<0,001	0,242
Composição centesimal (%)										
Umidade	73,71 ^x	72,85 ^y	73,26	73,24	73,33	73,19	0,18	<0,001	0,532	0,456
Proteína	22,63 ^x	23,26 ^y	22,71	22,83	23,14	23,17	0,13	<0,001	0,458	0,584
Gorduras	1,48	1,76	1,61	1,89	1,51	1,49	0,17	0,437	0,763	0,545
Cinzas	2,18	2,12	2,43	1,97	2,05	2,15	0,12	0,957	0,201	0,759

Controle = amostras frescas (não congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); e EPM = erro padrão da média.

¹Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x-y}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tempos de armazenamento, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

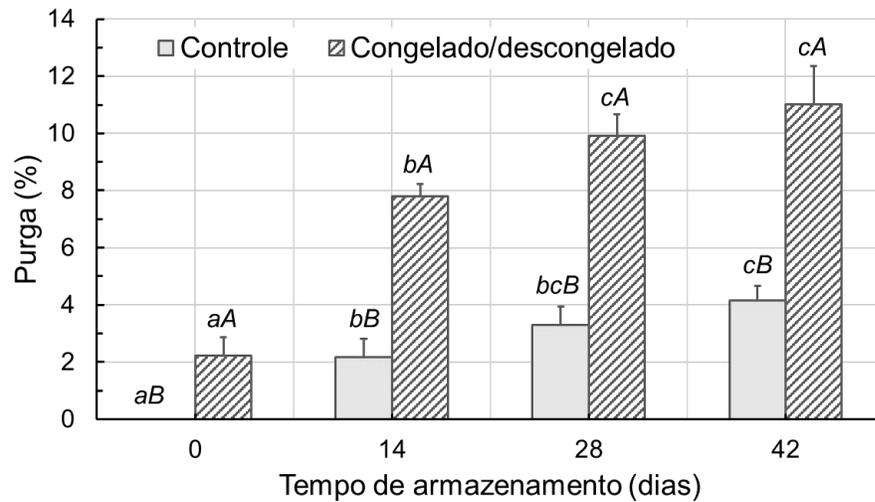


Figura 1 Valores médios da purga de bifes de contrafilés embalados a vácuo, não-congelados (controle) e congelados/descongelados (-20 °C/7 dias e 4 °C/24h) durante o armazenamento refrigerado. As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Entretanto, as diferenças entre os valores de purga das amostras congeladas em relação às não-congeladas, após o armazenamento, foram muito maiores (cerca de três vezes) do que a PMD no tempo zero. Isso indica um maior aumento de exsudado com o tempo de armazenamento nas amostras congeladas/descongeladas do que nas amostras não-congeladas e pode estar relacionado à desnaturação proteica gerada pelo aumento da concentração de solutos no meio intracelular, seguida da migração de água para o meio extracelular (Aroeira *et al.*, 2016, Sales *et al.*, 2020) devido à perda de exsudados oriunda da PMD. Além disso, a queda nos valores de pH observada ($P < 0,05$) com o aumento do tempo de armazenamento faz com que estes valores se tornem mais próximos do ponto isoelétrico (PI) das proteínas da carne (PI ~5,3), contribuindo para a perda de exsudados (Huff-Lonergan and Lonergan, 2005). Estes resultados corroboram os de outros autores (Aroeira *et al.*, 2016, Kim and Kim, 2017, Setyabrata and Kim, 2019, Sales *et al.*, 2020) que constataram que carnes congeladas/descongeladas apresentam maiores valores de purga do que amostras não-congeladas e que estes valores tendem a aumentar durante o armazenamento.

No que diz respeito à composição das carnes, a umidade das amostras congeladas foi inferior ($P < 0,05$) à das amostras não-congeladas. Apesar da umidade não ter se alterado com o tempo de armazenamento, este resultado pode estar relacionado à maior perda de exsudados das amostras congeladas. O teor de proteínas, entretanto, foi superior nas amostras congeladas, sendo este

resultado explicado pelo fator diluição, uma vez que as amostras congeladas perderam mais água e os demais constituintes da carne tenderam a ficar mais concentrados. Apesar disso, os teores de gordura e de cinzas não se alteraram ($P > 0,05$) com o tratamento e/ou tempo de armazenamento.

Os valores de pH e PMC foram afetados ($P < 0,05$) apenas pelo tempo de armazenamento, enquanto os valores de CRA e A_w não foram afetados ($P > 0,05$) por nenhum dos fatores estudados.

Os valores de pH reduziram ($P < 0,05$) no 28º dia de armazenamento, mantendo-se constantes no 42º dia. Carolino *et al.* (2009) também não encontraram efeito do congelamento no pH de carnes maturadas, enquanto Aroeira *et al.* (2016) observaram que, nas amostras não-congeladas, o pH não se alterou durante maturação, entretanto, nas amostras congeladas/descongeladas, os valores de pH foram menores em carnes maturadas que nas não-maturadas.

A PMC aumentou ($P < 0,05$) no 28º dia e se manteve constante no 42º. Shanks *et al.* (2002) observaram que carnes maturadas por 35 dias apresentaram um aumento na PMC, independente de terem sido ou não congeladas. Já Grayson *et al.* (2014) não verificaram efeito do congelamento na PMC para o músculo semitendinoso mas verificaram que amostras congeladas do músculo *Longissimus lumborum* apresentaram maior PMC que as amostras frescas.

A CRA e atividade de água não apresentaram alterações ($P > 0,05$). Da mesma forma, Sales *et al.* (2020) não encontraram efeitos do congelamento ou do tempo de maturação ($P > 0,05$). Já Aroeira *et al.* (2016) não encontraram efeitos do congelamento, mas afirmaram que a CRA aumentou com o tempo de maturação ($P < 0,05$). Não foram encontrados outros trabalhos que avaliassem a atividade de água de carnes congeladas antes do armazenamento refrigerado ou maturação.

Características tecnológicas associadas à maciez

Na Tabela 2 são descritos os resultados obtidos nas características diretamente relacionadas à maciez da carne: teor de colágeno insolúvel, solúvel e total; índice de fragmentação (IF); força de cisalhamento (WBsSF); e análise sensorial (maciez e suculência). Tanto a maciez instrumental (FC) quanto a sensorial (maciez), assim como a suculência, foram afetadas ($P < 0,05$) pela interação entre o tratamento e o tempo de armazenamento.

Tabela 2 Efeitos do tratamento (T) e do tempo armazenamento (A) no teor de colágeno, índice de fragmentação, força de cisalhamento e na maciez e suculência sensoriais de contrafilés provenientes de gado zebuino.

Característica	Tratamento		Tempo de armazenamento				EPM	<i>Pr > F</i> ¹		
	Controle	Congelado	0 dia	14 dias	28 dias	42 dias		T	A	TxA
Colágeno total (mg/g)	1,95 ^y	2,42 ^x	1,89	2,14	2,40	2,31	0,09	0,011	0,191	0,343
Colágeno insolúvel (mg/g)	1,57 ^y	2,01 ^x	1,50	1,72	2,00	1,95	0,09	0,009	0,105	0,328
Colágeno solúvel (mg/g)	0,38	0,41	0,40	0,42	0,40	0,36	0,02	0,406	0,738	0,799
Colágeno solúvel (%)	21,96	17,02	20,33	19,52	16,76	21,35	1,57	0,090	0,698	0,264
Índice de fragmentação	361	334	446 ^a	394 ^a	278 ^b	272 ^b	16	0,225	<0,001	0,216
Força de cisalhamento (N)	41,57	32,70	66,48	31,43	24,65	25,98	2,92	0,001	<0,001	0,041
Maciez ²	6,86	6,76	5,44	7,20	7,20	7,48	0,08	0,451	<0,001	0,009
Suculência ²	6,68	6,31	6,50	6,71	6,54	6,48	0,07	0,006	0,429	0,048

Controle = amostras frescas (não congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); e EPM = erro padrão da média.

¹Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

²Nota em uma escala estruturada de 8 pontos (1 = extremamente dura/pouco suculenta; e 8 = extremamente macia/suculenta).

^{x-y}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tempos de armazenamento, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Em relação à FC, em ambos tratamentos foi observado uma redução significativa com o tempo de armazenamento, embora nas amostras congeladas/descongeladas o amaciamento máximo (menores valores de FC) tenha sido observado já no 14º dia, enquanto naquelas não-congeladas ocorreu apenas no 28º dia (Figura 2). O simples congelamento/descongelamento das amostras foi suficiente para reduzir os valores de FC em 14,78 N em relação às amostras não-congeladas; sendo essa redução muito similar aos valores reportados por Sales *et al.* (2020), para carnes de animais da raça Nelore (12,07 N), e por Aroeira *et al.* (2016), para carne de animais Aberdeen Angus (14,89 N), no primeiro dia de armazenamento. Esta redução tem sido atribuída aos danos mecânicos causados à estrutura miofibrilar pela formação de grandes cristais de gelo intracelulares durante o processo de congelamento/descongelamento (danos criogênicos) (Grujić *et al.*, 1993).

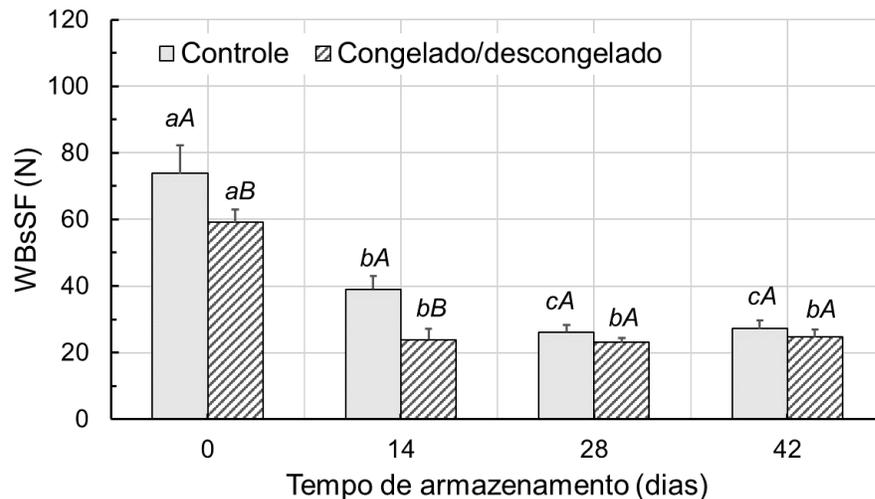


Figura 2 Valores médios da força de cisalhamento (*Warner Bratzler slice shear force*; WBsSF) de bifes de contrafilés embalados a vácuo, não-congelados (controle) e congelados/descongelados (-20 °C/7 dias e 4 °C/24h) durante o armazenamento refrigerado. As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Vários estudos (Grayson *et al.*, 2014, Aroeira *et al.*, 2016, Kim and Kim, 2017, Sales *et al.*, 2020) relataram que o processo de congelamento/descongelamento, seguido do armazenamento refrigerado, reduz a FC devido ao favorecimento da proteólise *post mortem*. A maior proteólise na carne congelada/descongelada, quando comparado à carne não-congelada, tem sido apontada por alguns estudos através da avaliação do IF (Aroeira *et al.*, 2016, Sales *et al.*, 2020), degradação da desmina (Grayson *et al.*, 2014, Setyabrata and Kim, 2019) ou autólise da calpaína (Colle *et al.*,

2018). Os cristais de gelo formados no congelamento, além de ocasionar a desestruturação das miofibrilas, podem ocasionar o rompimento das membranas celulares, facilitando a liberação das proteases responsáveis pela maturação (Thyholt and Isaksson, 1997). Assim, além dos danos criogênicos, a degradação de filamentos intermediários (como a desmina) durante o armazenamento poderia ser acelerada pelo aumento da atividade da calpaína (Setyabrata and Kim, 2019), ocasionada pelo aumento do cálcio livre no sarcoplasma (Zhang and Ertbjerg, 2018) e, ou, pela inativação do inibidor calpastatina (Whipple and Koohmaraie, 1992), ambos induzidos pelo processo de congelamento.

Apesar da redução nos valores de FC com o congelamento, a percepção de maciez do consumidor foi um pouco diferente. Pela análise sensorial, as amostras congeladas/descongeladas e armazenadas por 14 dias foram consideradas mais macias ($P < 0,05$) que as amostras não-congeladas (Figura 3), corroborando os resultados observado para a FC. Nenhuma diferença ($P > 0,05$) foi verificada entre os dias 28 e 42 de armazenamento. No entanto, no tempo zero, os consumidores perceberam as amostras congeladas/descongeladas menos macias que as amostras não-congeladas. Isto pode ter ocorrido pelo fato das amostras não-congeladas terem sido percebidas como mais suculentas ($P < 0,05$), no tempo zero, do que as amostras congeladas/descongeladas (Figura 3). Além disso, a perda de exsudados (purga) durante o descongelamento resulta em menos água disponível para hidratar as fibras musculares, o que aumenta a resistência, conforme percebido pelo painel sensorial. Zimoch and Gullett (1997) avaliaram a relação entre maciez e suculência e constataram a correlação entre elas, principalmente quando avaliadas no início do processo mastigatório, uma vez que a desintegração mais rápida de carnes mais macias pode gerar a percepção de suculência e vice-versa. Entretanto, os resultados encontrados pelos autores para alguns provadores sugerem que a relação pode ser inversa, já que a carne mais dura pode exigir mais força mastigatória, estimulando a produção de saliva e proporcionando a sensação de suculência.

A sensação de suculência está relacionada à gordura intramuscular e aos sucos liberados durante a mastigação (Cross *et al.*, 1978). Entretanto, apesar das amostras congeladas terem perdido mais água por exsudação (purga) em todos os tempos e do teor de gordura não ter se alterado durante o armazenamento, o congelamento não afetou a suculência das amostras armazenadas.

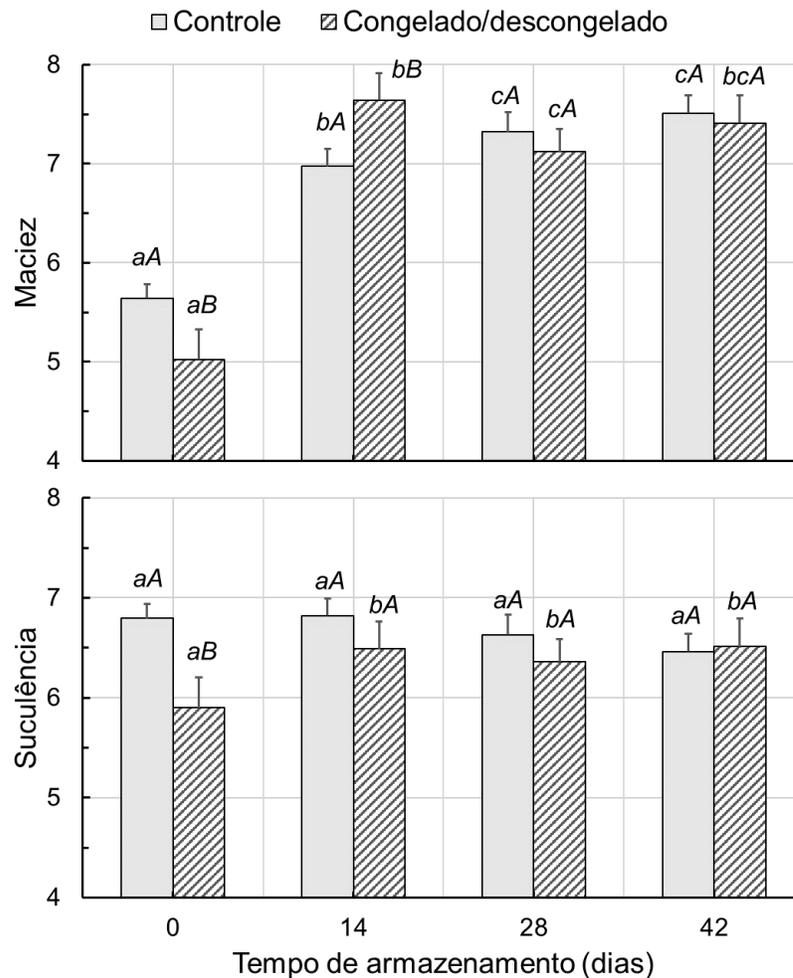


Figura 3 Valores médios das notas (1 = extremamente dura/pouco succulenta; e 8 = extremamente macia/suculenta) dos atributos sensoriais de bifes de contrafilés embalados a vácuo, não-congelados (controle) e congelados/descongelados (-20 °C/7 dias e 4 °C/24h) durante o armazenamento refrigerado. As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

No entanto, no presente experimento, não houve efeito significativo do tratamento, isolado ou na forma de interação, para o IF, sendo este afetado ($P < 0,05$) apenas pelo tempo de armazenamento (Tabela 2). Os valores de IF reduziram ($P < 0,05$) no 28º e 42º dias, indicando uma maior degradação miofibrilar com o armazenamento. Porém, as diferenças na FC entre as amostras congeladas e as não-congeladas, nos tempos 0 e 14 dias, permaneceram constantes, reforçando que a proteólise em ambas as amostras não foi diferente, sendo os efeitos de amaciamento oriundos apenas dos danos criogênicos.

O congelamento/descongelamento das amostras aumentou ($P < 0,05$) o teor de colágeno total, o que se deve basicamente a um aumento ($P < 0,05$) na fração insolúvel. Isto corrobora com o reportado por Sales *et al.* (2020) que observaram maior conteúdo de colágeno total nas amostras congeladas/descongeladas, em comparação às não-congeladas. Estes autores atribuíram este aumento à concentração de solutos, principalmente a fração insolúvel do colágeno, devido à grande perda de exsudato durante o processo de congelamento/descongelamento.

Mesmo com o tempo de armazenamento prolongado, nenhuma mudança ($P > 0,05$) foi observada nas frações de colágeno. Jeremiah and Martin (1981) também não observaram efeito significativo do armazenamento *post mortem* (20 dias a 2 °C) no conteúdo e solubilidade do colágeno intramuscular de músculo *L. dorsi* e *Semitendinosus* de bovinos. Assim como Girolami *et al.* (2009) não observaram alterações no colágeno total do músculo *L. dorsi* armazenado a 4 °C por 21 dias.

Características tecnológicas associadas à cor

A estabilidade da cor da carne está diretamente relacionada à capacidade redutora e à taxa de consumo de oxigênio (TCO) do músculo (Rodrigues *et al.*, 2020). Ambos os métodos (atividade redutora da metamioglobina, MRA; e concentração inicial de metamioglobina, MMB_i) utilizados para medir a capacidade redutora da carne e a TCO foram afetados pelo tratamento (Tabela 3).

A MRA avaliada pelo teste NORA (atividade redutora de MMB óxido nítrico) foi maior ($P < 0,05$) nas amostras não-congeladas do que naquelas congeladas/descongeladas. A MRA é oriunda da ação de um sistema de enzimas redutoras, NADH dependentes, capazes de reduzir a forma oxidada de MMB (cor amarronzada) à forma ferrosa (cor vermelha) (Mancini and Hunt, 2005). Quanto à MMB_i, maiores valores foram observados ($P < 0,05$) nas amostras congeladas/descongeladas do que nas não-congeladas, o que condiz com os resultados de MRA já que maiores concentrações iniciais de MMB indicam uma menor capacidade redutora do músculo (King *et al.*, 2010). Assim, o processo de congelamento/descongelamento reduziu a capacidade redutora dos músculos, provavelmente pela perda da integridade estrutural e função mitocondrial (O'Keeffe and Hood, 1982), ou, ainda, pela perda de cofatores, como o NADH, por lixiviamento durante a purga e, ou, descongelamento (Añón and Calvelo, 1980) ou pela oxidação e, ou, desnaturação, incluindo coenzimas envolvidas na MRA, devido ao aumento na concentração do soluto ocasionado pela exsudação (Sales *et al.*, 2020).

Tabela 3 Efeitos do tratamento (T) e do tempo de armazenamento (A) na atividade redutora da metamioglobina (MRA), na formação inicial de mioglobina (MMbi), na taxa de consumo de oxigênio (TCO), na proporção de pigmentos heme e nos índices de cor de contrafilés provenientes de gado zebuino.

Característica	Tratamento		Tempo de armazenamento				EPM	Pr > F ¹		
	Controle	Congelado	0 dia	14 dias	28 dias	42 dias		T	A	TxA
MRA (%)	26,25 ^x	20,22 ^y	25,89	19,51	23,73	23,80	1,42	0,027	0,379	0,173
MMbi (%)	39,72 ^y	41,35 ^x	40,11	40,88	40,88	40,28	0,57	0,035	0,827	0,526
TCO (%)	66,26 ^x	59,07 ^y	55,17	61,30	73,28	60,91	2,66	0,048	0,058	0,182
Pigmentos heme (%)										
Metamioglobina, MMb	19,56	20,23	20,57	20,46	19,08	19,48	0,56	0,161	0,080	0,041
Deoximioglobina, Mb ⁺	11,46	10,19	14,69 ^a	8,95 ^b	9,28 ^b	10,38 ^b	0,84	0,398	0,035	0,169
Oximioglobina, O ₂ Mb	68,98	69,58	64,74	70,59	71,65	70,14	1,05	0,702	0,015	0,034
Índice de cor										
Luminosidade, L*	46,88	48,04	43,54 ^b	47,26 ^a	48,47 ^a	50,58 ^a	0,71	0,300	0,001	0,555
Índice de vermelho, a*	23,06	21,88	22,07	22,80	23,24	21,77	0,53	0,111	0,475	0,012
Índice de amarelo, b*	14,930	14,309	14,343	14,748	15,266	14,121	0,41	0,283	0,513	0,022
Saturação, C*	27,48	26,15	26,34	27,16	27,81	25,96	0,66	0,151	0,485	0,014
Ângulo de tonalidade, h (°)	32,80	32,90	32,83	32,74	33,28	32,55	0,23	0,818	0,646	0,386

Controle = amostras frescas (não congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); e EPM = erro padrão da média.

¹Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x-y}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tempos de armazenamento, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Como neste experimento, Sales *et al.* (2020) observaram maiores valores de MRA nas amostras não-congeladas do que nas amostras congeladas, independentemente do tempo de maturação, enquanto Jeong *et al.* (2011) não observaram diferenças significativas na MRA de carnes congeladas, descongeladas e armazenadas por 7 dias a 4 °C quando comparado com as amostras não-congeladas.

Já a TCO foi menor ($P < 0,05$) nas amostras congeladas/descongeladas, o que se deve a uma possível redução na atividade mitocondrial, como proposto por Phung *et al.* (2011) ao avaliarem os efeitos do congelamento na carne suína. Além da degradação de enzimas envolvidas na respiração mitocondrial, a TCO pode diminuir devido à depleção de substratos e coenzimas no congelamento da mesma forma que para a MRA (O'Keeffe and Hood, 1982). Sales *et al.* (2020) também observaram menores valores de TCO em contrafilés bovinos submetidos ao congelamento/descongelamento quando comparado às amostras não-congeladas.

Devido às alterações na capacidade redutora e TCO da carne, era de se esperar uma alteração na estabilidade oxidativa dos pigmentos heme relativos à mioglobina. Assim, tanto o teor de metamioglobina (MMb) quanto o de oximioglobina (O₂Mb) foram afetados ($P < 0,05$) pela interação tratamento x tempo de armazenamento, sendo estas decompostas e representadas na Figura 4.

O teor de O₂Mb permaneceu constante ($P > 0,05$) durante todo armazenamento nas amostras congeladas/descongeladas, diferindo das amostras não-congeladas apenas no tempo zero, que apresentaram menores ($P < 0,05$) valores de O₂Mb (Figura 4). Esta diferença no tempo inicial pode ser atribuída à redução nos valores de TCO devido ao congelamento (Tabela 3), que faz com que mais oxigênio esteja disponível para se ligar à Mb, favorecendo a formação de O₂Mb e sua penetração em maiores profundidades nas amostras congeladas (King *et al.*, 2010). Este efeito foi observado apenas no tempo 0, pois no decorrer do armazenamento a redução de cofatores e substratos pode ter estabilizado o nível de TCO em ambos os tratamentos. Da mesma forma que neste experimento, Sales *et al.* (2020) apenas observaram diferença no teor de O₂Mb entre amostras congeladas e não-congeladas no tempo zero de armazenamento.

De forma inversa à O₂Mb, a MMb foi menor ($P > 0,05$) nas amostras congeladas/descongeladas do que nas não congeladas no tempo zero (Figura 4), o que também pode ser atribuído ao menor valor de TCO nas amostras congeladas. Este resultado, no entanto, difere daqueles reportados por Jeong *et al.* (2011) e Aroeira *et al.* (2017), que observaram maiores

valores de MMb nas amostras congeladas do que nas amostras não-congeladas durante todo o período de armazenamento (7 e 21 dias, respectivamente). Por outro lado, Sales *et al.* (2020) não encontraram efeito do processo de congelamento no teor de MMb na superfície das amostras.

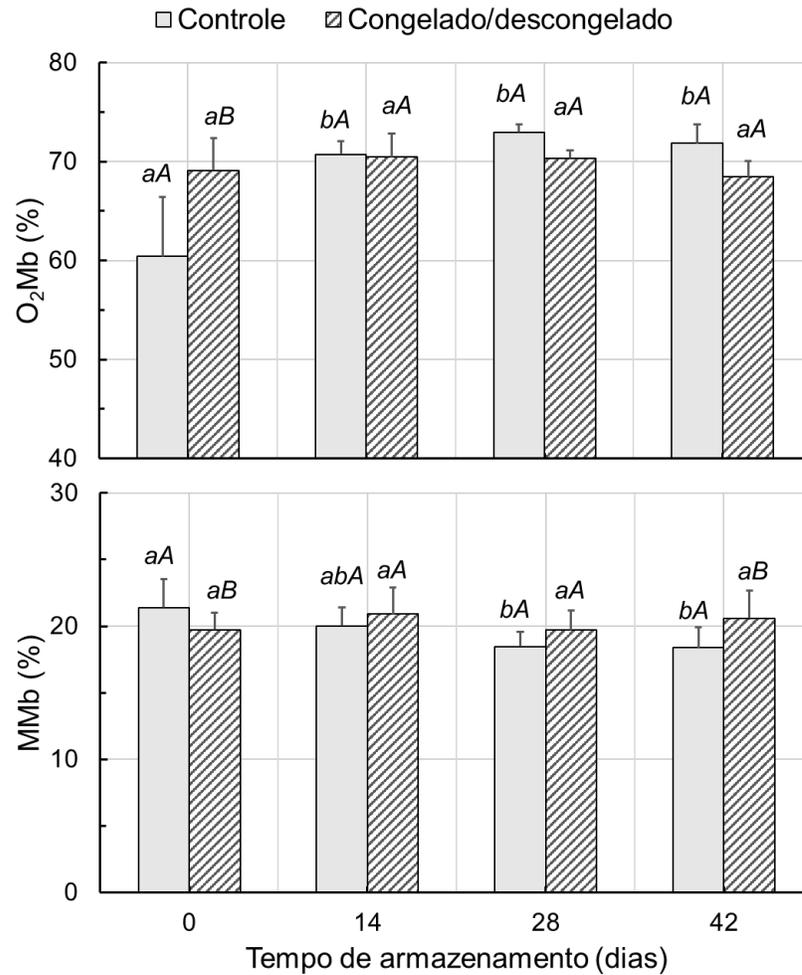


Figura 4 Valores médios dos teores de oximioglobina (O₂Mb) e metamioglobina (MMb) na superfície de bifes de contrafilés embalados a vácuo, não-congelados (controle) e congelados/descongelados (-20 °C/7 dias e 4 °C/24h) durante o armazenamento refrigerado. As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

O teor de deoximioglobina (Mb⁺) reduziu ($P < 0,05$) no 14º dia e se manteve constante nos demais tempos de armazenamento, sendo oriundo das alterações nos teores de MMb e O₂Mb na superfície das amostras, não havendo diferença entre os tratamentos.

Entre os índices de cor instrumental, os índices de vermelho (a^*) e de amarelo (b^*) e a saturação (C^*) das amostras foram influenciados ($P < 0,05$) pela interação tratamento x tempo de armazenamento, enquanto a luminosidade (L^*) foi significativamente afetada apenas pelo tempo de armazenamento e o ângulo de tonalidade (h^*) não foi afetado ($P > 0,05$) por nenhum dos fatores (Tabela 3).

De forma geral, os comportamentos de a^* e b^* foram similares ao comportamento de C^* , com as amostras congeladas/descongeladas tendo inicialmente uma cor mais intensa ($P < 0,05$) do que as amostras não-congeladas (Figura 5). Isto é condizente com os maiores teores de O_2Mb observados nas amostras congeladas/descongeladas (Figura 4). Com o tempo de armazenamento, no entanto, a intensidade da cor das amostras congeladas/descongeladas reduziu e a das não-congeladas aumentou, indicando que o congelamento gera uma menor estabilidade ao armazenamento, o que pode ser relacionado à menor capacidade redutora da carne descongelada (Tabela 3) e à maior formação de MMb nestas amostras quando comparado à carne não-congelada (Figura 4). Este resultado corrobora com o encontrado por Aroeira *et al.* (2017), que relataram que os valores de C^* são positivamente ($r = 0,61$) e negativamente ($r = -0,31$) relacionados com as formas químicas O_2Mb e MMb , respectivamente. Bressan *et al.* (2011) também observaram uma redução nos índices de a^* e b^* em amostras congeladas por 30 dias e posteriormente maturadas por 10 dias. Por outro lado, Sales *et al.* (2020) não observaram nenhum efeito do processo de congelamento nos índices a^* , b^* ou C^* de contrafilés bovinos.

Ao contrário da observação de outras pesquisas (Jeong *et al.*, 2011, Aroeira *et al.*, 2017, Sales *et al.*, 2020) de que carnes congeladas/descongeladas tendem a ser mais escuras (menores valores de L^*) do que aquelas que não foram congeladas, neste experimento, nenhuma diferença foi observada entre as amostras devido ao congelamento. No 14º dia de armazenamento, a luminosidade das amostras aumentou ($P < 0,05$), mantendo-se constante no 28º e 42º dias, podendo ser atribuído aos maiores teores de O_2Mb nas amostras, já que se tem reportado que a oxigenação da carne implica em maiores valores de L^* (Aroeira *et al.*, 2017). Hughes *et al.* (2014) afirmam ainda que a carne tende a se tornar mais pálida durante a maturação porque as alterações estruturais podem proporcionar uma maior dispersão (*scattering*) e reflexão da luz.

A tonalidade (h) das amostras, por sua vez, não foi afetada ($P > 0,05$) pelo processo de congelamento e, ou, tempo de armazenamento. Sales *et al.* (2020) também não observaram nenhum efeito do processo de congelamento nos valores de h , enquanto Aroeira *et al.* (2017) reportaram

maiores valores de h em amostras congeladas/descongeladas quando comparadas às amostras não-congeladas.

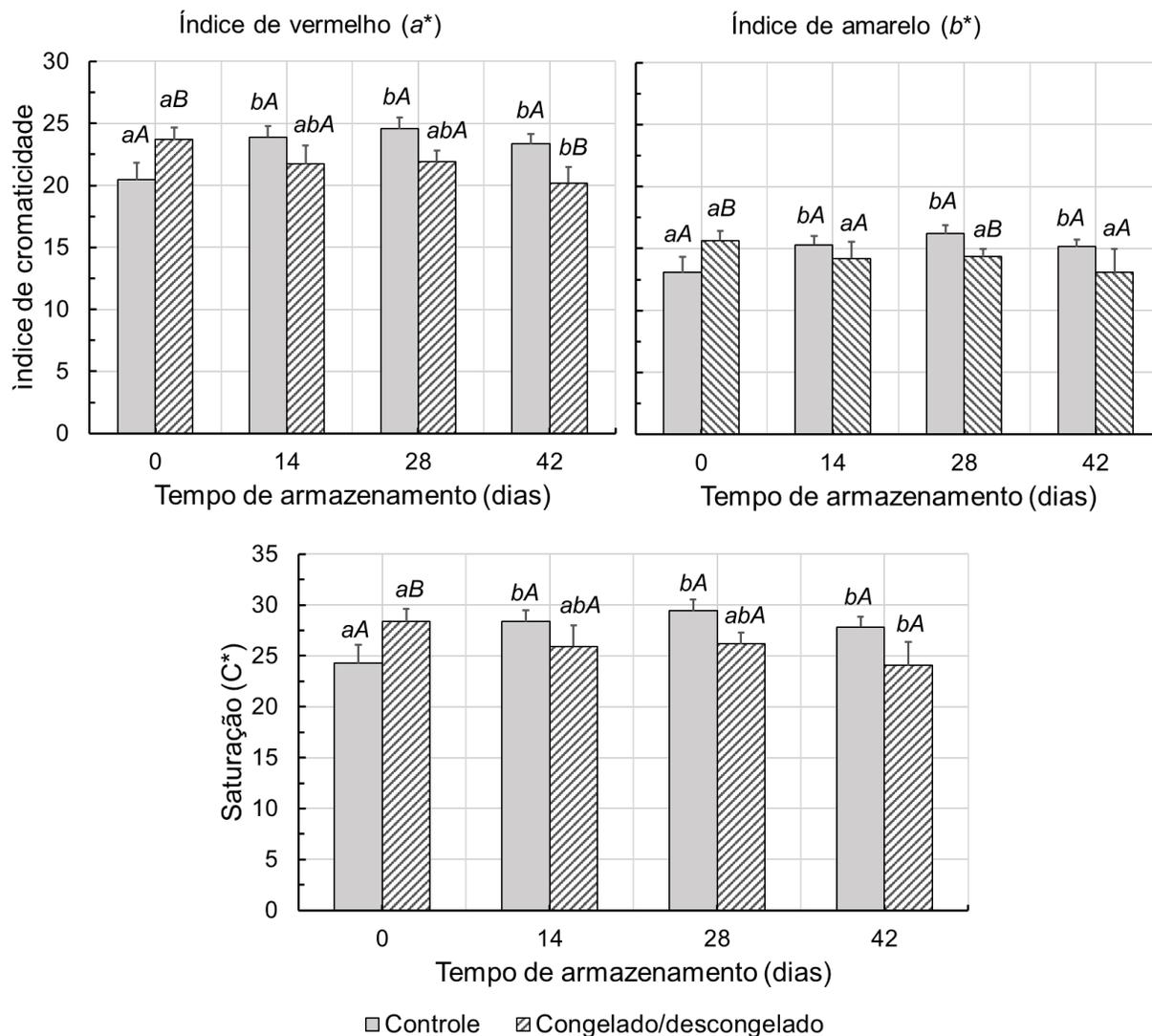


Figura 5 Valores médios dos índices de cromaticidade (a^* , índice de vermelho; b^* índice de amarelo) e saturação (C^*) na superfície de bifês de contrafilés embalados a vácuo, não-congelados (controle) e congelados/descongelados ($-20\text{ }^\circ\text{C}/7$ dias e $4\text{ }^\circ\text{C}/24\text{h}$) durante o armazenamento refrigerado. As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Análises microbiológicas

Na Tabela 4 são descritos os resultados das análises microbiológicas quanto à multiplicação de microrganismos mesófilos, psicotróficos e bactérias do ácido láctico (BAL) nas amostras, não sendo observado ($P > 0,05$) interação tratamento x tempo de armazenamento para nenhum dos microrganismos avaliados. A multiplicação de mesófilos e psicotróficos foi afetada ($P < 0,05$) por ambos os fatores isolados, enquanto a de BAL apresentou efeito ($P < 0,05$) apenas do tempo de armazenamento.

Tabela 4 Efeitos do tratamento (T) e do tempo de armazenamento (A) no desenvolvimento de microrganismos mesófilos, psicotróficos e de bactérias do ácido láctico (BAL) em contrafilés provenientes de gado zebuíno.

Efeitos	Fonte de Variação	Mesófilos (log UFC/g)	BAL (log UFC/g)	Psicotróficos (log UFC/g)
Tratamento	Controle	4,56 ^x	3,08	4,40 ^x
	Congelado/descongelado	5,69 ^y	3,35	4,98 ^y
Armazenamento a 4 °C	0 dia	3,43 ^c	2,23 ^c	2,34 ^c
	14 dias	5,42 ^b	3,40 ^b	4,75 ^b
	28 dias	5,74 ^{ab}	3,46 ^{ab}	6,11 ^a
	42 dias	5,90 ^a	4,17 ^a	5,59 ^a
	EPM	0,31	0,23	0,39
$Pr > F^l$	T	0,001	0,088	0,016
	A	<0,001	0,003	<0,001
	TxA	0,138	0,108	0,180

Controle = amostras frescas (não congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); e EPM = erro padrão da média.

^lProbabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x-y}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c}Médias seguidas de letras diferentes, entre os tempos de armazenamento, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O processo de congelamento afetou a multiplicação microbiana durante o armazenamento, com maiores ($P < 0,05$) contagens de mesófilos e de psicotróficos nas amostras descongeladas do

que nas amostras não-congeladas (Table 1). As bactérias do ácido lático (LAB) não foram afetadas ($P > 0.05$) pelo congelamento. Esta maior contagem se deveu, provavelmente, ao processo de descongelamento lento ($4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$), que além de um maior tempo para adaptação e multiplicação, há liberação do exsudado da carne devido aos danos criogênicos, o que constitui um excelente meio para proliferação microbiana (Rahman *et al.*, 2014). Corroborando com estes resultados, Vieira *et al.* (2009) também observaram uma maior contagem de psicrotófilos em carnes descongeladas do que nas não-congeladas, não observado efeito do congelamento na contagem de LABs.

De forma geral, durante o armazenamento a contagem de todos microrganismos avaliados aumentou até o 28º dia, quando se estabilizou. A contagem microbiana nas amostras congeladas/descongeladas após 42 dias de armazenamento alcançou números médios de $4,28 \pm 0,27$ log UFC/g para LAB, de $6,63 \pm 0,482$ log UFC/g para mesófilos e de $5,99 \pm 0,41$ log CFU/g para bactérias psicrotóxicas. Esses valores são inferiores aos considerados como o máximo aceitável para deterioração. Embora o tipo de microrganismo presente defina o padrão de deterioração, a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMFS, 1986) recomendou o limite superior de aceitabilidade de 7 log CFU/g para a contagem total em carne *in natura*. Portanto, os resultados da qualidade microbiológica revelaram que o processo de congelamento/descongelamento seguido de armazenamento a vácuo por 42 dias não afetou a vida-útil da carne.

CONCLUSÕES

O processo de congelamento/descongelamento reduziu em 14 dias o período necessário para se alcançar os valores mínimos de força de cisalhamento nas carnes não-congeladas (28 dias) durante o armazenamento refrigerado. Esta redução foi significativamente percebida como maior maciez pelo painel sensorial. Apesar do processo induzir à uma menor capacidade redutora do músculo, pequenas diferenças na cor entre as amostras foram observadas apenas no tempo zero. Maiores contagens microbianas foram observadas nas amostras congeladas, mas no período avaliado (42 dias) nenhuma amostra ultrapassou o limite microbiológico aceitável.

No entanto, o congelamento aumentou a perda de exsudados durante o armazenamento, o que, além de interferir no rendimento do produto, gera a presença de exsudato na embalagem, podendo impactar negativamente na compra da carne pelo consumidor. Alternativas para se reduzir as

perdas por exsudação/descongelamento são necessárias para se alcançar o potencial máximo de uso do processo de congelamento/descongelamento na qualidade da carne *in natura*.

REFERÊNCIAS

Añón MC and Calvelo A 1980. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. Meat Science 4, 1-14. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(80\)90018-2](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(80)90018-2)

Aroeira CN, Torres Filho RA, Fontes PR, Gomide LAM, Ramos ALS, Ladeira MM and Ramos EM 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 CN, Torres Filho RA, Fontes PR, Ramos ALS, Gomide LAM, Ladeira MM and Ramos EM 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 and 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>

Bressan MC, Rodrigues EC, Rossato LV, Ramos EM and Gama LT 2011. Physicochemical properties of meat from *Bos taurus* and *Bos indicus*. Revista Brasileira de Zootecnia 40, 1250-1259.

Carolino MI, Rodrigues MI, Bressan MC, Carolino N, Espadinha P and Telo da Gama L 2009. pH e força de corte da carne de bovinos alentejanos e mertolengos. Archivos de Zootecnia 58.

Colle MJ, Nasados JA, Rogers JM, Kerby DM, Colle MM, Van Buren JB, Richard RP, Murdoch GK, Williams CJ and Doumit ME 2018. Strategies to improve beef tenderness by activating calpain-2 earlier postmortem. Meat Science 135, 36-41.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.08.008>

Coombs CEO, Holman BWB, Friend MA and Hopkins DL 2017. Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. Meat Science 125, 84-94.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.025>

Cross HR, Carpenter ZL and Smith GC 1973. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. *Journal of Food Science* 38, 998-1003. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1973.tb02133.x>

Cross HR, Moen R and Stanfield MS 1978. Training and testing of judges for sensory analysis of meat quality. *Food Technology* 37, 48-54.

Davis GW, Dutson TR, Smith GC and Carpenter ZL 1980. Fragmentation procedure for bovine longissimus muscle as an index of cooked steak tenderness. *Journal of Food Science* 45, 880-884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07470.x>

de Faria Vilella G, Gomes CL, Battaglia CT, Pacheco MTB, da Silva VSN, Rodas-González A and Pflanzler SB 2019. Effects of combined wet- and dry-aging techniques on the physicochemical and sensory attributes of beef ribeye steaks from grain-fed crossbred Zebu steers. *Canadian Journal of Animal Science* 99, 497-504. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0127>

Ferraz JBS and Felício PEd 2010. Production systems – An example from Brazil. *Meat Science* 84, 238-243. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.006>

Girolami A, Braghieri A, Sodo A, Napolitano F and Maiorano G 2009. Acceptability and intramuscular collagen properties of Podolian beef as affected by ageing. *Italian Journal of Animal Science* 8, 498-500. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.498>

Gomide LAM, Ramos EM and Fontes PR 2013. *Ciência e Qualidade da Carne: Fundamentos*. Editora UFV, Viçosa.

Grayson AL, King DA, Shackelford SD, Koohmaraie M and Wheeler TL 2014. Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. *Journal of Animal Science* 92, 2735-2740. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7613>

Grujić R, Petrović L, Pikula B and Amidžić L 1993. Definition of the optimum freezing rate—1. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimus dorsi* frozen at different freezing rates. *Meat Science* 33, 301-318. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90003-Z](https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90003-Z)

Huff-Lonergan E and Lonergan SM 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71, 194-204. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>

Huff-Lonergan E, Zhang W and Lonergan SM 2010. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science* 86, 184-195.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.004>

Hughes JM, Oiseth SK, Purslow PP and Warner RD 2014. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Science* 98, 520-532. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.022>

ICMFS. (1986). *Sampling for microbiological Analysis: Principles and scientific applications* (2nd ed. Vol. 2). Toronto: University of Toronto Press.

Jeong J-Y, Kim G-D, Yang H-S and Joo S-T 2011. Effect of freeze-thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International* 44, 3222-3228. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.023>

Jeremiah LE and Martin AH 1981. Intramuscular collagen content and solubility: their relationship to tenderness and alteration by postmortem aging. *Canadian Journal of Animal Science* 61, 53-61. <https://doi.org/10.4141/cjas81-008>

Kim H-W and Kim YHB 2017. Effects of aging and freezing/thawing sequence on quality attributes of bovine Mm. gluteus medius and biceps femoris. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 30, 254-261. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0279>

Kim YHB, Liesse C, Kemp R and Balan P 2015. Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. *Meat Science* 110, 40-45. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.015>

King DA, Shackelford SD, Kuehn LA, Kemp CM, Rodriguez AB, Thallman RM and Wheeler TL 2010. Contribution of genetic influences to animal-to-animal variation in myoglobin content and beef lean color stability. *Journal of Animal Science* 88, 1160-1167. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2544>

Krzywicki K 1979. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science* 3, 1-10. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(79\)90019-6](https://doi.org/10.1016/0309-1740(79)90019-6)

Mancini RA and Hunt MC 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71, 100-121.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>

O'Keeffe M and Hood DE 1982. Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. *Meat Science* 7, 209-228.

[https://doi.org/10.1016/0309-1740\(82\)90087-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(82)90087-0)

Phung VT, Sælid E, Egelanddal B, Volden J and Slinde E 2011. Oxygen Consumption Rate of Permeabilized Cells and Isolated Mitochondria from Pork M. Masseter and Liver Examined Fresh and after Freeze-Thawing at Different pH Values. *Journal of Food Science* 76, C929-C936.

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02275.x>

Rahman MH, Hossain MM, Rahman SM, Hashem MA and Oh DH 2014. Effect of Repeated Freeze-Thaw Cycles on Beef Quality and Safety. *Korean J Food Sci Anim Resour* 34, 482-495.

<https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.4.482>

Rodrigues LM, Sales LA, Fontes PR, Torres Filho RA, Andrade MPD, Ramos ALS and Ramos EMR 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>

Sales LA, Rodrigues LM, Silva DRG, Fontes PR, Torres Filho RA, Ramos ALS and Ramos EMR 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>

Setyabrata D and Kim YHB 2019. Impacts of aging/freezing sequence on microstructure, protein degradation and physico-chemical properties of beef muscles. *Meat Science* 151, 64-74.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.01.007>

Shanks BC, Wulf DM and Maddock RJ 2002. Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem aging periods.

Journal of Animal Science 80, 2122-2125. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.8.2122>

Silva DRG, Torres Filho RA, Cazedey HP, Fontes PR, Ramos ALS and Ramos EM 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>

Thyholt K and Isaksson T 1997. Differentiation of Frozen and Unfrozen Beef Using Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73, 525-532.

[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199704\)73:4<525::Aid-jsfa767>3.0.Co;2-c](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199704)73:4<525::Aid-jsfa767>3.0.Co;2-c)

Vieira C, Diaz MT, Martínez B and García-Cachán MD 2009. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Science* 83, 398-404.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.013>

Whipple G and Koohmaraie M 1992. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. *Journal of Animal Science* 70, 3081-3085.

<https://doi.org/10.2527/1992.70103081x>

Zhang Y and Ertbjerg P 2018. Effects of frozen-then-chilled storage on proteolytic enzyme activity and water-holding capacity of pork loin. *Meat Science* 145, 375-382.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.017>

Zimoch J and Gullett EA 1997. Temporal aspects of perception of juiciness and tenderness of beef. *Food Quality and Preference* 8, 203-211. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(96\)00049-3](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(96)00049-3)

ARTIGO 2

Artigo redigido conforme a norma do periódico

Meat Science

“Versão Preliminar”

Efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial de contrafilés de gado zebuino maturados com osso a seco*Freezing/thawing process effects on technological, microbiological and sensorial quality of bone-in dry-aged beef from Nelore cattle***Resumo**

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do congelamento (-20 °C/7 dias) e descongelamento (4 °C/24 h) no processo de maturação a seco (0, 14, 28 e 42 dias a 4 °C) de contrafilés com osso de bovinos da raça Nelore. Amostras não-congeladas também foram maturadas como controle. O congelamento aumentou ($P < 0,05$) as perdas por evaporação (~ 3,7%) e na desossa (~ 4,7%), o que resultou em um rendimento médio final 6,05% menor. No 14º dia de maturação, os valores de atividade de água, força de cisalhamento e índice de fragmentação das amostras congeladas foram menores ($P < 0,05$) do que os das amostras controle, sendo a maior maciez percebida no painel sensorial. Os valores de L^* foram menores ($P < 0,05$) nas amostras congeladas e, apesar da menor atividade redutora de metamioglobina, menores valores de C^* e h somente foram significativos no 42º dia. O congelamento aumentou ($P < 0,05$) a contagem de psicrotrofos e de bactérias do ácido lático, porém sem comprometer a qualidade microbiológica. Concluiu-se que o congelamento prévio à maturação a seco é vantajoso, por reduzir o tempo necessário de amaciamento em 14 dias comparado ao processo convencional.

Palavras-chave: Maciez, Suculência, Cor, *dry aging*, Nelore

1 Introdução

O processo de maturação consiste no armazenamento da carne em temperaturas de refrigeração por tempo suficiente para maximizar características como maciez, suculência e sabor (Sitz, Calkins, Feuz, Umberger, & Eskridge, 2006). A carne maturada a seco, também conhecida como *dry aging*, é obtida quando a carne é armazenada sem embalagem protetora ou com embalagem permeável a umidade e gases (Ahnström, Seyfert, Hunt, & Johnson, 2006; Savell, 2008). Este produto tem sido comercializado como *gourmet* ou *premium* devido ao desenvolvimento de sabores únicos e melhorias na palatabilidade, logo, possui um elevado valor comercial (Laster et al., 2008).

A comercialização de carne *dry aged* no Brasil é muito recente, sendo sazonal e cara, devido à falta de regulamentação do processo e de limitações na produção de carnes com alto valor agregado no país. O processo de maturação a seco normalmente é realizado em carnes com alto teor de marmoreio para garantir produtos com sabor e suculência característicos (Dashdorj, Tripathi, Cho, Kim, & Hwang, 2016), sendo comumente conduzido em cortes selecionados de animais de raças europeias (*Bos taurus*). A maioria do rebanho brasileiro ainda é constituído de gado zebu (*Bos indicus*) criados em sistema de pastos, cuja carne é conhecida por seu baixo teor de marmoreio e menor maciez do que a de animais europeus, especialmente daqueles criados à base de grãos (Bressan et al., 2011). No entanto, o processo de maturação a seco pode ser uma alternativa eficiente para melhoria da qualidade da carne zebuína, uma vez que alguns autores têm relatado melhora na palatabilidade de carnes com grau de qualidade inferior. Smith et al. (2008) não observou diferenças na percepção do sabor de carnes com grau de qualidade “U.S. Select” e “U.S. Choice” quando maturada a seco, mas nas carnes maturadas a vácuo (*wet aging*) as notas de sabor das carnes “U.S. Select” foram menores do que as das carnes “U.S. Choice”. Berger et al. (2018) reportaram que a maturação a seco por 28 dias foi capaz de melhorar atributos de qualidade e agregar valor à carne de gado criado a pasto e com baixo teor de marmoreio quando comparado ao processo de maturação a vácuo.

Outra técnica sugerida para promover a maciez da carne é o uso do processo de congelamento/descongelamento prévio à maturação. Vários trabalhos (Aroeira et al., 2016; Grayson, King, Shackelford, Koohmaraie, & Wheeler, 2014; Haddad, 2020; Kim & Kim, 2017) constataram os efeitos positivos deste processo na maciez da carne maturada a vácuo,

provavelmente devido à perda da integridade miofibrilar, causada pela formação de cristais de gelo, associado a um aumento na proteólise *post mortem*, induzida pelo congelamento (Sales et al., 2020). De forma geral, o congelamento/descongelamento da carne pode gerar uma menor estabilidade da cor e um aumento da contagem microbiana, mas a maior crítica a este processo é o aumento da perda de exsudados (Aroeira et al., 2016; Aroeira et al., 2017), o que também ocorre no processo de maturação a seco (Laster et al., 2008).

Apenas Bernardo et al. (2020) avaliaram os efeitos dos processos de congelamento/descongelamento, seguido da maturação a seco na qualidade final da carne de gado zebuíno. Estes autores, no entanto, não acompanharam todo o processo de maturação, avaliando os efeitos de duas diferentes taxas congelamento (tempo x temperatura) na qualidade das carnes maturadas apenas após 28 dias. Períodos de maturação entre 14 e 35 dias parecem serem eficazes na obtenção dos efeitos desejados da maturação a seco (Dashdorj et al., 2016; Savell, 2008), sendo este intervalo de tempo também sugerido pela Federação de Exportação de Carne dos Estados Unidos (USMEF, 2020) para comercialização de carne *dry aged*.

Além da carência de trabalhos acompanhando os efeitos da maturação a seco na qualidade de carnes de animais zebuínos, especialmente quando submetidas ao processo de congelamento/descongelamento, nenhum trabalho que tenha avaliado a percepção sensorial da maciez nas carnes congeladas e maturadas foi encontrado. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial da carne de gado zebuíno (Nelore) durante um longo período (até 42 dias) de maturação a seco.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizados 6 pares de contrafilés (músculo *Longissimus thoracis*) de bovinos da raça Nelore (machos, com peso médio da carcaça quente de $280,7 \pm 17,9$ kg), criados em condições semelhantes (a pasto), obtidos 48 horas *post mortem* diretamente de um frigorífico com Inspeção Federal em Contagem, Minas Gerais, Brasil. Os contrafilés refrigerados e embalados, ainda com a

base óssea, foram transportados para o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes) da Universidade Federal de Lavras, em caixas térmicas refrigeradas.

Cada contrafilé foi serrado (serra-fita modelo SFO 1.69; C.A.F Máquinas; Rio Claro, SP, Brasil.) em quatro partes, mantendo-se a base óssea: uma peça de aproximadamente 5 cm, destinada às análises do tempo zero de maturação (relativo a 3 dias *post mortem*); e três peças de aproximadamente 12 cm cada que foram aleatorizadas nos tempos de maturação (14, 28 e 42 dias). As peças provenientes dos contrafilés direitos foram destinadas diretamente ao processo de maturação (controle; não-congelados), enquanto as peças provenientes dos contrafilés esquerdos foram embaladas em filme plástico, congeladas em congelador comercial (-20 °C) e mantidas congeladas por 7 dias antes do descongelamento (4 °C/24h) e maturação.

O processo de maturação a seco foi conduzido em geladeira comercial de 4 portas (modelo GREP-4P; Gelopar; Chapada Araucária, PR, Brasil), sem ventilação forçada e com temperatura média de $4,2 \pm 1,1$ °C e umidade relativa média de $78,5 \pm 8,7\%$, acompanhadas com um termohigrômetro digital (Data Logger HT500; Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Durante a maturação, a disposição de cada peça nas prateleiras da geladeira foi alterada, aleatoriamente, a cada sete dias de forma a evitar qualquer efeito de posição entre os tratamentos.

2.2 Perdas de massa e de rendimento

As perdas de massa durante os processos de congelamento/descongelamento e maturação foram avaliadas, pesando-se as peças antes e após cada etapa. As perdas de exsudação no descongelamento (PDE) foram calculadas nas seções dos contrafilés esquerdos, antes da disposição na maturação. As perdas por evaporação (PEV), pela desossa e pela toaleta (peças após a remoção das superfícies secas e descoloridas dos cortes) foram calculadas após cada tempo de maturação. O rendimento do processo e as perdas foram determinados da seguinte forma:

$$\text{PDE (\%)} = (\text{peso antes do congelamento/peso descongelado}) \times 100$$

$$\text{PEV (\%)} = (\text{peso após a maturação/peso no dia zero de maturação}) \times 100$$

$$\text{Desossa (\%)} = (\text{peso após a desossa/peso antes da desossa}) \times 100$$

$$\text{Toaleta (\%)} = (\text{peso após a toaleta/ peso antes da toaleta}) \times 100$$

$$\text{Rendimento (\%)} = 100 \times (1 - \text{PDE}/100) \times (1 - \text{PEV}/100) \times (1 - \text{Desossa}/100) \times (1 - \text{Toalete}/100)$$

Após a obtenção do corte, desossado e limpo, apenas a região da área do olho-de-lombo (músculo *Longissimus thoracis*) foi utilizada na condução das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

2.3 pH, atividade de água, capacidade de retenção de água e composição

Um pHmetro portátil Testo 206-pH2 (Testo do Brasil, Campinas, SP, Brasil) com eletrodo de penetração foi utilizado para medir o pH em três diferentes pontos da peça. Uma porção de cada peça foi removida e triturada para condução das análises de: composição centesimal (umidade, proteína, gordura e cinzas), utilizando infravermelho próximo (NIR) em aparelho FoodScan™ (FOSS Analytical A/S, Hillerod, Dinamarca); atividade de água (aw), em aparelho Aqualab® CX2 (Decagon Devices Inc., Pullman, Estados Unidos); e capacidade de retenção de água (CRA), pelo método de pressão em papel filtro (MPPF), descrito por Aroeira et al. (2016).

2.4 Frações do colágeno e fragmentação miofibrilar

As frações solúveis e insolúveis do colágeno foram separadas após aquecimento a 77 °C por 70 min (Hill, 1966) e o teor de colágeno (mg/g) quantificado pela determinação do aminoácido hidroxiprolina (Bergman & Loxley, 1963), utilizando o fator 7,52 para converter a hidroxiprolina em colágeno na fração solúvel e 7,25 na 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. (2016), aferindo-se o peso dos fragmentos retidos após trituração (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em solução de extração (sacarose 0,25 M e KCl 2 mM; razão 1:5 p/v) e filtração em malha de 250 µm. Os resultados foram expressos como o peso (em g) dos fragmentos retidos na malha × 100.

2.5 Perda de massa no cozimento e força de cisalhamento

A perda de massa no cozimento (PMC) foi determinada em banho-maria, conforme descrito por Rodrigues et al. (2020). Amostras retangulares (8,0 x 4,0 cm) foram obtidas de bifes de 2,54 cm de espessura, pesadas, embaladas a vácuo (BS420; R.Baião, Ubá, MG, Brasil) em filme de náilon-polietileno (90 μm de espessura e taxa de transmissão de oxigênio de 30 a 60 $\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{dia}/\text{atm}$) e cozidas em banho-maria a 80 °C até temperatura interna de 71 °C. Após resfriadas por 1 hora (4 °C), as amostras foram removidas das embalagens, secas com papel toalha, novamente pesadas e o percentual de perda de massa calculado, pela diferença entre a pesagem da amostra antes e após o cozimento.

A força de cisalhamento foi determinada, segundo método *Warner-Bratzler square Shear Force* (WBsSF), proposto por Silva, Torres Filho, Cazedey, Fontes, Ramos, and Ramos (2015), utilizando um texturômetro TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK). De cada amostra retangular cozida na determinação da PMC, seis seções retangulares (1,0 x 1,0 x ~ 2,5 cm) foram obtidas no sentido das fibras musculares e cisalhadas transversalmente (3,33 mm/s) por uma lâmina tipo *Warner-Bratzler*. A força máxima (N) necessária para cisalhar por completo cada seção foi medida e tomada a média das leituras para cada bife.

2.6 Análise Sensorial

Para análise sensorial, foram selecionados e treinados 14 painelistas (8 mulheres e 6 homens, com idades entre 18 e 50 anos), conforme procedimentos descritos por Cross, Moen e Stanfield (1978), utilizando como âncoras: para percepção da maciez, filé mignon como “extremamente macia” e contrafilé com a condição rigor de descongelamento como “extremamente dura”; para percepção da suculência, contrafilés grelhados até a temperatura interna de 60 °C como “suculenta” e até a temperatura interna de 90 °C como “pouco suculenta”.

Para análise das amostras dos tratamentos, bifes de 2,54 cm de espessura foram grelhados (Grill Mega; Britânia, PR, Brasil) até temperatura interna de 71 °C e seções retangulares (1,0 x 1,0 x ~2,5 cm) foram obtidas no sentido das fibras musculares. Em cada tempo de armazenamento, os tratamentos (amostras congeladas e não-congeladas) foram avaliados em 3 repetições, sendo as 24 amostras analisadas em 8 sessões, com 3 amostras por sessão. Cada amostra foi avaliada em 3

repetições. As amostras foram servidas (35-40 °C), de forma monádica, sendo pedido aos painelistas que registrassem suas respostas quanto à maciez e à suculência em escalas estruturadas de 8 pontos, onde a nota 1 representava amostras “extremamente duras” ou “pouco suculentas” e a nota 8 amostras “extremamente macias” ou “suculentas”.

2.7 Características tecnológicas associadas à cor

Os índices de cor, a proporção de pigmentos químicos da mioglobina, a atividade redutora de metamioglobina (MRA) e a taxa de consumo de oxigênio (TCO) nas carnes foram determinadas utilizando um espectrofotômetro portátil CM-700d (Kônica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão), com abertura de porta de 8 mm, padronizado para mensuração com o iluminante A, ângulo de 10° para o observador, em ambos os modos de luz especular excluída (SCE) e incluída (SCI).

Bifes com 2,54 cm de espessura foram obtidos e expostos ao ar atmosférico por 30 min à temperatura ambiente para oxigenação (*blooming*). Os índices de cor (luminosidade, L^* ; índice de vermelho, a^* ; índice de amarelo, b^* ; saturação, C^* ; e ângulo de tonalidade, h) foram obtidos e registrados a partir da média de 5 leituras conduzidas no modo SCE em diferentes pontos da superfície do bife. Os valores de reflectância (400 a 710 nm) registrados no modo SCI foram utilizados na estimativa das proporções dos pigmentos químicos da mioglobina (metamioglobina, MMb; oximioglobina, O_2Mb ; e mioglobina reduzida, Mb^+), calculados pelo método matemático de Krzywicki (1979).

A TCO e a MRA foram avaliadas em peças (5 x 5 x 1,25 cm) obtidas do bife de 2,54 cm de espessura após a leitura da cor. Cada variável foi avaliada em duplicata, seguindo os procedimentos descritos por Rodrigues et al. (2020). A TCO foi determinada pela conversão da oximioglobina (O_2Mb) a deoximioglobina (Mb^+) após 20 min sob vácuo (Madhavi & Carpenter, 1993), sendo expressa como a porcentagem de O_2Mb consumida. A MRA foi determinada pelo método da atividade redutora de MMb óxido nítrico (NORA), proposta por Watts, Kendrick, Zipser, Hutchins, and Saleh (1966), em que a proporção de MMb imediatamente formada após oxidação com solução de nitrito de sódio 0,3% foi registrada (MMbi) e a capacidade redutora (MRA) determinada como a porcentagem de redução de MMb após um período de incubação de 2h sob vácuo e em temperatura ambiente.

2.8 Análises microbiológicas

Para a contagem de mesófilos totais, psicrotróficos e bactérias do ácido láctico (BAL), 25 g de amostra de cada tratamento foram assepticamente coletadas, acondicionadas em sacos plásticos estéreis, adicionadas de 225 mL de água peptonada (0,1%) e homogeneizadas por 3 min em *Stomacher* (Metroterm, Brasil; 490 golpes/min). Diluições decimais sucessivas foram preparadas em tubos contendo 9 mL de água peptonada (0,1%) e as análises microbiológicas conduzidas, segundo técnicas descritas por Silva, Junqueira, Silveira, Taniwaki, Gomes, and Okazaki (2017). A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foi determinada após plaqueamento em meio *Trypticase Soy Agar* (TSA). Para a contagem de mesófilos, foi utilizada a técnica de plaqueamento em profundidade com posterior incubação a 37 °C/48h, enquanto para a contagem de psicrotróficos utilizou-se o plaqueamento em superfície e incubação a 7 °C/7 dias. A contagem de BAL foi feita em ágar Man, Rogosa & Sharpe (MRS), empregando a técnica de plaqueamento em profundidade com sobrecamada, após incubação a 30 °C/48h.

2.9 Análise estatística

O experimento foi disposto em um delineamento em blocos casualizados (DBC), em que o bloco foi constituído por cada animal (6 repetições) para as análises tecnológicas e microbiológicas e por cada painelistas para as análises sensoriais (14 membros). Os dados foram arranjados em um esquema fatorial 2 (tratamentos) x 4 (tempos de armazenamento), e submetidos à ANOVA, considerando um nível de significância de 5%. Quando significativos, os efeitos dos fatores foram avaliados pelo teste F ou Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no *software* Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

3 Resultados e Discussão

3.1 Perdas de massa e de rendimento

Além da perda de massa no descongelamento ($PDE = 0,97 \pm 1,42$ %), o congelamento das amostras de carne bovina resultou em maiores perdas devido à evaporação (cerca de 3,7%) e ao

processo de desossa (cerca de 4,7%), o que resultou em um rendimento médio final 6,05 % menor do que quando são usadas amostras não congeladas (controle) (Tabela 1). Bernardo et al. (2020) relataram que o congelamento prévio à maturação a seco de 28 dias de carnes desossadas, resultou em um aumento de cerca de 4% na perda por evaporação e de 11% nas perdas totais. Estas diferenças em relação às perdas totais ocorreram devido aos menores valores de PDE encontrados neste trabalho, o que pode ter ocorrido pela presença do osso nas peças. DeGeer, Hunt, Bratcher, Crozier-Dodson, Johnson, and Stika (2009) e O'Sullivan, Cruz-Romero, and Kerry (2018) avaliaram carnes maturadas a seco com e sem osso e também afirmaram que a manutenção da base óssea é vantajosa para o rendimento do produto por reduzir a superfície de contato para o movimento da água.

Entretanto, devido à presença do osso e às condições de armazenamento utilizadas neste estudo (4,2 °C/78,5% de umidade relativa/ sem fluxo de ar forçado) em comparação com as utilizadas por Bernardo et al. (2020) (2 °C/70% de umidade relativa/ fluxo de ar de 2,5 m/s), era esperado que os valores de perda por evaporação e toailete, aqui encontrados, também fossem consideravelmente menores. Segundo Dashdorj et al. (2016), menor temperatura, menor umidade relativa e maior fluxo de ar geram o aumento de perdas por evaporação e maior ressecamento da superfície, o que resulta em maiores perdas durante a toailete. Apesar de menores perdas serem esperadas neste estudo, desconsiderando as perdas com a desossa, aos 28 dias as perdas totais caem para, em média, 51% nas amostras congeladas e 42% para as amostras controle, valores próximos aos relatados por Bernardo et al. (2020).

O rendimento também foi afetado pelo tempo de maturação, caindo ($P < 0,05$), entre os tempos analisados, até o 28º dia e se estabilizando no 42º dia. Laster et al. (2008) observaram resultado semelhante em carnes maturadas a seco por até 35 dias, afirmando que carnes maturadas por 14 e 21 dias apresentaram maior rendimento que as maturadas por 28 e 35 dias.

Tabela 1. Efeitos do tratamento (T) e do tempo de maturação a seco (M) nas perdas de massa e rendimento do processo e nos valores de pH, capacidade de retenção de água (CRA), atividade de água e composição centesimal de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore

Característica	Tratamento		Maturação a seco (dias)				EPM	<i>Pr</i> > <i>F</i> ^l		
	Controle	Congelado	0	14	28	42		T	M	TxM
Perdas de massa (%)										
Evaporação	15,74	19,43	0,00	15,84	24,90	29,61	1,71	<0,001	<0,001	0,005
Desossa	28,75 ^y	33,44 ^x	31,05	27,83	31,81	33,69	0,91	0,003	0,060	0,365
Toalete	19,64	20,74	0,00 ^c	21,69 ^b	28,50 ^{ab}	30,58 ^a	2,06	0,612	<0,001	0,062
Rendimento (%)	49,07 ^x	43,02 ^y	68,71 ^a	46,78 ^b	36,45 ^c	32,23 ^c	2,25	0,001	<0,001	0,600
pH	5,69	5,74	5,66	5,76	5,66	5,78	0,03	0,218	0,155	0,310
CRA	0,39	0,43	0,36 ^b	0,33 ^b	0,36 ^b	0,62 ^a	0,03	0,343	<0,001	0,218
Atividade de água	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98	0,98	<0,01	<0,001	<0,001	0,002
Composição centesimal (%)										
Umidade	72,64	71,75	73,46	73,08	72,47	69,91	0,30	0,001	<0,001	0,018
Proteína	23,48	24,13	22,47	23,25	23,79	25,62	0,22	0,001	<0,001	0,042
Gorduras	2,18	2,25	2,48	1,77	2,07	2,49	0,15	0,784	0,099	0,107
Cinzas	1,70	1,81	1,59	1,90	1,53	1,99	0,12	0,392	0,171	0,370

Controle = amostras frescas (não-congeladas); Congelado = amostras congeladas (-18 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); EPM = erro padrão da média.

^l Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x,y} Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c} Médias seguidas de letras diferentes, entre dias de maturação, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Entre as perdas, apenas aquelas oriundas da evaporação foram afetadas ($P < 0,05$) pela interação tratamento e tempo de maturação, sendo os efeitos decompostos e representados na Figura 1. A perda por evaporação foi maior ($P < 0,05$) nas amostras congeladas que nas amostras controle apenas no 28° e 42° dias de maturação. Nas amostras congeladas, a perda por evaporação aumentou entre os tempos analisados até o 28° dia e se estabilizou no 42° dia, enquanto nas amostras controle houve aumento do dia 0 ao dia 42.

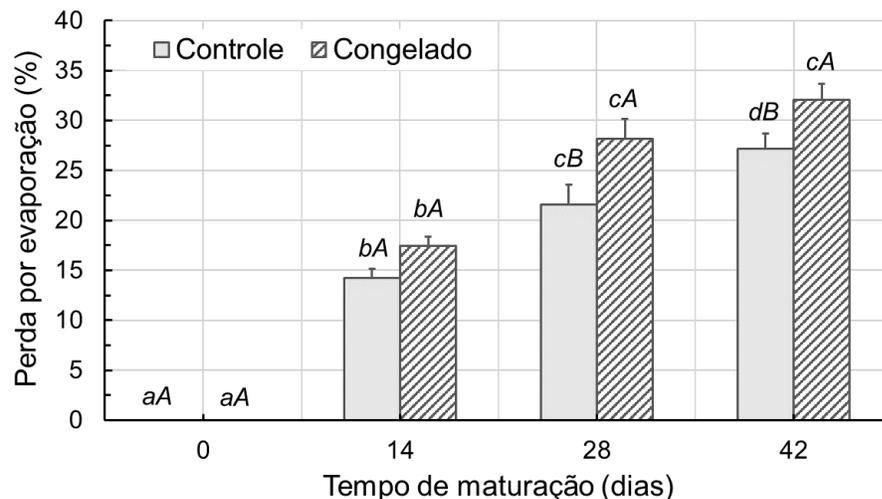


Figura 1. Valores médios das perdas de massa por evaporação de peças de contrafilés durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

O congelamento, principalmente o lento, danifica a integridade estrutural da membrana celular devido a formação de cristais de gelo, o que gera aumento da vazão de água da região intracelular para a extracelular, entre fibras e feixes de fibras musculares (canais de gotejamento), após o descongelamento (Grujić, Petrović, Pikula, & Amidžić, 1993; Leygonie, Britz, & Hoffman, 2012). Assim, durante o período de maturação a seco, a água extracelular da carne é progressivamente drenada através dos canais de gotejamento para a superfície, aumentando as perdas de evaporação com o tempo. Maiores perdas de massa, por exsudação ou evaporação, em amostras congeladas quando comparado às não-congeladas são reportadas tanto no processo de maturação a seco (Bernardo et al., 2020) quanto no de maturação a vácuo (Aroeira et al., 2016; Sales et al., 2020).

Já o processo de limpeza (toalete) das crostas formadas com as perdas por evaporação foi afetado ($P < 0,05$) apenas pelo tempo de maturação. Bernardo et al. (2020) também não encontraram efeito significativo do congelamento na toalete de carnes bovinas maturadas a seco por 28 dias. Maiores perdas na toalete com maiores tempos de maturação a seco são previstas, já que maiores períodos de maturação geram crostas mais grossas, acarretando maiores perdas (Laster et al., 2008).

3.2 pH, capacidade de retenção de água, atividade de água e composição

Os valores de pH e capacidade de retenção de água (CRA) não foram afetados ($P > 0,05$) pelo tratamento (Tabela 1). Estes resultados corroboram os relatos de ausência de efeito do congelamento/descongelamento nos valores de pH de carnes maturadas a seco (Bernardo et al., 2020) ou a vácuo (Carolino, Rodrigues, Bressan, Carolino, Espadinha, & Telo da Gama, 2009; Haddad, 2020) e nos valores de CRA de carnes maturadas a vácuo (Aroeira et al., 2016; Sales et al., 2020). Entretanto, alguns trabalhos ((Aroeira et al., 2016; Kim & Kim, 2017; Sales et al., 2020) têm reportado menores valores de pH em carnes congeladas/descongeladas e maturadas.

O tempo de maturação não afetou os valores de pH ($P > 0,05$), mas a CRA aumentou ($P < 0,05$) no 28° e 42° dias. A melhoria da CRA, medida pela pressão em papel de filtro, pode ser explicada pela degradação das proteínas citoesqueléticas (desmina, vinculina, sinemina e talina) durante a proteólise *post mortem* (Aroeira et al., 2016). Quando estas ligações são degradadas, há uma expansão do diâmetro da fibra muscular, aumentando o espaço intracelular disponível para acomodação das moléculas de água (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005) e, conseqüentemente, reduzindo a exsudação com aplicação de força externa. Além disso, aos 28 e 42 dias de maturação as amostras apresentaram maiores perdas por evaporação, logo tinham menos água para perder.

A atividade de água e os teores de umidade e proteína das carnes foram afetados ($P < 0,05$) pela interação entre o tratamento e o tempo de maturação (Tabela 1). Os valores de atividade de água das amostras reduziram com o tempo de maturação, sendo sempre superiores nas amostras controle do que nas amostras congeladas/descongeladas (Figura 2). Esta redução na água livre está relacionada às maiores perdas por evaporação nas amostras congeladas durante maturação, o que também acarretou ($P < 0,05$) em maiores perdas de umidade (Figura 3).

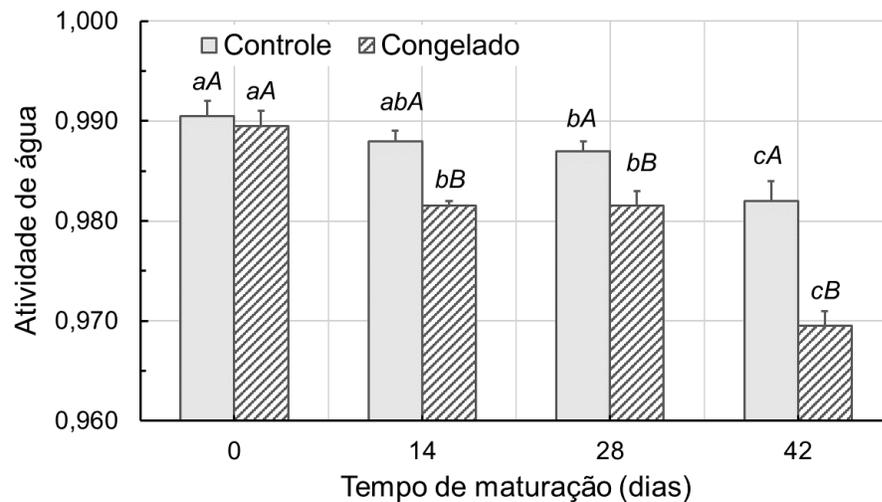


Figura 2. Valores médios da atividade de água de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Bernardo et al. (2020) observaram menores valores de umidade das carnes que foram congeladas e maturadas a seco por 28 dias quando comparado às amostras controle. Neste experimento, no entanto, diferenças significativas nos valores de umidade das amostras congeladas em relação ao controle, somente foram observadas aos 42 dias de maturação.

As maiores perdas por evaporação também acarretaram o aumento do teor de proteínas da carne com a maturação (Figura 3), especialmente nas carnes congeladas, tendo um comportamento semelhante, embora inverso, aos valores de umidade. Uma vez que as amostras congeladas perderam mais água, os demais constituintes da carne tendem a estar mais concentrados. Assim, uma redução no conteúdo de água implicou no aumento no conteúdo de proteínas, uma vez que estes constituintes estão intimamente relacionados entre si (Lawrie, 2006), mas não afetou ($P > 0,05$) os teores de gordura e cinzas, presentes em proporções muito menores no músculo. Diferenças devido ao congelamento e comportamento semelhante na composição da carne também foi relatada por Haddad (2020) em carnes embaladas vácuo e armazenadas por longo período de estocagem (42 dias).

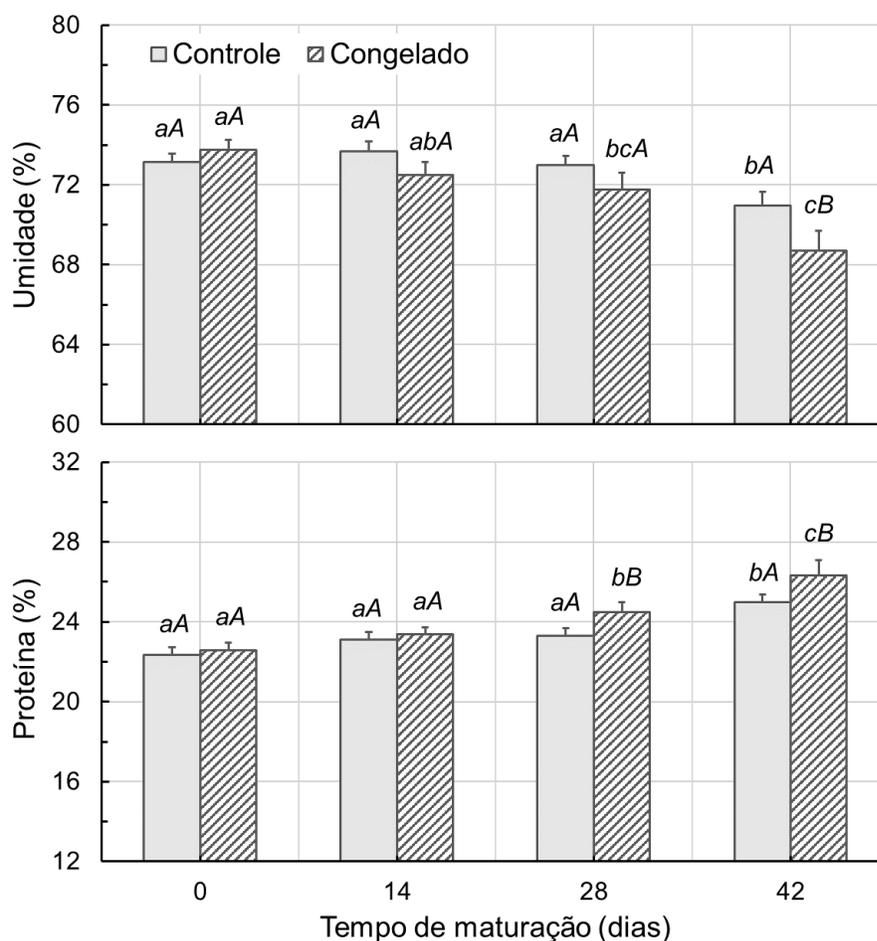


Figura 3. Valores médios dos teores de umidade e proteína em músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

3.3 Características tecnológicas associadas à maciez

O tratamento não afetou ($P > 0,05$) o conteúdo de colágeno total e suas frações (insolúvel e solúvel), mas houve ($P < 0,05$) efeito isolado do tempo de maturação (Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos do tratamento (T) e do tempo de maturação (M) nas características tecnológicas associadas à maciez e na percepção sensorial de maciez e suculência de músculos (*L. thoracis*) de contrafilés bovinos da raça Nelore

Característica	Tratamento		Maturação a seco (dias)				EPM	<i>Pr > F</i> ¹		
	Controle	Congelado	0	14	28	42		T	M	TxM
Teor de colágeno (mg/g)										
Fração insolúvel	1,82	1,94	1,55 ^b	1,60 ^b	2,24 ^a	2,16 ^a	0,07	0,258	<0,001	0,344
Fração solúvel	0,41	0,39	0,32 ^b	0,36 ^b	0,50 ^{ab}	0,42 ^a	0,03	0,782	0,034	0,594
Total	2,23	2,33	1,86 ^b	1,95 ^b	2,74 ^a	2,58 ^a	0,09	0,406	<0,001	0,738
Colágeno solúvel (%)	17,98	16,46	16,87	18,28	17,50	16,21	0,66	0,221	0,685	0,123
Índice de fragmentação	383,43	375,88	475,85	393,61	312,34	336,81	14,37	0,729	<0,001	0,037
PMC (%)	20,81	17,65	22,35	20,14	19,35	15,06	0,71	0,001	<0,001	0,001
Força de cisalhamento (N)	36,07	32,06	59,11	30,61	24,77	21,77	2,63	0,137	<0,001	0,042
Percepção sensorial ²										
Maciez	7,19	7,33	5,94	7,35	7,77	8,00	0,09	0,324	<0,001	0,046
Suculência	6,90	6,45	6,38	7,03	6,78	6,50	0,09	0,002	0,006	0,008

Controle = amostras frescas (não-congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); EPM = erro padrão da média; e PMC = perda de massa no cozimento.

¹ Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representadas em negrito.

² Notas em uma escala estruturada de 8 pontos (1 = extremamente dura/pouco suculenta; e 8 = extremamente macia/suculenta).

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes, entre dias de maturação, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

De forma geral, os teores de colágeno aumentaram ($P < 0,05$) no 28º dia de maturação e provavelmente são oriundas de uma concentração de soluto devido às elevadas perdas de água observadas. Isto não está de acordo com o relato de maiores teores de colágeno insolúvel e total em amostras congeladas/descongeladas durante a maturação a vácuo quando comparadas com amostras não congeladas (Haddad, 2020; Sales et al., 2020). No presente experimento, diferenças devido ao congelamento não foram observadas provavelmente devido ao fato de que na maturação a seco as perdas de água são muito maiores e elas ocorrem principalmente por evaporação, não havendo lixiviação da fração solúvel do colágeno pelo exsudado.

Para o grau de fragmentação miofibrilar, medido pelo índice de fragmentação (IF), a interação tratamento x maturação foi significativa (Tabela 2). Ao se decompor a interação (Figura 4), foi observado que, apesar de haver uma redução ($P < 0,05$) nos valores de IF com a maturação em ambos os tratamentos, nas amostras controle uma redução significativa ocorreu apenas no 28º dia, enquanto para as amostras congeladas um período de 14 dias de maturação foi suficiente para redução nos valores de IF. Menores valores de IF representam uma maior degradação miofibrilar e, possivelmente, uma maior maciez. Desta forma, o processo de congelamento/descongelamento acelerou a proteólise das amostras durante a maturação, o que corrobora os resultados reportados por Aroeira et al. (2016) e Sales et al. (2020) para a IF de carne de bovinos da raça Nelore quando congeladas e maturadas a vácuo.

Maior proteólise na carne congelada/descongelada e maturada, em comparação com aquela não congelada, também foi relatado por outros estudos (Colle et al., 2018; Grayson et al., 2014; Setyabrata & Kim, 2019; Zhang & Erbjerg, 2018), e tem sido justificado pelo efeito combinado na perda da integridade estrutural das miofibrilas, causada pela formação de cristais de gelo, e no aumento da atividade enzimática *post mortem* das calpaínas, causada pela liberação de cálcio livre no sarcoplasma e, ou, desnaturação do inibidor calpastatina, ambas induzidas pelo congelamento (Haddad, 2020; Sales et al., 2020).

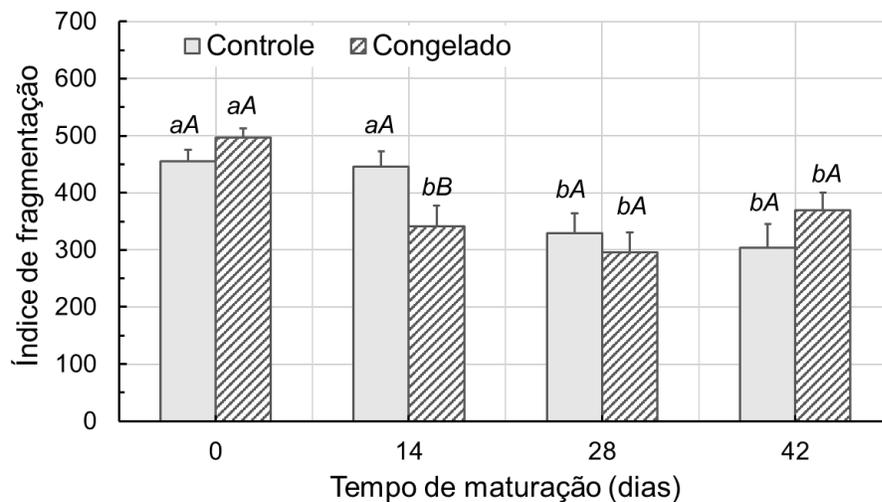


Figura 4. Valores médios do índice de fragmentação de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

A perda de massa pelo cozimento (PMC) e a força de cisalhamento (FC) também foram afetados ($P < 0,05$) pela interação entre os tratamentos e o tempo de maturação (Tabela 2). Nas amostras controle, a PMC se manteve constante ($P > 0,05$) durante todo período de maturação, mas nas amostras congeladas foi verificado ($P < 0,05$) uma redução nos valores médios (Figura 5). Além disso, exceto para o tempo zero, os valores de PMC das amostras controle foram maiores ($P < 0,05$) do que nas amostras congeladas. Menores perdas durante a cocção podem estar relacionadas a maiores perdas de água com a maturação, especialmente nas amostras congeladas, como também observado por Aroeira et al. (2016) em carnes maturadas a vácuo. Bernardo et al. (2020) também relataram menores valores de PMC em amostras congeladas/descongeladas e maturadas a seco por 28 dias. Iida et al. (2016), entretanto, avaliaram carnes maturadas a seco de 4 a 60 dias e observaram que carnes maturadas por 4, 40 e 50 dias apresentaram menor PMC que aquelas maturadas por 11, 20, 30 e 60 dias. Já DeGeer et al. (2009) não encontraram diferenças significativas entre carnes maturadas a seco por 21 e 28 dias.

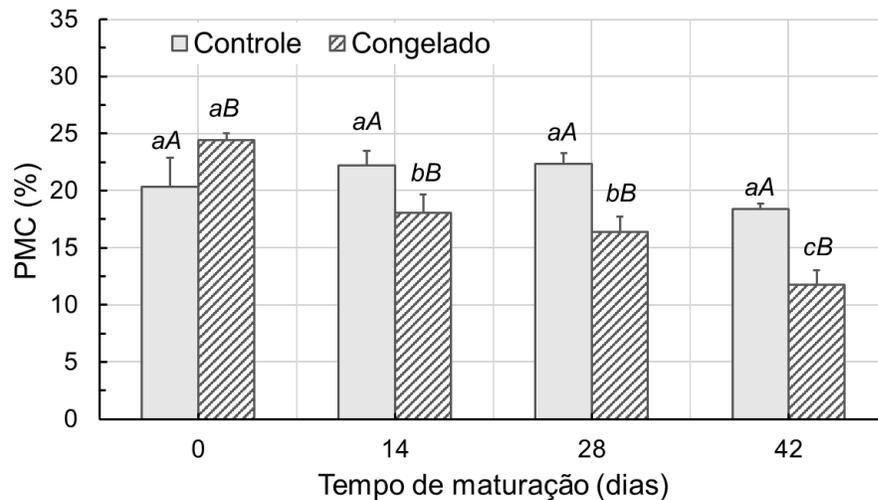


Figura 5. Valores médios da perda de massa pelo cozimento (PMC) de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Em relação a FC, houve uma redução significativa com o tempo de maturação (Figura 6), mas nas amostras controle esta redução foi gradativa, alcançando os menores valores no 28° e 42° dias. Nas amostras congeladas, no entanto, a redução já foi significativa no 14° dia de maturação, e os valores mantiveram-se estatisticamente constante durante o restante do período de maturação. Ainda, no 14° dia, os valores de FC das amostras congeladas foram menores ($P < 0,05$) do que os das amostras controle, não havendo ($P > 0,05$) diferença no 28° e 42° dias de maturação. Este resultado é condizente com o encontrado para o IF e indica que a redução na FC com o congelamento/descongelamento ocorreu devido a um aumento na proteólise da carne durante a maturação.

Bernardo et al. (2020) não encontraram diferença significativa nos valores de FC entre carnes congeladas ou não e maturadas a seco por 28 dias, o que condiz com os resultados observados neste estudo para o mesmo período de maturação. Smith et al. (2008), avaliando a força de cisalhamento de carnes maturadas a seco por 14 a 35 dias e que não passaram pelo processo de congelamento, constataram o ápice de maciez após 28 dias de maturação.

Outros autores (Aroeira et al., 2016; Grayson et al., 2014; Haddad, 2020; Sales et al., 2020) também verificaram que carnes congeladas/descongeladas e maturadas a vácuo alcançavam a

mesma FC de carnes não congeladas, porém em menores períodos de maturação. Aroeira et al. (2016) e Haddad (2020) relataram que o congelamento foi suficiente para reduzir em ~14 N os valores de FC de carnes de animais Aberdeen Angus e Nelore, respectivamente, logo após o descongelamento. Estes autores atribuíram esta redução aos danos mecânicos (danos criogênicos) na estrutura miofibrilar causados pela formação de cristais de gelo durante o processo de congelamento/descongelamento. No entanto, este efeito não foi observado neste experimento, uma vez que as amostras descongeladas não diferiram ($P > 0,05$) das controle quando não maturadas. Assim, a redução na FC neste experimento parece ter sido atribuída aos efeitos positivos na proteólise da carne induzida pelo congelamento/descongelamento, conforme anteriormente discutido, e não diretamente pelos danos criogênicos.

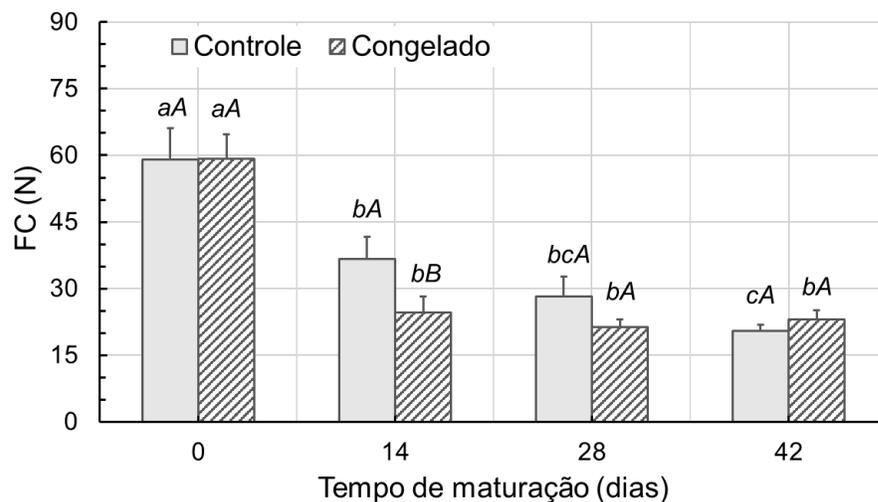


Figura 6. Valores médios da força de cisalhamento (FC) de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Os resultados para a percepção sensorial de maciez (Figura 7) corroboram os efeitos encontrados para os valores de FC, ou seja, carnes congeladas/descongeladas podem ser maturadas a seco por apenas 14 dias para atingir a mesma maciez de carnes maturadas por até 42 dias, enquanto as não-congeladas precisam ser maturadas por, pelo menos, 28 dias para alcançar a mesma maciez. Haddad (2020) também reportou uma maior percepção de maciez nas carnes

congeladas/descongeladas e maturadas a vácuo por 14 dias quando comparadas às carnes maturadas não congeladas.

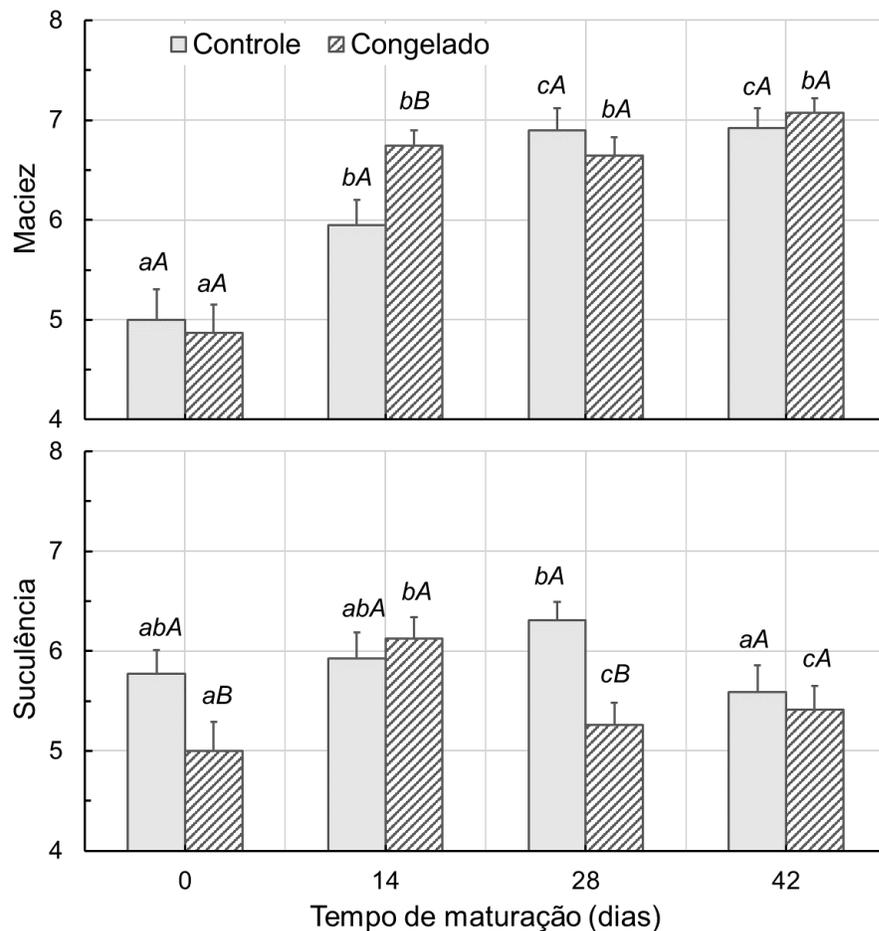


Figura 7. Valores médios das notas sensoriais (1 = extremamente dura/pouco suculenta; e 8 = extremamente macia/suculenta) para os atributos maciez e suculência de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

Entretanto, no estudo feito por Ha et al. (2019) em carnes de gado Hanwoo maturado a seco por até 60 dias, os provadores só observaram maior maciez em músculos *glutaeus medius* (GM) e *semimembranosus* (SM) a partir do 40º dia de maturação e em músculos *longissimus thoracis* (LT) apenas no 60º dia. Já DeGeer et al. (2009) não encontraram diferenças significativas em contrafilés maturados a seco por 21 e 28 dias.

Para o atributo suculência, não foi possível observar um padrão que pudesse ser relacionado aos efeitos do congelamento e, ou, tempo de maturação, variando pouco e de forma aleatória (Figura 7). De forma geral, as notas de suculência ou não diferiram ou foram menores nas amostras congeladas do que nas controle. Campbell, Hunt, Levis, and Chambers (2001) analisaram carnes maturadas a seco de 0 a 21 dias e observaram que a suculência aumentou com o tempo de maturação, o que foi atribuído à concentração da gordura provocada pela perda de umidade. Entretanto, neste estudo, apesar das amostras congeladas terem perdido mais água, o teor de gordura não apresentou alterações significativas e as notas de suculência não acompanharam o padrão de perda. Ao avaliar o armazenamento a vácuo de carne bovina submetida ou não ao congelamento, Haddad (2020) observou que as notas de suculência no 14º dia não diferiram entre os tratamentos e permaneceram constantes no 28º e 42º dias. No entanto, interessante observar que as notas de suculência no tempo zero observadas por estes autores foram similares à observada neste experimento, ou seja, uma redução na suculência é percebida quando a carne não-maturada é cozida após congelada/descongelada.

Períodos entre 14 a 35 dias parecem ser necessários para obtenção dos efeitos desejados da maturação a seco, mas não se tem determinado um tempo mínimo recomendado de maturação para que se possa realmente utilizar a denominação “carne maturada a seco” (Savell, 2008). Embora os valores de FC e as notas sensoriais continuem indicando uma melhora na maciez até o 35º dia de maturação a seco, a partir do 14º dia melhorias significativas são pequenas (Campbell et al., 2001; Laster et al., 2008; Smith et al., 2008). Entretanto, é importante considerar que as carnes utilizadas nestes trabalhos eram oriundas de animais Europeus, cuja proteólise durante a maturação é reconhecidamente maior do que a de gado zebuíno, como o Nelore, sendo necessário mais tempo de maturação neste último para alcançar o mesmo grau de maciez do primeiro (Aroeira et al., 2016).

Em carnes de gado zebuíno, Bernardo et al. (2020) consideraram inviável o congelamento prévio a maturação a seco de 28 dias, devido à ausência de melhoria da FC quando comparado com carnes não-congeladas e ao aumento na perda total do processo, principalmente devido às perdas por evaporação. No entanto, neste experimento a maturação a seco da carne congelada por 14 dias permitiu não só obter carnes mais macias do que a carne não congelada maturada por 28 dias, mas também reduzir significativamente as perdas por evaporação do processo para se alcançar a mesma maciez: de 21,61% nas carnes não-congeladas aos 28 dias de maturação para 17,50% nas carnes congeladas maturadas por 14 dias. A necessidade de um menor tempo de maturação permitiria uma

redução dos custos de produção, contribuindo para a viabilidade do processo. No entanto, deve-se considerar, ainda, o desenvolvimento do sabor e aroma característico da carne maturada a seco. DeGeer et al. (2009) afirmaram que carnes maturadas a seco por 21 dias possuíam o mesmo perfil de sabor daquelas maturadas por 28 dias, porém há necessidade de uma análise sensorial descritiva com consumidores em potencial e não treinados, para avaliar se 14 dias de maturação seriam suficientes para conferir, além da maciez, o sabor típico de carnes maturadas a seco.

3.3 Características tecnológicas associadas à cor

A capacidade redutora da carne foi estimada pela atividade redutora de metamioglobina (MRA), na presença de nitrito de sódio como um agente oxidante (atividade redutora da MMb por óxido nítrico; NORA), e pela formação inicial de metamioglobina (MMb_i) na presença deste oxidante. Embora a MRA tenha sido afetada ($P < 0,05$) pelo congelamento, a MMb_i não foi afetada ($P > 0,05$) por nenhum dos fatores (Tabela 3).

Outros autores (Haddad, 2020; Sales et al., 2020) também reportaram maiores valores de MRA, avaliada pelo teste NORA, em carnes congeladas e maturadas a vácuo do que nas amostras não congeladas. Esta redução na MRA pode ser oriunda de duas condições: 1) perda da integridade estrutural e funcional da mitocôndria (envolvida na redução de MMb pela regeneração de NADH) devido ao congelamento; e 2) perda do cofator NADH por lixiviamento durante o descongelamento e purga (O'Keeffe & Hood, 1982; Seyfert, Mancini, Hunt, Tang, Faustman, & Garcia, 2006) e, ou, pela ação da enzima mitocondrial β -hidroxiacil-CoAdeidrogenase (HADH), liberada no sarcoplasma devido ao dano criogênico (Ramos, Gomide, Ramos, & Peternelli, 2004). No entanto, no caso da maturação a seco não há perdas por exsudação (purga), ou estas são bem menores, durante o armazenamento da carne. Ainda assim, era de se esperar que a MRA reduzisse com o tempo de armazenamento, o que não foi verificado neste experimento. A taxa de consumo de oxigênio (TCO) não foi afetada ($P > 0,05$) por nenhum dos fatores (Tabela 3), o que também não era esperado, já que ambos a MRA e a TCO são influenciados pelo pela perda da integridade e funcionalidade mitocondrial e esgotamento e, ou, degradação de substratos, cofatores e coenzimas (Seyfert et al., 2006) que podem ocorrer em carnes congeladas/descongeladas. Da mesma forma que para MRA, Haddad (2020) e Sales et al. (2020) relataram menores valores de TCO em carnes congeladas e maturadas a vácuo quando comparado à carnes não congeladas.

Tabela 3. Efeitos do tratamento (T) e do tempo de maturação (M) nas características tecnológicas associadas à cor de músculos (*L. thoracis*) de contrafilés bovinos da raça Nelore

Característica	Tratamento		Maturação a seco (dias)				EPM	<i>Pr</i> > <i>F</i> ¹		
	Controle	Congelado	0	14	28	42		T	M	TxM
Atividade redutora (%)										
MRA	28,82 ^x	22,73 ^y	30,81	25,60	22,60	24,25	1,67	0,014	0,194	0,466
MMb _i	35,32	33,84	34,81	36,59	34,77	31,96	0,66	0,176	0,058	0,973
TCO (%)	90,11	86,31	81,01	89,82	91,85	90,59	2,64	0,353	0,357	0,919
Proporção de pigmentos (%)										
Metamioglobina, MMb	16,09 ^y	19,44 ^x	18,33	16,47	17,81	18,44	0,74	<0,001	0,344	0,425
Deoximioglobina, Mb ⁺	17,73	15,86	16,56	15,80	17,69	17,14	1,23	0,296	0,888	0,837
Oximioglobina, O ₂ Mb	66,17	64,70	65,10	67,73	64,50	64,42	0,98	0,395	0,484	0,559
Índice de cor										
Luminosidade, <i>L</i> [*]	45,52 ^x	42,40 ^y	44,78 ^a	45,28 ^a	43,60 ^{ab}	42,19 ^b	0,54	<0,001	0,037	0,180
Índice de vermelho, <i>a</i> [*]	22,22	20,15	20,13	22,93	21,60	20,09	0,38	<0,001	0,004	0,012
Índice de amarelo, <i>b</i> [*]	14,30	12,72	13,59	14,94	13,40	12,12	0,32	0,002	0,002	0,003
Saturação, <i>C</i> [*]	26,44	23,85	24,31	27,37	25,43	23,47	0,48	0,001	0,004	0,006
Ângulo de tonalidade, <i>h</i> (°)	32,73	32,06	34,06	33,02	31,69	30,82	0,33	0,172	<0,001	0,043

MRA = atividade redutora de metamioglobina; MMb_i = formação inicial de metamioglobina; TCO = taxa de consumo de oxigênio; Controle = amostras frescas (não-congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); e EPM = erro padrão da média.

¹ Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x,y} Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c} Médias seguidas de letras diferentes, entre dias de maturação, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Menores valores de MRA com o congelamento sugerem que as amostras congeladas são mais susceptíveis à deterioração da coloração da carne, já que quanto menor a MRA menor a taxa de redução da MMb a Mb⁺ (McKenna, Mies, Baird, Pfeiffer, Ellebracht, & Savell, 2005). Esta redução observada na MRA foi condizente com as maiores proporções de MMb observada ($P < 0,05$) nas amostras congeladas em relação ao controle (Tabela 3), que também foi relatado por outros autores (Aroeira et al., 2017; Haddad, 2020; Jeong, Kim, Yang, & Joo, 2011). Isto também pode ser justificado por um maior contato da mioglobina e de lipídeos com substâncias catalisadoras da oxidação, devido aos danos celulares sofridos a partir da ruptura física provocada pelos cristais de gelo durante o processo de congelamento/descongelamento (Chu, Huffman, Trout, & Egbert, 1987). No entanto, Bernardo et al. (2020) não observaram efeito do congelamento nos valores de TBARS de amostras bovinas maturadas a seco por 28 dias.

Apesar do aumento na proporção de MMb com o congelamento, as proporções de oximioglobina (O₂Mb) e deoximioglobina (Mb⁺) não foram afetadas significativamente por nenhum dos fatores (Tabela 3). Além disso, mesmo com 42 dias de maturação, a proporção de MMb estava bem abaixo dos valores (30-40%) considerados perceptíveis pelos consumidores (Greene & Cumuze, 1982) e que os induziriam a rejeitar a compra da carne.

Na Tabela 3 também estão descritos os efeitos dos tratamentos e maturação nos valores dos índices de cor das carnes. A luminosidade (L^*) foi afetada ($P < 0,05$) por ambos os fatores de forma isolada, enquanto os demais índices (índices de vermelho, a^* , e de amarelo, b^* ; saturação, C^* ; e tonalidade, h) foram afetados ($P < 0,05$) pela interação tratamento x tempo de maturação.

As amostras congeladas apresentaram-se ($P < 0,05$) mais escuras (menores valores de L^*) do que as amostras controle. Esta redução nos valores de L^* com o congelamento também tem sido relatada em amostras maturadas a vácuo (Aroeira et al., 2017; Kim & Kim, 2017; Sales et al., 2020), sendo atribuída à concentração de solutos, ocasionada pelo congelamento/descongelamento, contribuindo para uma maior absorção da luz pelos pigmentos heme e, conseqüentemente, menor luminosidade. Entretanto, em amostras maturadas a seco, Bernardo et al. (2020) não observaram nenhum efeito do congelamento nos valores de L^* .

Além do tratamento, os valores de L^* também foram afetados ($P < 0,05$) pelo tempo de maturação, reduzindo apenas no 42º dia. Em carnes maturadas a vácuo, no entanto, tem sido reportado um aumento nos valores de L^* com o período de maturação (Aroeira et al., 2017; Haddad, 2020; Sales et al., 2020). Li, Babol, Bredie, Nielsen, Tománková, and Lundström (2014), ao

avaliarem visualmente a cor da superfície de carnes maturadas por diferentes métodos, relataram que a carne maturada a seco, da forma tradicional ou embaladas em sacos permeáveis ao vapor d'água, apresentavam uma cor mais escura do que a carne maturada a vácuo no mesmo período de maturação. Dikeman, Obuz, Gök, Akkaya, and Stroda (2013) observaram maiores valores de L^* nas carnes maturadas a vácuo do que naquelas maturadas a seco (na forma tradicional ou embaladas em sacos permeáveis). Assim, considerando as diferenças na forma (purga x evaporação) e extensão (muito maior na maturação a seco) da perda de água entre o processo de maturação a vácuo e a seco, pode-se pressupor que esta redução nos valores de L^* com o tempo na maturação a seco também pode estar relacionada a uma maior concentração de pigmentos.

O comportamento dos índices de cromaticidade (a^* e b^*) durante a maturação foi diferente entre os tratamentos (Figura 8). Nas amostras congeladas, os valores de a^* mantiveram-se constantes ($P > 0,05$) nos tempos 0, 14 e 28 dias, reduzindo no 42º dia de maturação, enquanto nas amostras controle os valores foram menores ($P < 0,05$) no tempo 0, aumentando no 14º dia e mantendo-se constante até o final da maturação. Nas amostras controle, os valores de b^* não se alteraram ($P > 0,05$) com o tempo de maturação, enquanto nas congeladas foi observada uma redução significativa no 28º e depois no 42º dia.

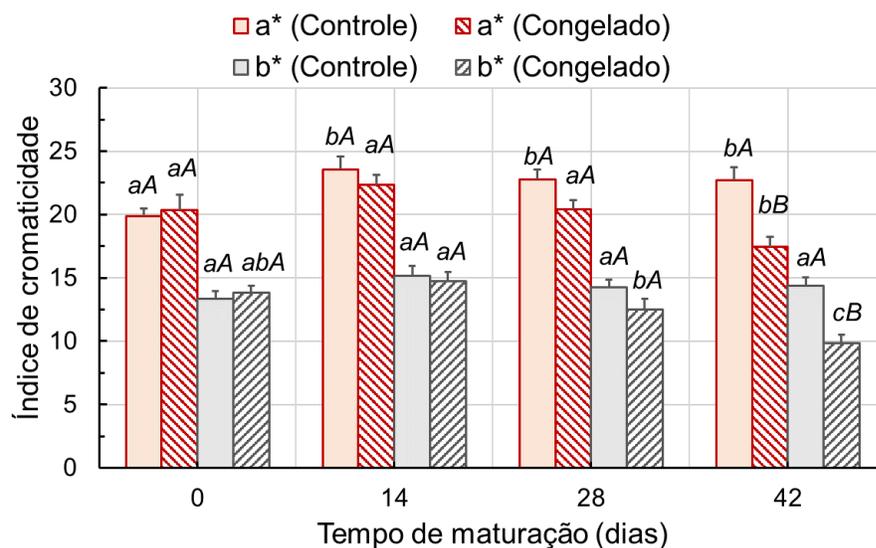


Figura 8. Valores médios dos índices de vermelho (a^*) e de amarelo (b^*) da cor da superfície de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

O comportamento dos valores de C^* foi igual ao comportamento dos valores de a^* , enquanto o comportamento dos valores de h foi similar aos valores de b^* (Figura 9).

Entretanto, para todos estes índices (a^* , b^* , C^* e h), as diferenças entre as amostras controle e congeladas somente foram significativas no 42º dia de maturação. Assim, as amostras congeladas eram mais escuras (menor valor de L^*) e, no 42º dia de maturação a seco, possuíam uma coloração menos intensa (menor valor de C^*) e com maior tonalidade vermelha (menor valor de h) do que as amostras não congeladas.

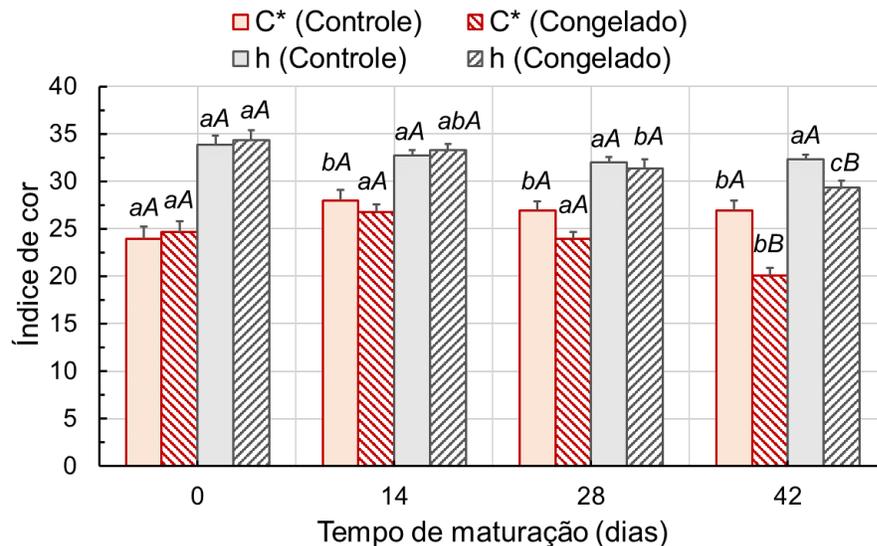


Figura 9. Valores médios da saturação (C^*) e ângulo de tonalidade (h , graus) da cor na superfície de músculos *L. thoracis* durante o período de maturação a seco. Controle = amostras não-congeladas; e Congelado = amostras congeladas ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}/7$ dias) e descongeladas ($4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{h}$). As barras representam o erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes, minúsculas dentro de cada tratamento e maiúsculas em cada tempo, diferem ($P < 0,05$) entre si.

3.4 Avaliação microbiana

Os resultados das análises microbiológicas que avaliaram o desenvolvimento de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e bactérias do ácido lático (BAL) nas amostras estão dispostos na Tabela 4.

A contagem de mesófilos aeróbicos totais não foi afetada ($P > 0,05$) por nenhum dos fatores ou interação (média de $4,33 \pm 0,04$ log UFC/g). Bernardo et al. (2020) também não encontraram efeito do congelamento na contagem de mesófilos de carnes maturadas a seco por 28 dias (contagens entre 3,18 a 3,27 log CFU/g) quando comparado às carnes não congeladas. Outros trabalhos (Campbell et al., 2001; Li et al., 2014) também não verificaram aumento da multiplicação

de mesófilos com o tempo de maturação a seco. Estes resultados podem ser atribuídos, principalmente, à má adaptação destes microrganismos à temperatura de maturação.

As contagens de psicrotróficos e de BAL foram afetadas ($P < 0,05$) pelo tratamento, com as amostras congeladas apresentando maior contagem do que as não congeladas (Tabela 4). O congelamento/descongelamento da carne pode criar condições mais favoráveis à multiplicação microbiana, devido aos danos celulares ocasionados pelos cristais de gelo associado à reativação da atividade microbiana (Coombs, Holman, Friend, & Hopkins, 2017). Bernardo et al. (2020) também observaram maiores contagens de BAL e psicrotróficos nas amostras congeladas após 28 dias de maturação a seco. Já Haddad (2020) observaram maiores contagens de mesófilos e psicrotróficos em carnes congeladas/descongeladas e maturadas a vácuo quando comparado às carnes não-congeladas.

Tabela 4. Efeitos do tratamento e do tempo de maturação a seco na multiplicação de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e de bactérias do ácido lático (BAL) em músculos (*L. thoracis*) de contrafilés bovinos da raça Nelore

Fatores	Efeitos	Mesófilos (log UFC/g)	Psicrotróficos (log UFC/g)	BAL (log UFC/g)
Tratamento	Controle	3,99	3,30 ^x	2,40 ^x
	Congelado	4,66	4,49 ^y	3,16 ^y
Tempo de maturação a seco (dias)	0	3,30	2,20 ^b	2,16 ^b
	14	4,41	4,48 ^a	2,48 ^{ab}
	28	4,97	4,20 ^a	3,30 ^a
	42	4,63	4,73 ^a	3,16 ^a
	EPM	0,26	0,33	0,19
$Pr > F^l$	T	<i>0,142</i>	<i>0,015</i>	<i>0,011</i>
	M	<i>0,093</i>	<i>0,033</i>	<i>0,004</i>
	TxM	<i>0,354</i>	<i>0,127</i>	<i>0,905</i>

Controle = amostras frescas (não-congeladas); Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias) e descongeladas (4 °C/24h); BAL = Bactérias do ácido lático; e EPM = erro padrão da média.

^l Probabilidades significativas ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

^{x,y} Médias seguidas de letras diferentes, entre os tratamentos, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste F.

^{a-c} Médias seguidas de letras diferentes, entre dias de maturação, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

As contagens de psicrotróficos e BAL aumentaram ($P < 0,05$) no 14º dia de maturação, permanecendo constantes até o final do processo, o que provavelmente ocorreu devido à redução dos nutrientes disponíveis, em ambos os casos, e devido à má adaptação à temperatura de maturação no caso das bactérias lácticas. Estes valores são similares aos relatados por Bernardo et al. (2020) para psicrotróficos (contagem entre 4,07 e 5,05 log UFC/g) e BAL (contagem entre 1,53 e 2,56 log UFC/g) após 28 dias de maturação. Outros autores (Campbell et al., 2001; Li et al., 2014) relataram que carnes maturadas a seco apresentavam maior contagem de BAL no decorrer da maturação.

Apesar da maior contagem microbiana nas carnes congeladas, a utilização destas no processo de maturação a seco não foi inviabilizada, uma vez que, mesmo aos 42 dias de maturação, as contagens foram bem menores do que o limite superior de aceitabilidade de 7 log UFC/g recomendado pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMFS, 1986) para a contagem total viável, ou mesmo para padrões de aceitabilidade mais exigentes como o limite de 5 log UFC/g (Gill & Jones, 1994). Além disso, as contagens microbianas observadas aos 42 dias neste experimento estão abaixo das contagens de mesófilos (5,90 log UFC/g), psicotróficos (4,17 log UFC/g) e BAL (4,17 log UFC/g) relatados por Haddad (2020) para carnes (não congeladas e congeladas) embaladas a vácuo e armazenadas pelo mesmo período. Isto demonstra que o processo de maturação a seco, nestas condições, é seguro do ponto de vista microbiológico.

4 Conclusões

O congelamento/descongelamento reduziu o tempo de maturação para 14 dias comparado aos 28 dias necessários para a carne não-congelada, garantindo elevada maciez instrumental e sensorial. Apesar do congelamento aumentar as perdas de massa por descongelamento e evaporação, impactando negativamente o rendimento do processo, estas perdas de massa podem ser compensadas pela redução do tempo de maturação, o que também contribui para a redução de custos com o armazenamento em câmaras de maturação.

Dentre as características de qualidade analisadas, foi observado que os efeitos deletérios da aplicação do processo de congelamento antes da maturação a seco são pequenos. Com o congelamento carnes tornaram-se mais escuras, mas mudanças nos demais índices de cor foram

observados apenas nas amostras congeladas no 42º dia de maturação, que se tonaram mais avermelhadas e com menor intensidade. Também foi verificado um aumento na contagem de BAL e psicrotróficos, mas todas as amostras apresentaram boa qualidade microbiológica no final do processo de maturação, ficando bem abaixo do limite microbiológico máximo considerado aceitável.

Concluiu-se que o processo de congelamento antes da maturação a seco é vantajoso por reduzir o tempo necessário para se garantir a maciez desejada. No entanto, é necessário avaliar os impactos desta redução no tempo de maturação no aroma e sabor característicos associados à carnes maturadas a seco.

5. Referências

- Ahnström, M. L., Seyfert, M., Hunt, M. C., & Johnson, D. E. (2006). Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Science*, *73*(4), 674-679. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.006>
- 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., 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>
- Berger, J., Kim, Y. H. B., Legako, J. F., Martini, S., Lee, J., Ebner, P., & Zuelly, S. M. S. (2018). Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. *Meat Science*, *145*, 285-291. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.004>
- 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>
- Bernardo, A. P. d. S., Silva, A. C. M., Francisco, V. C., Ribeiro, F. A., Nassu, R. T., Calkins, C. R., Nascimento, M. d. S., & Pflanzler, S. B. (2020). Effects of freezing and thawing on microbiological and physical-chemical properties of dry-aged beef. *Meat Science*, *161*, 108003. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108003>
- Bressan, M. C., Rossato, L. V., Rodrigues, E. C., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Ramos, E. M., & Gama, L. T. (2011). Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos*

- indicus and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *Journal of Animal Science*, 89(1), 221-232. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2672>
- Campbell, R. E., Hunt, M. C., Levis, P., & Chambers, E. (2001). Dry-Aging Effects on Palatability of Beef Longissimus Muscle. *Journal of Food Science*, 66(2), 196-199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb11315.x>
- Carolino, M. I., Rodrigues, M. I., Bressan, M. C., Carolino, N., Espadinha, P., & Telo da Gama, L. (2009). pH e força de corte da carne de bovinos alentejanos e mertolengos. *Archivos de Zootecnia*, 58(1).
- Chu, Y. H., Huffman, D. L., Trout, G. R., & Egbert, W. R. (1987). Color and Color Stability of Frozen Restructured Beef Steaks: Effect of Sodium Chloride, Tripolyphosphate, Nitrogen Atmosphere, and Processing Procedures. *Journal of Food Science*, 52(4), 869-875. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb14230.x>
- Colle, M. J., Nasados, J. A., Rogers, J. M., Kerby, D. M., Colle, M. M., Van Buren, J. B., Richard, R. P., Murdoch, G. K., Williams, C. J., & Doumit, M. E. (2018). Strategies to improve beef tenderness by activating calpain-2 earlier postmortem. *Meat Science*, 135, 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.08.008>
- Coombs, C. E. O., Holman, B. W. B., Friend, M. A., & Hopkins, D. L. (2017). Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. *Meat Science*, 125, 84-94. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.025>
- 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>
- Dashdorj, D., Tripathi, V. K., Cho, S., Kim, Y., & Hwang, I. (2016). Dry aging of beef; Review. *Journal of animal science and technology*, 58, 20-20. <https://doi.org/10.1186/s40781-016-0101-9>
- DeGeer, S. L., Hunt, M. C., Bratcher, C. L., Crozier-Dodson, B. A., Johnson, D. E., & Stika, J. F. (2009). Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Science*, 83(4), 768-774. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.017>
- Dikeman, M. E., Obuz, E., Gök, V., Akkaya, L., & Stroda, S. (2013). Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef Longissimus lumborum steaks. *Meat Science*, 94(2), 228-233. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.002>
- Gill, C. O., & Jones, T. (1994). The display life of retail-packaged beef steaks after their storage in master packs under various atmospheres. *Meat Science*, 38(3), 385-396. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90065-5](https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90065-5)
- Grayson, A. L., King, D. A., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., & Wheeler, T. L. (2014). Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. *Journal of Animal Science*, 92(6), 2735-2740. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7613>

- Greene, B. E., & Cumuze, T. H. (1982). Relationship Between TBA Numbers and Inexperienced Panelists' Assessments of Oxidized Flavor in Cooked Beef. *Journal of Food Science*, 47(1), 52-54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb11025.x>
- Grujić, R., Petrović, L., Pikula, B., & Amidžić, L. (1993). Definition of the optimum freezing rate—1. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimus dorsi* frozen at different freezing rates. *Meat Science*, 33(3), 301-318. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(93\)90003-Z](https://doi.org/10.1016/0309-1740(93)90003-Z)
- Ha, Y., Hwang, I., Ba, H. V., Ryu, S., Kim, Y., Kang, S. M., Kim, J., Kim, Y., & Cho, S. (2019). 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>
- Haddad, G. B. S. (2020). Efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial da carne de gado Nelore durante o armazenamento refrigerado. *Capítulo 1*.
- Hill, F. (1966). The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *Journal of Food Science*, 31(2), 161-166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1966.tb00472.x>
- 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>
- ICMFS. (1986). *Sampling for microbiological Analysis: Principles and scientific applications* (2nd ed. Vol. 2). Toronto: University of Toronto Press.
- Iida, F., Miyazaki, Y., Tsuyuki, R., Kato, K., Egusa, A., Ogoshi, H., & Nishimura, T. (2016). Changes in taste compounds, breaking properties, and sensory attributes during dry aging of beef from Japanese black cattle. *Meat Science*, 112, 46-51. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.015>
- Jeong, J.-Y., Kim, G.-D., Yang, H.-S., & Joo, S.-T. (2011). Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International*, 44(10), 3222-3228. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.023>
- Kim, H.-W., & Kim, Y. H. B. (2017). Effects of aging and freezing/thawing sequence on quality attributes of bovine *Mm. gluteus medius* and *biceps femoris*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(2), 254-261. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0279>
- 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)
- Laster, M. A., Smith, R. D., Nicholson, K. L., Nicholson, J. D. W., Miller, R. K., Griffin, D. B., Harris, K. B., & Savell, J. W. (2008). Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. *Meat Science*, 80(3), 795-804. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.03.024>
- Lawrie, R. A. (2006). *Lawrie's Meat Science* (7th ed.): Woodhead Publishing.

- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, *91*(2), 93-98.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>
- Li, X., Babol, J., Bredie, W. L. P., Nielsen, B., Tománková, J., & Lundström, K. (2014). A comparative study of beef quality after ageing longissimus muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat Science*, *97*(4), 433-442.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.014>
- Madhavi, D. L., & Carpenter, C. E. (1993). Aging and Processing Affect Color, Metmyoglobin Reductase and Oxygen Consumption of Beef Muscles. *Journal of Food Science*, *58*(5), 939-942. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb06083.x>
- McKenna, D. R., Mies, P. D., Baird, B. E., Pfeiffer, K. D., Ellebracht, J. W., & Savell, J. W. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, *70*(4), 665-682.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.02.016>
- O'Keeffe, M., & Hood, D. E. (1982). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. *Meat Science*, *7*(3), 209-228.
[https://doi.org/10.1016/0309-1740\(82\)90087-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(82)90087-0)
- O'Sullivan, M., Cruz-Romero, M., & Kerry, J. (2018). Sensory and Physiochemical Comparison of Traditional Bone-In Dry-Aged Beef Loin with Bone-Less Dry Ageing and Ageing Using a Moisture Permeable Bag. *Food and Nutrition Sciences*, *9*, 1078-1098.
<https://doi.org/10.4236/fns.2018.99079>
- Ramos, E. M., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L. S., & Peternelli, L. A. (2004). Effect of stunning methods on the differentiation of frozen-thawed bullfrog meat based on the assay of β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase. *Food Chemistry*, *87*(4), 607-611.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.013>
- 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>
- 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>
- Savell, J. W. (2008). Dry-aging of Beef. In, (pp. 12): Cattlemen's Beef Board and National Cattlemen's Beef Association. .
- Setyabrata, D., & Kim, Y. H. B. (2019). Impacts of aging/freezing sequence on microstructure, protein degradation and physico-chemical properties of beef muscles. *Meat Science*, *151*, 64-74. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.01.007>
- Seyfert, M., Mancini, R. A., Hunt, M. C., Tang, J., Faustman, C., & Garcia, M. (2006). Color stability, reducing activity, and cytochrome c oxidase activity of five bovine muscles.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8919-8925.
<https://doi.org/10.1021/jf061657s>
- 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.
- Sitz, B. M., Calkins, C. R., Feuz, D. M., Umberger, W. J., & Eskridge, K. M. (2006). Consumer sensory acceptance and value of wet-aged and dry-aged beef steaks. *Journal of Animal Science*, 84(5), 1221-1226.
- Smith, R. D., Nicholson, K. L., Nicholson, J. D. W., Harris, K. B., Miller, R. K., Griffin, D. B., & Savell, J. W. (2008). Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. *Meat Science*, 79(4), 631-639. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.028>
- USMEF. (2020). Guidelines for U.S. dry aged beef for international markets. In, vol. 2020): Meat Export Federation of USA.
- Watts, B. M., Kendrick, J., Zipser, M. W., Hutchins, B., & Saleh, B. (1966). Enzymatic Reducing Pathways in Meat. *Journal of Food Science*, 31(6), 855-862.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1966.tb03261.x>
- Zhang, Y., & Erthbjerg, P. (2018). Effects of frozen-then-chilled storage on proteolytic enzyme activity and water-holding capacity of pork loin. *Meat Science*, 145, 375-382.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.017>

ARTIGO 3

Artigo redigido conforme a norma do periódico
Journal of Food Science and Technology
“Versão Preliminar”

Efeitos do congelamento/descongelamento e do sistema de maturação no perfil de voláteis e de ácidos graxos da carne de bovinos da raça Nelore

Effects of freezing/thawing on the volatiles and fatty acids profiles of wet- and dry-aged beef from Nelore cattle

RESUMO

Objetivou-se avaliar o perfil de voláteis e ácidos graxos de contrafilés (*Longissimus thoracis*) maturados a seco (FT-DA) ou a vácuo (FT-WA) por 0, 14, 28 ou 42 dias após congelamento (-20 °C/7 dias) e descongelamento (4 °C/24 h). Amostras não-congeladas também foram maturadas como controle (DA e WA). Quanto ao perfil de ácidos graxos, os ácidos palmitoleico e oleico apresentaram maiores concentrações ($P < 0,05$) em carnes maturadas a seco (FT-DA e DA) e o cis10-heptadecanoico e araquídico nas maturadas a vácuo (FT-WA e WA). O ácido eláidico apresentou maior concentração ($P < 0,05$) em amostras congeladas e o araquídico em amostras controle. O ácido eláidico também foi afetado ($P < 0,05$) pelo tempo de maturação. Carnes maturadas a seco apresentaram mais ($P < 0,05$) ácidos graxos insaturados e monoinsaturados que as maturadas a vácuo, o que pode indicar que a maturação a seco gera benefícios a características nutricionais e sensoriais da carne. Maior concentração ($P < 0,05$) de álcoois, cetonas e éster foi observada nas amostras maturadas a seco, especialmente nas amostras congeladas, enquanto maiores concentrações de hidrocarbonetos foram observadas ($P < 0,05$) nas amostras não congeladas e maturadas a vácuo. O acúmulo álcoois, éster e, especialmente, cetonas nas carnes pode ser um indicativo de uma maior oxidação lipídica. A análise de componentes principais mostrou que, em amostras maturadas a vácuo, o congelamento gerou maior associação com maior número de compostos voláteis. Sendo que, em ambos os sistemas de maturação, o congelamento e

o aumento do tempo de maturação estão associados a diferentes compostos que conferem sabores desejáveis.

Palavras-chave: Análise de componentes principais, oxidação lipídica, sabor.

INTRODUÇÃO

Produtores e fornecedores de carne bovina têm enfrentado muitos desafios decorrentes do desequilíbrio entre demanda e capacidade de produção de cortes de carne de alta qualidade, com elevada maciez e altamente marmorizados (Ha et al., 2019). No Brasil, a produção de carne de alta qualidade é limitada e pode variar durante o ano, pois a maioria das carnes (~80%) é oriunda de gado da raça zebu (*Bos indicus*), criados em sistema de pastos, cujo teor de marmoreio e maciez são reconhecidamente menores do que de animais europeus ou norte-americanos (*Bos taurus*) (Aroeira et al., 2016; Bressan et al., 2011). Logo, alternativas que tornem estas carnes mais atrativas são necessárias para fortalecer a comercialização de carnes em países com estas características de produção.

A maturação da carne é um processo eficaz na maximização das características altamente desejadas pelo consumidor, como maciez, suculência e sabor (Huff-Lonergan, Zhang, & Lonergan, 2010). Atualmente dois sistemas de maturação são usados: a maturação úmida, ou *wet aging*, no qual a carne é maturada embalada a vácuo em filmes impermeáveis a gases e vapor d'água; e a maturação a seco, ou *dry aging*, que consiste na maturação da carne sem embalagem e em condições controladas de temperatura e, eventualmente, umidade relativa e fluxo de ar (Laster et al., 2008; Savell, 2008). A carne maturada a seco alcança um alto valor comercial pelo sabor e palatabilidade diferenciados, podendo ser uma alternativa para agregar valor à carnes de animais criados a pasto e baixo teor de marmoreio (Berger et al., 2018; Ha et al., 2019; Haddad, 2020b).

Durante o processo de maturação, ocorre um aumento na quebra de proteínas musculares por proteases endógenas, resultando na formação de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, que são importantes precursores de sabor (Dashdorj, Tripathi, Cho, Kim, & Hwang, 2016). Assim, a escolha do sistema de maturação (*wet* ou *dry aging*) pode alterar a formação destes precursores, afetando a quantidade e a qualidade de compostos voláteis capazes de alterar o sabor e aroma da carne (Ha et al., 2019). O perfil de ácidos graxos também é uma fração importante na síntese de voláteis, uma vez que sofre transformações que resultam na formação de múltiplas substâncias reativas (como ácidos, álcoois, aldeídos ou cetonas), contribuindo de forma direta e indireta no

desenvolvimento do sabor e influenciando a aceitação da carne (Mottram, 1998; O'Quinn et al., 2016).

Recentemente, o congelamento e descongelamento da carne antes da maturação úmida (Aroeira et al., 2016; Haddad, 2020a) ou seca (Haddad, 2020b) foi sugerido como forma de reduzir o tempo de processo e garantir a consistência de maciez desejada. Além de ser um fator importante para prolongar a vida útil da carne, o congelamento permite resolver problemas como sazonalidade, distribuição e oferta, sendo um método praticamente inevitável para grandes frigoríficos e revendedores (Kim, Liesse, Kemp, & Balan, 2015). Bernardo et al. (2020) relataram que o processo de congelamento/descongelamento modificou o perfil de compostos voláteis de carnes de bovinos zebu maturadas a seco por 28 dias. Entretanto, não foi encontrado na literatura científica nenhum trabalho que tenha acompanhado os efeitos do congelamento/descongelamento prévio na composição de voláteis e ácidos graxos da carne bovina em ambos os sistemas de maturação. Assim, este trabalho objetivou investigar os efeitos do congelamento/descongelamento nos perfis de ácidos graxos e de compostos voláteis de carnes de bovinos da raça Nelore durante a maturação por via úmida e seca.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e preparo das amostras

Peças de contrafilés, esquerdo e direito, de 6 bovinos da raça Nelore, foram obtidas 48 horas *post mortem*, ainda com a base óssea, e cada par aleatorizado (3 animais) em dois sistemas de maturação: úmida (*wet aging*, WA) e a seco (*dry aging*, DA). Cada sistema de maturação foi avaliado por amostragens nos tempos 0, 14, 28 e 42 dias.

Os contrafilés destinados ao processo de maturação úmida foram desossados e cada um fracionado em quatro seções: uma de aproximadamente 5 cm, destinada às análises do tempo zero de maturação; e outras três seções, de aproximadamente 12 cm cada, que foram aleatorizadas nos demais tempos de maturação (14, 28 e 42 dias). Cada seção foi individualmente embalada a vácuo (BS420; R.Baião, Ubá, MG, Brasil), em embalagens de náilon-polietileno (90 µm de espessura e taxa de transmissão de oxigênio de 30 a 60 cm³/m²/dia/atm). As seções do contrafilé direito foram destinadas ao tratamento controle (WA), sendo diretamente conduzidos à maturação, enquanto as

do contrafilé esquerdo foram congeladas em *freezer* comercial (-18 °C) e mantidos por 7 dias antes do descongelamento (4 °C/24h) e maturação (FT-WA).

No processo de maturação a seco, os contrafilés da direita também foram destinados ao tratamento controle (DA) e os da esquerda ao tratamento congelado (FT-DA). Os contrafilés foram fracionados ainda com a base óssea, com ajuda de uma serra-fita (modelo SFO 1.69; C.A.F Máquinas; Rio Claro, SP, Brasil), em quatro seções (uma de ~5 cm e três seções de ~12 cm cada) destinadas aos diferentes tempos de maturação. As seções do tratamento DA foram conduzidas diretamente à maturação, sem embalagem, enquanto os do tratamento FT-DA foram congelados em *freezer* comercial (-18 °C), mantidos por 7 dias antes do descongelamento (4 °C/24 h) e maturação.

A maturação das seções de ambos sistemas (*wet* ou *dry aging*) foi conduzida em conjunto, em geladeira comercial de 4 portas (modelo GREP-4P; Gelopar; Chapada Araucária, PR, Brasil), com temperatura média de 4.2 ± 1.1 °C e umidade relativa média de $78.5 \pm 8.7\%$, acompanhadas com um termo-higrômetro digital (Data Logger HT500; Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, São Paulo, SP, Brasil). Durante a maturação, a cada sete dias, a disposição de cada seção nas prateleiras da geladeira foi aleatoriamente alterada, de forma a evitar qualquer efeito de posição entre os tratamentos.

Em cada tempo de maturação determinado (0, 14, 28 e 42 dias), uma amostragem foi feita na área interna do olho-de-lombo (músculo *Longissimus thoracis*) para condução das análises.

Perfil de ácidos graxos

A partir de 2,5g de amostra, análise da composição de ácidos graxos foi feita por cromatografia gasosa após extração dos lipídeos em clorofórmio/metanol (2:1 v/v) (Folch, Lees, & Sloane Stanley, 1957) e esterificação com cloreto de amônio/ácido sulfúrico/metanol (Hartman & Lago, 1973). Uma alíquota (1 µL) do extrato em hexano foi injetado em um cromatógrafo Shimadzu (GC-MS QP2010 Plus, Shimadzu, Japan), ajustado com temperatura do injetor e detector de 260 °C, em modo split 1:20, a uma velocidade linear de 20 cm/s, com rampa de aquecimento temperatura inicial de 140 °C (5 min), e uma taxa de aquecimento de 4 °C/min até 240 °C (30 min). A coluna utilizada foi a SP2560 (100 m x 0,25 mm diâmetro interno x 0,20 µm de espessura de filme). A identificação dos ácidos graxos foi feita através da comparação com os tempos de retenção apresentados pelo padrão cromatográfico SupelcoTM37 FAME Mix (Supelco

Inc., Bellefonte, PA, USA). Os dados foram expressos como porcentagens de área normalizadas dos ácidos graxos, sendo também agrupados em: total de ácidos graxos saturados (SAT), total de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), total de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), total de ácidos graxos insaturados (INS), total de ômega-6 (ω 6) e ômega-3 (ω 3) e suas relações.

Perfil de compostos voláteis

A separação e identificação dos compostos voláteis foi conduzida em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS QP2010 Plus, Shimadzu, Japan), equipado com injetor automático para líquidos e gases (AOC-5000; Shimadzu, Japan) e uma coluna SLBTM (5% phenyl- 95% dimethylsiloxane; 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m). Cerca de 2,5 g da amostra foram pesados em um *vial* de 22 mL, selado com um septo de silicone/PTFE, e pré-aquecido por 10 min a 60 °C em bloco de aquecimento. Os compostos orgânicos voláteis foram extraídos em *headspace* por microextração em fase sólida (SPME), utilizando-se uma fibra DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene, Carboxen, and Polydimethylsiloxane; 1 cm, 50-30 μ m de espessura de filme; marca Supelco), exposta por 45 min no *vial* para a extração dos compostos. A fibra foi, então, injetada no CG, onde permaneceu por 5 min para a dessorção. A temperatura do injetor foi mantida à 250 °C e operado no modo *splitless*. O He 5.0 foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL/min⁻¹. A temperatura do forno iniciou a 35 °C/2 min, aumentando para 80 °C a uma taxa de 2 °C/min, depois para 150 °C a uma taxa de 4 °C/min e, finalmente, para 230 °C à uma taxa de 8 °C/min. O espectrômetro de massas utilizado foi o de impacto de elétrons (70 eV), no modo *scan* (45 a 350 Da), com um corte de solvente em 0,55 min. A temperatura da interface do detector e da fonte de íons permaneceu a 250 °C e 200 °C, respectivamente. Os compostos voláteis foram identificados comparando os espectros de massas obtidos com espectros de massas fornecidos pelo banco de dados do software (Wiley 8 e FFNSC 1.2) e os índices de retenção obtidos experimentalmente comparados a dados reportados na literatura, por meio da injeção de uma série homóloga de alcanos. As áreas de cada pico foram integradas no programa GCMS Solutions (Shimadzu, Japan), e os dados apresentados como contagem total de íons (TI \times 10⁴), sendo que picos menores que 1 \times 10⁴ foram desconsiderados.

Análise estatística

O experimento foi disposto em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em um esquema fatorial 2 (*wet x dry aging*) x 2 (controle x congelado), com 3 repetições (animais). Os dados submetidos à ANOVA, considerando um nível de significância de 5%, e quando significativos as médias foram comparadas entre si utilizando o teste de Duncan. As análises estatísticas foram realizadas no *software* Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

As relações entre os ácidos graxos e os vários compostos voláteis (a área dos picos dos compostos detectados foi transformada em log10) dentro dos efeitos estudados, incluindo o tempo de maturação, foram determinadas pela análise de componentes principais (PCA), conduzida no *software* SensoMaker (UFLA, Brasil).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das amostras, os somatórios e suas relações, são representados na Tabela 1. Os ácidos palmitoleico (C16:1), cis10-heptadecanóico (C17:1), oleico (C18:1 c9) e araquídico (C20:0) diferiram ($P < 0,05$) entre os sistemas de maturação, enquanto o isômero *trans* do ácido oleico ou ácido eláidico (C18:1 t9), e o ácido araquídico foram afetados ($P < 0,05$) pelo processo de congelamento.

Os ácidos palmitoleico e oleico apresentaram maiores concentrações em carnes maturadas pelo sistema *dry aging* ($P < 0,05$) enquanto o cis10-heptadecanoico e araquídico foram significativamente maiores ($P < 0,05$) nas carnes *wet aging*. Kim, Jeon, and Lee (2019) verificaram que três ácidos graxos, dentre eles o palmitoleico, apresentaram maior concentração em carnes de gado Hanwoo maturadas a seco por 40 dias que em carnes maturadas tradicionalmente por 21 dias. Já Kim et al. (2017) identificaram que 10 ácidos graxos, dentre eles o palmitoleico e oleico, se diferiram significativamente ($P < 0,05$) entre os sistemas de maturação, entretanto, todos apresentaram maior concentração no sistema *wet aging*.

Tabela 1. Efeitos do sistema de maturação, tratamento e tempo de maturação no perfil e somatório de ácidos graxos (%)¹, e suas relações, de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore (continua)

Ácido Graxo		Sistema		Tratamento		Tempo de maturação (dias)				Média	EPM
		DA	WA	REF	CONG	0	14	28	42		
Ác. Butírico	C4:0	0.12	0.12	0.10	0.14	0.07	0.11	0.11	0.15	0.12	0.02
Ác. Cáprico	C10:0	0.11	0.10	0.08	0.12	0.06	0.14	0.08	0.13	0.10	0.02
Ác. Láurico	C12:0	0.31	0.28	0.30	0.29	0.51	0.24	0.25	0.19	0.29	0.06
Ác. Mirístico	C14:0	2.92	2.88	2.91	2.89	2.81	2.89	3.09	2.83	2.90	0.17
Ác. Miristoleico	C14:1	0.65	0.51	0.58	0.58	0.61	0.54	0.60	0.58	0.58	0.04
Ác. pentadecanóico	C15:0	0.47	0.44	0.45	0.46	0.45	0.49	0.46	0.42	0.46	0.02
Ác. pentadecenóico	C15:1	0.16	0.16	0.17	0.15	0.16	0.17	0.14	0.16	0.16	0.01
Ác. Palmítico	C16:0	27.50	24.73	26.62	25.80	25.41	25.98	27.10	26.20	26.17	0.64
Ác. Palmitoleico	C16:1	3.80 ^x	3.02 ^y	3.26	3.55	3.21	3.47	3.51	3.50	3.42	0.15
Ác. heptadecanóico	C17:0	1.15	1.08	1.06	1.16	1.03	1.10	1.18	1.14	1.11	0.04
Ác. cis10-heptadecanoico	C17:1	0.00 ^y	0.86 ^x	1.14	0.69	0.91	1.05	0.54	0.89	0.86	0.15
Ác. Esteárico	C18:0	14.91	14.91	14.95	14.88	14.18	15.09	15.94	14.40	14.91	0.39
Ác. Elaídico	C18:1 t9	0.89	0.71	0.60 ^y	0.97 ^x	0.56 ^a	0.80 ^{ab}	0.99 ^b	0.84 ^{ab}	0.80	0.07
Ác. Oleico	C18:1 c9	40.34 ^x	31.65 ^y	36.50	35.85	34.90	35.38	37.39	37.00	36.14	0.93
Ác. Linoleico	C18:2 ω6	4.68	4.48	4.81	4.40	5.44	4.56	3.81	4.53	4.58	0.31
Ác. Linolênico	C18:3 ω3	0.85	0.73	0.82	0.76	0.85	0.82	0.68	0.83	0.16	0.01
Ác. Araquídico	C20:0	0.15 ^y	0.17 ^x	0.19 ^x	0.14 ^y	0.19	0.16	0.15	0.17	0.19	0,05
Ác. Cetoleico	C20:1	0.29	0.14	0.14	0.24	0.14	0.13	0.14	0.39	0.79	0,05
Ác. eicosatrienoico	C20:3 ω6	0.30	0.28	0.31	0.27	0.33	0.29	0.27	0.26	0.29	0.03
Ác. Aracdônico	C20:4 ω6	1.14	1.16	1.18	1.12	1.23	1.21	1.04	1.13	1.15	0.11

Tabela 1. Efeitos do sistema de maturação, tratamento e tempo de maturação no perfil e somatório de ácidos graxos (%)¹, e suas relações, de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore (conclusão)

Ácido Graxo		Sistema		Tratamento		Tempo de maturação (dias)				Média	EPM
		DA	WA	REF	CONG	0	14	28	42		
Ác. eicosapentanóico	C20:5 ω3	0.43	0.33	0.39	0.37	0.34	0.44	0.33	0.40	0.38	0.04
Ác. docosaexaenoico	C22:6 ω3	0.26	0.12	0.17	0.21	0.13	0.16	0.26	0.16	0.18	0.04
ΣSaturados	SAT	47.08	44.51	46.31	45.45	44.29	45.51	48.28	45.32	45.84	1.08
ΣMonoinsaturados	MUFA	45.72 ^x	36.84 ^y	41.54	41.34	39.68	40.74	42.81	42.60	41.43	0.99
ΣPoli-insaturados	PUFA	7.21	6.98	7.66	6.64	8.05	7.09	6.20	7.06	7.10	0.48
ΣInsaturados	INS	52.92 ^x	43.82 ^y	49.20	47.98	47.73	47.83	49.01	49.65	48.53	1.00
ΣÔmega-6	ω6	5.85	5.94	6.32	5.55	6.83	5.88	4.98	5.89	5.90	0.41
ΣÔmega-3	ω3	1.35	1.06	1.35	1.10	1.23	1.22	1.23	1.17	1.21	0.10
	INS/SAT	1.13	1.02	1.09	1.07	1.11	1.06	1.03	1.10	1.08	0.03
	ω6/ω3	5.13	6.46	4.64	6.70	5.49	6.80	4.26	6.39	5.77	0.78

¹ Porcentagens de área normalizadas dos ácidos graxos.

DA = amostras maturadas a seco; WA = amostras maturadas embaladas a vácuo; REF = amostras maturadas sem congelamento prévio; CONG = amostras congeladas (-20 °C/7 dias), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas; e EPM = erro padrão da média.

^{x,y} Médias com letras diferentes na linha, dentro do tipo de maturação (DA x WA) ou tratamento (REF x CONG), diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste F.

^{a,b} Médias com letras diferentes na linha, dentro do tempo de maturação, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Duncan.

Neste experimento as amostras maturadas a seco apresentaram cerca de 8,7% a mais de ácido oleico que as maturadas pelo sistema tradicional, sendo que este ácido graxo é positivamente relacionado com qualidade sensorial da carne (Garmyn et al., 2011; O'Quinn et al., 2016). Além disso, ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) de configuração *cis*, como é o caso do oleico, possuem ação hipocolesterolêmica, o que acarreta benefícios à saúde (Cifuni et al., 2004). O ácido palmitoleico também possui efeito positivo na aceitação das carnes, sendo relacionado aos sabores de carne bovina, de carne dourada, amanteigada e de castanhas (O'Quinn et al., 2016).

Em relação aos ácidos graxos mais abundantes em carnes *wet aging*, não há dados que relacionem os ácidos araquídico e *cis*10-heptadecanóico com a qualidade da carne bovina. Porém, nota-se que a maioria dos ácidos graxos saturados, analisados por O'Quinn et al. (2016) não apresentaram efeito significativo no sabor da carne, o que sugere que o ácido araquídico possa apresentar efeito nulo. Segundo estes autores, o ácido *cis*10-heptadecanóico, entretanto, por ser um ácido MUFA tende a ter efeito positivo na aceitação.

Em relação ao congelamento o ácido eláidico apresentou maior concentração ($P < 0,05$) nas amostras congeladas, enquanto o araquídico apresentou maior concentração ($P < 0,05$) nas amostras controle. Segundo O'Quinn et al. (2016), o ácido eláidico está relacionado a sabores indesejáveis, como o de peixe e grama e o ácido araquídico tende a ter efeito nulo no sabor. Logo, as alterações geradas pelo congelamento no teor de ácidos graxos podem ser indesejáveis ao sabor da carne. Sales et al. (2020) avaliou o perfil de ácidos graxos de amostras congeladas ou não, irradiadas e maturadas e encontrou efeito do congelamento apenas para ácido linoleico (C18:2 ω 6), sendo que carnes congeladas apresentaram maior concentração deste ácido graxo.

Quanto ao efeito do tempo de maturação, apenas o ácido eláidico foi afetado ($P < 0,05$), com as amostras não maturadas (tempo zero) apresentando menores valores. Utama et al. (2020) avaliaram carnes maturadas a seco por 0 ou 40 dias e observaram que houve uma redução de ácidos graxos MUFA e Ômega 3 (ω 3), o que resultou em aumento dos ácidos graxos Ômega 6 (ω 6) e, conseqüentemente, no aumento indesejável da relação ω 6/ ω 3. No presente experimento, as carnes maturadas a seco apresentaram ($P < 0,05$) mais ácidos graxos insaturados (INS) e MUFA. Tais alterações são benéficas tanto em relação ao sabor da carne como para a saúde dos consumidores, já que a alta concentração de ácidos graxos saturados pode ser considerada um fator negativo na qualidade nutricional dos alimentos (Szpicier, Onopiuk, Półtorak, & Wierzbicka, 2019). No entanto,

do contrário deste experimento, Kim et al. (2017) encontraram maior composição de ácidos graxos saturados (SFA), MUFA e poli-insaturados (PUFA) em carnes maturadas pelo sistema *wet aging*.

Compostos voláteis

Para o perfil de voláteis, um total de 34 compostos foram encontrados (Tabela 2), os quais foram identificados e classificados como ácidos carboxílicos (n = 2), álcoois (n = 7), aldeídos (n = 11), éster (n = 1), cetonas (n = 2) e hidrocarbonetos (n = 11). Destes, 23 estavam presentes em todas as amostras. Dentre eles estão o hexanol, hexanal, heptanal, octanal e nonanal, compostos que também foram encontrados por Bernardo et al. (2020) em carnes maturadas a seco, congeladas antes ou após a maturação, e que foram indicados como compostos relacionados à carne cozida.

Com relação ao sistema de maturação, 4 compostos (1,2-butanediol; 2-methylbutanal; 3-methylbutanal; e 2-ethylhexyl ester propanoic acid) foram encontrados apenas nas amostras maturadas a seco. O'Quinn et al. (2016) observaram que, apesar de também presente nas amostras maturadas a vácuo, as amostras maturadas a seco continham grande quantidade dos compostos 2-methylbutanal e 3-methylbutanal, e ambos foram correlacionados positivamente com sabores grelhados, amanteigados/gordurosos e de nozes. No entanto, neste experimento, além do álcool 1,2-butanediol, estes dois aldeídos foram encontrados apenas nas amostras congeladas/descongeladas e maturadas a seco. Bernardo et al. (2020) observaram 7 compostos (álcoois, éter e cetonas) presentes apenas nas amostras congeladas e maturadas a seco, entre eles o álcool 2,3-butanediol, também associado ao sabor amanteigado.

Além dos 4 compostos exclusivos das amostras maturadas a seco, foi observado maiores ($p < 0,05$) quantidades de cetonas (3-hydroxy-2-butanone; e 2-propanone) nestas amostras do que nas amostras maturadas a vácuo, não sendo afetadas ($P > 0,05$) pelo tratamento. Gredell et al. (2018) relataram maior presença dessas cetonas em hambúrgueres processados com carne maturada a seco, que naqueles processados com carne não maturada. Os autores afirmaram que a acetoína (3-hydroxy-2-butanone) pode ser derivada da reação de Maillard, que se intensifica na carne maturada a seco devido à perda de água e consequente concentração dos açúcares, ou ainda, derivada do metabolismo de bactérias lácticas.

Tabela 2. Efeitos do tratamento (T; controle x congelado) e sistema de maturação (S; *wet aging*, WA x *dry aging*, DA) no perfil de compostos voláteis (contagem de íons totais $\times 10^4$) de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore (continua)

Composto	Controle		Congelado		Média	EPM	<i>p-value</i>		
	WA	DA	WA	DA			T	S	TxS
ÁCIDOS									
1.2-Benzenedicarboxylic acid	46	37	37	66	46	10	0,631	0,634	0,358
Acetate (Ânion)	165	420	138	68	198	63	0,137	0,449	0,197
ÁLCOOIS									
1,2-Butanediol	0	0	0	211	53	44	0,222	0,222	0,222
1-Butanol, 3-methyl-	0	88	10	727	206	158	0,311	0,215	0,326
1-Hexanol	1450	2031	1553	3094	2032	300	0,315	0,081	0,405
1-Nonanol	116	0	180	74	92	33	0,306	0,110	0,942
1-Octanol	217	117	305	191	208	34	0,237	0,126	0,917
1-Octenol	121	108	182	132	136	17	0,238	0,379	0,600
Ethanol	157	105	193	126	145	28	0,629	0,329	0,901
ALDEÍDOS									
2-Hexadecenal	0	0	135	0	34	23	0,110	0,110	0,110
Butanal, 2-methyl-	0	0	0	24	6	5	0,174	0,174	0,174
Butanal, 3-methyl-	0	0	0	32	8	6	0,181	0,181	0,181
Decanal (Capraldehyde)	101 ^a	40 ^b	69 ^a	24 ^b	59	15	0,401	0,048	0,775
Heptanal	80	127	95	19	80	18	0,182	0,661	0,082
Hexadecanal (Palmitaldehyde)	310 ^a	0 ^c	145 ^b	72 ^b	132	33	0,196	<0,001	0,004
Hexanal (Caproaldehyde)	200	176	197	102	169	28	0,529	0,335	0,553
Nonanal	1399	1187	1479	1085	1288	130	0,969	0,292	0,746
Octadecanal (Stearaldehyde)	13	31	85	15	36	21	0,540	0,578	0,341

Tabela 2. Efeitos do tratamento (T; controle x congelado) e sistema de maturação (S; *wet aging*, WA x *dry aging*, DA) no perfil de compostos voláteis (contagem de íons totais $\times 10^4$) de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore (continua)

Composto	Controle		Congelado		Média	EPM	<i>p-value</i>		
	WA	DA	WA	DA			T	S	TxS
ALDEÍDOS									
Octanal (Caprylaldehyde)	219	211	277	141	248	176	0,930	0,319	0,371
Tetradecanal (Myristaldehyde)	23	14	0	34	12	24	0,894	0,395	0,156
CETONAS									
2-Butanone, 3-hydroxy (Acetoin)	204 ^b	436 ^a	115 ^b	1322 ^a	159	879	0,117	0,010	0,061
2-Propanone (acetone)	75 ^b	211 ^a	86 ^b	183 ^a	81	197	0,667	<0,001	0,328
ESTER									
Propanoic acid, 2-ethylhexyl ester	0	135	0	0	0	68	-	-	-
HIDROCARBONETOS									
1,3-Octadiene	231 ^c	898 ^a	181 ^d	320 ^b	206	609	0,028	0,007	0,057
Benzene, methyl- (Toluene)	2219 ^a	1242 ^c	1682 ^b	592 ^d	1951	917	0,013	<0,001	0,785
Butane, 2,2,3-trimethyl (Triptan)	136 ^b	0	169 ^a	0	152	0	0,724	0,006	0,724
Cyclohexane	79 ^a	0	51 ^b	0	65	0	0,382	0,001	0,382
Cyclohexene	127 ^c	520 ^a	62 ^d	187 ^b	95	354	0,022	0,005	0,103
Cyclopentane, dimethyl-	86 ^a	0	19 ^b	0	53	0	0,126	0,023	0,126
Cyclopentane, methyl-	323 ^a	0	149 ^b	0	236	0	0,018	<0,001	0,078
Hexane	3588 ^a	1206 ^c	2499 ^b	627 ^d	3044	917	0,007	<0,001	0,341
Octane	8	12	5	89	6	51	0,217	0,145	0,183
Pentane, 2-methyl-	242 ^a	19 ^b	263 ^a	6 ^b	252	13	0,946	0,001	0,741
Pentane, 3-methyl-	654 ^a	71 ^b	868 ^a	43 ^b	761	57	0,682	0,008	0,595

Tabela 2. Efeitos do tratamento (T; controle x congelado) e sistema de maturação (S; *wet aging*, WA x *dry aging*, DA) no perfil de compostos voláteis (contagem de íons totais $\times 10^4$) de contrafilés (*L. thoracis*) bovinos da raça Nelore (conclusão)

Composto	Controle		Congelado		Média Total	EPM	<i>p-value</i>		
	WA	DA	WA	DA			T	S	TxS
Σ ACÍDOS	211	457	175	134	244	73	0,157	0,404	0,252
Σ ÁLCOOIS	2061 ^c	2448 ^b	2424 ^b	4556 ^a	2872	614	0,048	0,047	0,204
Σ ALDEÍDOS	2344	1787	2483	1548	2040	319	0,914	0,128	0,685
Σ CETONAS	279 ^c	647 ^b	201 ^c	1505 ^a	658	180	0,115	0,003	0,046
Σ ÉSTER	0	135	0	0	34	24	-	-	-
Σ HIDROCARBONETOS	7692 ^{ab}	3969 ^{cd}	5948 ^b	1863 ^d	4868	927	0,002	0,000	0,708
Total	12587	9443	11231	9606	10717				

Controle = amostras maturadas sem congelamento prévio; Congelado = amostras congeladas (-20 °C/7 dias), descongeladas (4 °C/24h) e maturadas; WA (*wet aging*) = amostras maturadas embaladas a vácuo; DA (*dry aging*) = amostras maturadas a seco; e EPM = erro padrão da média.

^{a-d}Médias com letras diferentes na linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Alta presença de acetoína em amostras maturadas a seco também foi reportado por O'Quinn et al. (2016), estando altamente correlacionados aos sabores grelhados, amanteigados/gordurosos e “carnoso” (*beefy*). Ainda segundo os autores, amostras com maiores quantidades de 3-metilbutanal e acetoína apresentaram um sabor mais doce e receberam as classificações mais altas na aceitação global quanto ao sabor desejado. Porém Gredell e al (2018) afirmaram que tanto a acetoína, quanto o 2-propanone foram relacionados a sabores terrosos e ácidos. Enquanto Casaburi et al (2005), relataram que a concentração dos compostos pode modificar a percepção dos provadores em relação aos sabores e aceitação. Bernardo et al. (2020) observaram tanto a presença dos aldeídos 2-methylbutanal e 3-methylbutanal quanto da cetona acetoína nas amostras maturadas a seco, submetidas ou não ao processo de congelamento/descongelamento prévio.

Maiores quantidades ($p < 0,05$) dos hidrocarbonetos cyclohexene e 1,3-octadiene também foram observadas nas amostras maturadas a seco do que nas amostras a vácuo, sendo também maiores ($p < 0,05$) nas amostras controle (sem congelamento). Bernardo et al. (2020) relataram que o 1,3-octadiene foi observado apenas nas amostras maturadas a seco que não foram previamente congeladas.

Cinco compostos (2-hexadecenal; 2,2,3-trimethylbutane; cyclohexane; dimethyl-cyclopentane; e methyl-cyclopentane) foram exclusivamente encontrados nas amostras maturadas a vácuo e, destes, apenas o 2-hexadecenal foi o único encontrado nas amostras congeladas. O'Quinn et al. (2016) relataram que os compostos presentes em maior concentração nas amostras maturadas a vácuo foram o dimethyl sulfide, 2-propanone, e 2-butanone, sendo estes positivamente correlacionados com o sabor azedo característicos das carnes maturadas neste sistema. No entanto, neste experimento, apenas o 2-propanone foi encontrado, estando presente em maior quantidade ($p < 0,05$) nas amostras maturadas a seco. Bernardo et al. (2020) não observaram a presença de 2-propanone nas amostras maturadas a seco, submetidas ou não ao processo de congelamento.

Outros compostos foram encontrados em maior quantidade ($p < 0,05$) nas amostras maturadas a vácuo: os aldeídos decanal e hexadecanal; e os hidrocarbonetos methylbenzene (toluene), hexane, 2-methylpentane e 3-methylpentane. Destes, a quantidade de hexadecanal, toluene e de hexane foi menor ($p < 0,05$) nas amostras congeladas.

De forma geral, uma maior concentração ($p < 0,05$) de álcoois, cetonas e éster foi observada nas amostras maturadas a seco, especialmente nas amostras congeladas, enquanto maiores concentrações de hidrocarbonetos foram observadas ($p < 0,05$) nas amostras não congeladas e

maturadas a vácuo. O maior acúmulo de álcoois, éster e, especialmente, cetonas nas carnes congeladas e maturadas a seco pode ser um indicativo de uma maior oxidação lipídica (Bernardo et al., 2020), sendo estes compostos envolvidos com a formação de sabores indesejáveis (*off-flavors*). As carnes congeladas/descongeladas possuem uma maior susceptibilidade à oxidação lipídica (Setyabrata & Kim, 2019), devido aos danos celulares sofridos pela presença dos cristais de gelo, aumentando o contato dos lipídeos com substâncias catalisadoras da oxidação (Haddad, 2020b).

Para verificar as diferenças entre os tempos de maturação e os tratamentos, nos diferentes sistemas avaliados, os compostos voláteis foram descritos através da análise de componentes principais (PCA; Figuras 1 e 2).

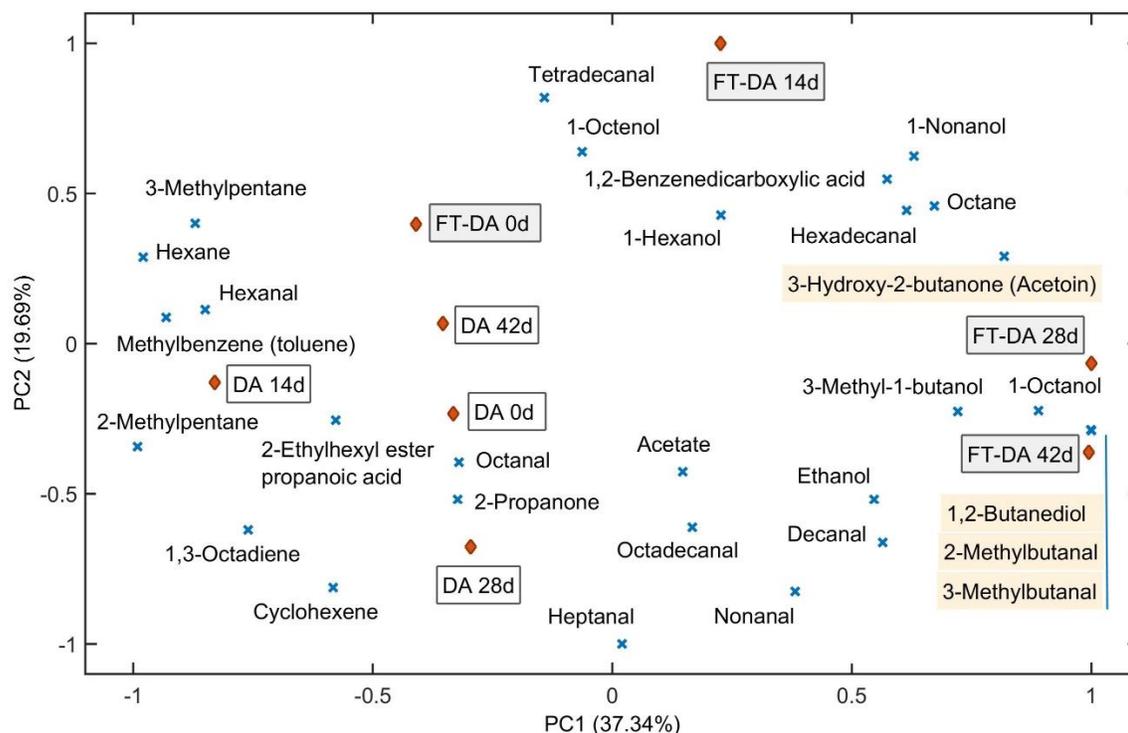


Figura 1. Análise de componentes principais (PCA) dos compostos voláteis das amostras maturadas a seco, nos tratamentos controle (DA) e congelado (FT-DA), por diferentes tempos (0, 14, 28 e 42 dias). Em destaque (amarelo) os principais compostos associados aos sabores característicos de carne maturada a seco.

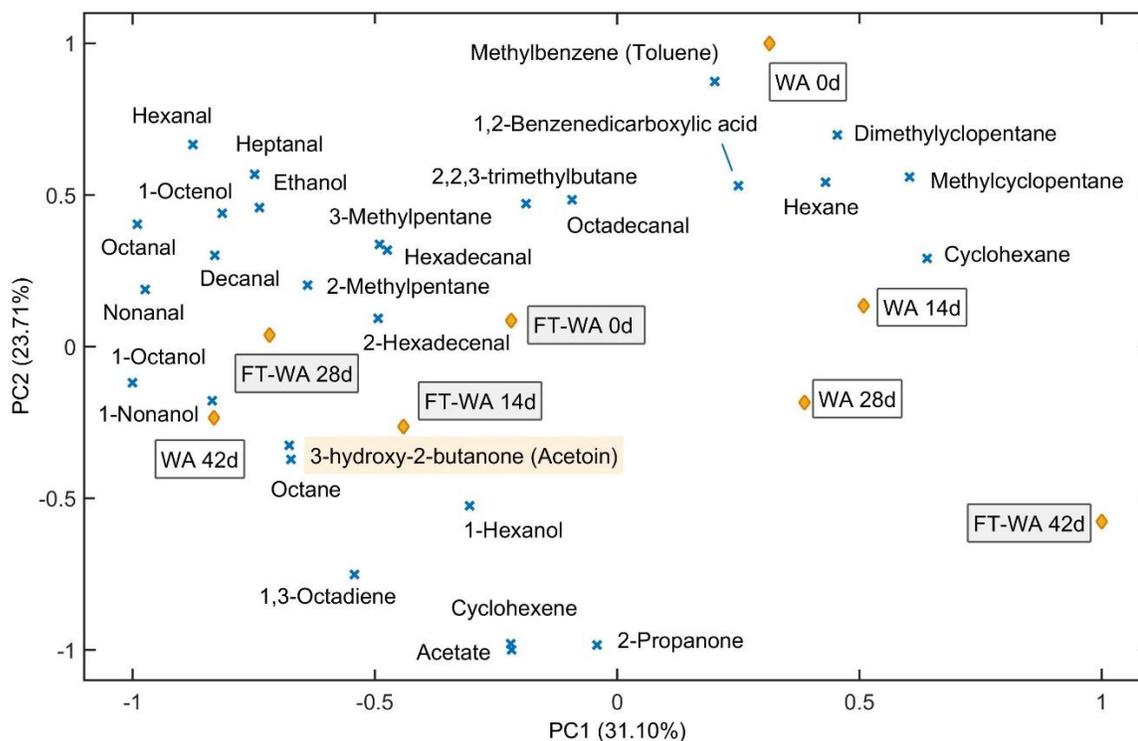


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) dos compostos voláteis das amostras maturadas a vácuo, nos tratamentos controle (WA) e congelado (FT-WA), por diferentes tempos (0, 14, 28 e 42 dias).

No primeiro PCA (Figura 1), avaliou-se a distribuição dos compostos voláteis nas amostras maturadas a seco, nos tratamentos controle (DA) e congelado (FT-DA), descrevendo 57,03% da variação total. Observa-se que os compostos associados com os sabores característicos de carne maturada a seco, como sabor grelhados, amanteigados, adocicado e de nozes, são mais relacionados às amostras congeladas e maturadas com maior tempo de maturação, que se encontram do lado direito do 1º quadrante.

O segundo PCA (Figura 2), que descreveu 54,72% da variação total dos dados, permite avaliar a distribuição dos compostos voláteis nas amostras maturadas a vácuo, nos tratamentos controle (WA) e congelado (FT-WA). De forma geral, amostras congeladas possuem maior associação com maior número de compostos voláteis, dentre eles o 2-hexadecenal, composto encontrado exclusivamente nestas amostras. Interessante observar a relação da cetona acetoína com

as amostras maturadas por mais tempo, especialmente as congeladas, uma vez que este composto tem sido associado ao sabor amanteigado em carnes bovinas.

Casabruni et al (2015) relataram os compostos voláteis associados à deterioração microbiana de ocorrência mais comum na carne dentre os quais estavam presentes: 3-methyl-1-butanol, 1-octanol, 1-hexanol, heptanal, hexanal, nonanal e acetoína. Observa-se que nas Figuras 1 e 2, que a maioria dos compostos citados possuem maior associação com as amostras congeladas, o que sugere que o congelamento possivelmente aumentou a multiplicação de microrganismos, como observado por Haddad (2020a; 200b).

CONCLUSÃO

O congelamento/descongelamento e o tempo de maturação apresentaram poucas influências no perfil de ácidos graxos da carne, porém carnes maturadas a seco apresentaram mais ácidos graxos insaturados (INS) e monoinsaturados (MUFA), o que pode indicar que esse tipo de maturação gera benefícios a características nutricionais e sensoriais da carne.

Maior concentração de álcoois, cetonas e éster foi observada nas amostras maturadas a seco, especialmente nas amostras congeladas, enquanto maiores concentrações de hidrocarbonetos foram observadas nas amostras não congeladas e maturadas a vácuo. O acúmulo de álcoois, éster e, especialmente, cetonas nas carnes pode ser um indicativo de uma maior oxidação lipídica e estar envolvido com a formação de sabores indesejáveis. Observou-se também que, em amostras maturadas a vácuo, o congelamento gerou maior associação com maior número de compostos voláteis. Sendo que, em ambos os sistemas de maturação, o congelamento e o aumento do tempo de maturação estão associados a diferentes compostos que conferem sabores desejáveis.

REFERÊNCIAS

- Aroeira CN, Torres Filho RA, Fontes PR, Gomide LAM, Ramos ALS, Ladeira MM, Ramos EM (2016) Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Sci* 116:118-125 doi:10.1016/j.meatsci.2016.02.006
- Berger J, Kim YHB, Legako JF, Martini S, Lee J, Ebner P, Zuelly SMS (2018) Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. 145:285-291 doi:10.1016/j.meatsci.2018.07.004

- Bernardo APdS et al. (2020) Effects of freezing and thawing on microbiological and physical-chemical properties of dry-aged beef. 161:108003 doi:10.1016/j.meatsci.2019.108003
- Bressan MC, Rossato LV, Rodrigues EC, Alves SP, Bessa RJB, Ramos EM, Gama LT (2011) Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *J Food Sci* 89:221-232 doi:10.2527/jas.2009-2672
- Casaburi A, Piombino P, Nychas GJ, Villani F, Ercolini D (2015) Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food microbiology* 45:83-102 doi:10.1016/j.fm.2014.02.002
- Cifuni GF, Napolitano F, Riviezzi AM, Braghieri A, Girolami A (2004) Fatty acid profile, cholesterol content and tenderness of meat from Podolian young bulls. *Meat Sci* 67:289-297 doi:10.1016/j.meatsci.2003.10.017
- Dashdorj D, Tripathi VK, Cho S, Kim Y, Hwang I (2016) Dry aging of beef; Review. *J Anim Sci Technol* 58:20-20 doi:10.1186/s40781-016-0101-9
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509
- Garmyn AJ et al. (2011) Estimation of relationships between mineral concentration and fatty acid composition of longissimus muscle and beef palatability traits1. 89:2849-2858 doi:10.2527/jas.2010-3497 %J Journal of Animal Science
- Gredell D et al. (2018) Palatability Characterization of Fresh and Dry-Aged Ground Beef Patties. 2:265-276 doi:10.22175/mmb2018.04.0007
- Ha Y et al. (2019) Effects of Dry- and Wet-ageing on Flavor Compounds and Eating Quality of Low Fat Hanwoo Beef Muscles. 39:655-667 doi:10.5851/kosfa.2019.e58
- Haddad GBS (2020a) Efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial da carne de gado Nelore durante o armazenamento refrigerado. Capitulo 1
- Haddad GBS (2020b) Efeitos do congelamento/descongelamento na qualidade tecnológica, microbiológica e sensorial da carne de gado zebuino maturada a seco. Capitulo 2
- Hartman L, Lago RC (1973) Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab Pract* 22:475-476

- Huff-Lonergan E, Zhang W, Lonergan SM (2010) Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. 86:184-195
doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.004
- Kim JH, Jeon MY, Lee CH (2019) Physicochemical and sensory characteristics of commercial, frozen, dry, and wet-aged Hanwoo sirloins. *Asian-Australas J Anim Sci* 32:1621-1629
doi:10.5713/ajas.18.0610
- Kim JH, Kim DH, Ji DS, Lee HJ, Yoon DK, Lee CH (2017) Effect of Aging Process and Time on Physicochemical and Sensory Evaluation of Raw Beef Top Round and Shank Muscles Using an Electronic Tongue. *Korean journal for food science of animal resources* 37:823-832 doi:10.5851/kosfa.2017.37.6.823
- Kim YHB, Liesse C, Kemp R, Balan P (2015) Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. 110:40-45
doi:10.1016/j.meatsci.2015.06.015
- Laster MA et al. (2008) Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. 80:795-804 doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.03.024
- Mottram DS (1998) Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem* 62:415-424 doi:10.1016/S0308-8146(98)00076-4
- O'Quinn TG et al. (2016) Identifying consumer preferences for specific beef flavor characteristics in relation to cattle production and postmortem processing parameters. *Meat Sci* 112:90-102 doi:10.1016/j.meatsci.2015.11.001
- Sales LA, Rodrigues LM, Silva DRG, Fontes PR, Torres Filho RA, Ramos ALS, Ramos EMR (2020) Effects of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color and oxidative properties of beef. *Meat Sci* 163:108078
doi:10.1016/j.meatsci.2020.108078
- Savell JW (2008) Dry-aging of Beef. *Cattlemen's Beef Board and National Cattlemen's Beef Association*.
- Setyabrata D, Kim YHB (2019) Impacts of aging/freezing sequence on microstructure, protein degradation and physico-chemical properties of beef muscles. 151:64-74
doi:10.1016/j.meatsci.2019.01.007

- Szpicier A, Onopiuk A, Półtorak A, Wierzbicka A (2019) Influence of tallow replacement by oat β -glucan and canola oil on the fatty acid and volatile compound profiles of low-fat beef burgers. 17:926-936 doi:10.1080/19476337.2019.1674924
- Utama DT, Kim YJ, Jeong HS, Kim J, Barido FH, Lee SK (2020) Comparison of meat quality, fatty acid composition and aroma volatiles of dry-aged beef from Hanwoo cows slaughtered at 60 or 80 months old. Asian-Australas J Anim Sci 33:157-165 doi:10.5713/ajas.19.0205