



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**DIFERENTES PROCESSOS DE CONSERVAÇÃO E SUAS
INFLUÊNCIAS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-
QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA CARNE OVINA**

FABIANA RODRIGUES DANTAS

**FLORIANÓPOLIS – SC
2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**DIFERENTES PROCESSOS DE CONSERVAÇÃO E SUAS
INFLUÊNCIAS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-
QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA CARNE OVINA**

FABIANA RODRIGUES DANTAS

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à qualificação necessária para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos. Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos

Orientador: Prof. D. Sc. José Carlos Cunha Petrus

Coorientadores (as): D. Sc. Marta Suely Madruga
D. Sc. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz

**Florianópolis – SC
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Dantas, Fabiana Rodrigues

Diferentes Processos de Conservação e suas Influências sobre as Características Físico-Químicas e Microbiológicas da Carne Ovina / Fabiana Rodrigues Dantas ; orientador, José Carlos Cunha Petrus ; coorientadora, Marta Suely Madruga ; coorientadora, Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz - Florianópolis, SC, 2015.

163 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação Ciência e Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. carne. 3. mistura gasosa. 4. refrigeração. 5. ultraestrutura. I. Petru, José Carlos Cunha. II. Madruga, Marta Suely. III. Fritz, Alcilene Rodrigues Monteiro. IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. V. Título.

**DIFERENTES PROCESSOS DE CONSERVAÇÃO E SUAS
INFLUÊNCIAS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-
QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DA CARNE OVINA**

Por

Fabiana Rodrigues Dantas

Tese julgada para obtenção do título de Doutor em Engenharia Alimentos, área de Concentração de Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. José Carlos Cunha Petrus
Orientador

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Coorientadora

Profa. Dra. Marta Suely Madruga
Coorientadora

Prof. Dr. Marco Di Luccio
Coordenador
Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Carlos Cunha Petrus

Profa. Dra. Ana Sancha Malveira
Batista

Prof. Dr. Cesar Damian

Dr. Heitor Dagner

Profa. Dra. Marieli de Lima

Dr. Giustino Tribuzi

Florianópolis, 30 maio de 2015

DEDICO

*À minha amada Família.
A meus pais, Ribamar e Gilvanir,
pelo apoio e amor incondicional.
A Ricardo, Lidiane, Thaís e João Neto,
pela amizade, amor e torcida.
À Walter de Souza Dantas,
que coloriu minha vida com sua chegada, esposo e parceiro perfeito
em todas as minhas loucuras.*

Obrigada por ser meu porto seguro.

AGRADECIMENTOS

Certamente este é um fruto do trabalho e união de muitas mãos. Algumas destas que sequer sabem a importância de sua contribuição, para que estivesse hoje, escrevendo esta nota de gratidão.

Ao Deus Todo Poderoso, que se importa comigo e tem cuidado de mim em todos os aspectos de minha vida, mesmo sendo eu tão pequenina tem realizado seus grandes Projetos em minha vida.

A minha família, que nunca mediu esforços em incentivar-me a crescer e lutar pela realização deste e outros sonhos.

Ao IF SERTÃO-PE, por ter estimulado e proporcionado condições para me capacitar profissionalmente.

A PROPIP – IFSERTÃO-PE, na pessoa de Cícero Antônio e Luciana Cavalcanti que buscaram recursos para a realização do Convenio, com vistas a oferecer o Programa Minter/Dinter em Engenharia de Alimentos a servidores de órgãos públicos no Sertão Pernambucano.

Ao Programa de Pós-graduação de Engenharia de Alimentos da UFSC, pela oferta do curso e aos Professores que se dispuseram a ministrar as aulas em Petrolina.

A Facepe, pela oportunidade, pelo recurso financeiro investido na pesquisa, fundamental para o êxito deste projeto.

Ao Prof. Dr José Carlos Cunha Petrus, pela disponibilidade em orientar-me, confiança na condução da tese e por viabilizar recursos para a realização desta pesquisa. Muito obrigada pela receptividade em Florianópolis e auxílio na busca de soluções mediante as dificuldades.

A Prof. Dra Alcilene Monteiro, a quem aprendi a admirar, obrigada pela receptividade e paciência com que me acolheu e inseriu em seu grupo de pesquisa.

A Prof. Dra Marta Madruga e sua equipe, sempre atenciosa, profissional e disposta a compartilhar ensinamentos que me servirão no aspecto profissional e pessoal sempre.

A Prof. Dra Luciana Cavalcanti, pela competência, ética e disposição em colaborar, que foi fundamental em vários momentos destes quatro anos, sem a qual não seria possível o êxito do Minter/Dinter.

Muito obrigada Prof. Dra Ana Sancha, amiga com quem pude trocar idéias e aprender muito durante esses anos, pela disposição em colaborar de forma despretenciosa e verdadeira.

Aos integrantes do Lameb II, Chirle, Demétrio e Emily e a Eliana do LCME, por toda atenção, carinho e colaboração fundamental para o estudo de microscopia apresentado neste trabalho.

Ao Prof Maurílio da UFPR, pela valiosa colaboração no que se refere ao estudo com microscopia eletrônica de transmissão.

A Heitor Daguer, da Lanagro e Renata Gimenes, obrigada pela realização das análises de eletroforese e demais contribuições.

Ao Sr Luciano, do Laboratório CCA, que contribuiu na definição de algumas metodologias.

A Fernanda, Marieli e Lenilton, muito obrigada por tudo, cada um com seu jeito particular, e que fizeram toda diferença na realização deste trabalho.

A Walter Dantas, que tem estado comigo “na alegria e na tristeza”, me apoiou e esteve ao meu lado nos momentos de maior dificuldade e ainda assim, me fez sorrir e ajudou-me a prosseguir.

Aos amigos Demétrio, Luana, Fátima e Luis Tomelin, Gilmária, Raquel Barbosa, Amigos da ABU e SIB Floripa que tornaram nossos dias em Floripa mais suaves, e nos ensinaram que há amizades verdadeiras em qualquer lugar, basta se dispor.

Aos amigos do Labsem e Profi, com os quais pude conviver e muito me ensinaram sobre sua cultura: Kátia, Vanessa, Fred, Guilherme, Fabiana Luiza, Silvia, Marlene, Gabriel, Juca, Marla etc.

As secretárias da Pós, Raquel e Jeovania pelo apoio e presteza.

Ao Prof Marco Di Luccio, obrigada pela disposição e amizade, um exemplo de profissional.

Ao Sr. Edison Lima, Chefe do Setor de transporte e motoristas da UFSC que colaboraram no transporte da matéria prima utilizada nesta pesquisa.

A Melina e equipe do Laboratório Biológico, pela atenção e profissionalismo.

Aos membros da Banca Examinadora por sua disponibilidade em avaliar este trabalho e contribuições prestadas.

Aos amigos docentes Luis Carlos Pita, Henrique César, Alcidênio, Marcelo Iran, Marcelo Olinda, Bernadete, Salete e demais alunos do Minter Dinter, colegas nas viagens de Floresta a Petrolina durante o período de disciplinas específicas do programa.

Aos Diretores do Campus Floresta, Valderi (*in memória*) e Givanilson, e à Direção de Ensino e à Coordenação e Colegiado de Agropecuária do Campus Floresta, que colaboraram na flexibilização de carga horária para que pudesse cursar as disciplinas e realizar estágio sanduiche na UFSC.

Aos amigos do LANA, em especial a Tatiana Neres, Rosangela e Susan, pelas palavras de apoio, carinho e amizade.

A Vera Filha e família pela hospitalidade, obrigada pela amizade e momentos maravilhosos que compartilhamos juntos

A todos da PIB Floresta e IBNH que me apoiaram durante todo o tempo, em orações e ações de graça diante de Deus.

A meus queridos tios, tias e Avós que me fazem acreditar que é possível ir além.

A todos que contribuíram diretamente ou indiretamente na construção deste trabalho e realização de um sonho.

Muito Obrigada!

Fabiana Rodrigues Dantas

Os que adoram pelo Espírito de Deus, se gloriam em Cristo Jesus e não tem confiança alguma na carne... Se alguém pensa que tem razões para confiar na carne, confie no Senhor de todo o seu coração e não se apóie em seu próprio entendimento; reconheça o Senhor em todos os seus caminhos, não seja sábio aos seus próprios olhos; tema ao Senhor e evite o mal.

Quando o Senhor trouxe os cativos de volta a Sião, foi como um sonho.

Então encheram-se de riso e de cânticos de alegria. Até nas outras nações se dizia: "O Senhor fez coisas grandiosas por este povo". Sim, coisas grandiosas fez o Senhor pelo seu povo, por isso estão alegres.

Aqueles que semeiam com lágrimas, com cantos de alegria colherão. Certamente, aquele que sai chorando enquanto lança a semente, voltará com cantos de alegria, trazendo os seus feixes.

Não lhes sobrevém tentação que não seja comum aos homens. E Deus que é fiel; não permite que sejam tentados além do que possam suportar. Mas, quando tentados, ele mesmo providencia um escape, pois é Deus quem efetua em cada um, tanto o querer quanto o realizar, de acordo com a boa vontade dele.

(Filipenses 2:13; 3:3-4; Provérbios 3:5-7; Salmos 126:1-6; 1 Coríntios 10:13)

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes processos de conservação de alimentos sobre as características físico-químicas e microbiológicas da carne de cordeiro. O trabalho está estruturado em capítulos de acordo com os processos aplicados. Na primeira etapa, pernis de cordeiro foram desossados e fatiados e padronizados na forma de filés. Em seguida os mesmos foram congelados em diferentes velocidades de congelamento e acondicionados a vácuo. Foram avaliados a cor, pH, atividade de água, composição centesimal (umidade, cinzas, proteína e lipídios), perda de água por cocção e por exsudação, capacidade de retenção de água, determinação de proteínas e de ácidos graxos, índice de peróxidos e teor de colesterol. A caracterização microbiológica foi realizada a partir da contagem microbiana de coliformes termotolerantes, coliformes totais, *Salmonella Spp.*, psicrófilos e psicrotróficos. A estabilidade da carne durante o período de armazenamento foi avaliada considerando-se os microrganismos psicrófilos a 7 °C. Para estudo da maciez, determinou-se o índice de fragmentação miofibrilar, força de cisalhamento, o grau de encurtamento do tecido muscular pela mensuração dos sarcômeros, visualização da Banda Z e afastamento entre as fibras. Inicialmente, foram realizados o acondicionamento a vácuo e congelamento dos filés a -18, -40 e -80 °C por 24 horas, e estocados por até 150 dias a -18 °C. O uso de temperaturas mais baixas no congelamento inicial não influenciou as características físico-químicas dos pernis quando comparadas a carne ovina fresca. Na segunda etapa, os filés foram embalados a vácuo, em ar atmosférico, em atmosfera modificada com 70 % de CO₂ e com 100 % de CO₂ e maturados a 3°C, por até 28 dias. A mistura de gás foi monitorada, imediatamente após o envase e após 30, 60, 120 minutos, 24 e 48 horas e durante o armazenamento aos 3, 7, 10, 14, 17, 21 e 24 dias. O uso de dióxido de carbono na atmosfera modificada possibilitou o aumento da vida útil dos filés maturados. Para estudo sob atmosfera modificada foi realizada pré-solubilizando o CO₂ na carne de cordeiro por 2 e 4 horas e embalados imediatamente em ar atmosférico e sob atmosfera modificada com 100 % de CO₂, acondicionados a 3°C por 14 dias. O uso de CO₂ pré-solubilizado aumentou em 11 dias a vida útil da carne refrigerada e quando acondicionada em atmosfera de 100 % de CO₂, esse aumento foi de 17 dias. O uso de atmosfera modificada com uso do dióxido de carbono se mostra mais eficiente na conservação de carnes refrigeradas,

considerando que no processo SGS a vida útil é de até 14 dias, e o uso de 100% de dióxido de carbono em atmosfera modificada atinge 21 dias de vida útil.

Palavras-chave: carne, mistura gasosa, refrigeração, ultraestrutura, vida útil

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of different processes of preservation food on the physical, physical-chemical and microbiological properties of lamb. This work is presented in chapter as follow: In the first step, lamb hams beef were sliced in standart size and freezer at variables speed air freezer at -18, -40 and -80 ° C for 24 hours, and thereafter the storage for 150 days at -18 ° C under vacuum. The raw and processed meat samples were analyzed for the color, pH, water activity, chemical composition (moisture, ash, protein and lipids), water loss in the cooking and exudation, water retention capacity, quantitation of proteins and fatty acids, peroxides index and cholesterol were evaluated. Microbiological characterization was observed from the microbial count of fecal coliform, total coliform, *Salmonella Spp.*, psychrophilic and psychrotrophic. Meat stability during the storage period was evaluated considering the psychrophilic microorganisms at 7 ° C. Tenderness was determined by the myofibrillar fragmentation index, shear force, the degree of shortening of muscle tissue by measuring the sarcomere, Band Z visualization and spacing between the fibers. Lower temperatures in the initial freezing did not affect the lamb physicochemical characteristics when compared to fresh meat. In the second step, when the lamb beefs were packaged under vacuum, under atmospheric air, and under modified atmosphere with 70% and 100% CO₂ and matured at 3 ° C for up to 28 days. The gas mixture was monitored immediately after filling, for 30, 60, 120 min, 24 and 48 h and during storage at 3, 7, 10, 14, 17, 21 and 24 days. The use of carbon dioxide in the modified atmosphere increased the shelf life of matured meat. CO₂ pre-solubilization in the lamb beefs for 2 and 4 h and immediately packaged under atmospheric air and under modified atmosphere with 100% CO₂ stored at 3 ° C for 14 days. The use of CO₂ pre-solubilized increased the lamb meat for 11 days and when packaged under atmosphere of 100% CO₂ the increase was of 17 days, according microbial count. The use of modified atmosphere with the use of carbon dioxide is more efficient in the conservation of refrigerated meat, considering that in the SGS process the useful life is up to 14 days, and the use of 100% of carbon dioxide in modified atmosphere reaches 21 days.

Keywords: gás mixture, meat, refrigeration, shelf life, shelf life, ultrastructure

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1. Estrutura da fibra muscular.....	42
Figura 2.1. Fluxograma do processamento dos pernis de cordeiro.	62
Figura 2.2. Quadro geral de análises físico-químicas, microbiológicas e microscópicas para caracterização da carne de cordeiro submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial.....	64
Figura 2.3. Visualização da medida do sarcômero no tecido do músculo estriado esquelético.....	73
Figura 2.4. Visualização da fibra muscular no tecido do músculo estriado esquelético. Micrografia obtida em aumento de 400x.....	75
Figura 2.5. Perfil das proteínas da carne de cordeiro sob diferentes temperaturas de congelamento inicial obtido por SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1% β -mercaptoetanol.....	83
Figura 2.6. Eletromicrografias de cortes ultrafinos paralelos à fibra cárnea visualizadas com auxílio de TEM 100: a., b – congelamento lento, aumento 15k e 40k; c, d – congelamento rápido, aumento de 12k e 20k; e, f – congelamento ultra rápido, aumento de 12k e 8k.	90
Figura 2.7. Eletromicrografias de cortes ultrafinos paralelos à fibra cárnea visualizadas com auxílio de TEM 100: a., b – congelamento lento, aumento 15k e 40k; c, d – congelamento rápido, aumento de 12k e 20K; e, f – congelamento ultra rápido, aumento de 12k e 8k.	91
Figura 3.1. Fluxograma dos processos de maturação aplicados em carne de cordeiro.....	95
Figura 3.2. Probe metálica conectada a texturômetro, utilizada para teste de compressão de embalagem.....	97
Figura 3.3. Perfil eletroforético das proteínas da carne de cordeiro obtido por SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1% β -mercaptoetanol aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento acondicionada sob diversos sistemas.....	108
Figura 3.4. Contagem de micro-organismos psicrofílos em	

amostras acondicionadas sob controle (t_1), vácuo (t_2), 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e 100 % de CO_2 (t_4) maturadas durante 28 dias a 3°C.....	110
Figura 3.5. Concentração do dióxido de carbono CO_2 no <i>headspace</i> das embalagens durante as primeiras horas de maturação sob AM com 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e 100 % de CO_2 (t_4) a 3°C.....	111
Figura 3.6. Composição gasosa no <i>headspace</i> das embalagens durante a maturação de carne de cordeiro sob AM com 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e 100 % de CO_2 (t_4) a 3°C.....	112
Figura 3.7. Micrografias de amostras de filés ovinos maturados, submetidas a diferentes tipos de acondicionamento, obtidas através de microscopia de luz (aumento de 400x).....	116
Figura 3.8. Eletromicrografias de amostras de filé ovino fresco, tempo zero. Magnificação: (a) 8k, (b) 40k.....	118
Figura 3.9. Eletromicrografias de amostras de filés ovinos maturados aos 14 dias. Magnificação: 8k.....	119
Figura 3.10. Eletromicrografias de amostras de filés ovinos maturados aos 21 dias. Magnificação: 8k e 40k, respectivamente.	120
Figura 4.1. Fluxograma do Processo de pré- solubilização do CO_2 (SGS) combinado com atmosfera modificada aplicado a carne de cordeiro.....	127
Figura 4.2. Imagens do processo SGS no momento da injeção do gás (A), durante o período de absorção do gás no produto (B), acondicionamento individual do produto (C).....	128
Figura 4.3. Composição gasosa no <i>headspace</i> das embalagens das amostras acondicionadas em ar atmosférico após pré-solubilização (SGS) de 2h SGS com dióxido de carbono.....	133
Figura 4.4. Composição gasosa de embalagens sob processo SGS associado ao uso de atmosfera modificada.....	135
Figura 4.5. Contagem de micro-organismos psicrófilos em carne ovina submetida a pré-solubilização do CO_2 associado a atmosfera modificada.....	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Caracterização físico-química da carne de cordeiro fresca (tempo zero).....	76
Tabela 2.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), capacidade de retenção de água (CRA) e perdas de água em cortes de pernil ovino submetidos a diferentes temperaturas de congelamento, estocados por 90 e 150 dias.....	77
Tabela 2.3. Parâmetros de cor em carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento, estocadas por até 150 dias.....	79
Tabela 2.4. Composição de ácidos graxos (g/100g), colesterol (mg/100g) e índice de peróxidos (IP) na fração lipídica da carne de cordeiro submetida a congelamento lento (L), rápido (R) e ultra rápido (U) armazenadas por até 150 dias.....	80
Tabela 2.5. Contagem microbiana (UFC/g) em carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias.....	85
Tabela 2.6. Força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e comprimento de sarcômero (CS) de carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias.....	86
Tabela 2.7. Distância entre fibras cárneas e espessura da fibra de carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias.....	89
Tabela 3.1. Parâmetros de cor resultantes da avaliação de filés de carne ovina submetida a processos de maturação por 21 dias.....	100
Tabela 3.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), capacidade de retenção de água (CRA) e perda de água por cocção (PAC) de filés de pernil de cordeiro maturadas em diferentes sistemas de maturação por até 21 dias.....	102
Tabela 3.3. Médias de ácidos graxos (g/100g), colesterol (mg/100g) e índice de peróxidos (IP) na fração lipídica de filés de cordeiro embalados sob ar atmosférico (controle – t ₁), a vácuo (t ₂), em atmosfera modificada com 70 % de CO ₂ (t ₃) e com 100 % de CO ₂ (t ₄) maturados a 3°C, até 21 dias.....	105

Tabela 3.4. Perfil microbiológico da carne de cordeiro fresca.....	109
Tabela 3.5. Força de cisalhamento (FC) expressa em kgf/cm ² , índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e comprimento de sarcômero (CS) em carne ovina submetida a diferentes sistemas de maturação por até 21 dias.....	113
Tabela 3.6. Distância entre fibras cárneas e espessura da fibra de carne ovina acondicionada em diferentes sistemas e maturada por até 21 dias.....	117
Tabela 4.1. Parâmetros de cor em carne ovina submetidos ao processo SGS em diferentes tempos por até 14 dia.....	130
Tabela 4.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), capacidade de retenção de água (CRA) e perdas de peso por exsudação (PPE) em carne ovina submetidos ao processo SGS armazenados a 3°C.....	131

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	27
Objetivos.....	33
Objetivo Geral	33
Objetivos Específicos	33
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	35
1.1. A Carne de Cordeiro.....	35
1.1.1. Estrutura da Carne.....	38
1.1.2. Propriedades da Carne.....	43
1.1.3. Aspectos microbiológicos em carne de cordeiro.....	46
1.2. Métodos de conservação de carnes à baixas temperaturas.....	48
1.3. Embalagens para Carnes.....	50
1.3.1. Uso de embalagens com atmosfera modificada (AM) em carnes com aplicação de CO ₂	52
1.4. Pré-solubilização de CO ₂ : Processo Soluble Gas Stabilization (SGS).....	54
CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE DESTE ESTUDO.....	56
CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE CARNE DE CORDEIRO SUBMETIDA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CONGELAMENTO	59
2.1. Introdução	59

2.2.	Material e Métodos.....	61
2.2.1.	Obtenção da matéria-prima e preparo dos filés.....	61
2.2.2.	Preparo das amostras e procedimento experimental.....	62
2.2.3	Caracterização das amostras.....	63
2.2.4.	Análises microbiológicas.....	72
2.3.	Resultados e discussão	76
2.3.1.	Propriedades físico-químicas.....	76
2.3.2.	Avaliação microbiológica.....	83
2.3.3.	Avaliação da textura após aplicação do processo.....	86
2.3.4.	Estudo microscópico da estrutura e ultraestrutura da carne de cordeiro submetida a diferentes temperaturas de congelamento.....	87
2.4.	Conclusões.....	92

CAPÍTULO 3. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CARNE DE CORDEIRO MATURADAS SOB ATMOSFERA MODIFICADA93

3.1.	Introdução	93
3.2.	Material e Métodos.....	94
3.2.1.	Análises físico-químicas	96
3.2.2.	Análises microbiológicas	96
3.2.3.	Determinação de grau de enchimento e composição gasosa da embalagem.....	97

3.3.	Resultados e discussão.....	99
3.3.1.	Caracterização Físico-Química	99
3.3.3.	Composição gasosa nas embalagens sob AM.....	110
3.3.4.	Avaliação da textura.....	112
3.3.4.1.	Avaliação histológica da estrutura e ultraestrutura muscular da carne ovina maturada.....	115
3.4.	Conclusões	121
CAPÍTULO 4. INFLUÊNCIA DA PRÉ-SOLUBILIZAÇÃO DE CO₂ E ATMOSFERA MODIFICADA NA VIDA ÚTIL DA CARNE DE CORDEIRO		123
4.1.	Introdução	123
4.2.	Material e Métodos	126
4.2.4.	Determinação do grau de enchimento e composição gasosa no interior da embalagem.....	129
4.3.	Resultados e discussão.....	129
4.4.	Conclusões	137
CONCLUSÕES FINAIS.....		139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		141

INTRODUÇÃO

O consumo nacional de carne ovina anual é de 0,7 kg/pessoa (IBGE, 2014), tendo as regiões Sul e Nordeste maior destaque para a produção e consumo dessa carne (LEÃO et al., 2012). Ressalte-se que tem sido observada expansão desta atividade pecuária nos últimos anos e há uma grande influência no fator cultural no consumo dessa carne. Em cidades com forte tradição, o consumo anual *per capita* atinge níveis bastante elevados, se comparados a média do país, como é o caso de Juazeiro (BA) e Petrolina (PE), que atinge 10,8 kg e 11,7 kg, respectivamente (SEBRAE, 2009).

A atividade necessita de investimentos para aumentar sua competitividade, uma vez que a produção atual não supre a demanda, fato confirmado pelo grande volume de importações do Uruguai e Argentina (LEÃO et al., 2012, FERNANDES et al., 2014). Até 2007, o Brasil importava cerca de 90% de carne ovina consumida no país. Para reduzir o consumo de carnes congeladas, faz-se necessário inovar, e aplicar novas tecnologias, visando a produção e comercialização da carne de ovino na forma resfriada (FERNANDES et al 2012).

A ovinocultura é uma atividade econômica que tem diversos focos a ser explorados, com destaque para a produção de carne, considerada uma carne exótica, por suas características peculiares de sabor, maciez e textura diferenciadas. É um produto que consegue atingir nichos específicos de consumidores, muito explorada culturalmente e que tem se tornado carro-chefe em diversos restaurantes tanto na culinária nacional quanto internacional. Outros valores envolvidos são valor agregado aos produtos ovinos em decorrência do valor nutricional, por possuir um teor de ácidos graxos saturados menor que a carne de bovino e por ser comercializada na forma de cortes especiais.

Em se tratando de carne ovina, paleta, pernil e carré francês são os cortes que se destacam quanto à preferência dos consumidores e comumente encontrados congelados, podendo ser comercializados embalados à vácuo, com ou sem tempero. A variação de cortes, em função dos hábitos da população, pode ser explorado pela indústria, que além de maximizar o aproveitamento da carcaça, evitando desperdícios, tem a possibilidade de agregar valor a alguns cortes que chegam a ser comercializados com preços superiores a média do preço da carcaça. O pernil, por apresentar maior percentual na carcaça ovina e rendimento da porção comestível, constitui-se o corte mais nobre do ovino. É um dos

cortes mais valorizados, pois além de propiciar maior renda ao produtor, disponibiliza para o mercado carnes com melhor qualidade (RIBEIRO et al., 2010).

O Brasil importa anualmente cerca de 7 mil toneladas de carne ovina (FAO, 2014), considerando um consumo *per capita* de 0,7 kg, bem inferior aos 20 kg/habitante/ano observado em países como Austrália e Nova Zelândia (SILVA SOBRINHO, 2005). O consumo nacional ainda é baixo se comparado ao de carne bovina, avícola e suína, que há poucos anos estava próximo a 35,8, 35,9 e 11,5 kg/habitante/ano, respectivamente (ANUALPEC, 2013).

Segundo SÓRIO et al. (2010), há que se considerar as duas categorias principais de produtos finais obtidos da exploração de ovinos de corte, a carne originada de cordeiros e àquela de animais adultos. O animal adulto, embora preferido em algumas regiões, fica em situação desfavorável pela elevada proporção de gordura. As principais características que diferenciam a carne de cordeiro daquela oriunda de animal adulto são: cor mais clara, maciez mais acentuada, sabor mais suave e menor teor de gordura. São também essas características que formam a base do marketing dos diferentes tipos de corte oferecidos ao consumidor (SÓRIO et al., 2010).

A produção de ovinos de corte no Brasil está em ascensão (LEÃO et al., 2012), mas são necessárias pesquisas para avaliação das tecnologias utilizadas ao longo da cadeia produtiva para melhorar a eficiência de produção e industrialização destas carnes e atender às exigências de consumidores.

O processamento térmico ainda é o método mais utilizado para garantir a segurança microbiológica de produtos cárneos, mesmo considerando que novas tecnologias estejam encontrando nichos específicos de aplicação na indústria de alimentos (SCHIMIDT, 2010). Busca-se utilizar processos que permitam a redução da contaminação microbiológica inicial e aumentar a vida útil, considerando-se a exigência de que o alimento deve permanecer seguro, a minimização das alterações indesejáveis de suas características e desenvolvimento de características sensoriais desejáveis relacionadas com sabor, cor e textura (FRANÇOIS et al., 2009).

Os benefícios obtidos com uso de técnicas de conservação, aliados à crescente demanda do consumidor por produtos de conveniência que requeiram quantidade mínima de preparação, têm impulsionado o desenvolvimento de uma gama variada de produtos com alto valor agregado, que utilizam cortes cárneos diferenciados, com

especificidades em sua composição. É importante considerar que os cortes da carne em peças menores, associados a uma apresentação agradável, são fatores importantes no estímulo à venda e ao consumo.

Em decorrência de processos de *post mortem* e armazenamento inadequado, pode haver o encurtamento das fibras musculares e consequente redução da maciez da carne de cordeiros. Deste modo, a maturação prolongada pode influenciar a qualidade da carne de ovino, enquanto o uso de embalagens com atmosfera modificada utilizando o CO₂ durante a maturação e armazenamento de carne ovina, não prejudica suas características físicas e químicas (FERNANDES et al., 2014); podendo favorecer a obtenção de produtos com sabor e maciez acentuados, além de apresentar carga microbiana compatível com a legislação sanitária vigente no Brasil para carnes.

Após o processo de abate, manuseio adequado e rápido resfriamento das carcaças são essenciais para garantir sua qualidade microbiológica. Com isso, busca-se reduzir o crescimento microbiano da flora nativa e contaminante, incluindo os micro-organismos deteriorantes e patogênicos (DESMOND et al., 2000; MCDONALD, SUN e KENNY, 2000; SUN e WANG, 2000). Normas cada vez mais estritas têm sido adotadas por países europeus e norte americanos no que diz respeito ao tempo de resfriamento de carnes após o processo de manipulação (MCDONALD e SUN, 2000; ZHENG e SUN, 2004; DRUMMOND et al., 2009).

O processo de conservação de carnes predominante comercialmente é o congelamento. Existem dois tipos de congelamento, convencional (ou lento) e rápido, mais usado pela indústria de carnes, pois quanto maior a velocidade empregada no congelamento de produtos cárneos mais aumenta a possibilidade de minimizar os danos à estrutura celular. Pequena parte da carne consumida no mundo é na forma refrigerada, que visa oferecer um produto com características próximas à de carne fresca, geralmente embalada sob vácuo (MADRUGA e BRESSAN, 2011; FERNANDES et al., 2012; FERNANDES et al., 2013; FREGONESI et al., 2014; LIMA, 2014).

De modo geral, a eficácia na conservação de carnes a partir desses processos depende de fatores diretamente relacionados às características e ao manuseio do produto, e devem oferecer segurança microbiológica e consequente aumento da vida útil. Nesse sentido, o congelamento se destaca, pois diversos micro-organismos são inativados em temperaturas muito baixas. Além disso, a temperatura de refrigeração pode promover alterações estruturais nas fibras musculares,

com impacto direto na textura da carne, promovendo o amaciamento, ou caso haja recristalização por recongelamento, pode haver um prejuízo na textura.

O uso do congelamento e da refrigeração não inibe totalmente as alterações físico-químicas durante o armazenamento e, a depender da espécie animal, teor de gordura saturada, condições do processo, dentre outras, pode haver oxidação lipídica, originando-se o ranço, aparecimento de *off flavour*, e degradação das proteínas, decorrente da degeneração da fibra muscular. Neste sentido, Fregonesi et al. (2014) destacam que dentre os principais fatores que reduzem a vida útil de carne refrigerada, incluindo a carne ovina, o mais importante é a multiplicação microbiana, podendo afetar não só a cor, mas também a segurança da carne. Os outros dois fatores são efeito do estresse oxidativo em mioglobina, que causa deterioração da cor e oxidação lipídica, levando a ranço. Deste modo, busca-se a aplicação de técnicas que ofereçam praticidade ao consumidor e manutenção das características do produto fresco.

Assim, a maturação, método de conservação por refrigeração (1 a 7 °C), é utilizada visando melhorar os atributos sensoriais das carnes, através da ação de enzimas proteolíticas, promove a fragmentação de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares (Prates, 2000), aumentando sua maciez e suculência. Neste contexto, a maturação de carnes a temperaturas de refrigeração tem sido empregada visando aumentar a maciez do produto.

Além da maturação, é possível utilizar embalagens com atmosfera modificada em produtos cárneos refrigerados, que serão mantidos durante a estocagem e distribuição numa faixa de 4 °C (HOLLEY e GILL, 2005). A atmosfera modificada propõe a criação de uma atmosfera ativa no interior da embalagem diferente da atmosfera normal do alimento, com o uso de um gás ou mistura de gases.

A técnica que emprega a embalagem com atmosfera modificada consiste na substituição do ar, no interior da embalagem, por uma mistura de gases como oxigênio (O₂), dióxido de carbono (CO₂) e nitrogênio (N₂) ao redor do produto, nas quais o O₂ é utilizado visando à manutenção da cor vermelha, o N₂ é usado como gás de enchimento, e o CO₂ para inibir a multiplicação dos micro-organismos, o que resulta no aumento da vida útil do produto (MANTILLA et al., 2010). Aumentos significativos no prazo comercial de produtos cárneos que não respiram, frescos e processados têm sido obtidos com o uso de atmosfera

modificada (LIMA, 2014), reduzindo a perda por deterioração precoce e aumentando a distribuição de produtos de alta qualidade

A modificação da atmosfera no interior da embalagem é determinada pela interação de três processos: respiração do produto, difusão do gás através do produto e permeabilidade do filme aos gases. A difusão do gás é afetada pela temperatura, massa e volume do alimento, taxa de respiração e pela permeabilidade do filme (LEON, 1999).

Os avanços nos materiais e técnicas de embalagens ampliaram as opções disponíveis para manter a qualidade e aumentar a vida útil dos alimentos. Estudos recentes propõem a utilização do dióxido de carbono para conservação de produtos cárneos, na forma de atmosfera modificada e pelo método alternativo de pré-solubilização (SGS) proposto por Siverstvik et al (2003). Método que tem sido estudado em produtos cárneos como peixe, mexilhões, salsicha e presunto (SIVERTSVIK e JENSEN, 2005; LIMA, 2014).

O uso de CO₂ desorvido em produtos que não respiram tem mostrado o aumento da vida útil e a obtenção de produtos com características sensoriais e microbiológicas desejáveis após o período de maturação (FERNANDES et al., 2014, LIMA, 2014). Assim, torna-se importante avaliar a vida útil da carne ovina estocada sob refrigeração em sistemas de atmosfera modificada, investigar o uso da pré-solubilização do CO₂ e sua influência direta na qualidade físico-química e sensorial desta carne como uma alternativa de comercialização em relação ao método tradicional de congelamento.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar a estabilidade da carne de cordeiro sob diferentes métodos de armazenamento, como o congelamento e a refrigeração, esta combinada com o uso de atmosfera modificada e pré-solubilização do dióxido de carbono.

Objetivos Específicos

- a) Avaliar a influência dos processos de congelamento rápido e ultra rápido nas características físicas, químicas e microbiológicas da carne de cordeiro comparado ao congelamento tradicional após 90 e 150 dias de estocagem;
- b) Verificar o efeito bacteriostático das proporções de dióxido de carbono aplicado na maturação de carne de cordeiro, através das análises microbiológicas do produto;
- c) Verificar a estabilidade oxidativa das proteínas e lipídios durante os processos de conservação e estocagem sob diferentes sistemas de acondicionamento;
- d) Estudar o efeito dos processos de conservação a baixas temperaturas na textura da carne de cordeiro, em diferentes sistemas de acondicionamento;
- e) Determinar a vida útil da carne de cordeiro submetida à pré-solubilização de CO₂ e acondicionado sob atmosfera modificada através das análises microbiológicas e físico-químicas associadas à composição gasosa no interior da embalagem.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esse capítulo enfatiza processos de conservação de carnes refrigeradas, com destaque para aplicação de atmosfera modificada e pré-solubilização de CO₂ (SGS), apresentando os principais aspectos relacionados à qualidade da carne ovina, suas propriedades físico-químicas e microbiológicas, e uma revisão das técnicas que tratam da estabilidade proteica e lipídica em carnes.

1.1. A Carne de Cordeiro

O consumo de carne ovina pelos brasileiros é menor se comparado ao de outras carnes (bovina, suína, aves), contudo, nos grandes centros urbanos, principalmente na região Sudeste, observa-se aumento no consumo desta carne, e as perspectivas de comercialização são promissoras (MADRUGA, et al., 2008; VIEIRA, CUNHA e GARRUTI, 2010).

No agronegócio da carne, todos os segmentos da cadeia são responsáveis e participam direta ou indiretamente na satisfação do consumidor, através dos atributos do produto ou pelo preço (OSÓRIO, OSÓRIO e SAÑUDO, 2009). Fatores diversos interferem na qualidade do produto final que irá chegar até o consumidor, como: a raça do animal, o manejo alimentar, manejo pré-abate, técnicas de abate e pós-abate, processos de conservação da carne pelo frio ou calor, embalagem, dentre outros.

A carne pode ser definida como o produto resultante das contínuas transformações que ocorrem no músculo após a morte do animal, é utilizada como alimento de elevada qualidade nutricional devido a sua função plástica, influenciando na formação de novos tecidos e na regulação de processos fisiológicos e orgânicos, além do fornecimento de energia (ZEOLA, 2002; PINHEIRO et al., 2009). Assim, os processos de *post mortem* são fundamentais para que o músculo seja transformado em carne de forma adequada, garantindo assim a qualidade das fibras musculares que determinarão a maciez e aceitabilidade da carne de ovino. A maciez e textura da carne são fatores determinantes na decisão de compra pelo consumidor. O diâmetro das fibras musculares da carne ovina é menor que o das suína e bovina, e

tende a aumentar levemente com a idade, conferindo uma característica de maior firmeza a essa carne (ZAPATA, 2004), fator que pode ser influenciado pelo tratamento pós-abate e interferir na qualidade da carne.

Embora o tratamento de refrigeração pós-abate seja essencial para o prolongamento da sua vida útil, deve ser rigorosamente controlado de forma a não ser prejudicial à qualidade da carne (SEVERO, 2011). A temperatura de *post mortem* e fatores de estresse influenciam nas características da carne, como comprimento de sarcômero, maciez, coloração, suculência e rendimento industrial.

Na antiguidade, o homem descobriu maneiras de prolongar a vida útil da carne, transformando-a em produtos como carne seca, salgada e defumada. Com o advento das novas tecnologias de conservação surgiram os processos de refrigeração e o uso de novos materiais de embalagens.

O congelamento pode ocasionar alterações diversas nas carnes, dentre as quais a desnaturação proteica, a oxidação lipídica, a queimadura pelo frio e o rigor de descongelamento (*Thaw rigor*). Este último ocorre quando o músculo foi congelado antes do *rigor mortis* ser finalizado. O congelamento inibe as alterações *post mortem* e após o descongelamento ocorre hidrólise do ATP e contração muscular, a carne torna-se dura e com maior liberação de exsudado. Quando o descongelamento ocorre em ambiente refrigerado (temperatura de 0 a 5 °C) a reabsorção de água é mais completa, porém leva mais tempo e pode aumentar a contaminação microbiana.

Atualmente, o desenvolvimento de novos produtos processados tem como função fornecer ao consumidor opções de consumo com sabor variados e adequados as suas preferências, fazendo com que a indústria de produtos cárneos aproveite esse nicho de mercado e agregue valor tanto a cortes nobres quanto aos considerados de carne de segunda.

Na comercialização da carne ovina as carcaças podem ser vendidas inteiras, em meias carcaças, em cortes da carcaça ou cortes cárneos (MORENO, SILVA SOBRINHO e LEÃO, 2007). Os cortes da carcaça em peças individualizadas facilitam a comercialização, agregando valor pela diferenciação dos mesmos de acordo com as regiões anatômicas: cortes de primeira, que compreendem a perna e o lombo; de segunda, a paleta; e de terceira, as costelas, baixos e pescoço (YAMAMOTO et al., 2004).

Segundo OSÓRIO e OSÓRIO (2003), os fatores considerados pelo consumidor na escolha do corte cárneo são: a aptidão para a

preparação culinária, rendimento na preparação da carne, valor nutritivo do alimento e forma de apresentação do corte. A perna apresenta maior percentual na carcaça ovina, com maior rendimento da porção comestível, e além de predizer o conteúdo total dos tecidos na carcaça, é o corte mais nobre da carcaça ovina (SOUSA, 1993; YAMAMOTO, SILVA SOBRINHO e SOUZA, 2006).

Silva et al. (2008) destacam a padronização dos cortes comercializados definidos de acordo com os costumes regionais e, além disso, seu consumo pode estar associado aos hábitos alimentares da população local (OLIVEIRA, PÉREZ e ALVES, 2002). A padronização dos cortes, ou até mesmo os nomes que lhe são atribuídos, varia entre os países e até entre áreas próximas dentro de um mesmo país ou região, o que torna essa prática muitas vezes confusa (GARCIA et al., 2004) e deve estar associado ao padrão de praticidade desejado pelo consumidor atual.

A busca por alimentos mais saudáveis e a maior exigência em relação à qualidade dos produtos, direcionaram parte do nicho de mercado a consumir carnes que apresentam diferenciada qualidade nutricional e sensorial (COSTA et al., 2008). Neste sentido, a carne de cordeiro é um alimento com boa textura, alto valor nutritivo e é de fácil digestibilidade, apresenta elevado índice de proteínas, vitaminas e minerais e é um pouco mais calórica do que a de bovinos, suínos e aves e apresenta também maior quantidade de gordura (JESUS JÚNIOR et al., 2010).

Há grande potencial mercadológico desta carne, pois o consumidor preocupado com os efeitos de saúde dos alimentos tende a valorizar seu baixo conteúdo de gordura saturada em relação a outras carnes vermelhas (KANNAN, 2001). A carne ovina apresenta bons indicadores nutricionais, especialmente quanto aos ácidos graxos (SENEGALHE et al., 2014) e tem sido alvo de diversas pesquisas que buscam conhecer o perfil lipídico desta carne (BRAGAGNOLO, 2001; COSTA et al., 2009; MADRUGA e BRESSAN, 2011). Madruga et al (2007) identificaram a presença de 12 a 18 ácidos graxos em carne caprina, dentre os quais: oleico, esteárico, palmítico, linoleico, palmitoleico, linolênico. A ingestão destes ácidos está relacionada com a prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, infecções, lesões, alterações imunológicas, câncer, de modo que estão associados à funções imunitárias, e contribuem individualmente ou em conjunto para a melhora do quadro patológico (YANG et al., 2012).

1.1.1. Estrutura da Carne

A carne é composta quase que exclusivamente de músculo estriado voluntário, ou esquelético, com presença de alguma musculatura lisa somente como componente de paredes de vasos sanguíneos. Cada músculo é coberto por uma fina camada de tecido conjuntivo que se ramifica para seu interior. Fibras nervosas e vasos sanguíneos entram e saem do músculo, proporcionando enervação, bem como uma cadeia vascular para suprimento de nutrientes e remoção de resíduos do metabolismo (JAMES, 1993). A unidade estrutural do tecido muscular é uma célula altamente especializada, denominada fibra muscular. Uma fibra muscular é composta por centenas a milhares de miofibrilas, em que os sarcômeros constituem as unidades contráteis. O sarcômero apresenta um disco em cada extremidade, conhecido como disco Z e além de quatro tipos de grandes moléculas proteicas: actina, tropomiosina, troponina e miosina (PEARSON e YOUNG, 1989), no momento da contração muscular os filamentos de actina deslizam sobre os de miosina (JAMES, 1993).

As fibras vermelhas apresentam teor mais elevado de mioglobina, contração lenta em função do metabolismo oxidativo e baixo metabolismo glicolítico, sendo mais resistentes à fadiga do que as fibras brancas (PEARSON e YOUNG, 1989). As intermediárias, aliam características que não permitem enquadrá-las nos outros dois tipos, enquanto as brancas possuem menor quantidade de mioglobina, alto metabolismo glicolítico e contração rápida (KLONT et al., 1998). Em relação ao teor de calpastatina das fibras musculares, as do tipo I apresentam teores mais altos, quando comparadas com as do tipo IIA, que apresentam teor intermediário, e as do tipo IIB, as quais apresentam menor teor de calpastatina (OUALI e TALMANT, 1990).

A composição do tipo de fibra no músculo é de particular importância para o metabolismo *post mortem* e para a capacidade de retenção de água, afetando a qualidade da carne (ZEOLA et al., 2007). Desta forma, estudos demonstram que músculos com predominância de fibras vermelhas são mais susceptíveis ao encurtamento pelo frio. A associação das fibras vermelhas ao encurtamento está relacionada com sua pequena capacidade para reter o cálcio a baixas temperaturas e pH, assim como ao maior número de mitocôndrias (CORNFORTH et al., 1980). Entretanto, Vestergaard et al. (1994) observaram que o aumento de fibras brancas na carne de bovinos foi associada à diminuição da maciez, em função do decréscimo na proteólise *post mortem*. Esse

resultado está relacionado ao aumento na proporção da calpastatina, que inibe a ação das calpaínas, responsáveis pela maturação da carne (PRATES, 2000).

O processo enzimático que promove o amaciamento da carne durante a estocagem refrigerada, ou maturação, ocorre devido à proteólise dos componentes estruturais das miofibrilas. As enzimas proteolíticas atuam ocasionando algumas alterações no tecido muscular, como: (a) degradação e/ou enfraquecimento gradual da linha Z, que conduz à degradação das miofibrilas; (b) desaparecimento da troponina T; (c) degradação da desmina e nebulina e, provavelmente, da titina (proteínas estruturais do tecido muscular) (ALVES, GOES e MANCIO, 2005).

As alterações enzimáticas causam diminuição da rigidez e aumento gradativo da maciez da carne (KOOHMARAIE, 1994), com o início do *rigor mortis* há o declínio do pH de 6,5 para 5,7, e consequente aumento da atividade da calpaína I de 15 a 97% da atividade máxima. Há a inibição das calpaínas pela calpastatina e a inativação de calpaínas e calpastatinas por autólise, na medida em que ocorre o amaciamento da carne (DRANSFIELD, 1993).

Algumas das evidências de Goll et al. (1992), de que as calpaínas sejam as principais responsáveis pelo amaciamento *post-mortem*, foram transcritas e relacionadas por Taylor et al. (1995):

1. Mínima degradação da actina e miosina ocorre durante as primeiras 72 horas de estocagem a 2 °C - 4 °C. A maior parte do amaciamento, no entanto, ocorre neste período. Sabe-se que as calpaínas são as únicas enzimas proteolíticas que não degradam actina e miosina.

2. Mínima degradação da α -actinina, a principal proteína da linha Z, ocorre durante as primeiras 72 horas de maturação. Sabe-se que as calpaínas são as únicas enzimas que degradam a estrutura da linha Z e liberam a α -actinina desta estrutura sem degradá-la.

3. O aumento da concentração de cálcio no músculo resulta em aumento da maciez. Sabe-se que nenhuma das catepsinas nem as proteases multi catalíticas são ativadas por cálcio.

4. Maior amaciamento, por um grande período de maturação, ocorre em músculos que contêm grandes quantidades de calpaínas (principalmente, μ -calpaína) ou baixa atividade de calpastatina. Baixa atividade de calpastatina está diretamente associada com maior maciez *post-mortem*.

As proteínas do músculo podem ser divididas, de um modo geral, naquelas que são solúveis em água ou em soluções salinas

diluídas (proteínas sarcoplasmáticas), aquelas que são solúveis em soluções salinas concentradas (proteínas miofibrilares) e aquelas que são insolúveis em soluções salinas concentradas, pelo menos a baixa temperatura (proteínas do tecido conjuntivo) (LAWRIE, 2005).

A carne é utilizada como alimento de elevada qualidade nutricional devido a sua função plástica, o que influencia a formação de tecidos novos e a regulação de processos fisiológicos e orgânicos, além de fornecer energia (ZEOLA, 2002).

As proteínas da carne são originárias principalmente do tecido muscular e conjuntivo. No tecido muscular a quantidade de proteína bruta no músculo varia de 18 a 22%, com as proteínas miofibrilares estando presentes em maior quantidade, seguidas pelas proteínas sarcoplasmáticas. O tecido conjuntivo tem maior quantidade de colágeno e elastina (ORDOÑEZ, 2005). A proteína da carne caprina é similar a da carne bovina e esta possui todos os aminoácidos essenciais e com baixo valor calórico (LAWRIE, 2005). A avaliação dos teores de proteína total e de suas frações propicia subsídios para a adequada interpretação do mecanismo actina-miosina.

É possível caracterizar as proteínas da carne através da eletroforese, auxiliando no entendimento de suas propriedades e a variação destas em função ao processamento ou armazenamento aplicado aos produtos cárneos.

A forma de estocagem de produtos cárneos, seja sob congelamento ou refrigeração, como o caso de produtos maturados, é um dos fatores que interfere no amaciamento da carne. Durante o período de estocagem, as carnes sofrem importantes mudanças químicas e estruturais dentre as quais a desnaturação proteica e a rancificação lipídica que podem trazer sérios prejuízos por alterarem aspectos importantes para o consumidor como cor, sabor, textura, além de limitar o tempo de vida útil do produto.

Durante a maturação, a carne sofre importantes mudanças químicas e estruturais como o aumento do comprimento do sarcômero, da atividade autolítica das enzimas, da liberação de enzimas lisossômicas e da tensão sobre diversos músculos, da redução da desnaturação proteica, da perda da força de tensão do componente muscular, devido à desintegração das bandas Z, e da ruptura da fibra muscular (GODRIM et al., 2011).

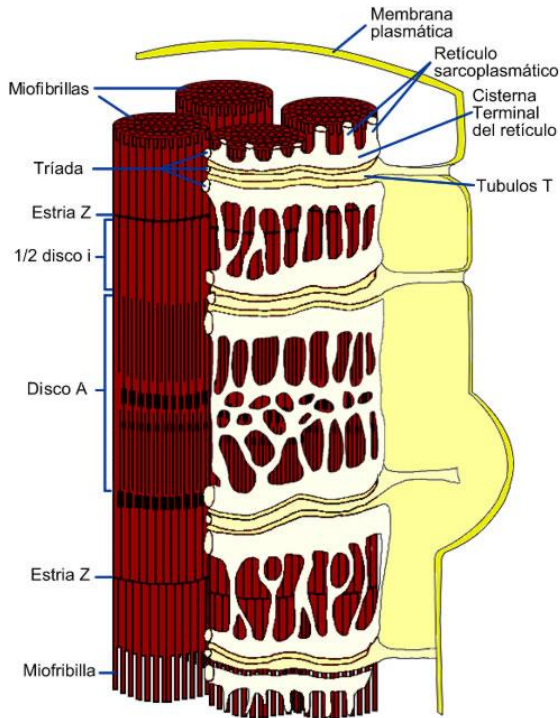
O congelamento é uma das melhores maneiras de se manter as características originais de um produto cárneo e evitar suas alterações sensoriais. A qualidade da carne congelada pode ser similar àquelas da

carne fresca, se cuidados adequados forem tomados durante o congelamento. Segundo Pereira (2003), a melhor forma de se evitar alterações nas características da carne é através do congelamento rápido, pois queda rápida da temperatura, que embora apresente formação de microcristais de gelo, estes não ocasionam dano celular e/ou insolubilização das proteínas.

No caso de cortes especiais de carne, embalados e congelados, pode ocorrer perda de qualidade do produto durante o período de congelamento. Além disso, o congelamento pode provocar um aumento na perda de água, comprometendo a maciez da carne.

A fibra muscular é delimitada por uma membrana, envolvida por um sarcolena e seu citoplasma é preenchido por estruturas microscópicas, que medem de 1 a 2 μm , chamadas de miofibrilas. As miofibrilas possuem estriações transversais pela alternância entre faixas claras e escuras, que correspondem à banda I e banda A. No meio da banda I, encontra-se a Linha Z, uma linha transversal escura, que se repete em unidades iguais chamadas sarcômeros. A observação da ultraestrutura presentes no tecido muscular das carnes é fundamental para o estudo da conservação das carnes.

Figura 1.1. Estrutura da fibra muscular



Fonte: ICTA (2002).

Segundo NGAPO et al. (1999) estudando o efeito do congelamento e estocagem na ultraestrutura muscular de carne suína, houve maior degradação da ultraestrutura em amostras armazenadas sob congelamento, com ocorrência de cavidades maiores que em amostras sem armazenamento. No entanto, após o descongelamento, não houve diferença na ultraestrutura das carnes estocadas e sem estocagem.

O uso de técnicas histológicas permite a visualização da estrutura dos tecidos musculares (Figura 1.1), e associadas à microscopia eletrônica, é possível visualizar a ultraestrutura destas células. Segundo ROCHA et al. (2004), a maciez, suculência e sabor, são características que determinam a qualidade da carne e estão relacionadas com o diâmetro médio das fibras musculares, que por sua vez, quanto mais elevados indicam maior proporção de massa muscular branda e relação ao tecido conjuntivo.

As proteínas miofibrilares e o tecido conjuntivo são componentes diretamente relacionados a maciez das carnes (Ishiara e Madruga, 2013). A observação do tecido muscular em microscópio permite verificar o grau de encurtamento do tecido muscular por influência do frio, através da visualização da disposição dos sarcômeros ao longo das fibras cárneas, bem como verificar a degradação do tecido muscular, pelo afastamento das fibras e tecido conjuntivo, através da visualização da linha Z, da banda I e da banda A, que são indicadores de maciez em produtos cárneos (ISHIARA, 2010), usados para verificar a eficiência dos processos de fabricação e conservação de carnes. O uso de técnicas histológicas permite a visualização da estrutura dos tecidos musculares, e associadas à microscopia eletrônica, é possível visualizar a ultraestrutura destas células, e representa uma importante ferramenta para o estudo de métodos de conservação de carnes (LAEMMLI, 1970; KOOHMARAIE, 1994; TAYLO et al., 1995).

A textura da carne apresenta correlação direta com tamanho do sarcômero, e juntamente com o índice de fragmentação miofibrilar tem sido bastante utilizados no estudo de maciez em produtos cárneos. Além disso, a maciez da carne pode ser definida quando se utilizam medidas físicas de resistência da carne cozida submetida à compressão ou cisalhamento e maciez avaliada por análises sensoriais, quando se utiliza a resistência encontrada na mastigação por degustadores treinados (Felício, 1982).

1.1.2. Propriedades da Carne

1.1.2.1. Propriedades físico-químicas

Para atender às exigências do mercado consumidor, o setor produtivo precisa conhecer os fatores que interferem nas características físicas e químicas da carne, pois estas determinam sua qualidade e aceitabilidade (MARTÍNEZ-CEREZO et al., 2005). O valor comercial da carne está baseado em seu grau de aceitabilidade pelos consumidores; e, segundo Mont et al. (2012), está diretamente correlacionado aos parâmetros de palatabilidade do produto, que são aquelas agradáveis aos olhos, nariz e paladar, dentre as quais sobressaem-se os aspectos sensoriais de sabor ou “flavour” e de suculência (MADRUGA et al., 2005). De modo que, a qualidade da carne é decorrente da combinação entre sabor, suculência, textura, maciez e aparência, constituintes que exercem influência na aceitação do produto (MADRUGA, 2000), e têm

influência direta no consumo, pois é através delas que o consumidor escolhe o produto (BRISKEY e KAUFFMAM, 1971).

Dentre as propriedades mais importantes da carne, destaca-se a qualidade química, baseada nos níveis de proteína, lipídios, colesterol e ácidos graxos; a física através de parâmetros como pH, cor, perda de peso por cocção, capacidade de retenção de água e a qualidade sensorial que avalia sabor, maciez, aroma, suculência entre outros (MONTE et al., 2012).

1.1.2.1.1 Capacidade de retenção de água

A água é o maior constituinte da carne (carne magra: 70-75%) e a habilidade da mesma em reter esta umidade é muito importante para a manutenção das propriedades funcionais (VIEIRA, 2007). A quantidade de água presente em nível intramuscular influi diretamente na textura, pois quanto mais elevado o conteúdo de água fixada no músculo, maior será a maciez da carne (GAYA E FERRAZ, 2006). A capacidade de retenção de água se refere à capacidade que a carne tem para reter água durante aplicação de forças externas, tais como, o corte, aquecimento, moagem ou pressão, sendo que uma menor capacidade de retenção de água implica em perdas no valor nutritivo através do exsudado liberado, resultando, após o cozimento, em carnes mais secas e com menor textura (ZEOLA et al. 2002).

A capacidade de retenção de água (CRA) pode ser influenciada pela queda no pH; que, quanto mais elevado apresenta tendência à maior capacidade de retenção de água (HUFF-LONERGAN e LONERGAN, 2005). A CRA também está relacionada à cor da carne, pois a quantidade de luz absorvida ou refletida depende da estrutura da superfície, que varia com o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares e a localização de água dentro das células (PEARSON, 1994).

Quanto à CRA, a água apresenta-se sob a forma de água ligada (5%), imobilizada (10%) e livre (85%), sendo que o teor total de água da carne é importante nos processamentos que a mesma irá sofrer como resfriamento, congelamento, salga, cura, enlatamento, etc. Quanto maior o teor de água ligada, maior a capacidade de retenção de água do tecido muscular (DABÉS, 2001; PARDI et al., 2006). Todos os fatores que influenciam a capacidade de retenção de água da carne *in natura* afetam também a CRA da carne congelada e descongelada. No congelamento, partes das células rompidas durante o processo passam para os espaços intercelulares formando, ao descongelar.

1.1.2.1.2 pH

Em situações onde são respeitadas as condições de bem-estar do animal *ante mortem*, o pH do músculo após a morte do animal diminui de aproximadamente 7 para 5,5. Isso ocorre devido ao uso do glicogênio, que, em ausência de oxigênio, é transformando em ácido láctico, resultando em reações bioquímicas *post mortem* e na transformação de músculo em carne (PINHEIRO et al., 2009). De acordo com Woltersdorf e Troeger (1990) o pH é o mais importante parâmetro para se prever a qualidade final da carne, considerado o principal indicador para sua qualidade a nível comercial, uma vez que pode afetar as características importantes como a cor, maciez, sabor, capacidade de retenção de água, perdas de peso por cocção e conservação (OURIQUE e NICOLAIEWSKY, 1990).

1.1.2.1.3 Cor

A cor da carne constitui um critério básico na escolha do produto, tendo em vista que o consumidor pode apreciar no momento da compra, a não ser que outros fatores, como o odor, sejam marcadamente indesejáveis (ZEOLA et al., 2004).

Muitos fatores podem influenciar a estabilidade da cor de produtos cárneos, desde a dieta dos animais até os procedimentos de envase da carne. A estabilidade da cor, pode ser otimizada através do controle desses fatores para manter a quantidade de oxidação para um mínimo possível (JOSÉ et al., 2009).

Se a superfície parece descolorida e marrom, o consumidor, provavelmente, vai optar por não comprar esse corte, causando prejuízo para a indústria da carne. A cor da superfície da carne é devido ao estado químico do pigmento mioglobina presente no músculo (FOX, 1966). O pigmento vermelho, oximioglobina, pode ser oxidado para formar a metamioglobina de cor castanha, deixando a superfície de carne com esta cor, quando a relação entre a oximioglobina e a metamioglobina torna-se demasiado baixo (HUNT, 1980).

1.1.2.1.4 Textura

A exigência do consumidor tem aumentado buscando produtos padronizados e com garantia de maciez (KOOHMARAIE, SHACKELFORD E WHEELER, 1995), de modo que os produtores e as indústrias da carne estão se mobilizando para adequar seus sistemas de

produção com objetivo de oferecer aos seus clientes um produto com melhor qualidade. A textura da carne é a primeira característica avaliada pelos consumidores quando se mencionam os aspectos qualitativos (LUCHIARI FILHO, 1997).

A maciez da carne pode ser medida subjetivamente, utilizando de painel sensorial, em que um grupo de pessoas treinadas classifica a carne em relação à maciez após ter provado as amostras ou pelo método objetivo, que utiliza equipamento, como o texturômetro, para medir a força necessária para o cisalhamento de uma seção transversal de carne e, quanto maior a força dispensada, menor é a maciez apresentada pelo corte de carne. Segundo Bouton et al. (1971), os dois métodos possuem alta correlação entre si ($r=0,82$; $p<0,001$) em estudos de textura em produtos cárneos.

A avaliação instrumental pela mensuração da força de cisalhamento tem sido a principal ferramenta utilizada em estudos envolvendo a textura da carne (PINTO, POSANO e ALMEIDA, 2010), e pode ser definida como a força que divide a amostra em partes contíguas por um deslizamento relativo de uma sobre a outra, numa direção paralela aos seus planos de contato até que haja a separação da amostra, que explica o que acontece com a combinação dos métodos de compressão e cisalhamento causada pelos dentes diretamente nos alimentos, numa sequência de compressão e cisalhamento (PEREIRA, 2012). Consideram-se como carnes macias, valores de força de cisalhamento inferiores a 5 kg.

Segundo Ishiara e Madruga (2013), alguns indicadores podem e devem ser utilizados em estudos da maciez em carnes, como a medição da força de cisalhamento, o índice de fragmentação miofibrilar, o comprimento do sarcômero, e a quantificação do colágeno, considerando-se a facilidade em sua aplicação e elevada correlação existente com a maciez da carne.

1.1.3 Aspectos microbiológicos em carne de cordeiro

Mesmo com o progressivo aumento do consumo, a carne ovina é comercializada, na maioria dos casos, congelada. Com a tendência atual de maior procura por produtos de conveniência, vislumbra-se a necessidade do mercado começar a ofertar a carne ovina na forma de cortes resfriados. Porém, além do período de vida útil muito menor, se comparada com a carne congelada, que pode permanecer estocada por

vários meses, o produto refrigerado é susceptível a alterações, que comprometem suas características físicas, químicas e microbiológicas (FERNANDES et al., 2012).

Segundo Lima (2014), a qualidade global de um produto cárneo é resultante de fatores biológicos (contagem microbiana, a ausência de micro-organismos patogênicos e vírus), químicos e das características sensoriais.

O conhecimento das populações microbianas associadas à deterioração da carne é extenso. Os organismos mais comumente envolvidos na deterioração da carne são *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta* e as bactérias ácido lácticas (PENNACHIA et al., 2011), esta última, deve ser observada, principalmente, em alimentos embalados a vácuo.

A contaminação da carne pode ocorrer por contato com a pele, pêlo, patas, conteúdo gastrointestinal, equipamentos, mãos e roupas de operários, água utilizada para lavagem das carcaças, equipamentos e ar dos locais de abate e armazenamento. A contaminação pode ocorrer em todas as operações de abate, armazenamento e distribuição e sua intensidade depende da eficiência das medidas higiênicas adotadas.

O perfil microbiológico apresentado pelos produtos cárneos ao longo da cadeia produtiva, desde o abate, processamento, armazenamento, comercialização do produto final até chegar ao consumidor final, é determinante para definir a qualidade da carne de cordeiro.

O armazenamento aeróbico pode acelerar a deterioração devido ao rápido crescimento das *Pseudomonas* spp., enquanto que alimentos embalados a vácuo e com atmosfera modificada podem favorecer a predominância de uma população de bactérias anaeróbias facultativas incluindo bactérias ácido lácticas, que são reconhecidas como importantes concorrentes dos outros grupos de micro-organismos deteriorantes, sob tais condições (ALVES, SILVA e FRANCO, 2012). Similarmente, micro-organismos psicrófilos e psicrotróficos são confirmados como agentes causadores de deterioração em carnes refrigeradas (DOULGERAKI et al., 2012). A sobrevivência e proliferação de micro-organismos estão relacionadas com a composição gasosa da atmosfera ao redor da carne e também pela contagem microbiana inicial do produto no momento do envase, incluindo as condições de armazenamento.

O início da deterioração pode ser detectado através da descoloração superficial, quando a contagem microbiana atinge cerca de

10^6 UFC cm^{-2} , sendo que as alterações em relação ao odor podem ser evidenciadas a partir de valores de 10^7 UFC cm^{-2} ; de sabor, 10^8 UFC cm^{-2} e a limosidade superficial pode ser observada ao se ter uma população microbiana de 10^9 UFC cm^{-2} de amostra.

Os limites aceitáveis estabelecidos pela legislação brasileira através da Resolução RDC n.12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), prevê contagem para carne embalada a vácuo, não maturada, de 10^4 UFC para coliformes termotolerantes, 3×10^3 UFC para estafilococos coagulase positiva e ausência de *Salmonella Spp.* em 25g de amostra.

1.2 Métodos de conservação de carnes à baixas temperaturas

A conservação da carne por resfriamento e congelamento, bem como da maioria dos alimentos, tem sido recomendada, por sua grande capacidade em manter as características químicas, sensoriais e nutritivas do produto o mais próximo possível das características iniciais, e ainda dificulta a ação desfavorável de micro-organismos e enzimas (SOUTHGATE, 1992). O processo de congelamento pode ser classificado em dois tipos: convencional e congelamento muito rápido ou criogênico (Vicente et al., 1994)

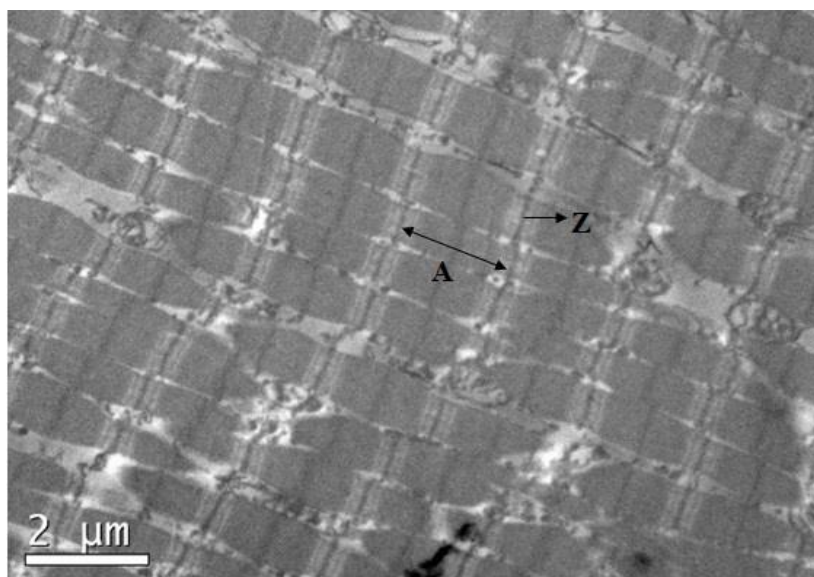
O congelamento, quando feito corretamente, apresenta vantagens, dentre as quais a manutenção da cor, sabor e qualidades nutricionais, bem como, quando o processo de armazenagem segue todos os critérios necessários para que o produto mantenha sua qualidade (FONTES e LOPES, 1994).

No processo de congelamento, várias temperaturas podem ser utilizadas para que se congele um produto, dependendo da origem do produto quando se dá em temperaturas muito baixas, denomina-se de congelamento ultra rápido, quando, geralmente, se utiliza o nitrogênio líquido ou seu vapor. Um dos grandes problemas do congelamento está relacionado com a formação de cristais de gelo no interior das células do produto, provocando perda na qualidade da carne. Normalmente, o congelamento convencional, traz maiores problemas que o criogênico ou ultra rápido (MONTEIRO FILHO, BRAGA E MATA, 2002). SILVEIRA et al. (1988), verificaram que o tratamento criogênico reduziu a contaminação inicial das carcaças por coliformes fecais.

As fibras são formadas por um conjunto de miofibrilas, que podem ser alteradas durante o processo de congelamento e armazenamento. Quando os músculos se contraem durante o

congelamento, existe a probabilidade de rompimento das estruturas celulares que só será percebido durante o descongelamento sob a forma de exsudado, suco celular proveniente do rompimento das células da carne.

A fragmentação das miofibrilas identifica a integridade da fibra muscular, estando essa fragmentação ligada diretamente aos valores de perda de peso, massa específica, maciez e força de cisalhamento. A fibra muscular apresenta uma unidade funcional denominada de sarcômero, cujo comprimento é um referencial para a avaliação da capacidade de retenção de água e maciez da carne.



A – indica a medida do sarcômero; Z – corresponde à Linha Z.

Na exposição ao frio, a contração se dá com mais intensidade nas carnes vermelhas do que nas carnes brancas, pois estas possuem uma liberação de íons de cálcio menos intensa (DRANSFILD e LOCKYER, 1985).

Roseiro, Santos & Melo (1994) ao investigar a influência da temperatura *post mortem* nos aspectos físicos da carne, verificaram que a perda de exsudado aumenta logo após o descongelamento, aumentando, também, a dureza da carne. E isto, segundo o autor, ocorre devido ao tamanho dos cristais de gelo no interior das células. Atualmente, a indústria usa o conhecimento da relação entre a dureza da

carne e o encurtamento pelo frio, para diminuir ao máximo seu endurecimento durante o armazenamento, isto em se tratando de bovinos e ovinos (MONTEIRO FILHO, BRAGA E MATA, 2002).

Morgado et al. (2011) concluíram em pesquisa com carne ovina, que o processo de congelamento em embalagem a vácuo possui maior influência na preservação dos parâmetros qualitativos da carne ovina em comparação à embalagem sem vácuo.

Na maturação ocorre o amaciamento progressivo da carne, que pode ser em períodos variáveis de acondicionamento da carcaça ou de cortes comerciais sob refrigeração. Durante este período, as enzimas proteolíticas do músculo, notadamente as calpaínas, enzimas dependentes de cálcio, agem produzindo degradação parcial da integridade estrutural do sarcômero (ZAPATA et al., 2004).

O mecanismo de amaciamento da carne é o mesmo em todos os tipos de músculos e espécies de animais produtores de carne (ZAPATA et al. 2004). Contudo, para se conseguir um ótimo amaciamento da carne durante o período de maturação, é necessário que os animais apresentem, no momento do abate, níveis adequados de glicogênio muscular que permitam a obtenção de valores de pH final da carne em torno de 5,5 (KEMP et al., 1981).

Fernandes (1997) ressalta que a maturação, além de melhorar a maciez, altera o sabor das carnes. O aumento da maciez da carne durante a maturação não se deve exclusivamente à proteólise, a proporção relativa de actina e miosina num estado de ligação mais fraco ou mais forte pode afetar esta propriedade da carne (BORGES et al., 2006).

A influência da taxa de congelamento, forma e tamanho dos cristais de gelo formados durante o congelamento de carne, assim como sua influência sobre a ultra-estrutura, foram investigados por Grujić et al. (1993). Os autores utilizaram ar refrigerado e dióxido de carbono em amostras de músculo, congeladas a taxas diferentes, a -50°C , e verificaram que no congelamento lento os cristais de gelo se formaram intracelularmente, o número de cristais aumentou, enquanto o seu tamanho foi reduzido alterando a maciez do produto final.

1.3 Embalagens para Carnes

A principal função no uso de embalagens em alimentos é proteger e conservá-los, de modo a reduzir a velocidade da decomposição, principalmente quando se trata de produtos muito perecíveis, como é o caso das carnes e seus derivados. O uso de embalagens auxilia na

manutenção de suas características sensoriais, pois inibe as alterações na composição das carnes, além de evitar possíveis contaminações, aumentando a vida útil do produto. Outra função das embalagens, que é de suma importância em termos comerciais, é a apresentação do produto, pois, ela deve mostrar as cores do produto, de forma atrativa ao consumidor final, fato decisivo no momento da compra.

A vida útil de um produto pode ser melhorada se:

- a) Houver controle da temperatura de exposição do produto, pois sua elevação pode favorecer a multiplicação de micro-organismos. A manutenção da cadeia do frio durante o transporte e a comercialização da carne em atmosfera modificada (AM) é um ponto crítico de controle (CONCEIÇÃO, 2002).
- b) Houver controle da umidade do ar, pois pode causar condensação na embalagem e favorecer a migração de água para a superfície do produto e o surgimento de microrganismos;
- c) O tempo de processamento for demasiadamente longo, pode favorecer o aparecimento de microrganismos;
- d) Houver controle de exposição à luz, pois a exposição do produto à luz pode proporcionar alterações de cores e de qualidade do produto (MITTMANN, 2005).

Para diversos produtos refrigerados e embalados sob atmosfera modificada, a deterioração do produto por oxidação pode limitar a vida útil e resultar em perda de sabor e descoloração do produto. A redução do oxigênio disponível e/ou da transmissão de luz através da embalagem durante a estocagem tem consequências nas características do produto, reduzindo a possibilidade de rancificação ou oxidação da porção lipídica.

A quantidade de oxigênio disponível na embalagem deve ser avaliada considerando o oxigênio residual presente na embalagem durante o período em que permanece fechada e a transmissão de oxigênio, do meio externo para o interno, através da embalagem durante a estocagem. Para embalagens de produtos alimentícios com atmosfera modificada sensível ao oxigênio, o oxigênio residual contido deve ser o menor possível pelo período em que a embalagem permanece fechada. Desta forma, os materiais de embalagem utilizados com atmosfera modificada devem fornecer uma barreira ao gás para reter a composição de gás requerida durante todo o período de estocagem (JAKOBSEN et al., 2005).

Existe elevada demanda por embalagens práticas, com funções de facilidade de abertura e fechamento, e permitindo a preparação do produto na própria embalagem, por exemplo, por cozimento ou por aquecimento em forno de micro-ondas. Estes conceitos demandam formatos de embalagens muito particulares e específicos para cada aplicação, que também necessitam de materiais com características específicas, como de resistência ao calor e propriedades mecânicas apropriadas (LANGE e WYSER, 2003).

A baixa permeabilidade a gases, entre outras, é uma das propriedades fundamentais para os filmes utilizados como embalagens de produtos alimentícios. A literatura tem mostrado que para uma combinação adequada de propriedades físico-químicas e tecnológicas de processamento, é possível se trabalhar com filmes monocamadas, porém, produzidos através de blendas poliméricas formando multicamadas internas na estrutura (PETRIS et al., 1998).

A utilização de embalagens a vácuo ou com atmosfera modificada pode aumentar a vida útil da carne ovina, proporcionando um ambiente que inibe as reações oxidativas no produto.

1.3.1 Uso de embalagens com atmosfera modificada (AM) em carnes com aplicação de CO₂.

A atmosfera modificada é um método que altera a composição gasosa de uma embalagem, container ou câmara, retardando deteriorações químicas e crescimento microbológico simultaneamente (SOARES, 2013; SUBRAMANIAM, 1998). É uma técnica aplicada para embalar alimentos refrigerados, frescos ou processados, com limitada vida útil (DEVLIÉGHÈRE et. al, 1998).

Atmosfera modificada envolve a remoção do ar da embalagem em sua substituição por um único gás ou uma mistura de gases. Phillips (1996) resumiu os principais tipos de atmosfera modificada. A atmosfera controlada, o vácuo, a atmosfera modificada ativa e a atmosfera modificada passiva. A atmosfera controlada consiste no controle da proporção dos gases em todo período de estocagem. O vácuo é a retirada quase total dos gases da embalagem antes da selagem (necessita de filmes com baixa permeabilidade a gases). A atmosfera modificada passiva é uma técnica que utiliza o metabolismo do alimento para atingir a composição gasosa desejada. Já a atmosfera modificada ativa consiste na substituição da fase gasosa da embalagem por gases

com proporções estabelecidas, sendo que a proporção e a quantidade dos gases mudam durante o período de estocagem devido à solubilização nos alimentos, permeação nos filmes das embalagens, consumo e produção por reações bioquímicas e microbiológicas (SIMPSON et al., 2009).

A grande vantagem do sistema de atmosfera modificada para carnes no mercado varejista, sobre o sistema a vácuo é a manutenção da coloração vermelho-brilhante, enquanto que a carne a vácuo se apresenta escura e pouco atrativa para o consumidor se embalada com AM com ausência de oxigênio.

O metabolismo microbiano é normalmente negligenciado no desenvolvimento de modelos matemáticos aplicados em sistemas de atmosfera modificada (DEVLIEGHERE et al., 1998b; SIVERTSVIK et al., 2004a, 2004b; SIVERTSVIK e JENSEN, 2005; ROTABAKK et al., 2008a; SIMPSON et al., 2009). Considera-se que apenas no final da vida útil, quando a deterioração do alimento é evidente, a quantidade de gases produzidos e consumidos por micro-organismos será significativa (SIMPSON et al., 2009).

Produtos embalados em atmosfera modificada incluem: carnes vermelhas frescas e processadas, frangos, peixes, crustáceos, vegetais, frutas, massas frescas, produtos derivados do leite, produtos de panificação, café e chá. Para alguns produtos, tornou-se o sistema de embalagem predominante. Carnes resfriadas ainda dominam o mercado com cerca de 30% dos produtos vendidos com AM; carnes processadas alcançam 13% do mercado e produtos marinhos em torno de 10% (CHURCH, 1994).

Quando a atmosfera modificada é aplicada em alimentos que não respiram, é necessária a utilização de filmes com baixa permeabilidade aos gases utilizados, minimizando a dissipação da atmosfera modificada através da embalagem. A vida útil de produtos embalados em atmosfera modificada está frequentemente correlacionada às propriedades de barreira dos filmes empregados. Entretanto, materiais com alta barreira são mais caros e a relação custo benefício deve ser analisada (HOTCHKISS et al., 2006).

O tipo de embalagem com atmosfera modificada mais empregada no acondicionamento de carnes é a embalagem a vácuo (SILVA et al., 2014), que tem por objetivo proteger o produto cárneo do contato com o oxigênio do ar, evitando a oxidação da mioglobina e mantendo o controle na multiplicação microbiana, uma vez que o oxigênio favorece a multiplicação de micro-organismos aeróbios de alto

potencial de deterioração, que alteram o odor, a cor e a aparência dos produtos cárneos (SARANTÓPOULO, 1991).

A escolha das proporções de cada gás no sistema de atmosfera modificada é essencial (LIMA, 2014). Visto que, este influencia não somente o aspecto visual do produto, mas principalmente na sua microbiota, podendo alterar ou inibir o desenvolvimento de determinado grupo de micro-organismos em favor de outro grupo menos nocivo, ou ainda evitar o aumento da contagem total durante períodos mais longos de armazenamento (ESMER et al., 2011).

1.4 Pré-solubilização de CO₂: Processo Soluble Gas Stabilization (SGS)

As carnes vermelhas, como a ovina, são alimentos que não respiram, pois após o abate não há processo metabólico ativo. Assim, os resultados esperados para este tipo de situação estão condicionados a um envase padronizado onde a composição gasosa seja mantida e não ocorra interação significativa com a atmosfera do ambiente. Segundo Rotabakk et al. (2007) para produtos que não respiram, a solubilidade do CO₂ ocorre na água e nos lipídios contidos no produto até que se estabeleça o equilíbrio na proporção de CO₂ dissolvido/disponível no *headspace* da embalagem.

A proporção de N₂ contida na embalagem cumpre a função de evitar o colapso da embalagem devido ao CO₂ dissolvido no produto, e por este ser o mais permeável dos gases, resultando em contração do volume em embalagens flexíveis (ROTABAKK et al., 2008). O uso do O₂ neste tipo de produto é voltado para a inibição do crescimento de bactérias estritamente anaeróbias, em proporções pequenas e suficientes para esta função (SOCCOL e OETTERER, 2003).

A solubilidade do CO₂ em produtos que não respiram varia em função de diversos fatores, dentre os quais Jakobsem e Bertelsen (2002) listaram os de maior importância, que são os fatores intrínsecos ao produto, como pH, percentual de lipídios e umidade, concentração de sal, dentre outros e fatores extrínsecos, como a temperatura, razão gás/produto e concentração do CO₂ inicial na fase gasosa. Estudos têm sido realizados com objetivo de determinar a solubilidade em carne suína, bovina, peixes, frango, ostras e mexilhões (GILL, 1988; DEVLIEGLHERE, 1998; SIVERTSVIK, 2005; ROTABAKK, 2010; LIMA et. al, 2014; SOARES et. al, 2015), no entanto ainda há necessidade de novas pesquisas.

Em alimentos que não respiram, a captação de oxigênio não é considerada, porém, sabe-se que o tecido do músculo pode respirar nos primeiros dias após o abate, diminuindo depois com o tempo (JAKOBSEN e BERTELSEN, 2002). Segundo Lima (2014), a dissolução de CO₂ na superfície de músculos que contenham elevados níveis de CO₂ (>60 %) e pH reduzido, resultam no aumento da perda de água por gotejamento, pela baixa capacidade de retenção de água da proteína. Esse efeito é responsável pelas alterações na textura da carne quando expostas a concentrações elevadas de CO₂.

Na atmosfera modificada, o CO₂ dissolvido no alimento sofre influência da temperatura e a concentração do gás varia em função do tempo de armazenamento, de modo que quando aplicada no *headspace* da embalagem passará por alterações da concentração inicial de gás durante o armazenamento (LIMA, 2014). Isto porque a composição gasosa no *headspace* é dinâmica e variações ocorrem normalmente devido ao metabolismo do alimento, a respiração microbiana, a solubilidade do gás e permeabilidade do material da embalagem (JAKOBSEN e RISBO, 2009; SIMPSON et al., 2001).

A solubilidade do CO₂ em alimentos é influenciada por suas características intrínsecas, com destaque para pH inicial e teor de água e gordura. Segundo SIMPSON et al (2009), a modificação de pH no alimento em consequência da absorção de CO₂ pelo próprio pode alterar o sabor deste, tornando-o ácido após a remoção da atmosfera modificada. A molécula de CO₂ é mais solúvel em água do que qualquer outro gás utilizado em sistemas de atmosfera modificada, quando comparados ao O₂ e N₂, e sua solubilidade em lipídios aumenta com a temperatura (Lima, 2014). Para cada aumento de temperatura na ordem de 10 °C é obtido uma redução de 3 % na solubilidade do CO₂ (CHANG, 1955), no entanto é potencializada quando submetida a baixas temperaturas. Exemplo disto, Gill (1988) estudando solubilidade de CO₂ em carne de cordeiro obteve 99% de gás dissolvido no produto a 0 °C em pH 5,5. O nível mais elevado da solubilidade do CO₂ em água ocorre à temperatura de 0 °C, chegando a 77 atm mmol/kg-1, no entanto, a elevação da temperatura e da concentração de NaCl em um alimento diminuem a solubilidade de CO₂.

A solubilidade do CO₂ está relacionada ao coeficiente de difusão, porém, não sofre alteração significativa quando o alimento é mantido à temperatura de refrigeração constante. Segundo Sivertsvik et al. (2004), o CO₂ se difunde na fração aquosa do alimento em condições de coeficiente de difusão menor do que o da água pura, no entanto, a

transferência de CO₂ também pode ser influenciada pela presença de atividade enzimática.

Visando o aumento na vida útil de produtos cárneos, Sivertsvik (2004a) propôs a utilização do método de embalagem ativa, de pré-solubilização de CO₂ (SGS) usado em produtos que não respiram. No SGS, o CO₂ é dissolvido no produto a temperaturas baixas a pressões acima de 200 kPa, combinado ou não com o uso de embalagens com atmosfera modificada (MENDES et al., 2011). Comportamento relatado por Sivertsvik et al. (2004b), em pesquisas com filés de peixe e produtos cárneos cozidos (SIVERTSVIK e JENSEN, 2005).

A lei dos gases ideais é utilizada como base teórica para a construção de aparatos experimentais impermeáveis com volume constante, onde a quantidade de CO₂ dissolvido no alimento pode ser calculada pela variação da pressão total do sistema, assumindo que toda variação da pressão total é resultado da variação da pressão parcial de CO₂ (JAKOBSEN e BERTELSEN, 2002; CABRAL, 2011).

O uso do SGS é uma maneira de aumentar a eficiência bacteriostática do dióxido de carbono (CO₂) e a eficiência volumétrica das embalagens pela dissolução do CO₂ no produto antes de ser embalado (SIVERTSVIK e BIKERLAND, 2006). Esse método de pré-solubilização do CO₂ no produto é chamado de SGS (*Soluble Gas Stabilization*), com potencial de prevenir o colapso da embalagem causado pela solubilização do CO₂, reduzir o volume livre das embalagens e aumentar a vida útil do produto em comparação à atmosfera modificada tradicional (SIVERTSVIK et al., 2004a; SIVERTSVIK e BIKERLAND, 2006; ROTABAKK et al., 2008a, 2008b;).

CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE DESTES ESTUDO

A principal fonte de proteína na alimentação humana consiste em produtos de origem animal, e sua produção representa a base da economia mundial, e de países como o Brasil, que tem grande percentual do PIB proveniente da atividade pecuária de corte. No Brasil, o maior destaque está na produção de carne bovina, seguida da produção de carne de frango, suína, ovina e caprina. Algumas regiões no país possuem como fonte de renda a agricultura familiar, onde se destacam os pequenos e médios criadores de caprinos e ovinos. Percebe-se forte traço cultural na procura destas carnes, a exemplo da carne ovina, que se

mostra como alternativa alimentar de destaque nas regiões Nordeste e Sul do Brasil.

Embora alguns estados brasileiros, como Pernambuco e Rio Grande do Sul se destaquem por apresentarem rebanhos numerosos, o processamento da carne ovina ainda é insípiente, quando comparado a países mais desenvolvidos no setor, como Uruguai e Argentina. Cerca de 90% das carnes comercializadas no país são na forma congelada, percebe-se a necessidade de adotar técnicas e procedimentos adequados para a manutenção da qualidade dos produtos, e por esta razão há interesse em buscar soluções para aumentar a vida útil da carne ovina e assim aumentar o consumo e comercialização deste produto, buscando outros nichos de consumidores.

Em relação à conservação de carnes, as pesquisas têm avançado no que concerne à combinação de fatores, dentre os quais: tratamentos térmicos capazes de eliminar a carga microbiana inicial e garantir aceitabilidade das características sensoriais, combinados com técnicas de envase, como a aplicação de atmosfera modificada na carne ovina *in natura*, através do vácuo ou de misturas gasosas contendo CO₂, N₂ e O₂ em diferentes proporções. Esses processos, combinados com a conservação do produto a baixas temperaturas, são capazes de prolongar a vida útil do produto. Entretanto, a literatura referencia apenas trabalhos com aplicação de atmosfera modificada utilizando misturas gasosas contendo O₂ em cortes cárneos ovinos e uso de ensave a vácuo, e não há até o momento, estudos disponíveis quanto à aplicação da atmosfera modificada apenas com CO₂ e N₂ em cortes cárneos ovinos, que é uma alternativa viável para conservar as características da carne e prolongar sua vida útil.

Sivertsvik et al (2003), desenvolveram outra técnica para aplicação do CO₂ em alimentos que não respiram, denominada *Soluble Gas Solubilization* (SGS), que pode ser usada como alternativa à atmosfera modificada para diminuir o uso de embalagens de grandes volumes, ao mesmo tempo em que aumenta a vida útil dos produtos. Esta técnica vem sendo estudada em produtos cárneos *in natura* (pescado e mexilhões) e processados (salsicha, presunto, frango, camarão, mexilhão cozido) (Lima, 2014; Al-Nehlawi et al., 2013; Rotabakk et al., 2008; Sivertsvik e Birkeland, 2006; Rotabakk et al., 2006; Sivertsvik, 2003). O presente trabalho visa estudar a aplicação desta tecnologia na carne ovina.

O processo de pré-solubilização do CO₂ (SGS) até o momento vem sendo aplicado a baixas pressões com tempo de processo de 2 horas.

A contribuição e inovação deste trabalho consiste em propor a utilização do CO₂ como atmosfera ativa em filés de carne de cordeiro, tanto na forma pré-solubilizada (processo SGS) e acondicionada em atmosfera convencional ou em atmosfera modificada (CO₂ e N₂) fornecendo dados sobre o comportamento do produto mediante as condições de processo e conservação, ao mesmo tempo em que investiga as propriedades físicas e químicas do produto final. Além disto, a realização de um estudo prévio quanto à qualidade da carne de cordeiro sob congelamento, consiste em verificar os aspectos qualitativos quanto a preservação da ultraestrutura do produto obtido a partir da aplicação de um método tradicional em contraponto à inovação desejada em carne de cordeiro.

CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E MICROSCÓPICA DE CARNE DE CORDEIRO SUBMETIDA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CONGELAMENTO

2.1. INTRODUÇÃO

A produção brasileira de ovinos em 2014 foi estimada em aproximadamente 17 milhões de cabeças, incluídos animais de raças destinadas à exploração de lã e de carne processada (IBGE, 2014). Percebe-se um aumento de 19% no número de animais entre o censo de 2006 e 2012. No que tange à distribuição geográfica destes rebanhos, o Nordeste é a região com maior produção, média de 55,55% da produção nacional; seguida, pela região Sul com 30,03%. As regiões Norte, Sudeste e Centro Oeste possuem respectivamente 3,56 %, 4,43% e 6,42% (IBGE, 2014).

Nas últimas décadas, a indústria de carne de ovinos deixou de se caracterizar como mercado de subsistência e passou, em âmbito nacional, a ser considerado mercado de carnes exóticas, tendo como clientes em potenciais: grandes redes de supermercados, restaurantes e hotéis, lojas de conveniências, dentre outros (CARVALHO, 2004).

A prática de congelamento de carne para prolongar a sua vida útil é amplamente conhecida, considerada um dos métodos mais comuns utilizados para preservar as propriedades deste produto semelhantes aos da carne fresca. Por outro lado, o armazenamento sob temperatura de congelamento oferece aos mercados uma maior flexibilidade (MUELA et al. 2010) e permite a distribuição de carnes entre diferentes e longínquos lugares do mundo (LEYGONIEET al. 2012).

O tempo de conservação da carne é elevado ao se diminuir a temperatura de resfriamento ou congelamento e armazenagem. Entretanto, durante o processo de congelamento, pode ocorrer a desidratação da carne, com a separação da água dos tecidos, sob forma de cristais de gelo, sejam elas água de revestimento, de interposição celular ou de composição das fibras musculares (JUDGE et al., 1989).

O tipo e as proporções dos cristais de gelo formados no interior da carne dependem da velocidade de congelamento. No congelamento lento, como a temperatura da carne permanece próxima do ponto de congelamento inicial durante muito tempo, dá-se a formação de grandes cristais, inicialmente na área extracelular. Estas aumentam seu tamanho devido à água das células, que atravessam a membrana por um

mecanismo de osmose. A formação de massas de gelo e consequente encolhimento das fibras musculares pelo frio promove um dano mecânico à célula. Em razão disso, ocorre a perda de água para o meio extracelular, e ao descongelar, a exsudação será maior, danificando a estrutura miofibrilar da carne (LAWRIE, 1998; PARDI et al., 2001; ROÇA, 2008).

Entretanto, no congelamento muito rápido, ocorre a formação de pequenos cristais formados pela água de composição e de interposição das células. A temperatura da carne diminui rapidamente abaixo do ponto de congelamento inicial, formando-se, à mesma velocidade e percorrendo toda a extensão dos tecidos, com a formação de pequenos cristais de gelo, com aspecto filamentosos (ROÇA, 2008). Neste caso, a maior parte da água intrafibrilar se congela no meio intracelular e as perdas durante o descongelamento são menores. A depender das proporções desses cristais, não ocorre a ruptura dos tecidos. Dessa forma, a qualidade da carne pode ser mantida, ou perdida, no processo de congelamento, com possíveis alterações e efeito controverso na textura (PEREIRA, 2003), o que é indesejável para o consumidor final.

Pesquisas mostram que o congelamento é a técnica mais eficaz para conservação de carnes por períodos prolongados. No entanto, apesar de ser capaz de inibir o crescimento de micro-organismos, as mudanças físicas e químicas na carne continuam ocorrendo mais lentamente, a saber, as reações químicas e bioquímicas, e as alterações físico-químicas e sensoriais (PARDI et al., 2006; SAÑUDO et al., 2013).

LIMA (2012) estudou músculos *longissimus dorsi* da carne caprina sob congelamento através de análises físico-químicas e bioquímicas por até 120 dias sob armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, e caracterizou a carne caprina como um produto bastante perecível, considerando sua elevada atividade de água, associado ao alto teor de umidade. Fernandes et al. (2013) verificaram que a vida útil de lombo de cordeiro estocado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ alcançou 12 meses de vida útil. No entanto, praticamente não há estudos no país que visem minimizar as possíveis alterações na qualidade da carne de cordeiro durante o armazenamento congelado, uma vez que este produto pode ficar armazenado por um período muito longo de tempo.

Considerando esses aspectos, o objetivo desta etapa foi avaliar a influência do congelamento lento ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), rápido ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) e ultrarrápido ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) em carne de cordeiro estocada em condições comerciais,

quanto aos aspectos físicos, químicos, microbiológicos e de ultraestrutura.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

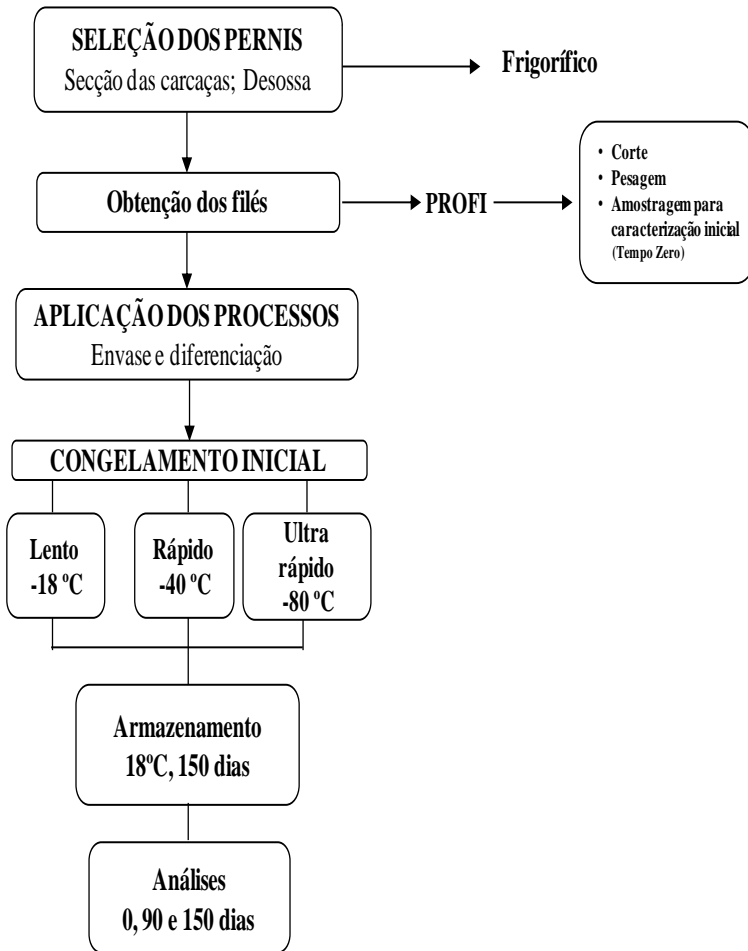
2.2.1. Obtenção da matéria-prima e preparo dos filés

Foram utilizados cordeiros com idade média de um ano, da raça Ile de France, oriundos de criadores do Rio Grande do Sul, dos quais foram utilizados apenas os pernis desossados e fatiados.

Os animais foram abatidos em frigorífico especializado em abate de ovinos, localizado no município de São João do Itaperiú, a 130 km de Florianópolis, conforme as especificações do Serviço de Inspeção Estadual de Santa Catarina.

Seguindo a rotina do frigorífico, após o abate, as carcaças foram submetidas imediatamente à refrigeração em câmara fria a 7 °C. Os pernis foram obtidos, desossados e fatiados após 24 horas, após o abate, sob refrigeração. As fatias de pernil (filés) foram acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo, previamente higienizadas e sanitizadas. Levadas imediatamente às instalações do Laboratório de Propriedades Físicas – PROFI na UFSC, onde foram identificadas, pesadas, embaladas e distribuídas entre amostra fresca (para caracterização inicial) e para aplicação do processo de congelamento, conforme Figura 2.1.

Figura 2.1. Fluxograma do processamento dos pernis de cordeiro



2.2.2 Preparo das amostras e procedimento experimental

Foram utilizados seis pernis desossados pesando em média $3 \pm 0,2$ kg cada. O estudo de congelamento foi realizado com músculos que formam o miolo da alcatra. Três amostras de 500 ± 20 gramas da carne de pernil ovina in natura foram retiradas para análise imediata,

visando à caracterização físico-química e microbiológica da matéria prima inicial (tempo zero).

Após obtenção dos filés (cortes de pernil fatiado), estes foram pesados (300 ± 10 g) e embalados a vácuo, e distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, considerando temperatura de congelamento inicial x tempo de estocagem. Os filés foram submetidos a três diferentes temperaturas de congelamento inicial, por até 24 horas: $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (congelamento lento); $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (congelamento rápido) e $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (congelamento ultra rápido).

Para o processo de congelamento lento, utilizou-se freezer doméstico à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. No processo de congelamento rápido, os filés foram colocados em congelador de placas, à $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 6 horas e meia. Ambos os processos são considerados congelamento convencional.

E, para o congelamento ultra rápido, os cortes foram colocados em ultrafreezer, onde foram congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Todas as amostras foram acondicionadas em embalagem flexíveis de poliamidas/polietileno/polietileno modificado (5 camadas), com soldas laterais, todas com bainhas, em material transparente e espessura de $90\text{ }\mu\text{m}$, fabricadas e cedidas pela Spel Embalagens Ltda.

Após o congelamento inicial, todos os filés, submetidos aos três processos foram armazenados em freezer doméstico à temperatura constante ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$), e submetidos a análises físico-químicas, microbiológicas e microscópicas aos 90 e 150 dias.

2.2.3 Caracterização das amostras

Foram realizadas as determinações físico-químicas, microbiológicas e de ultraestrutura.

As análises físico-químicas das carnes de ovinos foram realizadas seguindo os métodos oficiais da AOAC (2000), do Instituto Adolfo Lutz e do Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA, e seguindo os Parâmetros de Identidade e Qualidade da Legislação Brasileira, do Mercosul e do *Codex Alimentarius*.

A caracterização físico-química foi feita no Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos do PROFI/EQA/UFSC em Florianópolis/SC, e no Laboratório de Carnes e Derivados - CT/UFPB em João Pessoa, parte da composição centesimal e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos - LAB-CAL /CCA-UFSC. Foi feita com a parceria de outros laboratórios como: Laboratório de Separação por Membranas -

LABSEM/EQA/UFSC, Laboratório de Biologia Celular Vegetal – BEG/UFSC, Laboratório de Bioquímica de Insetos – CCB/UFSC, LANAGRO – MAPA.

A Figura 2.2 mostra as análises realizadas na carne de cordeiro estudada no presente trabalho.

Figura 2.2. Quadro geral de análises físico-químicas, microbiológicas e microscópicas para caracterização da carne de cordeiro submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial

Físico químicas	Microbiológicas	Físicas	Microscópicas
<ul style="list-style-type: none"> • pH • Composição centesimal • Atividade água • Capacidade de retenção de água • Perda de água • Índice de peróxidos • Perfil de ácidos graxos • Colesterol total • Quantificação das proteínas 	<ul style="list-style-type: none"> • Coliformes Totais • <i>Salmonella sp</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Clostridium perfringers</i> • <i>Psicrotróficos</i> • <i>Psicrofílos</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Cor • Força de cisalhamento • Índice de fragmentação miofibrilar 	<ul style="list-style-type: none"> • Análise histológica da estrutura e ultraestrutura muscular • Tamanho de sarcômero

Para as análises, os cortes de pernil ovino foram descongelados a temperatura de 4 °C por 24 horas, com exceção dos cortes destinados a análises microbiológicas, que foram entregues no laboratório ainda fechados a vácuo e congelados.

Na avaliação dos parâmetros físicos e químicos dos cortes de pernil ovinos foram realizadas análises de cor, pH, atividade de água, composição centesimal, perda de peso por cocção e textura. As embalagens foram abertas e as fatias dos pernis foram expostas ao ambiente, para que ocorra a re-oxigenação da carne. As medida de cor e pH dos cortes de pernil foram feitas 45 minutos após a abertura das embalagens e as análises realizadas conforme metodologias descritas a seguir.

2.2.3.1 Análises físico-químicas

a) pH

O pH das amostras foi medido com uso de potenciômetro injetável e digital. A leitura do pH foi feito diretamente nos filés, antes e depois da aplicação dos processos, em três pontos dos cortes na seção longitudinal, próximo a extremidade esquerda, no centro do corte e próximo a extremidade direita.

Obteve-se uma média das medidas de pH das amostras para a análise estatística.

b) Composição centesimal

As determinações de umidade, cinzas, proteínas e lipídios foram realizadas segundo os procedimentos analíticos da AOAC (2000), descritos nos métodos nº 950.46, 920.153 e 928.08, respectivamente. Para determinar o teor de lipídios totais realizou-se extração com extrator tipo Soxlet (AOAC, 2000).

Para as análises de composição centesimal, os filés foram descongelados à temperatura de 4°C, por 24 horas. Todo o tecido conjuntivo aparente e o excesso de gordura de cobertura foram retirados. As amostras foram trituradas em processador por 5 minutos para melhor homogeneização da amostra.

c) Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água da carne após processamento foi determinada utilizando o método de centrifugação adaptado de Desmond et al. (2000). Amostras de aproximadamente 10 g ± 0,5 g foram retiradas do centro da seção de maior espessura dos cortes de pernil de cordeiro, envolvidas em gaze e centrifugadas em tubos de polipropileno de 180 mL (contendo uma camada de algodão no fundo) a 7000 rpm por 10 minutos a 20 °C em ultra centrífuga. As amostras foram pesadas antes e depois da centrifugação e a CRA foi calculada pela razão entre a massa de água retirada pela amostra após a centrifugação e a massa de sólidos secos da amostra, de acordo com a equação (1).

$$CRA \left(\frac{g \text{ água}}{g \text{ amostra seca}} \right) = \frac{(m_a \cdot x_w) - (m_a - m_d)}{m_a \cdot (1 - x_w)} \quad (1)$$

Onde m_a é a massa da amostra antes da centrifugação, m_d é a massa da amostra após a centrifugação e x_w é o teor de umidade da amostra.

d) Atividade água (aw)

A atividade de água foi determinada pelo método direto 978.18 (AOAC, 2000), utilizando higrômetro (Aqualab, modelo Decagon Devices). As amostras foram descongeladas a 4 °C por 24 horas e trituradas em processador e colocadas em cubetas para proceder à leitura no equipamento após calibração do mesmo.

e) Perda de Água por Cocção (PAC)

Determinada segundo metodologia adaptada de AMSA (1995). As amostras foram descongeladas sob refrigeração (4 °C), cortadas em fatias de 4,5 cm (comprimento no sentido das fibras) x 2,5 cm (largura) x 1,5 cm (espessura), pesadas e distribuídas em um recipiente retangular coberto com papel alumínio. Em seguida, as amostras foram assadas em forno pré-aquecido a 170 °C, até que a temperatura no centro geométrico do filé atingisse 71 °C. A temperatura interna do filé foi verificada com termômetro digital de perfuração. Após a cocção, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e novamente pesadas. As perdas por cocção foram calculadas através da diferença de peso das amostras antes e depois da cocção e expressas em porcentagem.

f) Perda de água por exsudação (PAE)

Para determinar a perda de peso por exsudação foram usadas amostras de 70 ±5 g acondicionadas em bandejas de isopor, envoltas com filme de polietileno e armazenadas por 24 horas a 4 °C. As amostras foram pesadas antes (tempo zero) e ao final do período (24 horas). A perda de água por exsudação foi calculada pela diferença dos pesos inicial e final e expresso em porcentagem (OLIVO et al., 2001).

g) Determinação da cor

A determinação da cor foi realizada segundo metodologia descrita por Abularach, Rocha e Felício (1998), utilizando colorímetro digital (Konica Minolta, modelo CHROMA METER CR-400/410), no espaço colorimétrico CIELAB, definido por L*, a*, b*. A coordenada L* corresponde ao teor de luminosidade (0 a 100 – preto ao branco), a* e b* à cromaticidade (verde (-a) /vermelho(+a) e à azul(-b)/amarelo(+b).

As amostras foram descongeladas a 4 °C por 24 horas e expostas ao ar atmosférico por um período de 45 minutos a temperatura ambiente. Realizou-se a leitura com o colorímetro, calibrado para um padrão branco em ladrilho, conforme instruções do fabricante. Foram feitas leituras em três pontos distintos, centro e laterais da amostra.

Para avaliar a textura, foram realizadas análises de força de cisalhamento, determinação do índice de fragmentação miofibrilar e medida de sarcômero, a ultraestrutura dos músculos foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia de luz (ML).

h) Força de cisalhamento

A textura das carnes foi determinada pela força de cisalhamento medida utilizando a probe Warner Bratzler Shear Force (WBSP) na Central de Análises do EQA/UFSC, em texturômetro universal TAXT Plus (Stable Micro System, Surrey, UK) usando lâmina Warner Bratzler. As condições experimentais foram: velocidades de pré-teste 5 mm/seg, teste 5 mm/seg e pós-teste 20 mm/seg. Das amostras usadas na determinação da perda por cocção (PPC), foram cortados 6 paralelepípedos de $1 \times 1 \times 1,5 \text{ cm}^3$ de cada corte assado para determinação da maciez (CORTE et al., 1979), onde cada sub amostra (paralelepípedo) foi cisalhado no sentido perpendicular a orientação de suas fibras.

A força usada para cisalhar as amostras foi quantificada com auxílio do software (Stable Micro Systems/TE32L/Versão 4.0). Tanto as dimensões das amostras submetidas à PPC, quanto tamanho e o formato de corte das amostras para análise de textura (cubos), foram padronizados de forma a atender as possibilidades de tratamento da amostra de pernil de cordeiro, uma vez que os pernis são formados por uma grande variedade de músculos adelgçados.

i) Índice de Fragmentação Miofibrilar (IFM)

O IFM foi medido segundo o Método de Turbidez (CULLER et al., 1978) no qual as fibras foram fragmentadas durante a homogeneização para em seguida, serem filtradas, centrifugadas, ressuspensas em solução tampão e a turbidez da solução lida a 540 nm.

O índice de fragmentação miofibrilar da carne foi determinado de acordo com CULLER et al. (1978). De cada amostra, ainda congelada, foram retirados três cilindros de 1,27cm de diâmetro, os

quais foram picados com tesoura, retirando-se qualquer tecido conectivo ou gordura aparente. Quatro gramas do músculo picado foram homogeneizados em triturador (Marconi, modelo TE102, Piracicaba, São Paulo) por 30 segundos, com 40 mL da solução de extração contendo KCl 100 mM, fosfato de potássio 20 mM, EDTA 1 mM, MgCl₂ 1 mM e azida sódica 1mM.

Em seguida, a solução homogeneizada foi centrifugada, por 15 minutos, a 1000 RPM, a 4 °C (Beckman, modelo J2-21, rotor JA-17). Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi disperso com 40 mL da solução de extração, agitado com um bastão de vidro e centrifugado novamente, por 15 minutos, a 1000 x g, a 4°C. Após descartar o sobrenadante, ao precipitado foram adicionados 10 mL da solução de extração e a suspensão obtida foi passada através de peneira de polietileno para remoção do tecido conectivo. Foram utilizados 10 mL da solução de extração para lavar e facilitar a passagem das miofibrilas através da peneira. Uma alíquota da suspensão de miofibrilas foi então diluída com a solução de extração até uma concentração proteica de 0,5 ± 0,05 mg/mL.

A suspensão diluída de miofibrilas foi agitada e colocada na cubeta para realizar a leitura da densidade ótica a 540 nm em espectrofotômetro (Ultrospec 1000 Pharmacia Biotech, Cambridge, Inglaterra). Para obtenção do índice de fragmentação miofibrilar, o valor obtido de densidade ótica a 540 nm multiplicou-se por 200.

2.2.3.2 Determinação da composição lipídica e proteica

Para todos os processos, tanto dos cortes congelados quanto os maturados (descritos nos Capítulos 3 e 4), foram retiradas cerca de 50 g de amostras de carne, que foram liofilizadas e acondicionadas em tubos falcon para posterior utilização para obtenção dos ácidos graxos, teor de gordura e colesterol total, oxidação lipídica e determinação do perfil de proteínas, que foram feitas na LANAGRO – São José/SC e Laboratório de Química dos Alimentos da UFPB – João Pessoa/PB. As análises foram feitas conforme detalhamento abaixo:

a) Determinação do teor de colesterol

Alíquotas de gordura foram extraídas das matrizes cárneas, pelo método de Folch et al (1957) e o teor de colesterol determinado através de cromatografia líquida conforme método de Bragagnolo e Rodriguez-amaya (2001), descrito a seguir:

Para a extração lipídica pesaram-se 10 g da amostra triturada, adicionando-se 100 mL de clorofórmio-metanol (2:1), e agitou-se por 2 minutos em triturador Biomatic, seguido de filtração para um funil de separação. Ao funil de separação, foram adicionados 20 mL de KCl 0,72% que, sob agitação, deixou-se separar em duas fases. Fez-se uma segunda lavagem, agora com 17,5 mL de KCl 0,72% e, ao transferir o volume da fase inferior para um outro balão volumétrico, agora de 100 mL, aferiu-se com clorofórmio. Do extrato lipídico, tomou-se uma alíquota de 5 mL em um tubo de ensaio para a etapa de saponificação. O tubo de ensaio foi imerso em banho-maria a 55 °C, e submetido à evaporação em corrente de nitrogênio. Em seguida, adicionou-se ao extrato lipídico, 10 mL de KOH 12% em etanol 90%, agitado em vórtex, e deixado por 15 minutos a 80 °C, em banho-maria, com agitação a cada 5 minutos. Para a extração dos insaponificáveis adicionou-se 5 mL de água destilada, agitando-se com vórtex e esfriando-se em banho de gelo. Foram adicionados 10 mL de hexano e agitado em vórtex deixando-se separar duas fases, da qual foi reservado o primeiro extrato de hexano. Repetiu-se esse procedimento por mais duas vezes, ao final das três lavagens com hexano, mediu-se o extrato obtido e reservou-se.

Para a reação de cor, tomou-se uma alíquota de 5 mL da mistura do extrato final de hexano, imerso em banho-maria a 55 °C, e evaporado em corrente de nitrogênio. Os tubos de ensaio ficaram ao abrigo da luz, totalmente envoltos em papel alumínio, em que, ao resíduo obtido adicionou-se 6 mL de ácido acético saturado com FeSO₄, resfriando-se em banho de gelo e agitando-se em vórtex por um minuto. Em seguida, adicionou-se, gota a gota, 2 mL de H₂SO₄ concentrado, agitou-se em vórtex por um minuto novamente e resfriou-se a 20 °C. Após 10 minutos, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro (Micronal, modelo B395), em comprimento de onda de 490 nm. A curva analítica foi realizada com padrão de colesterol (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil), a partir de uma solução padrão preparada com 10 mg de colesterol em 100 mL de hexano, com concentrações variando de 0,1 a 0,6 mg/mL.

b) Determinação de ácidos graxos

Para a dosagem de ácidos graxos, utilizou-se o extrato lipídico obtido na determinação da gordura, como já descrito para quantificação do teor de colesterol. Para as etapas de saponificação e esterificação utilizou-se a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Para tanto, tomou-se uma alíquota de 5 mL do extrato lipídico em balão de fundo chato, adicionando 4 mL da solução de hidróxido de potássio.

Levou-se a aquecimento em refluxo por 4 minutos. Em seguida, foram adicionados 7,5 mL da solução de esterificação, aquecendo em refluxo por mais 3 minutos, retirou-se o balão, deixando-o esfriar. O conteúdo foi transferido para um funil de separação, adicionando-se 25 mL de água destilada. Agitou-se até não haver mais desprendimento de vapor e esperou-se separar as duas fases. A fase inferior foi transferida para outro funil de separação, onde recebeu 12,5 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada. Agitou-se até não haver mais desprendimento de vapor, deixando separar as duas fases. Desprezou-se a fase inferior e a superior foi transferida para o primeiro funil de separação. Repetiu-se o procedimento anterior, até a separação das duas fases, desprezando a fase inferior. Adicionou-se 12,5 mL de água destilada, agitando-se delicadamente até não observar mais desprendimento de vapor e desprezou-se a fase inferior. Repetiu-se esse procedimento por mais três vezes. Em seguida, o conteúdo do funil de separação foi filtrado em papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro. O filtrado foi recebido em tubo de ensaio, que foi deixado aberto até evaporar 2/3 da mistura de solventes. O extrato foi então transferido para um tubo de vidro com tampa rosqueável, onde foi concentrado em banho-maria a 45°C, com auxílio de nitrogênio gasoso.

Acrescentou-se 0,3 mL de hexano ao frasco, guardando-o sob congelamento até a análise cromatográfica para a identificação do perfil dos ácidos graxos. Os ácidos graxos foram separados em cromatógrafo a gás (modelo GCMSQP5050A, SHIMADZU, Brasil), acoplado a um detector de ionização de chama. A separação ocorreu em coluna capilar de sílica fundida CARBOWAX 20M (SUPELCO), (fase estacionária, polietilenoglicol), com dimensões de 60 m de comprimento por 0,53 mm de diâmetro interno e 1 µm de espessura de filme e injetor do tipo “split/splitless”. 2 µL de ésteres metílicos foram injetados em a 250 °C e as condições foram: temperatura inicial da coluna de 60 °C/2 min., seguida de uma variação de temperatura de 5,5 °C/minuto, até 110 °C na primeira rampa, onde permaneceu por seis minutos. Seguida de um aumento da temperatura a razão de 3 °C/minuto, totalizando 45,4 minutos de análise. Utilizou-se hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 5 mL/minuto. Os gases auxiliares foram nitrogênio (30 mL/minuto), hidrogênio (30 mL/minuto) e ar sintético (300 mL/minuto). Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões autênticos de ésteres de ácidos graxos (Merck, USA). Os cromatogramas foram registrados em um software tipo Peaksimple (ARI Instruments – USA).

c) Determinação do Índice de Peróxidos (oxidação lipídica)

A determinação do índice de peróxidos nas amostras de pernil ovino foi realizada conforme descrito na Instrução Normativa N° 20 de 21/07/1999.

d) Determinação do perfil de proteínas por eletroforese SDS-PAGE

O perfil das proteínas presentes nos filés de pernil ovino foi obtido por eletroforese SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1% β -mercaptoetanol.

Para a eletroforese de proteínas em gel de poliacrilamida foi utilizado um sistema de eletroforese vertical PROTEAN II Cell (Bio-Rad Laboratories, EUA), conforme metodologia proposta por LAEMMLI (1970).

A extração das proteínas da carne ovina foi feita segundo o método descrito por LEE et al. (1976), suspendendo-se aproximadamente 10 g de amostra previamente triturada em multiprocessador em solução extratora contendo 0,0625 M Tris-HCl (pH 6,8), 3 % dodecil-sulfato de sódio (SDS) e 1% β -mercaptoetanol (ME). As amostras foram homogeneizadas em misturador durante dois minutos, sendo em seguida centrifugadas a 3 mil rpm por quinze minutos à temperatura de 4 ° C. O sobrenadante foi diluído na proporção de 1/6 para que houvesse uma perfeita visualização das cadeias polipeptídicas no gel de poliacrilamida.

Para as sessões eletroforéticas, foi utilizado gel de separação na concentração de 12 % e gel de aplicação da amostra na concentração de 4 %. A corrida foi realizada durante sete horas, sob tensão de 100 V. Foram utilizados marcadores de peso molecular (BIO-RAD), sendo os de alto peso molecular: miosina (211,240 kDa), galactosidase (117,760 kDa), albumina sérica bovina (99,810 kDa), ovalbumina (49,780 kDa) e os de baixo peso molecular: fosforilase B (103,035 kDa), albumina sérica bovina (80,664 kDa), ovalbumina (49,491 kDa), anidrase carbônica (36,545 kDa), inibidor de tripsina de soja (28,829 kDa) e lisozima (19,445 kDa).

A coloração dos géis ocorreu em solução contendo ácido acético 10% (v/v), álcool metílico 40 % (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R-250 1 %, durante uma noite. Os géis foram descorados em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 40% (v/v) de álcool metílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos até a obtenção de revelação nítida.

O cálculo do peso molecular das frações proteicas foi efetuado mediante a construção de curvas-padrão com os pesos moleculares dos marcadores contra as respectivas distâncias percorridas no gel e as bandas de proteínas foram identificadas por comparação aos perfis eletroforéticos de padrões de proteínas musculares disponíveis na literatura (PORZIO e PEARSON, 1977).

2.2.3.3 Análises microbiológicas

Pesquisou-se a incidência de coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella Spp*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus*, psicrotróficos e psicrófilos (BRASIL, 2003).

As informações obtidas com as análises microbiológicas foram correlacionadas aos parâmetros físico-químicos de qualidade da carne, visando avaliar a influência dos processos de refrigeração na manutenção da integridade das carnes de pernil de cordeiro.

Foram adotados métodos analíticos que atendem as normativas RDC 12/2001 ANVISA e os Regulamentos de Identidade e Qualidade do MAPA:

- Coliformes totais: AOAC Official Method 991.14;
- Coliformes termotolerantes: AFOR nº 3M - 01/02 - 09/89 C;
- Bactérias mesófilas ácido lácticas: ISO 15214: 2003;
- *Clostridium perfringens*: ISO 7937: 2007;
- Bactérias psicrófilas a 7°C: APHA, 2001;
- Bactérias psicrotróficas a 25°C ± 1°C: APHA, 2001;
- *Salmonella Spp.*: AOAC-RI nº 050701.

A vida útil das carnes foi baseada no limite aceito de micro-organismos (10^6 UFC/g) que é estabelecido tanto na RDC da ANVISA como nos Regulamentos do MAPA.

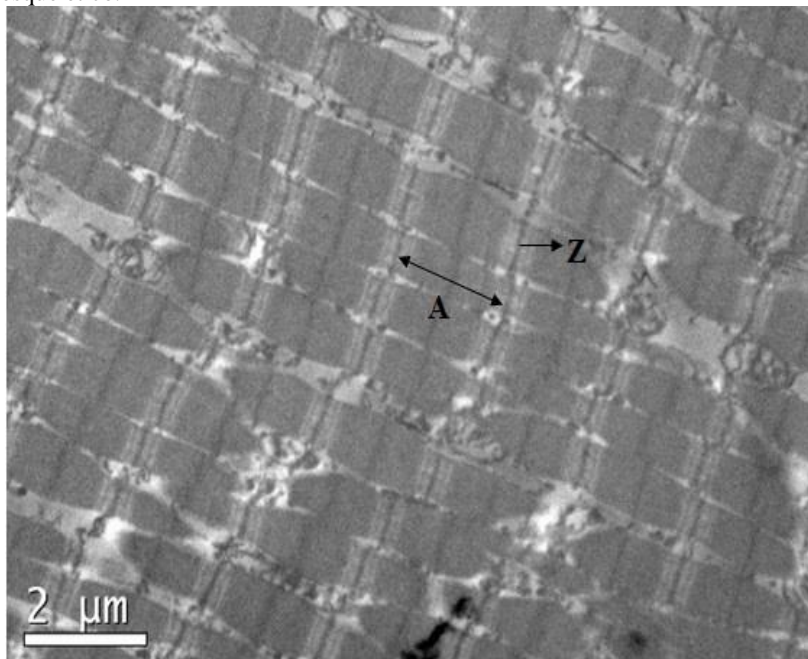
2.2.3.4 Análises microscópicas

a) Comprimento de sarcômero (CS) e degradação da fibra muscular

O método utilizado para o estudo histológico foi o sugerido por Biscontini et al. (1996), no qual as amostras de pernil ovino foram seccionadas em cubos com aproximadamente $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, tratadas

quimicamente e visualizadas as imagens das miofibrilas com identificação dos sarcômeros através do microscópio eletrônico de transmissão operado a 80 KV. De cada amostra foram selecionadas duas eletromicrografias com 20 sarcômeros em cada (Figura 2.3).

Figura 2.3. Visualização da medida do sarcômero no tecido do músculo estriado esquelético.



A – medida do sarcômero; Z – linha Z.

b) Ultraestrutura muscular

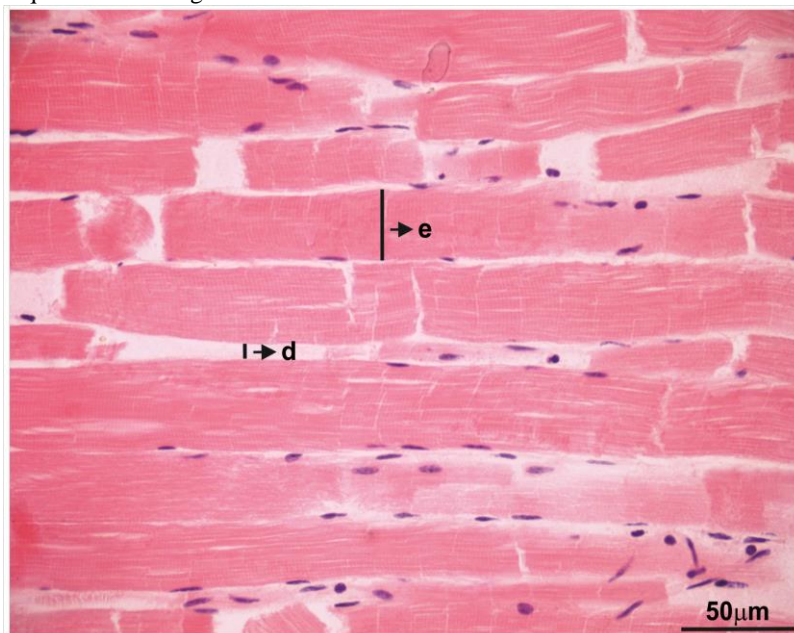
Foram utilizados protocolos específicos no preparo das amostras para microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Em ambas as metodologias, os fragmentos dos tratamentos foram submetidos a fixação dos tecidos em glutaraldeído, paraformaldeído e tampão cacodilato de sódio, e lavados no mesmo tampão, na sequência foram pós-fixados em protocolos específicos. Para ML foram desidratados em álcool etílico, incluídos em parafina, cortados em micrótomo para montagem de lâminas, que foram coradas com hematoxilina e eosina e visualizadas em microscópio acoplado com sistema de captura de imagens.

Para MET, as amostras foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio, desidratadas com soluções crescentes de acetona, emblocadas em resina sspur, feitos cortes ultrafinos, que foram contrastados com uranila e citrato de chumbo, para então serem visualizados e micrografados em microscópio eletrônico de transmissão. A obtenção das imagens possibilitou comparar os processos de conservação e verificar a estrutura e ultraestrutura das amostras. As eletromicrografias foram analisadas para verificar a disposição das proteínas miofibrilares e integridade das fibras cárneas, além de mensurar e quantificar os sarcômeros e linha Z.

Para microscopia de luz (ML) foram selecionadas 3 lâminas de cada tratamento para a captura de imagens, e para microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram selecionados 5 cortes ultrafinos por tratamento, e feitas no mínimo 10 micrografias com diferentes aumentos. A obtenção das imagens possibilitou comparar os processos de conservação e verificar a estrutura e ultraestrutura das amostras. As micrografias foram analisadas para verificar a integridade das fibras cárneas, além de identificar estruturas importantes como organelas, sarcômeros, linha Z, banda I e banda A.

Foi realizada a caracterização descritiva das fibras cárneas através da microscopia de luz, e estimativa da degradação do tecido muscular pela observação da espessura das fibras e distância entre elas (Figura 2.4), para as quais, foram realizadas 40 medidas em duas imagens de cada tratamento para verificar o efeito do tratamento/período de estocagem na degradação do tecido muscular cárneo dos cortes de pernil.

Figura 2.4. Visualização da fibra muscular no tecido do músculo estriado esquelético. Micrografia obtida em aumento de 400x.



(d) distância entre as fibras; (e) espessura.

Os dados de FC, IFM e tamanho de sarcômero foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias analisadas pelo Teste de Tukey a 5%, e os dados de ultraestrutura, obtidos na ML e MET foram documentados e submetidos a análise descritiva.

2.2.4 Análise estatística

Os dados físico químicos e de análise instrumental foram submetidos à análise estatística descritiva e inferencial dos dados com auxílio do software SAS por meio de Análise de Variância (ANOVA). A comparação das médias dos tratamentos foi realizada pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

Os resultados de distâncias entre as fibras (DE) e das espessuras das fibras (EF) foram submetidos à análise estatística para comparação de variáveis numéricas entre os tratamentos utilizando-se análise de variância, do tipo Kruskal-Wallis seguida por teste Dunn (não

paramétrico), ao nível de significância de 5%, através do auxílio do programa BioEstat 5,0.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Propriedades físico-químicas

Os resultados da caracterização físico-química da amostra fresca da carne de cordeiro (tempo zero) encontram-se descritos na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Caracterização físico-química da carne de cordeiro fresca (tempo zero)

Variáveis	Teor médio
Umidade	72,60±0,46*
Proteína	19,01±0,31*
Cinzas	0,94±0,02*
Lipídios	8,34±0,15*
Colesterol	319,01±13,76 **
Atividade água (aw),	0,998±0,001
pH	5,88±0,13
Perda de peso por exsudação	3,45±0,33*
Perda de água por cocção	34,54±0,88*
Capacidade de retenção de água	1,50±0,13*

*Valores médios expressos em g/100g.

** Valor médio expresso em mg/100g.

A composição centesimal da carne de cordeiro fresca (Tabela 2.1), é compatível com relatos da literatura, como observado por JARDIM et al. (2007) e FERNANDES et al. (2012), a exceção do teor de lipídios que foi elevado quando comparado ao teor de outros cortes cárneos ovinos, como registrado por estes autores (4,0 g/100 g). Isto se deve a composição própria do pernil, tendo em vista a composição muscular variada, tecido conjuntivo e gordura entremeada na fibra muscular.

Não houve interação significativa entre as temperaturas de congelamento inicial e o tempo de armazenamento ($p > 0,05$) para os parâmetros físico-químicos (Tabela 2.2). Não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos e tempos para os valores médios de pH e aw. Estes

se mantiveram próximos aos valores registrados na literatura indicativos de carnes adequadas ao consumo, o que sugere a manutenção das características obtidas na matéria-prima antes de iniciar o processo. Os valores de pH estão de acordo com a faixa considerada normal (5,5 - 5,8) para carne de cordeiro, semelhantes as médias encontradas em carnes de cordeiro frescas (LINARES, BÓRNEZ e VERGARA (2008); BÓRNEZ, LINARES e VERGARA (2010), MORGADO et al (2011)).

Morgado et al. (2011) estudando músculo *longissimus dorsi* ovino congelados a -18 °C com embalagem a vácuo, obtiveram pH na faixa de 5,53 a 5,74, próximo ao pH obtido nos congelamentos rápido e ultra rápido do presente estudo

Tabela 2.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), perda de peso por exsudação (PPE) e perda de água por cocção (PAC) e capacidade de retenção de água (CRA) em cortes de pernil ovino submetidos a diferentes temperaturas de congelamento, estocados por 90 e 150 dias

	pH	aw	PPE	PAC	CRA
Tratamentos	(n=36)	(n=36)	(n=30)	(n=18)	(n= 27)
Lento	5,81 ^a	0,993 ^a	6,04 ^b	43,76 ^a	1,62 ^{ab}
Rápido	5,62 ^b	0,996 ^a	7,19 ^a	43,14 ^a	1,74 ^a
Ultrarápido	5,77 ^a	0,995 ^a	4,90 ^c	42,29 ^a	1,58 ^b
Efeito do tratamento (valor de P)	0,0035	0,1445	0,0546	0,0702	0,0103
Tempo					
0	5,87 ^A	0,995 ^A	3,43 ^B	34,79 ^C	1,37 ^B
90	5,64 ^B	0,993 ^A	7,58 ^A	46,22 ^B	1,79 ^A
150	5,68 ^B	0,996 ^A	7,12 ^A	48,17 ^A	1,77 ^A
Efeito do tempo (valor de P)	0,0004	0,0877	0,0006	<0,0001	<0,0001

Médias seguidas com letras distintas, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são significativos pelo teste de Tukey a 5%.

1. não determinado.

Houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos quanto à capacidade de retenção de água, perda de água por cocção e por exsudação (Tabela 2.2). O congelamento altera a estrutura da carne, pois parte da água das células rompidas durante o processo passa para os

espaços intercelulares formando, ao descongelar, o chamado *drip* (gotejamento).

Com relação à perda de água por exsudação (PPE), a carne fresca apresentou perda de 3,43 % do seu peso após descongelamento e, ao longo do armazenamento (90 e/ou 150 dias), essa perda foi acrescida em cerca de 4% do peso. O tempo de armazenamento influenciou nas perdas de água por exsudação (PPE), com a menor perda para as amostras submetidas ao congelamento ultra rápido (-80 °C).

A perda de água por cocção foi influenciada ($p>0,05$) apenas pelo tempo de armazenamento. A elevada perda de peso durante o processo de cocção pode estar relacionado diretamente a formação de cristais, principalmente no meio extracelular, decorrente do uso de baixas temperaturas e que ao descongelar sob altas temperaturas promove a quebra da estrutura da fibra do alimento (MONTEIRO FILHO, BRAGA E MATA, 2002; COLLA e PRENTICE-HERNANDEZ, 2003).

A CRA das amostras analisadas aumentou ($p>0,05$) por influência do tempo de armazenamento, e a média global mostrou uma pequena variação em função das temperaturas aplicadas. Contrário aos dados obtidos nesta pesquisa, a literatura mostra carnes ovinas com CRA em torno de 59,06 a 66,19% (Zeola et al., 2009), é possível que os resultados obtidos tenham sido influenciados pelas condições de manuseio do produto, desde a obtenção até o processamento.

Os resultados apresentados na Tabela 2.3 mostram que não houve influência ($p>0,05$) do tipo de congelamento sobre os parâmetros de cor da carne, entretanto, os parâmetros a^* , b^* , h^* e C^* foram influenciados pelo tempo de armazenamento, resultando em menor intensidade de vermelho, amarelo, tom e saturação de cor aos 150 dias quando comparado a carne fresca e aos 90 dias de armazenamento.

A deterioração da cor pode ter sido provocada pela oxidação dos pigmentos presentes na carne, com destaque para a mioglobina, durante o processo de congelamento, juntamente com a oxidação dos lipídios, que reflete diretamente na coloração do músculo, modificando a estrutura das fibras e reduzindo a pigmentação (LIU et al. (1995); LYNCH et al. (1999); Morgado et al. (2011)).

Tabela 2.3. Parâmetros de cor em carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento, estocadas por até 150 dias

	a*	b*	h*	C*	L*
Tratamentos	(n=36)	(n=36)	(n=36)	(n=36)	(n=36)
Lento	12,98 ^a	9,74 ^a	37,19 ^a	16,34 ^a	35,19 ^a
Rápido	12,74 ^a	10,33 ^a	39,05 ^a	16,43 ^a	35,28 ^a
Ultrarápido	12,55 ^a	9,30 ^a	36,08 ^a	15,66 ^a	35,97 ^a
Efeito do tratamento (valor de P)	0,8949	0,3402	0,3201	0,7084	0,8181
Tempo					
0	13,58 ^A	11,27 ^A	40,14 ^A	17,73 ^A	41,31 ^A
90	14,14 ^A	10,63 ^A	36,76 _{AB}	17,73 ^A	32,50 ^B
150	10,55 ^B	7,47 ^B	35,42 ^B	12,97 ^B	32,63 ^B
Efeito do tempo	0,0009	<0,0001	0,587	<0,0001	<0,0001

Médias seguidas com letras distintas, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são significativos pelo teste de Tukey a 5%.

A Tabela 2.4 mostra o perfil de ácidos graxos da carne de cordeiro fresca. Foram identificados treze ácidos graxos saturados, oito ácidos graxos insaturados e oito ácidos graxos poli-insaturados. O ácido oleico foi o predominante dentre os ácidos graxos identificados, considerado de grande importância na qualidade da gordura intramuscular cárnea, é o ácido que exerce influencia direta no teor de colesterol da carne (Madruga et al., 2006), seguido dos ácidos graxos palmítico e esteárico. O somatório destes três ácidos graxos (C16:0; C18:0; C18:1) corresponde a 75% do total de ácidos graxos presente na carne de pernil de cordeiro utilizada neste estudo. A literatura afirma que estes três ácidos são os mais estudados e devem corresponder, juntos, a 90% dos ácidos graxos presentes em carne de ruminantes. Esta variação, no perfil lipídico da carne ovina pode ser decorrente de fatores como raça, sexo, idade, alimentação, tipo de corte cárneo e peso ao abate (Madruga et al., 2006; Wood et al., 2003).

Tabela 2.4. Composição de ácidos graxos (g/100g), colesterol (mg/100g) e índice de peróxidos – IP (mg/100g) na fração lipídica da carne de cordeiro submetida a congelamento lento (L), rápido (R), e ultra rápido (U) armazenadas por até 150 dias

Ácidos graxos (n=9)	Tratamento				Tempo				Efeito do tempo (valor P)
	L	R	U	Efeito do trat (valor P)	0	90	150	150	
AGS	53,10 ^a	51,15 ^b	53,11 ^a	<0,0001	50,42 ^B	53,52 ^A	53,42 ^A	<0,0001	
C 4:0	0,00	0,00	0,00	0,4444	0,08	0,00	0,00	0,4444	
C 10:0	0,12	0,13	0,13	0,9727	0,17	0,12	0,09	0,2754	
C 12:0	0,16	0,25	0,67	0,3893	0,28	0,16	0,64	0,4499	
C 14:0	2,47	3,27	2,37	0,1824	3,48	1,97	2,66	0,0584	
C 15:0	0,62 ^{ab}	0,79 ^a	0,48 ^b	0,295	0,66	0,65	0,58	0,5077	
C 16:0	22,99	23,23	23,47	0,7830	22,39	24,17	23,13	0,1287	
C 17:0	1,42	1,35	1,20	0,1487	1,28	1,38	1,31	0,5216	
C 18:0	22,32	19,08	21,59	0,5135	18,90	22,23	21,87	0,4708	
C 19:0	1,35	1,27	1,36	0,4992	1,58	1,24	1,17	0,0119	
C 20:0	0,12	0,13	0,11	0,7049	0,12	0,12	0,11	0,7164	
C 21:0	0,83	0,89	0,94	0,7105	0,98	0,78	0,88	0,3839	
C 23:0	0,59	0,66	0,68	0,8881	0,41	0,65	0,87	0,1641	
C 24:0	0,09	0,08	0,08	0,7811	0,14 ^A	0,03 ^B	0,09 ^{AB}	0,0334	
AGMI	40,85 ^a	40,85 ^a	40,59 ^b	0,0023	40,96 ^A	40,84 ^A	40,50 ^B	<0,0001	
C14:1n5c	0,07	0,10	0,03	0,2971	0,11	0,03	0,06	0,2238	
C15:1n5c	0,29	0,29	0,22	0,0749	0,26	0,28	0,26	0,4943	
C16:1n7	1,24	1,63	1,23	0,5532	1,53	1,29	1,28	0,7673	
C17:1n7c	0,53	0,58	0,52	0,6999	0,56	0,54	0,54	0,9503	
C18:1n9c	33,21	32,59	34,23	0,7838	33,38	33,28	33,37	0,9989	

C18:1n9t	4,91	5,15	2,72	0,2753	4,64	3,75	4,39	0,8163
C18:1n11	0,55	0,44	1,59	0,4536	0,44	1,62	0,52	0,4283
C20:1n9	0,05	0,04	0,03	0,9003	0,02	0,03	0,06	0,3981
<i>AGPI</i>	6,02 ^c	7,96 ^a	6,28 ^b	<0,0001	8,60 ^A	5,62 ^C	6,05 ^B	<0,0001
C 18:2n6c	3,95	5,28	4,25	0,6624	5,73	3,70	4,05	0,4195
C 18:2n6t	0,00	0,00	0,06	0,1114	0,03	0,03	0,00	0,4444
C 18: 3n6	0,26	0,59	0,27	0,5075	0,58	0,32	0,21	0,5045
C 18:3n3	0,85	1,20	0,77	0,3407	1,17	0,81	0,84	0,4295
C20:2n6c	0,14	0,15	0,14	0,8854	0,13	0,14	0,15	0,6364
C20:3n6c	0,08	0,07	0,08	0,8185	0,09	0,07	0,08	0,8002
C20:5n3c	0,18	0,08	0,00	0,2174	0,00	0,18	0,08	0,2208
C20:5n3c1	0,00	0,00	0,01	0,4444	0,00	0,00	0,01	0,4444
C22:2n6c	0,16	0,16	0,30	0,5726	0,38	0,00	0,24	0,1119
C22:6n3	0,38	0,39	0,39	0,9650	0,48	0,34	0,36	0,1068
<i>AGMI/AGS</i>	0,80 ^a	0,80 ^a	0,80 ^a	0,9977	0,81 ^A	0,76 ^A	0,76 ^A	0,5972
<i>AGPI/AGS</i>	0,12 ^a	0,15 ^a	0,12 ^a	0,0818	0,17 ^A	0,10 ^B	0,11 ^B	0,0041
(C180+C18:1):	2,65 ^a	2,44 ^a	2,65 ^a	0,0802	2,56 ^A	2,52 ^A	2,57 ^A	0,7879
C160	4,99 ^b	5,76 ^b	8,82 ^a	<0,0001	6,41 ^B	5,60 ^B	7,56 ^A	<0,0001
<i>ω6: ω3</i>								
Coolesterol (n=9)	0,279 ^a	0,266 ^a	0,229 ^a	0,6486	0,319 ^A	0,234 ^A	0,291 ^A	0,1410
IP (n=6)	3,02 ^a	2,99 ^a	2,09 ^a	0,8194	-	3,97 ^A	1,43 ^B	0,1916

AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poliinsaturados. Médias seguidas com a mesma letra, na mesma linha, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes (p<0,05).

A relação de ácidos graxos AGMI/AGS obtida foi acima de 0,4, faixa considerada na ingestão de alimentos visando prevenção de doenças associada ao consumo de gorduras saturadas (WOOD et al., 2003). Enquanto a relação $\omega 6: \omega 3$, foi superior a 4, que é o limite máximo desejado (Daley et al., 2006 citado por Batista, 2008), em função da redução de riscos de doenças como câncer e doenças coronárias associadas a alimentação.

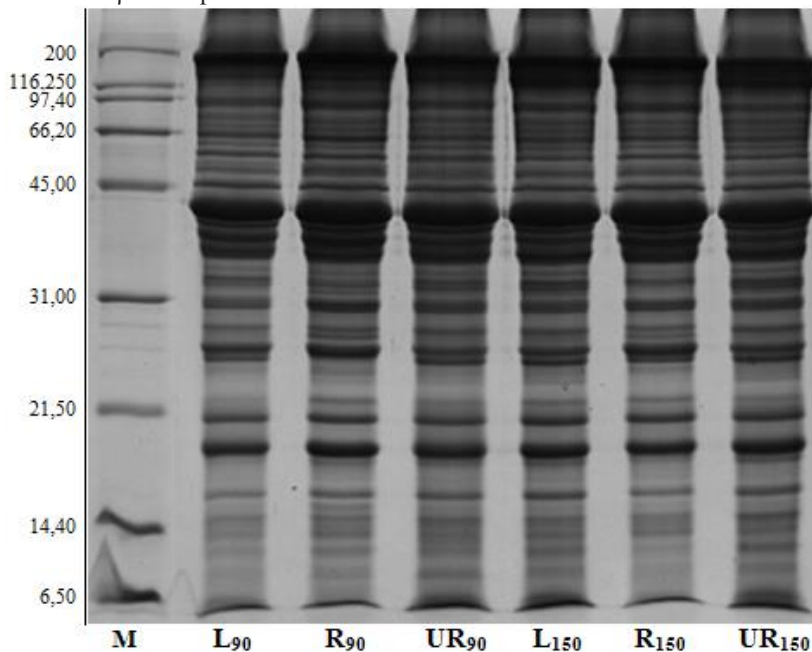
No perfil lipídico, o nível de colesterol encontrado não sofreu influência da temperatura de congelamento inicial ou do tempo de armazenamento ($p > 0,05$). Segundo Madruga et al. (2006), deve-se analisar o comportamento do ácido graxo palmítico (C16:0), oléico (C18:1) e esteárico (C18:0), sobre o nível de colesterol que pode aumentar, diminuir ou não ser influenciado pela presença destes ácidos, respectivamente.

Já o índice de peróxido apresentou variação entre o período de armazenamento, que pode ser decorrente do teor de gordura intramuscular presente nos cortes avaliados, tendo em vista que o pernil é formado por uma grande variedade de músculos, de modo que a gordura não está distribuída de forma homogênea na extensão do corte cárneo utilizado.

As temperaturas de congelamento aplicadas às carnes de cordeiro não alteraram sua composição proteica, que se manteve constante com o armazenamento. A partir da análise da Figura 2.5 observam-se perfis eletroforéticos próprios do músculo estriado esquelético, nos quais a caracterização das proteínas miofibrilares ficou evidente, com o aparecimento da cadeia pesada da miosina (223 kDa), de fragmentos da cadeia pesada da miosina (163 kDa) e da actina (54 kDa) (XIONG et al., 2006, DAGUER et al., 2010).

Também é possível perceber diversas bandas em menor intensidade, que representam indícios das frações das proteínas miofibrilares, como a α -actinina (102 kDa), a troponina (50 kDa) e a β -tropomiosina (31 kDa). Percebe-se, ainda, bandas de baixo peso molecular que correspondem a polipeptídeos resultantes da degradação proteica, como também observaram XIONG et al. (2006) e DAGUER et al. (2011). Entre essas bandas, percebe-se um fragmento, que indica ser a mioglobina (17 kDa), fracamente corada.

Figura 2.5. Perfil das proteínas da carne de cordeiro sob diferentes temperaturas de congelamento inicial obtido por SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1% β -mercaptoetanol



Escala referente ao peso molecular dos marcadores (kDa)

2.3.2 Avaliação microbiológica

A contagem inicial de micro-organismos coliformes termotolerantes, coliformes totais, psicrotróficos, psicrófilos, mesófilos e bactérias ácido lácticas (BAL) foi $>1,0$; $3,9$; $3,5$; $5,7$; $5,4$ e $3,8$ Log (UFC/g), respectivamente. As análises mostraram ausência de *Salmonella Spp.* nas amostras. As contagens de coliformes totais e termotolerantes foi a 10^2 UFC/g, atendendo à legislação brasileira vigente (BRASIL, 2014). Contribuiu para este resultado, a procedência das peças de carne que foram adquiridas diretamente em abatedouro que atende às rigorosas condições de higiene e o manuseio em laboratório, também com medidas higiênicas apropriadas.

Diante da baixa contagem de micro-organismos totais, coliformes e ausência de *Salmonella Spp.*, optou-se por verificar apenas

a presença dos psicrófilos que se desenvolvem numa faixa ótima de temperatura entre 0 e 7 °C, tendo em vista que os processos adotados foram na faixa de -80 a -18 °C.

Os pontos do processo foram selecionados pela possibilidade de comparação dos níveis de contaminação e/ou multiplicação de micro-organismos em função das operações realizadas (manipulação, refrigeração) e das condições distintas de composição do meio, ou seja, sistema de embalagem e condição de estocagem. Portanto, considerando-se os baixos níveis de micro-organismos registrados nas amostras pós abate (tempo zero) e aos 90 dias, não foram realizadas análises aos 150 dias.

Com relação à contagem de microbiana na carne de ovino (Tabela 2.5), a contagem de coliformes totais foi menor que um ciclo, e para psicrotróficos a 25 °C, não houve diferença entre os tratamentos aos 90 dias ($p < 0,05$).

Tabela 2.5. Contagem microbiana (UFC/g) em carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias

Micro-organismos	Carne		Tratamento – congelamento inicial					
	Fresca		Lento		Rápido		Ultrarápido	
	Tempo Zero	90 dias	90 dias	150 dias	90 dias	150 dias	90 dias	150 dias
<i>Salmonella Spp.</i>	Ausente	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹
Coliformes a 45°C	$<1,0*10^1$	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹
Coliformes totais	$3,8*10^4$	$1,0*10^1$	$1,0*10^1$	$<1,0*10^1$	$4,0*10^1$	$<1,0*10^1$	$1,0*10^1$	$<1,0*10^1$
Psicrótópicos	$2,1*10^4$	$1,6*10^4$	n.d. ¹	n.d. ¹	$7,0*10^3$	n.d. ¹	$1,4*10^4$	n.d. ¹
Psicrófilos	$3,5*10^2$	$2,1*10^4$	$2,1*10^4$	$8,4*10^3$	$1,1*10^4$	$<4,0*10^2$	$2,6*10^4$	$<4,0*10^2$
Mesófilos	$<3*10^5$	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹
Bactérias Lácticas	$7,5*10^3$	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹	n.d. ¹

1 – não determinado

Em todos os tratamentos a contagem de micro-organismos psicrófilos à 7° C foi menor que a contagem inicial, demonstrando a eficiência dos processos, tendo em vista que o congelamento não reduz a quantidade de micro-organismos existente no alimento, e sim, retarda seu crescimento por inibir a reprodução dos mesmos.

2.3.3 Avaliação da textura após aplicação do processo

Não houve interação entre o tratamento e o tempo para os parâmetros de textura analisados (Tabela 2.6). A força de cisalhamento (FC), um dos parâmetros utilizado para avaliar a textura da carne ovina, não foi influenciada pelas temperaturas de congelamento inicial, porém houve diferença quanto ao tempo de armazenamento, com elevação da maciez (redução de 5,01 para 3,49 kgf/cm²). A média de FC obtida indica carnes macias (2 a 6 kgf/cm²). Os valores obtidos da força de cisalhamento foram convertidos para N (Newton) e constam no apêndice A deste trabalho.

As amostras oriundas do congelamento lento apresentaram maior índice de fragmentação miofibrilar. E as amostras de carne armazenadas até 150 dias apresentaram maior índice de fragmentação que as carnes frescas, melhorando a maciez das amostras.

Tabela 2.6. Força de cisalhamento (FC), índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e comprimento de sarcômero (CS) de carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias

	FC (kgf/cm ²)	IFM	CS (µm)
Tratamentos	(n= 36)	(n=18)	(n=120)
Lento	4,20 ^a	51,10 ^a	1,98 ^c
Rápido	4,47 ^a	27,16 ^b	2,35 ^b
Ultrarápido	4,09 ^a	30,50 ^b	3,63 ^a
Efeito do tratamento (valor P)	0,6105	0,0008	<0,0001
Tempo			
0	5,01 ^A	9,30 ^B	1,93
90	3,49 ^B	48,60 ^A	2,65
150	n.d. ¹	50,86 ^A	n.d. ¹
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001	<0,0001	

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes (p<0,05)

1. não determinado.

A textura da carne é considerada satisfatória, quando o valor de IFM está acima de 60 (CULLER et al., 1978), no entanto, percebe-se que houve aumento considerável com o tempo de armazenamento (de 9,30 para 50,86 %). Segundo Zapatta et al. (2004), o IFM pode variar bastante de acordo com a espécie animal e afirma que o fator de maior importância para o amaciamento de carnes é o aumento deste índice após a morte do animal.

Houve diferenças quanto ao comprimento de sarcômero em função do tratamento aplicado aos filés de carne ovina. As amostras submetidas ao congelamento lento tiveram CS de 1,98 μm , as do congelamento rápido 2,35 μm e 3,63 μm quando congeladas a temperatura ultra rápida. Em todas as situações, os valores sugerem relaxamento do tecido muscular ($>1,5 \mu\text{m}$). Este fato pode ser um indicativo de que o processo de refrigeração ocorreu antes que o tempo de *rigor mortis* fosse totalmente completado. Isto, pois, durante o rigor mortis, praticamente todos os sítios de ligação entre actina e miosina são utilizados, fazendo com que ocorra um significativo encurtamento do sarcômero. Além do que, o tempo de instalação do rigor mortis depende de fatores internos, como a reserva de glicogênio no momento do abate que pode retardar o início do rigor.

Outra hipótese a ser considerada ao analisar o CS das amostras, é que durante a estocagem após o abate, várias alterações ocorrem no músculo esquelético, algumas das quais resultam na perda da integridade do tecido, explicando o amaciamento da carne, dentre as quais a degradação da titina, que é uma das poucas proteínas miofibrilares que sofre fragmentação à temperatura de refrigeração, e cujos filamentos unem os filamentos de miosina ao longo do comprimento da linha M até a linha Z, e que resulta no afrouxamento da miofibrila. (YATES et al., 1983; KOOHMARAIE, 1994).

2.3.4 Estudo microscópico da estrutura e ultraestrutura da carne de cordeiro submetida a diferentes temperaturas de congelamento

Com relação à integridade da fibra muscular, as imagens obtidas a partir da microscopia de luz (Figura 2.6) e da microscopia eletrônica (Figura 2.7), revelam que maior é a integridade do tecido estriado esquelético da carne de ovino quanto menor a temperatura de congelamento inicial.

A Tabela 2.7 mostra que houve diferença entre os tratamentos quanto a distância entre as fibras (DF) e a espessura das fibras (EF), medidas utilizadas para estudar a preservação do tecido cárneo. Estes parâmetros aumentaram à medida que a temperatura de congelamento foi elevada, mantendo-se mais íntegra a estrutura cárnea no processo ultra rápido, indicativo de menor degradação das proteínas miofibrilares (Tabela 2.6, Figura 2.6). As fibras expandiram-se, em consequência ao início do processo de degradação celular. A fragmentação das miofibrilas identifica a integridade da fibra muscular, estando essa fragmentação ligada diretamente aos valores de perda de peso, massa específica, maciez e força de cisalhamento (MONTEIRO FILHO, BRAGA E MATA, 2002), de modo que o resultado obtido quanto ao afastamento das fibras e das perdas de água por exsudação são coerentes. A maior degradação da fibra cárnea está relacionada à maior exsudação.

O tamanho dos sarcômeros está diretamente relacionado com a maciez (Ishiara et al., 2013) bem como o afastamento entre as fibras que pode estar relacionado à degradação do tecido conjuntivo, aspecto determinante na maciez e suculência da carne. Assim, conhecer a influência da temperatura de armazenamento sobre estes parâmetros pode contribuir para obter melhorias na qualidade final do produto. As técnicas de microscopia de luz e eletrônica mostram-se relevantes no estudo de processos destinados a conservação da carne de cordeiro, ambas podem ser utilizadas para investigar a preservação do tecido muscular em carnes vermelhas.

A partir da análise das imagens obtidas na microscopia eletrônica de transmissão (Figura 2.5), pode-se afirmar que as temperaturas estudadas preservaram o tecido muscular. No entanto, quanto menor a temperatura de congelamento inicial, maior a integridade da ultraestrutura do tecido muscular dos pennis de cordeiro.

Tabela 2.7. Distância entre fibras cárneas e espessura da fibra de carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias

	DF¹	EF¹
Tratamentos	(n=160)	(n=159)
Amostra fresca (controle)	9,25 a	18,74 ab
Lento	9,45 a	21,71 a
Rápido	2,33 b	18,04 b
Ultrarápido	1,85 b	20,37 ab
Efeito do tratamento (valor P)	<0,0001	<0,0249
Tempo*	(n=120)	(n=120)
0	9,25 ^A	18,74 ^A
90	4,54 ^B	20,03 ^A
Efeito do tempo (valor P)	n.d. ²	n.d. ²

*Não foi possível realizar as medidas DF e EF nas amostras referentes ao tempo 150 dias, pois foram fixadas no sentido perpendicular a fibra.

¹ (µm). ² Não determinado. Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes (p<0,05) pelo teste Dunn.

Figura 2.6. Micrografias de tecido cárneo de cordeiro submetido a diferentes temperaturas de congelamento: a, b – amostra controle, pós abate; c, d - congelamento lento; e, f – congelamento rápido; g, h – congelamento ultra rápido, obtidas em aumento de 400x e 1000x, respectivamente.

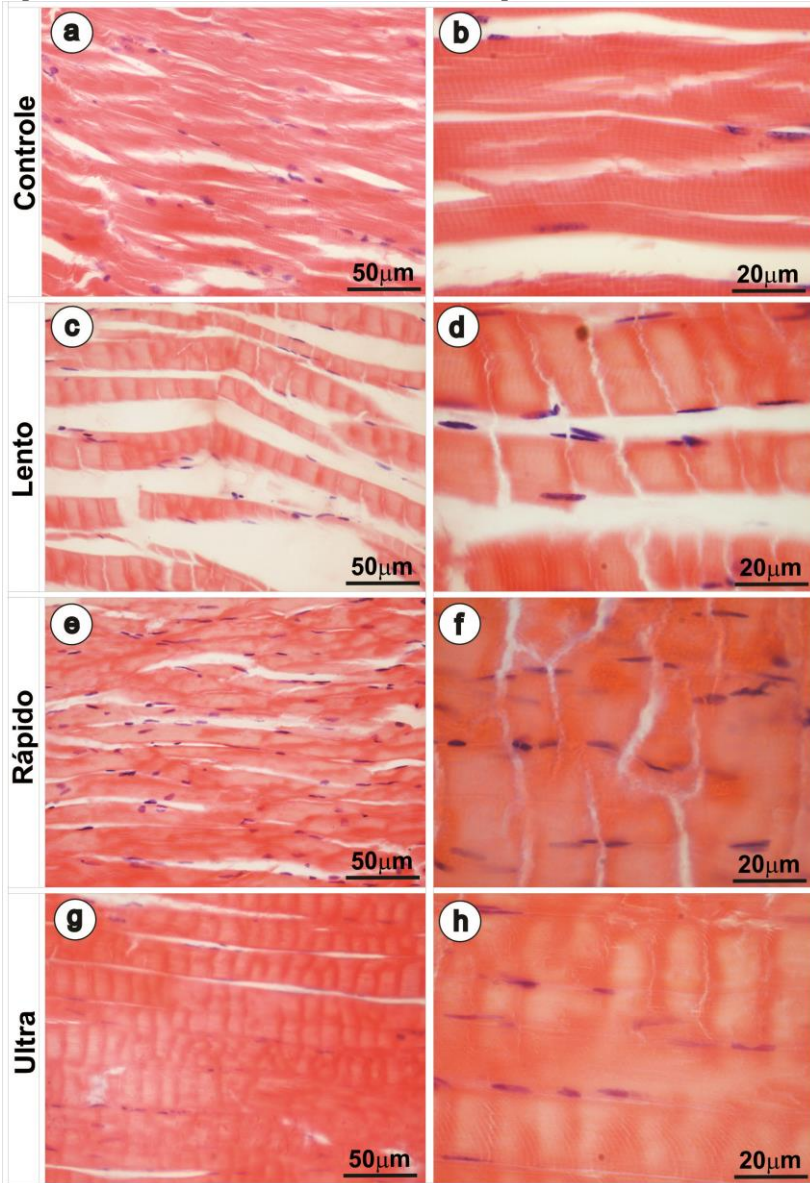
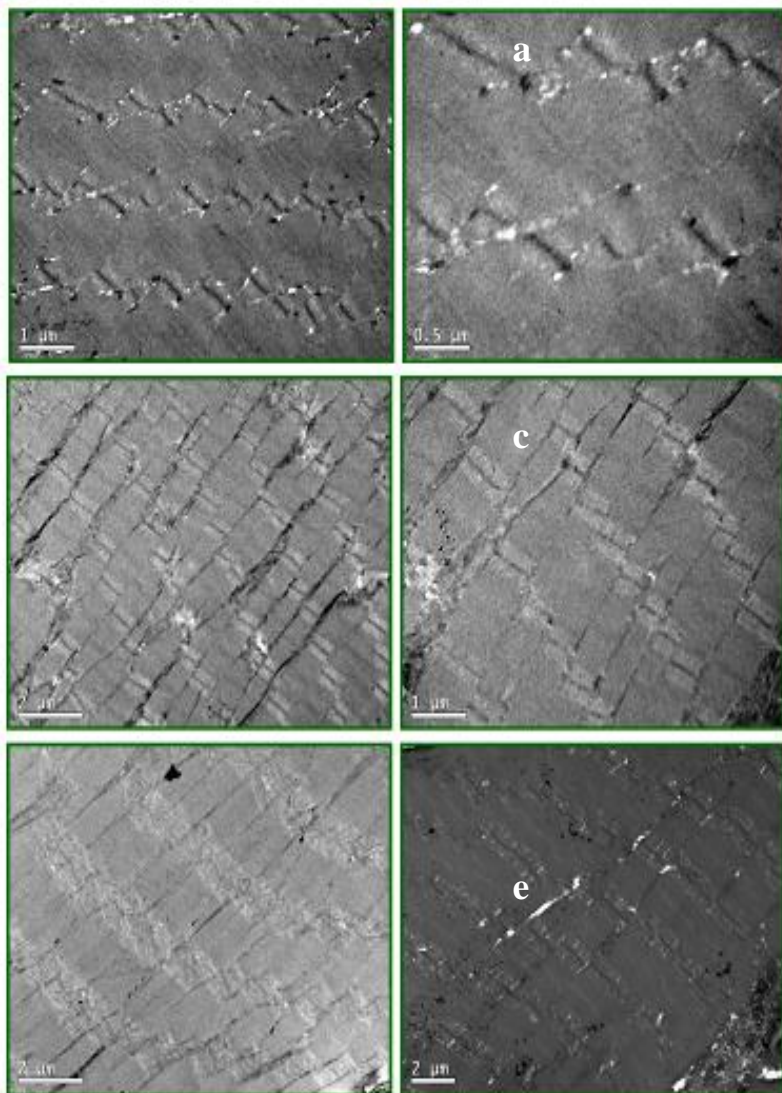


Figura 2.7. Eletromicrografias de cortes ultrafinos paralelos à fibra cárnea visualizadas com auxílio de TEM 100: a., b – congelamento lento, aumento 15k e 40k; c, d – congelamento rápido, aumento de 12k e 20K; e, f – congelamento ultra rápido, aumento de 12k e 8k



2.4 CONCLUSÕES

A carne ovina se manteve estável ao longo do período de estocagem. As temperaturas de congelamento aplicadas não prejudicaram as características físico-químicas e microbiológicas do produto. O tempo de armazenamento favoreceu a qualidade da carne, obtendo-se carnes mais macias.

Verificou-se maior integridade das fibras à medida que a temperatura de congelamento foi reduzida, mantendo-se mais preservada a estrutura cárnea no processo ultra rápido, indicativo de menor degradação das proteínas miofibrilares.

Portanto, ressalte-se que técnicas histológicas podem ser ferramentas úteis em estudos de maciez e verificação da eficiência de processos de conservação em alimentos.

Sem considerar os custos envolvidos, conclui-se que a melhor temperatura para a preservação da carne de pernil ovino foi $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo a temperatura ultra rápida indicada para armazenar a carne por maior período.

CAPÍTULO 3. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CARNE DE CORDEIRO MATURADAS SOB ATMOSFERA MODIFICADA

3.1. INTRODUÇÃO

A produção de carne ovina no Brasil está em ascensão, entretanto, sua comercialização é predominantemente sob a forma congelada, despertando pouco interesse pelos consumidores, que em geral buscam produtos frescos, que além de segurança, ofereçam qualidade e praticidade (COSTA et al., 2009; FERNANDES et al., 2012; SÂNUDO, MUELA e CAMPO, 2013; FREGONESI et al., 2014). É preciso estabelecer padrões de qualidade da carne ovina com o intuito de fidelizar o consumidor e conquistar o mercado, Guizzo (2011) ressalta que, a forma de apresentação do produto deve oferecer um sistema de cortes comerciais que venham valorizar a carne ovina, despertando o interesse do consumidor. Estudos vêm sendo realizados com o objetivo de aumentar a vida útil destes produtos, além de manter e/ou melhorar as características sensoriais relacionadas com sabor, cor e textura (MADRUGA et al., 2005; MONTE et al., 2012).

A maturação é utilizada visando melhorar os atributos sensoriais da carne, através da ação de enzimas proteolíticas que hidrolisam parcialmente as miofibrilas, resultando no aumento de sua maciez e suculência. Produtos cárneos embalados sob atmosfera modificada (AM) têm seu sabor e maciez intensificados. A associação destas técnicas pode potencializar as características sensoriais das carnes, tão desejadas por seus consumidores.

A atmosfera modificada consiste na substituição da atmosfera normal presente no interior da embalagem, que segundo McMILLIN (2008) caracterizou, consiste em uma etapa após a retirada do ar atmosférico, onde ocorre a injeção de uma mistura gasosa, composta por O₂, N₂ e CO₂ e cujo resultado é o aumento significativo da vida útil de produtos frescos e curados, reduzindo perdas por deterioração precoce, e caso seja adotada uma composição inadequada ao produto, pode causar reações adversas no produto final, sensorial, bioquímica e até química. De modo que, a seleção da mistura de gases empregados em um produto fundamenta-se nas características físicas, bioquímicas e microbiológicas do alimento, englobando principalmente a microbiota capaz de crescer, a sensibilidade do produto aos gases e na necessidade da estabilização das características sensoriais.

Neste sentido, pesquisas têm mostrado resultados promissores referentes ao aumento da vida útil de carne ovina levando à obtenção de produtos com características sensoriais e microbiológicas desejáveis, após o período de maturação com uso de atmosfera modificada (FERNANDES et al., 2014).

Sarantópoulo & Soler (1991), afirmam que o tipo de embalagem com atmosfera modificada mais indicada para o acondicionamento de carnes é a vácuo, pois protege o produto cárneo do contato com o oxigênio do ar, evitando a oxidação da mioglobina e mantendo o controle na multiplicação microbiana, uma vez que o oxigênio favorece a multiplicação de micro-organismos aeróbios de alto potencial deteriorante, enquanto que Sarantópoulo (1995) a substituição da atmosfera ao redor do produto por uma mistura de gases, poderia retardar a degradação e elevação da validade comercial do produto.

Fernandes et al. (2012), estudaram a vida útil de lombo de cordeiro embalados sob vácuo, armazenado a 4 °C e observaram aumento da carga microbiana após 7 dias de maturação, limitando sua vida útil. Em contrapartida, Fernandes et al. (2014), avaliaram amostras de lombo de cordeiro embaladas em diferentes condições de atmosfera modificada (vácuo, 100 % CO₂ e 75 % O₂ + 25 % CO₂), nas amostras armazenadas contendo 100 % CO₂ mostraram maior estabilidade e uma melhor vida de prateleira de até 28 dias, a 1 °C.

O comportamento dos micro-organismos nos alimentos (crescimento, sobrevivência e morte) é determinado pelas propriedades dos alimentos associadas as condições de armazenamento, tais como temperatura, umidade relativa e atmosfera do meio que a rodeia (NAKASHIMA et al., 2000). Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes sistemas de acondicionamento (vácuo e atmosfera modificada) na vida de útil da carne de cordeiro maturado sob refrigeração, verificando o uso de dióxido de carbono como principal elemento na composição gasosa quando em atmosfera modificada.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

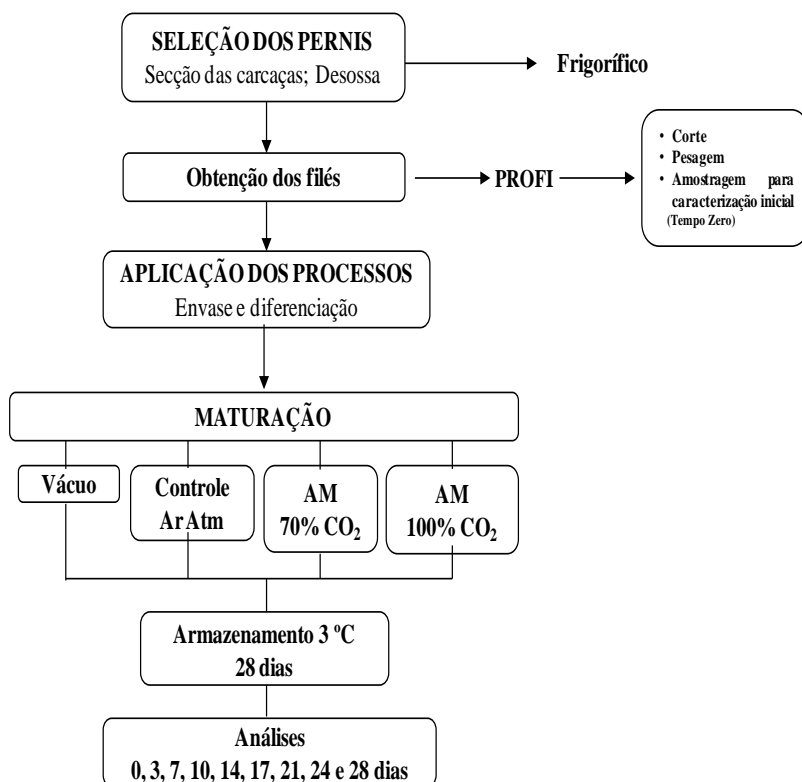
Pernis desossados, 40 unidades, adquiridos em frigorífico localizado em São João do Itaperiú/SC, foram limpos e fatiados em filés de 300±5 g. A Figura 3.1 mostra o fluxograma do processo aplicado nos diferentes tratamentos utilizados no presente estudo.

Os filés foram acondicionados em embalagens flexíveis de alta barreira compostas de polietileno e poliamida. Os experimentos

seguiram um planejamento fatorial 4 x 8, tipo de acondicionamento (controle, embalado sob ar atmosférico – t₁; vácuo –t₂; 70 % de CO₂+30% de N₂ – t₃, 100 % de CO₂ –t₄) e tempo de maturação (3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias) a 3°C (Figura 3.1).

Para as análises físico-químicas e sensoriais instrumentais foram utilizados os tempos: 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias, enquanto para as análises microbiológicas foram definidos os tempos 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias. Esta diferenciação, foi devida à constante e rápida alteração no quantitativo da carga microbiana em produtos cárneos. A maior quantidade de pontos possibilitou analisar a curva de crescimento dos microorganismos estudados em função do tempo e dos processos aplicados.

Figura 3.1. Fluxograma dos processos de maturação aplicados em carne de cordeiro



Embalagens co-extrudadas de Poliamidas / Polietilenos / Polietileno Modificado (5 camadas), utilizadas para o envase, foram cedidas pela Spel Embalagens Ltda, com 2 soldas laterais, sendo todas com bainha, em material transparente, com espessura de 90 μm e taxa de permeabilidade ao O_2 (0% UR / 23°C) de 55 $\text{cc}/\text{m}^2/\text{dia}$ sob condições atmosféricas. Sua aplicação comercial destina-se ao acondicionamento manual ou semi-automático de carnes, salsichas, linguiças, charques, espetinhos, bacon, queijos e outros produtos similares que requerem vácuo ou atmosfera modificada para sua conservação.

As misturas de gás utilizadas foram 70 % CO_2 +30% de N_2 (Conservare 62 Air Liquide) e 100 % de CO_2 (ALIGAL White Martins). A injeção da composição gasosa foi realizada em uma seladora (SELOVAC, Modelo 200B) com tempo de ajuste no momento da injeção de 10 s de vácuo e 9 s da mistura gasosa. Em seguida as embalagens foram seladas. A concentração dos gases no *headspace* das embalagens foi monitorada através de analisador de gases (CheckMate II, PBI Dansensor).

A qualidade e a vida útil dos filés maturados nos diferentes sistemas de acondicionamento foram determinadas mediante a realização das análises descritas a seguir:

3.2.1. Análises físico-químicas

Composição centesimal, pH, parâmetros de cor (a^* , b^* , h^* , C^* , L^* e ΔE), perdas de peso por exsudação e por cocção, capacidade de retenção de água, teor de colesterol, índice de peróxidos, perfil de ácidos graxos e perfil eletroforético de proteínas, conforme descritas no Capítulo 2, nos itens 2.1.2.1 e 2.1.2.2.

3.2.2. Análises microbiológicas

Para determinar a vida útil das carnes maturadas foram realizadas análises microbiológicas, para Coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella Spp.*, psicrófilos, psicrotróficos, mesófilos e bactérias ácidas lácticas (BAL) nas amostras frescas (tempo zero). E para as amostras durante o armazenamento, a contagem de psicrófilos a 7°C aos 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias, e a contagem de BAL no final do processo (28 dias).

3.2.3. Determinação de grau de enchimento e composição gasosa da embalagem

a) Grau de enchimento

Definido como volume do produto versus o volume da embalagem (mL/mL), foi determinado nas embalagens de acordo com a metodologia adaptada de Rotabakk et al. (2007). As embalagens foram dispostas em um recipiente contendo 4000 mL de água e uma probe na forma retangular de dimensões de 17,5 mm x 13,5 mm x 2 mm, conectada ao texturômetro (Stable Micro System, modelo TA.XT2i, UK, com célula de carga de 500 N) por uma haste de 118 mm altura, conforme mostra a Figura 3.2.

Figura 3.2. Probe metálica conectada a texturômetro, utilizada para teste de compressão de embalagem



A probe possui um volume total de 100 cm^3 e massa de 437,73 g, sua calibração foi realizada por sua imersão em água a uma taxa de 2 mm/s, com 85 % de deformação e permaneceu durante o período de 30 s para estabilidade e obtenção dos dados. O grau de enchimento da embalagem contendo o produto foi realizado usando de acordo com

Rotabakk et al. (2008), adaptado por Lima et al. (2014), usando a equação (3.1):

$$GE = \frac{V_p}{V_g} \cdot 100 \quad (3.1)$$

Onde GE é o grau de enchimento (%), V_g é o volume de gás contido na embalagem e V_p é o volume da embalagem, ambos em $(m)^3$. V_g pode ser calculado pela equação:

$$V_g = \frac{F_{res}}{g\rho_f} + \frac{m_a}{\rho_f} - \frac{m_a}{\rho_a} \quad (3.2)$$

F_{res} é a força obtida pelo texturômetro (N);

m_a é a massa do alimento (kg);

ρ_f é a densidade do fluido no qual o objeto é submerso;

ρ_a é a densidade do alimento;

b) Composição gasosa

A análise da composição gasosa presente no *headspace* das embalagens contendo as amostras de carne ovina foi realizada mediante a leitura da concentração de O_2 e CO_2 utilizando analisador de gases (CheckMate II, PBI Dansensor). As determinações foram feitas em duas etapas: (1) Leituras nas primeiras horas após o envase (0, 0,5, 1, 3, 6, 12, 24 e 48 horas) e (2) leituras durante os 21 dias de armazenamento do produto processado (3, 7, 10, 14, 17 e 21 dias).

c) Determinação da concentração de CO_2 dissolvido na carne ovina

A concentração de CO_2 dissolvido nas amostras de carne ovina (mg CO_2 /kg produto) foi calculada através da variação do volume dentro das embalagens, baseada em Rotabakk et al. (2007), de acordo com a Equação (3.3):

$$C_{CO_2}^t = \frac{1000 (V_{CO_2i} - V_{CO_2t}) M_{CO_2}}{R \cdot T \cdot m_p} \quad (3.3)$$

Onde: $C_{CO_2}^t$ é a concentração de CO_2 no tempo t (mg CO_2 /kg produto), V_{CO_2i} é o volume de CO_2 no tempo inicial (m^3), V_{CO_2t} é o volume de CO_2 no tempo t (m^3), M_{CO_2} é a massa molar de CO_2 (44,01 g/mol CO_2) e m_p é a massa de produto (kg).

3.2.4. Análises sensoriais instrumentais e microscópicas

A carne ovina maturada foi submetida à análise sensorial instrumental, força de cisalhamento, índice de fragmentação miofibrilar e comprimento de sarcômero para avaliar a maciez, e para avaliar a estrutura e ultraestrutura do tecido muscular da carne ovina neste estudo, foram utilizados métodos histológicos através da microscopia. Os métodos foram realizados conforme descrito no Capítulo 2, nos itens 2.1.2.4 e 2.1.2.5.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Caracterização Físico-Química

Em experimento preliminar, foi realizada a avaliação da cor em cortes embalados sob ar atmosférico (controle), vácuo e com as atmosferas de 70 % e 100 % de CO₂, não havendo variação nos valores de cor (L*, a*, b*) quando analisadas amostras com e sem embalagem. Esta informação é relevante, uma vez que a cor do produto embalado é um parâmetro importante para o consumidor no momento da compra, indica o fenômeno de oxidação no produto. De modo que é possível afirmar que a embalagem utilizada no presente estudo foi adequada.

Considerando-se os tratamentos e tempo de maturação, os parâmetros de cor (Tabela 3.1) referente a intensidade de luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*) e croma (C*) foram semelhantes entre os tratamentos ($p > 0,05$). Não houve variação significativa da variação global da cor (ΔE), entre tratamentos com atmosfera modificada e o grupo controle. Mas houve diferença desse parâmetro quando comparado com as amostras embaladas a vácuo ($p < 0,05$). Essa diferença pode ser em decorrência a ausência de ar no interior da embalagem.

Embora todos os parâmetros envolvidos na avaliação da cor (L*, a*, b* e C*) tenham demonstrado influência com o tempo de maturação ($p < 0,05$), a variação global da cor não foi afetada pelo tempo de maturação.

Observou-se que a composição gasosa contendo CO₂ usada nesta pesquisa, no acondicionamento das carnes de cordeiro (AM 70 % CO₂ e AM 100 % CO₂) não prejudicou a intensidade da cor vermelho brilhante, característica fundamental em produtos cárneos para o

consumidor, relevante para estimular a compra e que é associada à presença do O₂.

Não houve redução na luminosidade (L*), quando analisado em relação ao tratamento, mas houve em função do tempo 21 dias (38,93). Fernandes et al. (2014) estudaram o lombo de cordeiro estocado (4 °C) por 21 dias com vácuo, 75 % de O₂ + 25 % de CO₂ e 100 % de CO₂ e encontraram valores médios de L* 36,95 ± 1,05, 38,47 ± 1,05 e 36,32 ± 1,05, respectivamente, inferiores às médias globais obtidos neste estudo em relação ao vácuo (43,29) e 100 % de CO₂ (42,69), que se aproximaram do resultado obtido por Vergara e Gallego (2001) estudando o músculo *longissimus dorsi* da mesma espécie.

Tabela 3.1. Parâmetros de cor resultantes da avaliação de filés de carne ovina submetida a processos de maturação por 21 dias.

	a*	b*	L*	ΔE	C*
Tratamentos	(n=108)	(n=108)	(n=108)	(n=18)	(n=108)
Controle	12,31 ^a	9,90 ^b	40,88 ^a	15,72 ^{ab}	15,81 ^a
Vácuo	11,93 ^a	10,54 ^{ab}	41,75 ^a	8,63 ^b	16,37 ^a
AM 70 % CO ₂	11,85 ^a	10,79 ^{ab}	41,28 ^a	12,86 ^a	16,19 ^a
AM 100 % CO ₂	12,12 ^a	10,97 ^a	41,01 ^a	11,55 ^{ab}	16,58 ^a
Efeito do tratamento (valor P)	0,5625	0,2452	0,5262	0,1443	0,8197
Tempos (dias)					
0	12,04 ^{AB}	9,23 ^C	38,82 ^C	4,50 ^A	15,18 ^B
3	12,88 ^A	11,72 ^{AB}	44,22 ^{AB}	13,79 ^A	17,43 ^{AB}
7	12,24 ^{AB}	10,40 ^{BC}	41,12 ^{BC}	6,71 ^A	16,08 ^{AB}
10	12,88 ^A	12,49 ^A	38,60 ^C	12,79 ^A	17,97 ^{AB}
14	11,68 ^{AB}	10,92 ^B	43,04 ^{AB}	12,07 ^A	16,02 ^{AB}
17	10,72 ^B	10,45 ^{BC}	45,17 ^A	12,96 ^A	14,99 ^B
21	12,00 ^{AB}	10,68 ^{BC}	38,93 ^C	9,32 ^A	16,10 ^{AB}
Efeito do tempo (valor P)	0,0343	0,0080	0,0001	0,2989	0,0208

Análise feita 45min após a abertura do produto; a* cromaticidade verde (-)/vermelho (+) , b* (azul(-) /amarelo(+), L* (luminosidade), ΔE (variação global da cor) e C* (croma).

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes (p<0,05) pelo teste Tukey.

Os processos utilizados para maturação e o tempo não afetaram (p>0,05) os parâmetros a*, L* e c*. Embora tenha afetado o parâmetro b* (p<0,05) verifica-se uma diminuição neste valor médio com a maturação e tendência de cor verde (-a*) no grupo controle a partir dos

14 dias e nas amostras sob vácuo e AM após 21 dias. Nas amostras acondicionadas com 100 % CO₂, houve a manutenção da coloração avermelhada brilhante durante todo o período de maturação avaliado.

Os valores obtidos para o parâmetro a* das amostras embaladas com 70 % de CO₂ +30% N₂ e embaladas com 100 % de CO₂ mostraram que a aplicação de dióxido de carbono em atmosfera modificada, foi eficaz na manutenção da coloração da carne em todo o período de maturação avaliado. A descoloração superficial é considerada para valores de a* acima de 15. Há notada diferença entre os cortes cárneos (pernil e lombo) maturados sob mesma atmosfera (100 % de CO₂), considerando que FERNANDES et al. (2014) encontraram teor de a* (13,01± 0,54) mais elevado em lombo de cordeiro maturado (4 °C), que os valores encontrados em filés de pernis neste trabalho.

Com relação à média global da intensidade amarelo (b*), o tratamento com 100 % de CO₂ diferiu do grupo controle (p<0,05), com elevação dos valores da cor amarela, que pode estar associada à baixa quantidade de O₂ presente nas atmosferas. FERNANDES et al. (2014) encontraram valores para b* de 12,43±0,58 e 10,95±0,58 para os tratamentos sob vácuo e AM com 100 % de CO₂, que foram maior e menor, respectivamente aos obtidos nesta pesquisa.

Não foi verificada interação entre o tipo de acondicionamento e o tempo de maturação para os valores médios de pH e atividade água (aw) (Tabela 3.2.).

Houve manutenção do pH na faixa ótima (5,5 a 5,8) na carne acondicionada nos diferentes tratamentos e tempos de maturação. Essa faixa de pH deve ter influenciado diretamente a luminosidade (L*), tendo em vista que não houve perda de coloração quanto à luminosidade nos sistemas durante a maturação das amostras, e segundo Jakobsen e Bertelsen (2004), o processo de maturação promove o escurecimento e perda da luminosidade pela ação da oximioglobina (JAKOBSEN e BERTELSEN, 2004). Com base nos resultados obtidos na análise dos parâmetros de cor associado ao pH, percebe-se características desejáveis em carnes refrigeradas, com a manutenção das características sensoriais das carnes frescas.

Avaliando diferentes tempos de maturação da carne bovina, Fernandes (2000) observou valores de pH de 5,39; 5,54 e 5,55, para os tempos de maturação 0, 7 e 14 dias, respectivamente, sendo que para o tempo zero houve diferença (P<0,05) em relação aos tempos 7 e 14, os quais não diferiram entre si. De acordo com os autores, o aumento no valor do pH após a maturação ocorreu devido a autólise e ao

crescimento bacteriano. Do mesmo modo, Zapata et al. (2003) em estudo para averiguar a evolução do pH durante a maturação do músculo *Semimembranosus* de cordeiros observaram que houve aumento do pH conforme aumentou o tempo de maturação.

Os sistemas de maturação empregados influenciaram o pH, a atividade água (aw) e a perda de água por cocção, não havendo influencia sobre a capacidade de retenção de água do produto, conforme mostrado na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), capacidade de retenção de água (CRA) e perdas de água por cocção (PAC) de filés de pernil de cordeiro maturadas em diferentes sistemas de maturação por até 21 dias

Tratamentos	pH (n=114)	Aw (n=108)	CRA (n=126)	PAC (n=78)
Controle	5,60 ^c	0,993 ^a	1,70 ^a	46,75 ^a
Vácuo	5,69 ^a	0,992 ^a	1,61 ^a	44,08 ^a
AM 70 % CO ₂	5,65 ^b	0,991 ^b	1,74 ^a	36,65 ^b
AM 100 % CO ₂	5,58 ^c	0,990 ^a	1,64 ^a	36,20 ^b
Efeito do tratamento (valor P)	<0,0001	<0,0001	0,2078	0,0613
Tempo (dias)				
0	5,80 ^A	0,994 ^A	1,49 ^B	n.d. ¹
3	5,46 ^D	0,991 ^B	1,67 ^{AB}	26,88 ^B
7	5,53 ^C	0,991 ^{BC}	1,61 ^{AB}	43,89 ^A
10	5,39 ^E	0,992 ^B	1,69 ^{AB}	29,59 ^B
14	5,76 ^{AB}	0,990 ^{BC}	1,80 ^A	41,68 ^A
17	5,72 ^B	0,989 ^C	1,82 ^A	43,42 ^A
21	5,56 ^C	0,991 ^B	1,67 ^{AB}	42,32 ^A
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001	<0,0001	0,0008	0,0002

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

1. não determinado.

Os valores de pH encontrados neste estudo estão de acordo com a faixa considerada normal (5,5 - 5,8) para carne de cordeiro e são semelhantes aos obtidos por LINARES, BÓRNEZ VERGARA (2008) e BÓRNEZ, LINARES e VERGARA (2010) em *Longissimus dorsi* de cordeiro maturado. E é ligeiramente mais elevado do que aqueles

encontrados em outras carnes, como a de bovino, característico da espécie ovina. Este fator pode favorecer o crescimento microbiano, resultando em uma menor durabilidade da carne (TERLOUW, 2005). De acordo com Lawrie e Ledward (2006), quando não ocorre esta redução do pH, este fenômeno pode ser devido à depleção da reserva de glicogênio no momento do abate, decorrente de estresse ou cansaço do animal ao abate.

A CRA não sofreu influência ($p>0,05$) pelos tratamentos, no entanto, variou com o aumento do tempo de armazenamento ($p<0,05$), tornando a reduzir após 21 dias, fato comprovado pelo aumento da exsudação no produto. A PAC sofreu influência ($p<0,05$) quando se aplicou atmosfera modificada com CO_2 , a perda foi reduzida com a utilização do gás. A proporção de gases utilizada não influenciou na PAC ($p>0,05$), indicativo de que o uso de CO_2 favorece a conservação das características físico-químicas da carne de cordeiro pela manutenção da estrutura celular, perceptível pela conservação no conteúdo de água intracelular.

Não houve interação entre os tratamentos e o tempo sobre o perfil de ácidos graxos nos filés analisados, Tabela 3.3. No entanto, percebe-se que a relação de $\omega 6:\omega 3$ foi modificada em função do tratamento aplicado, com média de 7,19 g/100g nas amostras do grupo controle, 6,57 g/100g nas amostras sob vácuo, 4,99 g/100g nas amostras acondicionadas em AM 70 % CO_2 e 4,43 g/100g nas amostras sob AM 100% CO_2 . O consumo de gorduras totais, gorduras saturadas e colesterol, não deve ultrapassar 80 gramas, 25 gramas e 300 miligramas por dia (ANVISA, 2001), em uma dieta bem equilibrada. Os filés de ovino analisados neste estudo apresentaram $8,34\pm 0,15$ g/100g de lipídios totais, 49,79 g/100g de gorduras saturadas e $319,01\pm 13,76$ mg/100g de colesterol, em média.

Partindo da determinação do índice de peróxido, observa-se que a rancificação e/ou oxidação lipídica nas amostras foi mínima, bem como a desnaturação das proteínas, já que não houve aumento dos valores médios de L^* , fator que aumenta a dispersão da luz (MANO, PEREDA e FERNANDO, 2002), favorecendo o armazenamento do produto nas condições estudadas.

A determinação das proteínas das carnes de cordeiro maturadas, realizada por eletroforese, demonstrou através da análise dos géis de poliácridamida que houve similaridade no perfil das proteínas miofibrilares presentes no músculo estriado esquelético das amostras estudadas aos 7, 14 e 21 dias de maturação (Figura 3.3). Em estudos de

perfil proteico com eletroforese SDS PAGE as bandas se confundem, pois os pesos moleculares são próximos, os marcadores servem como guia quanto a disposição do elemento alvo. Verifica-se uma maior concentração de proteínas miosina (163kDa) e da actina (54kDa), perfil típico de músculos, confirmando a integridade e preservação do tecido muscular sob os processos de conservação estudados.

Tabela 3.3. Perfil de ácidos graxos (g/100g), colesterol (mg/100g) e índice de peróxidos – IP (mg/100g) na fração lipídica de filés de cordeiro embalados sob ar atmosférico (controle – t₁), a vácuo (t₂), em atmosfera modificada com 70 % de CO₂ (t₃) e com 100 % de CO₂ (t₄) maturados a 3°C, até 21 dias

Ácido graxo	Tratamentos				Tempo (dias)						²valor P
	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	valor P	0	7	14	21		
AGS	51,62 ^a	49,42 ^b	48,46 ^c	48,23 ^c	<0,0001	49,79	50,47	48,47	48,13	<0,0001	
C 4:0	0,002 ^a	0,002 ^b	0,002 ^b	0,002 ^b	-	0,008 ^A	0,00 ^B	0,00 ^B	0,00 ^B	<0,0001	
C 10:0	0,07	0,12	0,13	0,10	0,5659	0,17	0,11	0,05	0,09	0,1299	
C 12:0	0,28	0,39	0,25	0,27	0,3130	0,28	0,36	0,23	0,34	0,3885	
C 14:0	3,08	2,84	3,00	3,32	0,7680	3,48	3,14	2,99	2,49	0,3605	
C 15:0	0,72	0,65	0,68	0,70	0,3979	0,66 ^{AB}	0,73 ^A	0,71 ^{AB}	0,63 ^B	0,0384	
C 16:0	23,08	21,74	22,14	21,91	0,4153	22,38	22,55	22,22	21,25	0,4461	
C 17:0	1,45	1,31	1,30	1,30	0,4470	1,27	1,40	1,37	1,27	0,4442	
C 18:0	20,52	19,21	17,95	18,08	0,4711	18,90	19,42	18,50	18,43	0,9494	
C 19:0	1,48	1,76	1,58	1,53	0,4663	1,57 ^{AB}	1,49 ^{AB}	1,45 ^B	1,96 ^A	0,0629	
C 20:0	0,12	0,11	0,11	0,12	0,9701	0,12	0,11	0,11	0,12	0,9305	
C 21:0	0,95	1,24	1,06	0,92	0,5842	0,98	1,06	0,81	1,42	0,1747	
C 23:0	0,15	0,45	0,48	0,33	0,3051	0,40	0,44	0,21	0,41	0,5568	
C 24:0	0,05	0,08	0,11	0,14	0,3888	0,14	0,11	0,12	0,04	0,2383	
AGMI	40,89 ^d	41,73 ^c	43,29 ^b	43,66 ^a	<0,0001	41,11 ^D	41,89 ^C	44,59 ^A	42,33 ^B	<0,0001	
C14:1n5c	0,03	0,04	0,11	0,12	0,1064	0,11	0,08	0,04	0,07	0,3041	
C15:1n5c	0,28	0,26	0,28	0,27	0,4706	0,26	0,29	0,28	0,25	0,0464	
C16:1n7	1,59	1,52	1,71	1,66	0,7273	1,53	1,60	1,74	1,61	0,6923	
C17:1n7c	0,64	0,61	0,63	0,63	0,9380	0,56	0,63	0,69	0,64	0,0862	
C18:1n9c	35,33	34,39	34,98	35,53	0,9050	33,38	34,44	37,35	34,97	0,1719	
C18:1n9t	3,54	2,44	4,94	4,85	0,0866	4,64	3,68	2,57	3,35	0,4396	
C18:1n11	1,42	2,31	0,47	0,50	0,2624	0,44	1,07	1,83	1,35	0,5666	
C20:1n9	0,02	0,03	0,06	0,05	0,0775	0,02 ^B	0,06 ^A	0,04 ^{AB}	0,05 ^{AB}	0,0492	

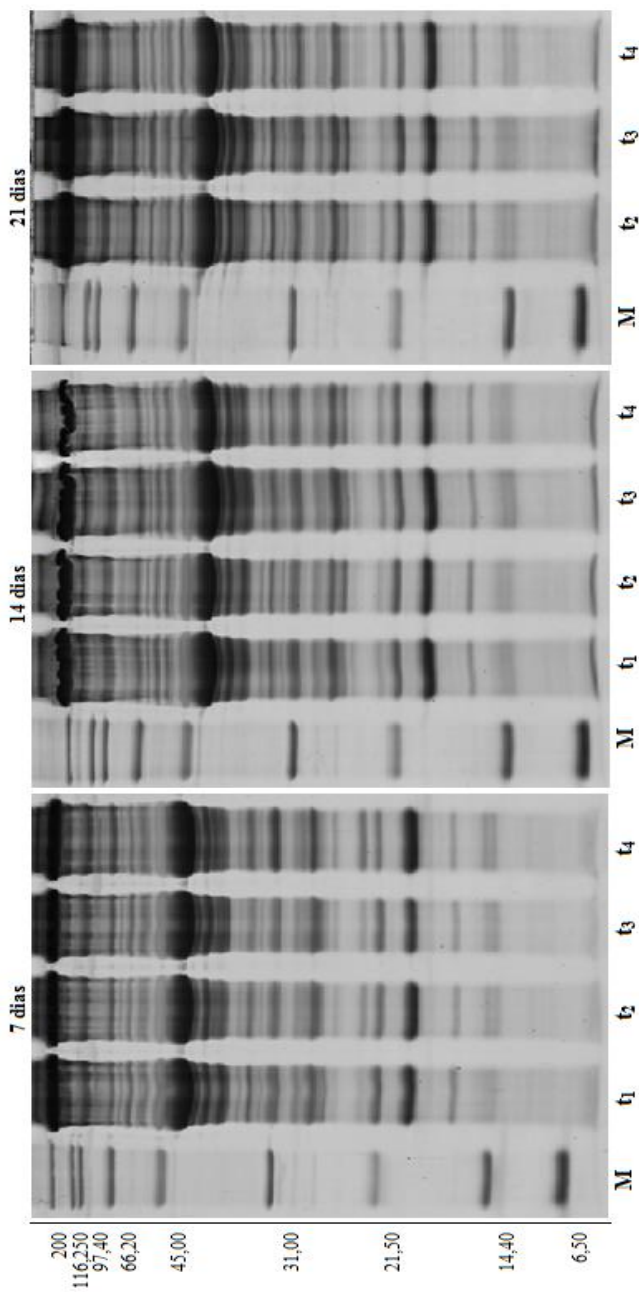
C24:1n9	0,0062	0,0037	0,0004	0,0004	0,0004	0,3814	0,0019	0,00	0,0041	0,0043	0,5389
AGPI	7,11 ^d	8,39 ^a	7,92 ^b	7,53 ^c	<0,0001	8,60 ^b	7,14 ^c	6,62 ^d	9,07 ^a	<0,0001	
C 18:2n6c	4,98	5,71	5,10	4,69	0,4343	5,72	4,68	4,32	6,03	0,0705	
C 18:2n6t	0,010	0,007	0,007	0,007	-	0,03	0,00	0,00	0,00	<0,0001	
C 18:3n6	0,28	0,19	0,30	0,30	0,0663	0,58	0,16	0,14	0,15	<0,0001	
C 18:3n3	1,08	1,19	1,34	1,40	0,6042	1,17	1,13	1,46	1,31	0,5487	
C20:2n6c	0,09	0,16	0,16	0,14	0,6925	0,13	0,15	0,09	0,21	0,2232	
C20:3n6c	0,05	0,10	0,08	0,09	0,6965	0,09	0,08	0,04	0,13	0,1508	
C20:5n3c1	0,00	0,00	0,00	0,02	0,1310	0,00	0,01	0,00	0,02	0,4070	
C22:2n6c	0,41	0,55	0,42	0,41	0,6302	0,38	0,50	0,33	0,62	0,1699	
C22:6n3	0,18	0,46	0,48	0,45	0,3628	0,47	0,40	0,22	0,58	0,2609	
AGMI/AGS	0,79 ^a	0,84 ^a	0,90 ^a	0,90 ^a	0,1505	0,82 ^a	0,84 ^a	0,92 ^a	0,88 ^a	0,2076	
AGPI/AGS	0,14 ^a	0,17 ^a	0,16 ^a	0,15 ^a	0,8227	0,17 ^a	0,14 ^a	0,14 ^a	0,18 ^a	0,2046	
(C18:0-C18:1)C160	2,54 ^a	2,67 ^a	2,64 ^a	2,69 ^a	0,3426	2,56 ^a	2,58 ^a	2,71 ^a	2,73 ^a	0,0384	
ω 6:2:3	7,19 ^a	6,57 ^b	4,99 ^c	4,43 ^d	<0,0001	6,35 ^B	6,42 ^B	3,55 ^C	6,76 ^A	<0,0001	
Colesterol	36605 ^d	33133 ^a	35599 ^a	35807 ^a	0,2283	-	38438 ^A	33696 ^B	33922 ^B	0,0069	
IP	0,008 ^c	7,26 ^b	2,76 ^{bc}	4,04 ^{ab}	0,0001	0,0 ^B	2,69 ^A	4,99 ^A	3,82 ^A	0,0709	

¹ Efeito do Tratamento, ² Efeito do tempo. AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poliinsaturados.

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma linha, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$).

A partir da análise da Figura 3.3 observa-se quantitativamente menor quantidade de proteínas miofibrilares de baixo peso molecular em comparação as de maior peso molecular, tais como, da cadeia pesada da miosina.

Figura 3.3. Perfil eletroforético das proteínas da carne de cordeiro obtido por SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1% β -mercaptoetanol aos 7, 14 e 21 dias de armazenamento acondicionada sob diversos sistemas.



M: Marcador de peso molecular; t₁: Controle; t₂: Vácuo; t₃: Atmosfera modificada com 70 % CO₂; t₄: Atmosfera modificada com 100 % CO₂.
Escala referente ao peso molecular dos padrões (kDa).

3.3.2. Análises microbiológicas

A contagem microbiana para as amostras *in natura* (tempo zero) da carne de cordeiro está de acordo com os padrões exigidos pela legislação, conforme Tabela 3.4, para *Clostridium perfringens*, coliformes termotolerantes e coliformes totais, abaixo de um ciclo de unidades formadoras de colônias por grama de amostra analisada. Além da presença de bactérias psicrófilas e psicrotróficas na ordem de 10^2 e ausência de *Salmonella Spp.*

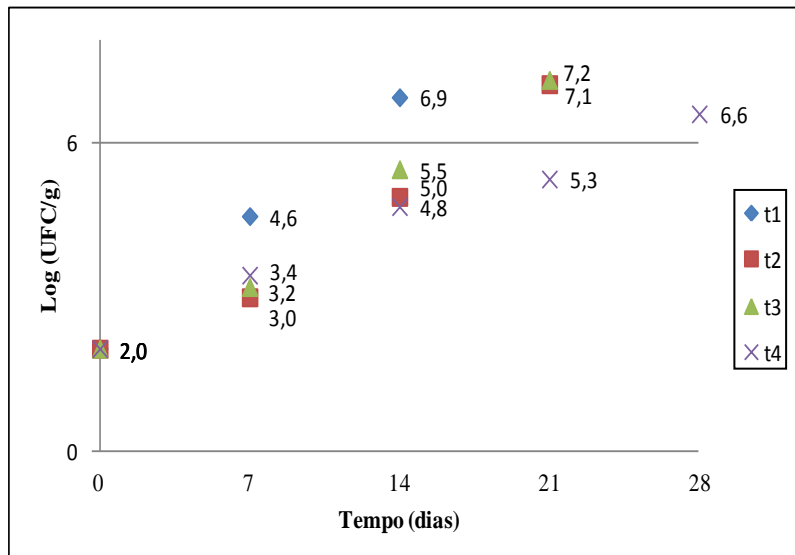
Tabela 3.4. Perfil microbiológico da carne de cordeiro fresca

PARÂMETRO	RESULTADO	UNIDADE
<i>Clostridium perfringens</i>	$<1,0 \times 10^1$	UFC/g
Coliformes termotolerantes	$<1,0 \times 10^1$	UFC/g
Coliformes totais	$<1,0 \times 10^1$	UFC/g
Bactérias psicrófilas a $7^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$	$7,0 \times 10^2$	UFC/g
Bactérias psicrotróficas a $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$	$4,0 \times 10^2$	UFC/g
<i>Salmonella</i>	Ausência em 25 g	-

Houve diferença entre os tratamentos em função do tempo quanto à carga microbiana (Figura 3.4). As amostras acondicionadas em vácuo e AM 70 % de $\text{CO}_2 + 30\% \text{N}_2$, atingiram vida útil de 14 dias, enquanto que o tratamento com AM contendo 100 % CO_2 , apresentou contagem microbiológica até os 21 dias em níveis aceitáveis para consumo (10^6UFC/g). A maior quantidade de dióxido de carbono, em conjunto com a baixa temperatura, retardou o desenvolvimento dos micro-organismos alvo, havendo sinergismo entre estes dois fatores (FERNANDES et al., 2014).

A vida útil da carne ovina sem passar por qualquer tratamento é de no máximo sete dias, quando preservada em condições de refrigeração, o uso de embalagem a vácuo aumenta esse período em até 14 dias. Assim, o uso da atmosfera modificada com 100 % de CO_2 foi a mais eficiente das atmosferas, pois conseguiu elevar em 1/3 a vida útil do produto inicial. Fernandes et al. (2012) registraram valores da ordem de 10^7UFC.g^{-1} em lombo de cordeiro embalado a vácuo aos 14 dias de armazenamento, enquanto que em 2014, Fernandes et al. obtiveram contagem na ordem de 10^6 em lombo de cordeiro sob MAP com 100 % de CO_2 aos 21 dias sob refrigeração de 4°C .

Figura 3.4. Contagem de micro-organismos psicrófilos em amostras acondicionadas sob controle (t_1), vácuo (t_2), atmosfera modificada com 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e atmosfera modificada com 100 % de CO_2 (t_4) maturadas durante 28 dias a 3°C

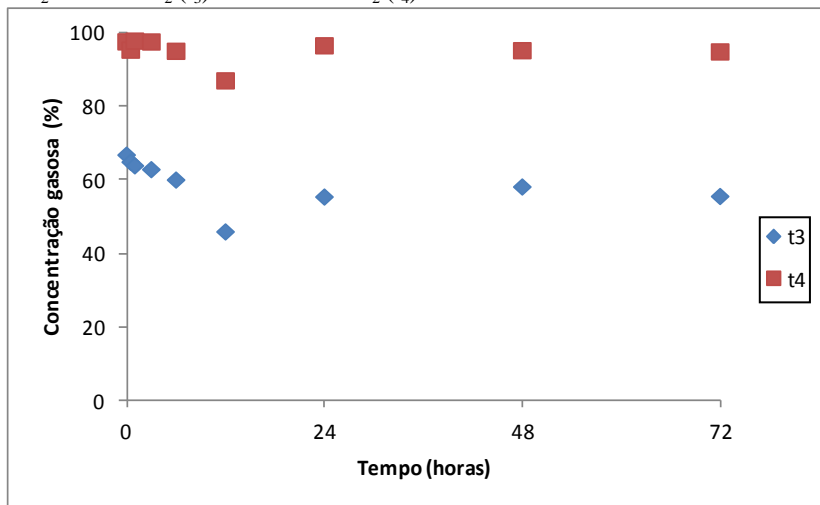


Segundo Mano, Pereda e Fernando (2002), o uso da refrigeração e acondicionamento em AM, além de inibir o crescimento de determinados micro-organismos, prolongam as fases de latência e os tempos de duplicação da microbiota que pode desenvolver-se nestas condições. Desta forma, os sistemas de acondicionamento apresentaram diferenças quanto à vida útil dos produtos ao longo do tempo de estocagem e a atmosferas modificada com 100 % de CO_2 (t_4) prolongou a vida útil em no mínimo 21 dias.

3.3.3. Composição gasosa nas embalagens sob AM

Como esperado em produtos que não respiram, foi observada uma redução da concentração de CO_2 no volume livre das embalagens, devido à solubilização de CO_2 nas frações aquosas e lipídicas das carnes (Figura 3.5).

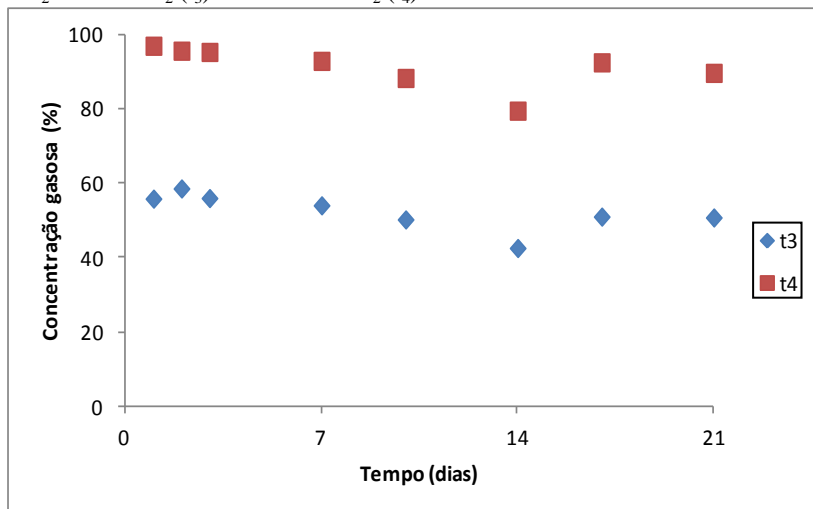
Figura 3.5. Concentração do dióxido de carbono CO_2 no *headspace* das embalagens durante as primeiras horas de maturação sob AM com 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e 100 % de CO_2 (t_4) a 3°C



Com relação a concentração gasosa no *headspace* das embalagens observa-se na Figura 3.5, redução da concentração de CO_2 no volume livre das embalagens, comportamento esperado, típico em produtos que não respira,. Atribui-se esta redução à dissolução do gás no produto (FERNANDES et al., 2014), que ocorre nas primeiras horas após o envase. A composição da AM é dinâmica e sofre influência do metabolismo microbiano, da absorção do gás no produto e da permeabilidade do material da embalagem (JAKOBSEN e BERTELSEN 2004). A presença de O_2 nas embalagens foi praticamente zero ao longo da maturação, de modo que as embalagens utilizadas foram eficazes na conservação dos gases em seu interior.

Percebe-se que as concentrações de oxigênio tenderam a zero nas embalagens sob AM (Figura 3.6), comprovando que o processo de embalagem e acondicionamento foram adequados, bem como escolha da embalagem alta barreira e baixa permeabilidade ao oxigênio. Este fato também foi relatado por Fernandes et al (2014) estudando lombo de cordeiro embalado sob AM 100 % de CO_2 , e registraram concentração próxima a 95% para o dióxido de carbono, enquanto nesta pesquisa com pernil de cordeiro as concentrações foram próximas a 50% em AM 70 % CO_2 + 30% N_2 e 90% quando embaladas em AM 100 % CO_2 .

Figura 3.6. Concentração gasosa do dióxido de carbono (CO_2) no *headspace* das embalagens durante a maturação de carne de cordeiro sob AM com 70 % de CO_2 +30% de N_2 (t_3) e 100 % de CO_2 (t_4) a 3°C



3.3.4. Avaliação da textura

Os parâmetros utilizados na análise sensorial deste estudo se referem a textura da carne, atributo decisivo para determinar a preferência dos consumidores. Assim, a força de cisalhamento tem sido usada como forma de avaliação da maciez da carne. A maciez pode ser definida como a facilidade com que a carne se deixa mastigar e pode estar composta por três sensações percebidas pelo consumidor: uma inicial descrita como a facilidade de penetração com os dentes, outra mais prolongada que seria a resistência que oferece a carne à ruptura ao longo da mastigação e a final, que se refere à sensação de resíduo na boca (Maturano, 2003; Menezes et al., 2009).

Segundo Monte et al. (2012), é necessário que o músculo tenha um período de maturação após o abate, para que sua maciez ideal seja atingida. Para atingir o amaciamento adequado, é necessário haver reservas de glicogênio no momento do abate que permitam a redução do pH em torno de 5,5 (LOWE, PEACHEY e DEVINE, 2002), neste estudo, o pH inicial, 5,8, reduziu para 5,46 após 3 dias de maturação, favorável ao amaciamento da carne utilizada.

O aumento do tempo de maturação promoveu a redução da força empregada para cisalhar as amostras, embora aos 21 dias (4,85 kgf), as carnes demonstrem força de cisalhamento (FC) superior que aos 14 dias (3,16 kgf), Tabela 3.5.

Tabela 3.5. Força de cisalhamento (FC) expressa em kgf/cm², índice de fragmentação miofibrilar (IFM) e comprimento de sarcômero (CS) em carne ovina submetida a diferentes sistemas de maturação por até 21 dias.

	FC (Kgf/cm ³)	IFM	CS (μ m)
Tratamentos	(n = 60)	(n= 48)	(n= 280)
Controle	5,48 ^a	n.d. ¹	1,71 ^c
Vácuo	4,39 ^b	n.d. ¹	1,87 ^b
AM 70 % CO ₂	4,48 ^b	48,83 ^a	1,98 ^a
AM 100 % CO ₂	3,62 ^b	36,78 ^b	1,71 ^c
valor P	0,025	0,0425	<0,0001
Tempo (dias)			
0	n.d. ¹	9,3	n.d. ¹
3	n.d. ¹	47,56 ^a	n.d. ¹
7	4,75 ^A	42,95 ^a	n.d. ¹
10	n.d. ¹	51,88 ^a	n.d. ¹
14	3,16 ^B	38,90 ^a	1,81 ^b
17	n.d. ¹	25,68 ^a	n.d. ¹
21	4,85 ^A	50,20 ^a	1,87 ^a
valor P	<0,0001	0,1240	0,1712

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

1. não determinado.

A menor força de cisalhamento empreendida foi para as amostras submetidas sob atmosfera modificada com 100 % de CO₂. De um modo geral, considerando-se que, a carne com a força de cisalhamento acima de 11 kgf é classificada dura, entre 8 e 11 kgf aceitável e abaixo de 8 kgf como macia (CESAR e SOUSA, 2007; MONTE et al., 2012), é possível classificar todas as carnes oriundas dos diferentes processos como macias, pois demonstraram maciez abaixo de 8 kgf.

O tempo de maturação influenciou positivamente o IFM (Tabela 3.5), para as amostras acondicionadas sob AM, houve um aumento deste índice conforme esperado após o início do *rigor mortis*.

O IFM não variou em função do tempo ($p>0,05$), no entanto apresentou diferença entre as atmosferas aplicadas ($p<0,05$), sendo 48,83 para AM 70 % CO₂ e 36,78 quando submetida a AM 100 % CO₂.

A CRA está diretamente ligada a maciez da carne, e está relacionada a sensação de suculência no momento da mastigação. Os resultados de FC e IFM crescentes e os baixos valores obtidos neste estudo para CRA. Segundo Monte et al. (2012) afirma que quanto menor CRA, menor será a maciez.

As amostras acondicionadas sob AM 70 % CO₂ apresentaram FC (4,48 kgf/cm²) maior que o tratamento AM 100 % CO₂ (3,62 kgf/cm²), no entanto apresentaram IFM de 48,83 e 36,78%, respectivamente. A maior fragmentação miofibrilar indica aumento da maciez do produto, isto, porque, a fragmentação das miofibrilas identifica a integridade da fibra muscular, estando essa fragmentação ligada diretamente aos valores de perda de peso, massa específica, maciez e força de cisalhamento.

O comprimento de sarcômero diferiu ($p<0,05$) em função do tratamento e do tempo de maturação, considerando-se 14 e 21 dias de armazenamento. Nas amostras do grupo controle e embaladas em AM 100 % de CO₂ o tamanho de sarcômero foi de 1,71 μm , enquanto que nas amostras sob vácuo foi de 1,87 μm e 1,98 quando embaladas sob AM 70 % de CO₂. Com o aumento do tempo de maturação, as amostras sob AM 100 % CO₂ apresentaram maior sarcômeros aos 21 dias, enquanto que nos tratamentos sob vácuo e AM 70 % de CO₂ houve uma redução. Embora seja estudado a muitos anos, não há muitos dados sobre tamanho de sarcômero direcionados ao estudo da maciez de ovinos.

Avaliando-se a textura das amostras com base no CS, todas as amostras podem ser consideradas moderadamente macias (1,7 a 2,0 μm).

Para avaliação da maciez de carnes, é possível o uso de análise instrumental (Warner-Bratzler Shear Force), análise sensorial (Análise Descritiva Quantitativa) e o comprimento do sarcômero (CS) como parâmetros complementares. Ishiara et al. (2013) estudando a maciez em carne de sol ovina, consideraram a análise CS a mais eficaz.

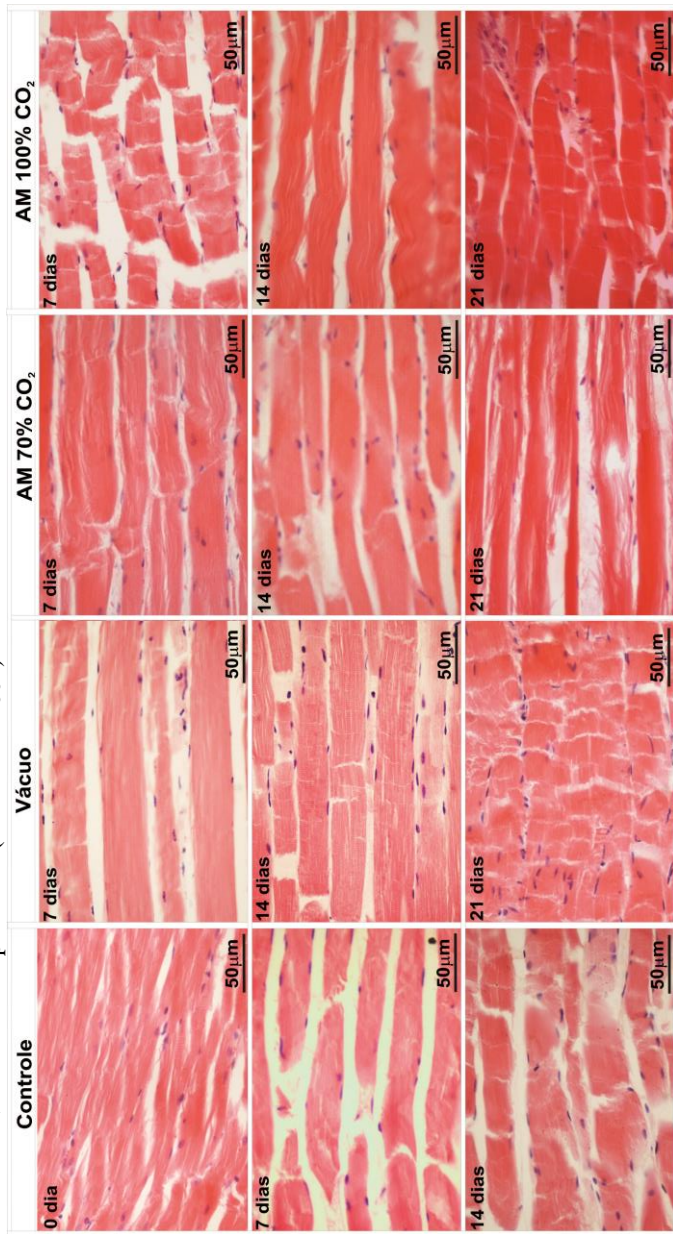
3.3.4.1. Avaliação histológica da estrutura e ultraestrutura muscular da carne ovina maturada

A estrutura das fibras miofibrilares das amostras é visível nas micrografias de cortes paralelos à fibra do tecido muscular, obtidas por microscopia de luz. Os espaçamentos entre as fibras são indicativos da degradação do tecido conjuntivo que une as miofibrilas.

Percebe-se que o tempo de armazenamento foi determinante para a manutenção da integridade das amostras analisadas (Figura 3.7). À medida que aumentou o tempo de maturação, aumentou a fragmentação das fibras cárneas. As amostras com menor tempo de vida, grupo controle, de fato apresentaram maior degradação aos 7 dias e aos 14 dias, quando comparada aos demais tratamentos.

Embora o tecido cárneo aparente maior integridade microscópica aos 21 dias, a amostra envasada e maturada sob vácuo, apresentou elevada carga microbiana (Figura 3.4) e sendo observada limosidade, o que limitou sua vida útil. A carne acondicionada sob atmosfera modificada apresenta fibras mais espaçadas em todos os tempos, quando comparados ao grupo controle e vácuo. Fato que pode ser decorrente da aplicação da mistura gasosa. Percebe-se maior integridade na estrutura miofibrilar do tecido estudado sob AM, resultando na manutenção da estrutura muscular.

Figura 3.7. Micrografías de muestras de filés ovinos madurados, submetidas a diferentes tipos de acondicionamiento, obtidas através de microscopia de luz (aumento de 400x)



A realização de medidas histológicas da distância entre as fibras e espessura das fibras realizadas nas micrografias das amostras maturadas por até 21 dias, possibilitou analisar o efeito do tratamento e do tempo de maturação na estrutura da carne (Tabela 3.6). A maior distância entre as fibras ocorreu no grupo controle ($p < 0,05$), enquanto que não houve diferença desta medida nas amostras acondicionadas sob vácuo e atmosfera modificada ($p > 0,05$).

Observa-se influência do tempo de maturação na espessura das fibras, que aumentou quando comparadas ao tempo zero. Este fato está relacionado à fragmentação das miofibrilas durante o período de maturação. O aumento da espessura das fibras é resultante da degradação do tecido conjuntivo que une as miofibrilas, resultando na expansão do tecido muscular, de acordo com o disposto nas micrografias (Figura 3.7).

Tabela 3.6. Distância entre fibras cárneas e espessura da fibra de carne ovina acondicionada em diferentes sistemas e maturada por até 21 dias.

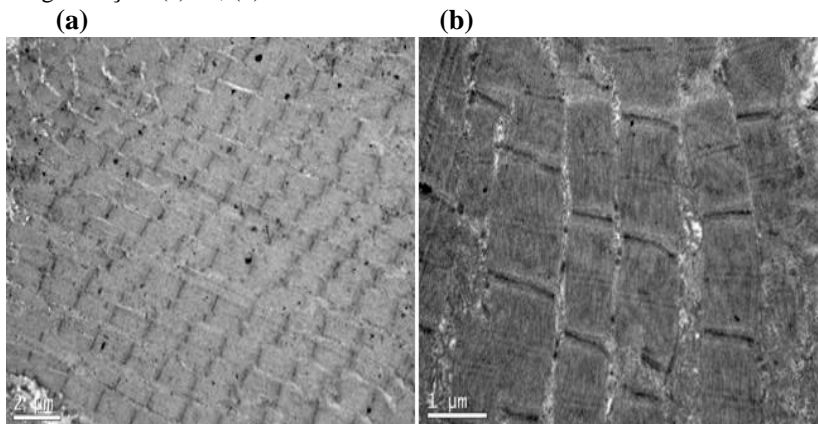
Tratamentos	DF (μm) (n=480)	EF (μm) (n=480)
Controle	11,03 ^a	27,37 ^c
Vácuo	6,37 ^b	39,20 ^a
AM 70% CO ₂	6,74 ^b	37,80 ^a
AM 100% CO ₂	6,50 ^b	30,20 ^b
valor P	<0,0001	<0,0001
Tempo*		
0	9,25 ^A	18,74 ^C
7	9,62 ^B	35,57 ^{AB}
14	6,94 ^B	32,95 ^B
21	5,47 ^C	37,08 ^A
valor P	<0,0001	<0,0001

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

Nas eletromicrografias mostradas nas Figuras 3.8, 3.9 e 3.10 pode-se visualizar as miofibrilas no sentido longitudinal, e identificar todas as estruturas que formam as fibras musculares (linha Z, bandas A e I) o que permitiu realizar a análise dos sarcômeros (a unidade estrutural entre os discos-Z). As imagens mostram a degradação que ocorreu em função do período de maturação, conseqüente quebra das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas.

A Figura 3.8 mostra o controle da carne ovina (tempo zero) que foi fixada após o abate, antes do início do acondicionamento e maturação. Percebe-se a integridade do tecido muscular da amostra, havendo poucas falhas, em decorrência da técnica de fixação.

Figura 3.8. Eletromiografias de amostras de filé ovino fresco, tempo zero. Magnificação: (a) 8k, (b) 40k.



Na Figura 3.9, é possível comparar o efeito da maturação das amostras embaladas sob vácuo, em AM 70 % CO₂ e em AM 100 % CO₂ com o grupo controle após 14 dias. Percebe-se a evolução do processo de maturação do tecido, a partir da quebra das miofibrilas e com destaque para a decomposição do tecido conjuntivo, que promove o aparecimento de espaços entre as fibras. O tratamento controle apresentou maior degradação quando comparado aos demais, além do que, já encontrava-se com odor elevado e limosidade. Fato esperado, considerando que a vida útil desse tratamento atingiu os 7 dias, a fixação foi realizada com vistas a obter um parâmetro de preservação da integridade tecidual.

Após 21 dias de maturação (Figura 3.10) as amostras apresentam-se com mais espaços em sua ultra estrutura. As bandas A e I e linha Z apresentam-se de forma descontínua, o que indica aumento da degradação e justifica o aumento da maciez, verificada pela FC e IFM. As amostras acondicionadas sob AM 100 % CO₂, apresentaram maior integridade do tecido muscular em comparação aos demais tratamentos. O que está em concordância com a contagem de micro-organismos

psicrófilos superior a 10^6 nas amostras envasadas sob AM 70 % CO_2 (7,1 Log UFC/g) e em Vácuo (7,2 Log UFC/g) aos 21 dias. É perceptível a eficiência na aplicação do dióxido de carbono sob atmosfera modificada na preservação do tecido cárneo ovino e manutenção das características físicas e químicas e melhoria dos atributos sensoriais desejados pelos consumidores, a exemplo do aumento da maciez das carnes.

Figura 3.9. Eletromicrografias de amostras de filés ovinos maturados aos 14 dias. Magnificação: 8k

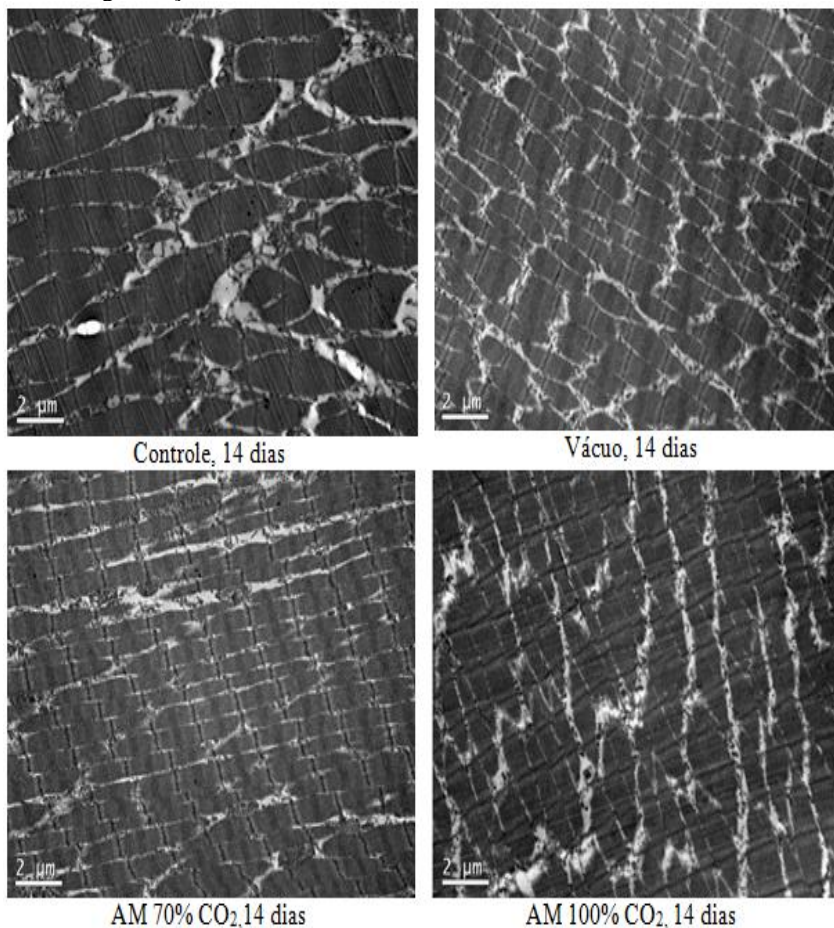
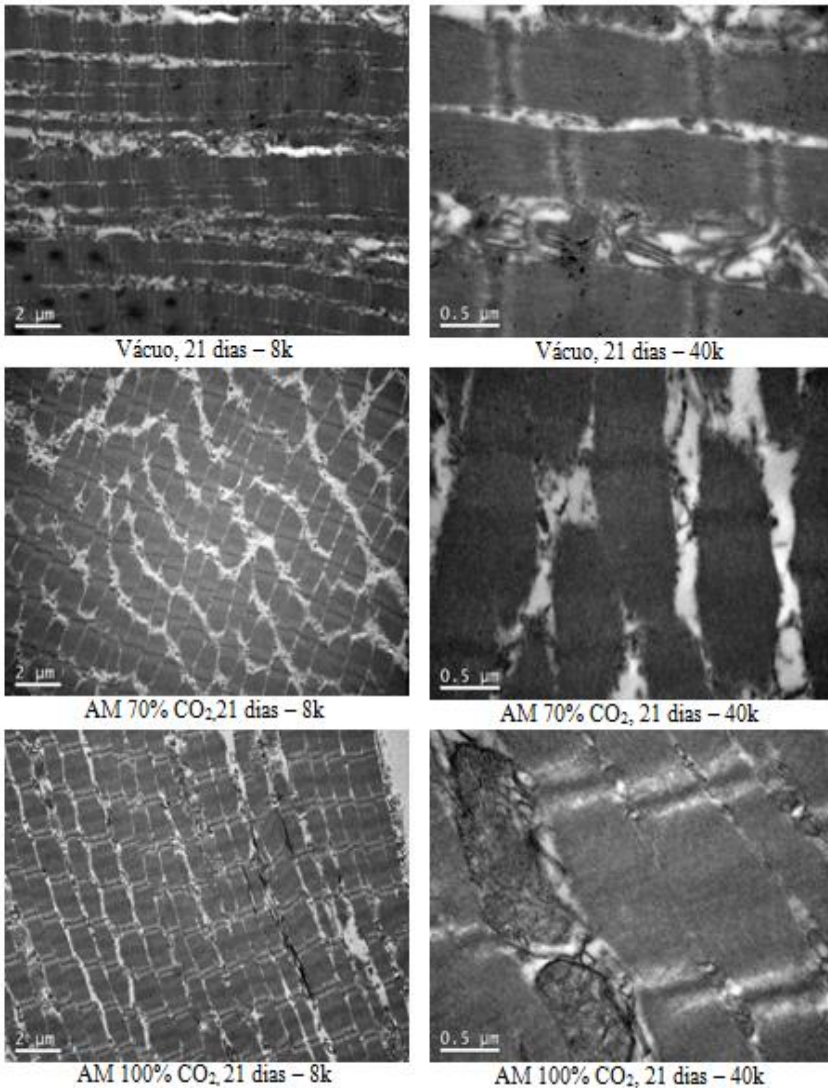


Figura 3.10. Eletromicrografias de amostras de filés ovinos maturados aos 21 dias. Magnificação: 8k e 40k, respectivamente



Ao comparar as figuras das amostras sob vácuo e AM 100% CO₂ aos 21 dias de armazenamento (Figura 10), observa-se nitidamente a integridade estrutural de uma organela (mitocôndria) na

eletromicrografia deste último tratamento, enquanto que no tratamento sob vácuo, as organelas já estão deformadas, o que reforça a eficiência da atmosfera modificada na preservação do tecido cárneo. O uso de técnicas histológicas pode ser uma ferramenta importante para compreender o efeito de processos de conservação e no estudo da vida útil de alimentos, com destaque para a observação das mitocôndrias, que são indicadoras da eficácia do processo de conservação do tecido animal.

3.4. CONCLUSÕES

A utilização de dióxido de carbono em atmosfera modificada associada a baixas temperaturas manteve as características físicas e químicas de carnes de pernil ovino por até 21 dias de armazenamento.

A aplicação de atmosfera modificada com níveis de CO₂ foi mais eficiente na manutenção das características físicas e químicas da carne de cordeiro em relação ao tratamento controle e sob vácuo.

As contagens microbiológicas para as amostras sob atmosfera modificada foram controladas durante o armazenamento, sendo possível aumentar a vida útil da carne de cordeiro, confirmando a eficiência bacteriostática do CO₂ quando utilizado em atmosfera modificada em produtos cárneos.

A maturação influenciou positivamente na maciez das carnes de cordeiro., sendo indicado 21 dias de processo para torná-las macias.

O uso de 100 % de CO₂ é a atmosfera mais indicada na conservação de carne ovina, pois promove 21 dias de vida útil ao produto, com menor contagem microbiana, maior maciez e não afeta os parâmetros físicos e químicos.

CAPÍTULO 4. INFLUÊNCIA DA PRÉ-SOLUBILIZAÇÃO DE CO₂ E ATMOSFERA MODIFICADA NA VIDA ÚTIL DA CARNE DE CORDEIRO

4.1. INTRODUÇÃO

O uso da atmosfera modificada é uma técnica bastante utilizada para estender a vida útil e manter a qualidade de alimentos perecíveis (ESMER et al., 2011). Essa técnica, em conjunto com a refrigeração, vem sendo aplicada com maior intensidade nos últimos dez anos como um método de conservação de alimentos a fim de assegurar a manutenção da qualidade com um mínimo de perdas (ASHIE et al., 1996). LÓPEZ-VÁSQUEZ e VANACLOCHA (2004) ressaltam que este método de conservação seja efetivo, é necessário que o produto cárneo tenha uma qualidade bacteriológica adequada e controle rigoroso de temperatura, além da utilização de embalagens de baixa permeabilidade aos gases.

O uso de atmosfera modificada requer grandes volumes das embalagens devido a ocupação do gás no *headspace*, segundo Lima et al., 2015, para a efetiva solubilização de CO₂ no alimento é necessária a interação de determinada quantidade de gás com o meio. Fator que favorece a ocorrência de prejuízos ao produto e/ou embalagem devido a possíveis perfurações na embalagem e dificuldade quanto a distribuição logística, tanto no armazenamento quanto no transporte.

No acondicionamento de um produto sob atmosfera ativa considera a relação entre o volume do produto em função do volume da embalagem, segundo conceito de grau de enchimento, que deve ser observado juntamente com outra relação importante que consiste na relação entre o volume do gás e o volume do produto (g/p). Em geral a relação g/p é alta (proporção de 2:1 ou 3:1) tendo em vista minimizar ou prevenir o colapso da embalagem devido a solubilização do gás no produto (SIVERTSVIK et al., 2004).

A pré-solubilização do CO₂ no produto antes do seu acondicionamento, denominado SGS (Soluble Gas Stabilization) (JAKOBSEN e BERTELSEN, 2004; SIVERTSVIK et al., 2004a), é uma alternativa ao acondicionamento sob atmosfera modificada. O objetivo deste processo é reduzir o tamanho de embalagens usadas para acondicionar produtos em atmosfera modificada pela dissolução do CO₂ no produto antes de embalar (SIVERTSVIK e BIKERLAND, 2006). De acordo com Al-Nehlawia et al. (2013), o sistema SGS tem potencial

para prevenir o colapso na embalagem, sem comprometer a qualidade do alimento, melhorando a eficiência da atmosfera modificada.

Dentre os gases frequentemente utilizados em atmosfera modificada, tem-se o oxigênio (O_2), o dióxido de carbono (CO_2), o nitrogênio (N_2). A presença de O_2 em pequenas proporções favorece o crescimento de bactérias aeróbias e inibe o desenvolvimento de bactérias anaeróbias restritas (SHIRMER e LANGSRUD, 2010) e preserva a cor vermelho brilhante em produtos cárneos. O N_2 é um gás inerte e insípido, que apresenta baixa solubilidade em água e lipídios, o que o torna um gás de preenchimento, evitando o colapso das embalagens pela absorção de CO_2 , e através do deslocamento do oxigênio da embalagem, inibindo crescimento microbiano e o ranço oxidativo em produtos cárneos. O dióxido de carbono tem sido utilizado por seu efeito bacteriostático e não tóxico, suas concentrações podem interferir no pH do produto, alterando a respiração microbiana, devido a dissolução no produto.

O CO_2 quando utilizado a baixas temperaturas, tem seu efeito bacteriostático acentuado devido ao aumento de sua solubilidade no alimento. (SIVERTSVIK et al., 2002; SIMPSON, ACEVEDO e ALMONACID, 2009; SOARES, 2013; LIMA, 2014), e age inibindo o crescimento microbiano e promovendo conseqüentemente a elevação da vida útil do produto final. O dióxido de carbono é altamente solúvel em água e óleos (Gill, 1988), portanto, quando o CO_2 é aplicado à carne em embalagens alta barreira, o gás é ser absorvido pelos tecidos do músculo e gordura até que o equilíbrio seja alcançado.

A solubilidade do CO_2 aumenta proporcionalmente a redução da temperatura, e conseqüentemente aumenta o potencial de inibição bacteriostática (OGRYDZIAK e BROW, 1982).

Segundo Sivertsvik et al., (2002), o aumento da vida útil vai depender do produto cárneo utilizado, varia segundo a espécie e de fatores, como o conteúdo de gordura, a população microbiana inicial, a mistura de gás, a relação gás/volume do produto e da temperatura de armazenamento.

É possível aumentar a eficiência da embalagem sob atmosfera modificada em produtos que não respiram, como produtos cárneos, utilizando-se uma relação gás/produto (g/p) adequada em uma proporção que garanta a disponibilidade do CO_2 como bacteriostático e para evitar o colapso da embalagem. Condições que envolvam menores relações g/p também são de grande interesse para o processo (SOARES,

2013), pois o volume ocupado pelas embalagens é um fator importante para sua comercialização e armazenamento.

A solubilidade refere-se a quantidade que uma substancia pode difundir-se em um líquido (Brown, 2005). A solubilidade do CO₂ em produtos que não respiram varia em função de diversos fatores, dentre os quais Jakobsem e Bertelsen listaram os de maior importância, que são: fatores intrínsecos ao produto, como pH, percentual de lipídios e umidade, concentração de sal etc, e fatores extrínsecos, como: temperatura, razão gás/produto e concentração do CO₂ inicial na fase gasosa.

Diversos estudos têm sido realizados com objetivo de determinar a solubilidade do CO₂ em produtos cárneos e seus derivados (carne suína, bovina e ovina, peixe, frango, ostras, mexilhões, gordura animal e produtos cárneos), nos quais foi investigada a vida útil dos produtos, em função do efeito da fase gordurosa do alimento e o processamento térmico aplicado aos produtos na solubilidade do dióxido de carbono (GILL (1988); DEVLIEGHERE (1998); SIVERTSVIK e JENSEN (2005); ROTABAKK (2010); SOARES et al (2014); LIMA (2014))

A quantidade de gás dissolvida no produto sofre influencia significativa da temperatura. A solubilidade de gases em líquidos sob baixas concentrações é explicada pela Lei de Henry, considerando que a solubilidade do CO₂ aumenta a baixas temperaturas e com aumento das pressões total e parcial do gás, realizando uma dissolução prévia do CO₂ puro no alimento em uma quantidade suficiente, durante o período de 1-2 h (SIVERTSVIK et al., 2004).

A dissolução do CO₂ é o fenômeno dominante que ocorre no interior do sistema, negligenciando alterações na pressão parcial de N₂ e O₂ (60 e 30 vezes menos solúvel que o CO₂, respectivamente), e de qualquer consumo de gás ou de produção, devido às reações microbianas ou bioquímicas. Segundo Sivertsvik (2004), isto ocorre, por que o sistema segue a lei dos gases ideais e a pressão de vapor de água é suficientemente baixa a temperaturas refrigeradas para não influenciar no resultado final.

Esse método de pré-solubilização do CO₂ é conhecido como SGS (*Soluble Gas Stabilization*), mesmo com baixas relações g/p em relação ao envase sob atmosfera modificada tradicional reduz a possibilidade de colapso das embalagens (SIVERTSVIK et al., 2004; SIVERTSVIK e BIKERLAND, 2006; ROTABAKK et al., 2008a, 2008b). Diversas pesquisas com uso do SGS têm mostrado resultados

promissores, quanto à redução do colapso nas embalagens e possibilidade de aumentar o valor agregado a produtos cárneos e ou derivados de origem animal, dentre os quais mexilhão, peito de frango, camarão, queijo, bacalhau, entre outros (SIVERTSVIK et al 2004; SIVERTSVIK e BIRKELAND, 2006; SIVERTSVIK, 2007; ROTABAKK et al., 2010; LIMA, 2014)

O uso do processo SGS em carne de cordeiro antes da aplicação de atmosfera modificada não é relatado pela literatura. Na combinação entre o SGS e o processo AM a solubilização do CO₂ na carne à pressão atmosférica, e durante a aplicação de AM, o CO₂ solubilizado deverá ter sua ação intensificada pela influência da composição gasosa adotada. A combinação do SGS como um pré-tratamento pode contribuir para manutenção da qualidade da carne ovina fresca, e aumentar sua vida útil devido ao efeito bacteriostático do CO₂.

Mediante o exposto, o objetivo deste trabalho foi pré-solubilizar filés de carne de cordeiro e acondicionar sob ar atmosférico e atmosfera de 100 % de CO₂ e avaliar sua vida útil de acordo com as características físico químicas e microbiológicas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

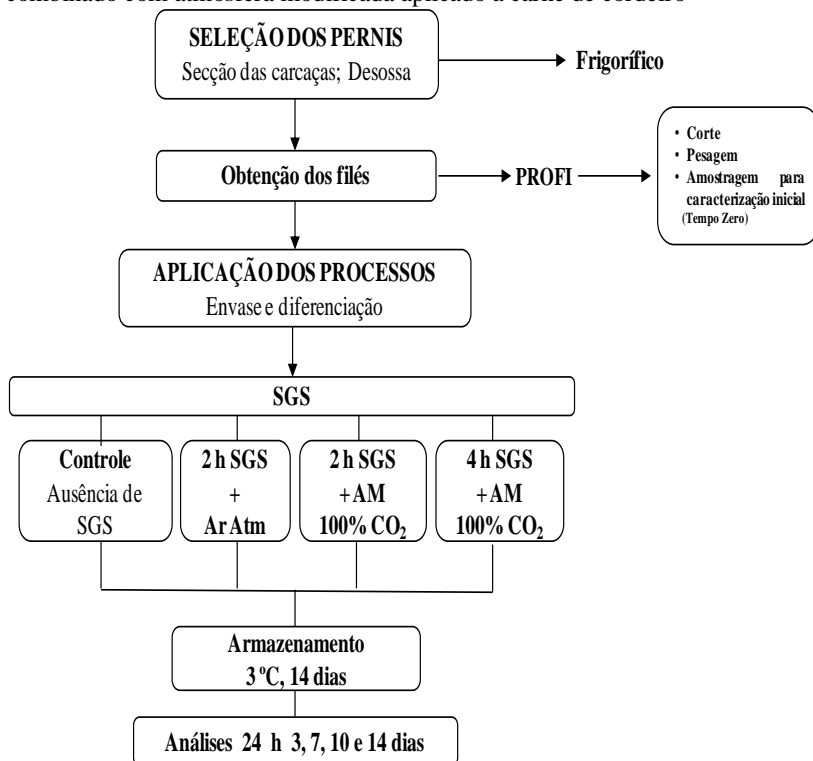
4.2.1. Processo de pré-solubilização do CO₂ (SGS) combinado com atmosfera modificada

4.2.2. Matéria prima e processamento

Foram utilizados pernis de cordeiro da raça Ile de France, obtidos no FRICAN – Frigorífico Cantuária, localizado em São João do Itaperiú/SC. 100 gramas de filés ovinos foram descongelados por 24 horas a 3°C, e submetidos ao processo de pré-solubilização do CO₂ (SGS), conforme descrito a seguir (Figura 4.1):

Para a pré-solubilização do CO₂ 5 amostras de filés, 100 ± 5 g foram colocados em uma embalagem rígida vazada (Polietileno de baixa densidade) e disposta em sacos, (multicamada, coextrusado de alta barreira) de nylon, EVOH e polietileno, de dimensão 40x30cm, fornecidas pela empresa Maquiplast. Na parte externa de cada embalagem foi fixada uma válvula (Figura 4.2-A) através da qual foi injetado o gás (CO₂) com auxílio de uma conexão ligada diretamente ao cilindro de dióxido de carbono puro.

Figura 4.1. Fluxograma do Processo de pré- solubilização do CO₂ (SGS) combinado com atmosfera modificada aplicado a carne de cordeiro



Após acondicionar as amostras, as embalagens foram seladas, removendo o ar, aplicando 5 segundos de vácuo, seguido da selagem. Em seguida a válvula foi conectada ao cilindro de dióxido de carbono para injeção do gás no interior das embalagens por 15 minutos e foi acondicionada a 3 °C em câmara fria por 2 ou 4 horas, conforme o tratamento utilizado (Figura 4.2 - B).

Após o término do processo SGS, as amostras foram removidas da embalagem e imediatamente envasadas sob atmosfera normal (ar atmosférico) ou sob atmosfera modificada (100 % de CO₂), conforme o tratamento proposto.

Os sacos utilizados no processo SGS foram dimensionados para garantir o excesso de CO₂ no seu *headspace*.

Figura 4.2. Imagens do processo SGS no momento da injeção do gás (A), durante o período de absorção do gás no produto (B), acondicionamento individual do produto (C)



Os tratamentos foram distribuídos em grupo controle (ausência de SGS), SGS por 2h e envase sob atmosfera normal, SGS por 2 horas seguido de envase com atmosfera modificada e SGS por 4 horas seguido de envase com atmosfera modificada. Todas as amostras foram analisadas quanto aos aspectos físico-químicos e microbiológicos durante os dias 0, 3, 7, 10 e 14 do armazenamento.

4.2.3. Análises físico químicas e microbiológicas

As análises físico-químicas e microbiológicas realizadas são listadas a seguir:

- Físicas e químicas: pH, cor, aw, perda de peso por exsudação, capacidade de retenção de água e determinação da maciez, através do índice de fragmentação miofibrilar;

- Microbiológicas: contagem de bactérias psicrófilas a 7°C e bactérias ácido lácticas. As amostras foram analisadas em duplicatas para cada embalagem analisada (2 para cada ponto experimental) e os resultados médios estão apresentados como o logaritmo das unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de carne e usado para análise descritiva dos dados.

Os métodos estão descritos no Capítulo 2.

4.2.4. Determinação do grau de enchimento e composição gasosa no interior da embalagem

A composição gasosa e a variação de volume do gás das embalagens foram monitoradas imediatamente após o envase e durante o tempo de estocagem visando acompanhar o comportamento do gás no produto e no *headspace* das embalagens. Foi determinada também a quantidade de gás dissolvido no produto, conforme descrito por Lima et al (2014) e Soares et al (2015).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Caracterização físico química das amostras

A exceção do parâmetro L^* (luminosidade) e ΔE (mudança global) para avaliação das carnes submetidas à pré-solubilização do CO_2 , os demais parâmetros (a^* , b^* e C^*) foram influenciados pelo tratamento aplicado e pelo tempo de armazenamento ($p < 0,05$), sem apresentarem interação ($p > 0,05$) entre si, conforme Tabela 4.1. Com relação a variação global da cor quando comparado ao controle, esta foi mais intensa no tratamento de 2hSGS associado ao ar atmosférico (13,26), enquanto que os demais tratamentos com SGS e AM (2hSGS + AM100 % CO_2 e 2hSGS + AM100 % CO_2) não diferiram do tratamento controle ($p > 0,05$).

O pH da carne no tempo zero, antes da aplicação dos processos foi de 6,03 e o conteúdo de água de 75,00 %. O pH e conteúdo de água são determinantes na qualidade das carnes e também é influenciados pela manipulação do produto dentre outros fatores. Durante o armazenamento, não houve efeito do tratamento ($P = 0,1422$) (Tabela 4.2.), havendo efeito do tempo ($P < 0,0001$). As amostras submetidas a 2hSGS+AR obtiveram pH 5,70, os submetidos a 2hSGS+AM foi 5,74 e 5,77 nas amostras submetidas a 4hSGSAM, enquanto que na amostra

controle o pH foi de 5,87. No entanto, apenas a carne sob SGS associado a AR diferiu (0,05), quando observadas as médias.

Tabela 4.1. Parâmetros de cor em carne ovina submetidos ao processo SGS em diferentes tempos por até 14 dias.

	a*	b*	L*	ΔE	C*
Tratamentos	(n=114)	(n=114)	(n=114)	(n=126)	(n=114)
SGS 2h + AR	13,28 ^{ab}	10,31 ^b	35,96 ^a	13,26 ^a	18,77 ^a
SGS 2h + AM 100 % CO ₂	14,15 ^a	12,28 ^a	37,81 ^a	7,38 ^b	16,64 ^b
SGS 4h + AM 100 % CO ₂	11,99 ^c	9,21 ^c	38,05 ^a	7,41 ^b	15,14 ^b
Ausência de SGS (grupo controle)	12,93 ^{bc}	10,42 ^b	37,59 ^a	5,06 ^b	16,83 ^{ab}
Efeito do tratamento (valor P)	0,0021	<0,0001	0,3179	0,1443	<0,0001
Tempo (dias)					
0	10,76 ^C	8,78 ^C	39,19 ^A	-	13,89 ^C
3	15,53 ^A	12,87 ^A	33,53 ^B	10,10 ^A	20,18 ^A
7	12,66 ^B	10,39 ^B	39,38 ^A	10,15 ^A	16,44 ^B
10	12,92 ^B	10,01 ^B	37,94 ^A	6,10 ^B	16,36 ^B
14	13,79 ^B	10,84 ^B	36,43 ^{AB}	6,54 ^B	17,57 ^B
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001	<0,0001	0,0002	0,2989	<0,0001

Análise feita 45min após a abertura do produto; a* cromaticidade verde (-)/vermelho (+), b* (azul(-)/amarelo(+), L* (luminosidade), ΔE (variação global da cor) e C* (croma).

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes (p<0,05) pelo teste Tukey.

Segundo Soares et al. (2015), o pH pode indicar acidificação no produto, podendo modificar seu sabor, sendo necessário testes de aceitação sensorial em produtos submetidos a este processo. A redução no pH é explicada pela presença de CO₂ na embalagem o qual solubiliza na água do alimento onde uma pequena parte reage e se transforma em ácido carbônico, o restante fica solubilizado na forma de gás.

Verificou-se que não houve influencia do tratamento nos parâmetros pH, aw, CRA e PPE. Houve um decréscimo de 0,37 unidades de pH em função do tempo, após o 14º dia de armazenamento. Houve variação significativa do pH nos primeiros dias de

armazenamento após a aplicação do processo (0 a 3 dias), não diferindo no período restante ($p>0,05$), conseqüente da solubilização do gás. As amostras submetidas à SGS+AM apresentaram maior aw que as amostras do grupo controle e envasadas sob ar atmosférico após o SGS. As variações observadas não foram significativas ($p>0,05$) ao longo do tempo.

Tabela 4.2. Valores médios de pH, atividade água (aw), capacidade de retenção de água (CRA) e perdas de peso por exsudação (PPE) em carne ovina submetidos ao processo SGS armazenados a 3°C

	pH	aw	CRA	PPE	IFM
Tratamentos	(n= 114)	(n= 114)	(n= 114)	(n=28)	(n=68)
SGS 2h + AR	5,70 ^b	0,990 ^{ab}	1,51 ^b	11,34 ^a	48,70 ^a
SGS 2h + AM 100 % CO ₂	5,74 ^{ab}	0,991 ^a	1,62 ^a	7,02 ^b	57,50 ^a
SGS 4h + AM 100 % CO ₂	5,77 ^{ab}	0,992 ^a	1,63 ^a	10,76 ^a	48,10 ^a
Ausência de SGS – grupo controle	5,87 ^a	0,989 ^b	1,61 ^a	11,39 ^a	55,25 ^a
Efeito do tratamento (valor P)	0,1422	0,0018	0,0030	0,020	0,3969
Tempo (dias)					
0	6,03 ^A	0,992 ^A	1,37 ^B	n.d. ¹	32,42 ^B
3	5,71 ^B	0,988 ^B	1,67 ^A	9,51A ^B	63,03 ^A
7	5,74 ^B	0,991 ^A	1,61 ^A	8,07 ^B	55,83 ^A
10	5,68 ^B	0,991 ^A	1,62 ^A	9,53A ^B	58,50 ^A
14	5,66 ^B	0,991 ^A	1,71 ^A	12,46 ^A	48,40 ^{AB}
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,045	0,0010

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p<0,05$) pelo teste Tukey.

1. não determinado.

O tratamento e o tempo de armazenamento influenciaram a CRA. Para as amostras acondicionadas em 100 % de CO₂ apresentou um aumento médio de 0,11 a 0,12 pontos percentuais em relação às amostras submetidas ao SGS e acondicionadas em ar atmosférico. O tipo de tratamento e o tempo de armazenamento exerceram influencia sobre a perda de peso por exsudação ($p<0,05$). As amostras pré-solubilizadas em CO₂ e envasado sob ar atmosférico apresentaram menor perda de exsudado que as demais amostras, mostrando o fator positivo do tratamento na conservação do valor nutricional do produto, considerando-se que a menor capacidade de retenção de água da carne

implica perdas do valor nutritivo pelo exsudado liberado, resultando em carne mais seca e com menor maciez. Observou-se que houve um aumento da CRA a partir do 3° dia de armazenamento em todos os tratamentos.

As perdas por exsudação nas amostras submetidas ao processo SGS não diferiram quando comparadas ao grupo controle, exceto para as carnes submetidas ao processo por apenas 2 horas e envasado sob AM com 100 % CO₂. Sivertsvik et al. (2002) afirmam que a solubilização do CO₂ afeta a CRA do alimento, provocando maior liberação de exsudados. De modo geral, os resultados para exsudação obtidos neste estudo, foram superiores as perdas obtidas em produtos que não respiram submetidos ao processo SGS em temperaturas variando de 2 a 6 °C, tais como camarão (2 % - Sivertsvik et al., 2006), bacalhau (6 a 7 % - Sivertsvik et al., 2007), ostras (2,08 a 6,43 % - Soares et al, 2015), frango (1% - Al-Nehlawi et al (2013) e mexilhão (6,4 % - Lima et al, 2014).

A fragmentação miofibrilar (IFM) foi semelhante para todos os tratamentos aplicados na carne de cordeiro ($p > 0,05$). No entanto, observa-se que o IFM foi influenciado em função do tempo de armazenamento, houve um pequeno aumento deste índice quando comparada a carne no tempo zero em relação aos demais dias do armazenamento. Há uma tendência deste índice aumentar após o *rigor mortis* e durante o período de maturação natural em carnes, devido a ação das enzimas endógenas da carne, sendo desejável valores acima de 60, pois indicam carnes mais macias (Culler et al., 1978); Zapatta et al., 2004). De acordo com a classificação de Culler et al. (1978), que avalia a maciez de produtos cárneos em função do IFM, as carnes podem ser ditas como macias aos 3 dias de armazenamento (63,03), embora quando observados os tratamentos, todas são classificadas como pouco macias ou duras, pois o índice está abaixo de 60.

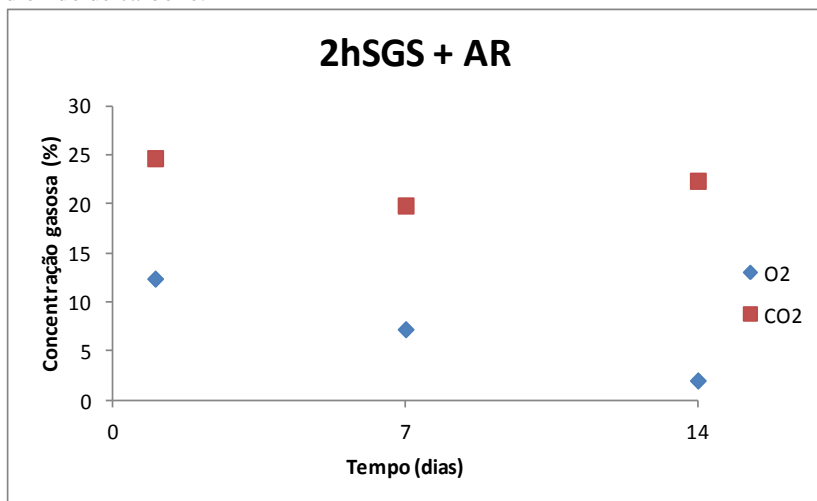
4.3.2. Avaliação da composição gasosa no *headspace* das embalagens contendo filés ovinos durante o armazenamento sob AM com pré-tratamento SGS

Verificou-se alteração na concentração de CO₂ durante o armazenamento e diferença entre os tratamentos (Figura 4.3 e 4.4.). Para o tratamento SGS + AM, foi observado decréscimo no CO₂ (de 27,00 % para 20,00 %), seguindo constante durante o período restante de

armazenamento. Percebe-se então a efetiva solubilização do gás na fibra cárnica até atingir o equilíbrio no interior da embalagem.

Para as amostras submetidas ao pré-tratamento com 2h de SGS e acondicionadas sob ar atmosférico (Figura 4.3), houve redução gradativa na concentração do O_2 durante o armazenamento, devido ao consumo pelos microorganismos. Após 24 h de envase, a concentração era de 13,0 % a de 7,23 % aos 7 dias e de 2,04 % de O_2 aos 14 dias. Em relação a concentração de CO_2 para esse mesmo tratamento após o período de absorção (primeiras horas/3 primeiros dias do processo), houve redução de 26,2% para 19,5% após 24 hs de envase e esse decréscimo ocorreu até o 7º dia de armazenamento. Aos 14 dias de armazenamento houve um aumento na concentração deste gás para 23,03% devido provavelmente a presença de micro-organismos deteriorantes. Outros estudos mostram o aumento na concentração de CO_2 em produtos que não respiram, como mexilhões envasados sob AM associado a SGS (LIMA, 2014) e salmonete listrado envasados sob AM (BONO e BADALUCCO, 2012). Ambos os autores relatam que após certo período de armazenamento, a concentração do CO_2 , que inicialmente tende a diminuir, aumenta devido à atividade microbiana do produto no interior da embalagem.

Figura 4.3. Composição gasosa no *headspace* das embalagens das amostras acondicionadas em ar atmosférico após pré-solubilização (SGS) de 2h SGS com dióxido de carbono.



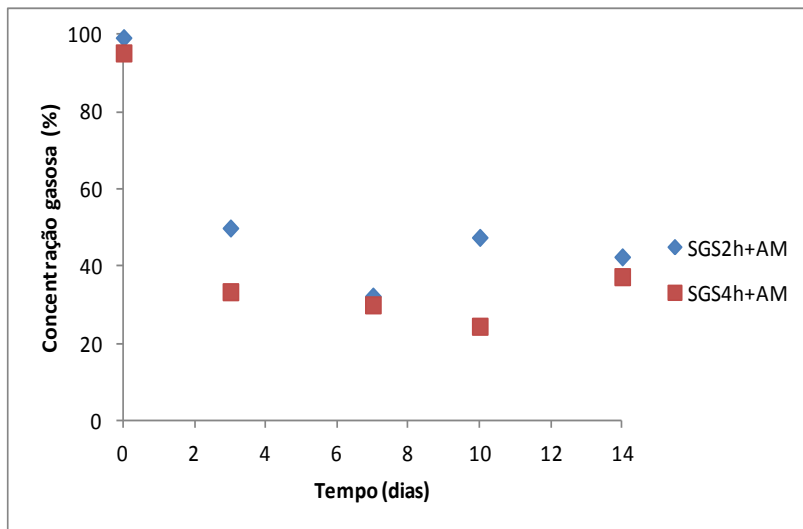
Verificou-se imediatamente após a injeção do gás (SGS) no sistema a concentração registrada foi de $(89,98 \pm 2,14)$ % CO_2 e após o tempo de pré-solubilização, dessorção do gás no produto, a concentração deste gás foi de $(90,12 \pm 2,36)$ % no volume livre da embalagem.

Durante a aplicação do processo SGS, foi possível observar que as embalagens (sacões utilizados para formar o sistema), sofrem deformações, com aparente redução em seu volume inicial, devido à absorção do gás no produto, conforme observado na Figura 4.4, onde há uma redução na concentração do gás nos dois primeiros dias, seguindo-se manutenção do gás durante o armazenamento. Este fato sugere a solubilização do gás no produto que deseja-se alcançar na aplicação do processo SGS. Fernandes et al (2014), obtiveram um aumento da vida útil utilizando o CO_2 em AM em músculo *longissimus dorsi* ovino, de até 28 dias, Gill estudando a solubilidade do CO_2 , também em carne ovina, verificou a possibilidade da inativação microbiana devido a ação deste gás, que pode resultar na elevação da vida útil deste produto na forma refrigerada, entretanto, não há estudos prévios que descrevam a aplicação do tratamento SGS em carne ovina.

O tempo de armazenamento influenciou a composição gasosa nas embalagens sob AM após o tratamento SGS, com 2 e 4 horas, nos tempos 0, 3, 7 e 14 dias de armazenamento (Figura 4.4). Em ambos os tratamentos, a presença do O_2 ocorreu em baixas concentrações, perceptível pela concentração do CO_2 . Embora haja um tempo decorrido entre a retirada das amostras do sistema SGS e o envase sob AM, a concentração de O_2 inicial nas amostras foi praticamente zero. Houve redução gradativa na concentração do CO_2 no *headspace* das embalagens durante o armazenamento até o sétimo dia, e pequena elevação na concentração posteriormente. Embora o CO_2 tenha sido pré-solubilizado no produto por 2 ou 4 h, observa-se que a solubilização do gás continuou por cerca de 7 dias, após o envase (até o equilíbrio). Visualmente, as embalagens imediatamente após o ensave estavam infladas, mas tenderam a colapsar durante o armazenamento, apresentando baixa concentração de gás após 7 dias, certamente em decorrência a solubilização deste no produto.

Observa-se incremento na concentração do gás nas amostras pré-solubilizadas por 2 h e 4 h (após 7 e 10 dias, respectivamente).

Figura 4.4. Composição gasosa do dióxido de carbono em embalagens sob processo SGS associado ao uso de atmosfera modificada por até 14 dias de armazenamento



Em decorrência do colapso das embalagens, não foi possível monitorar o volume das mesmas, e conseqüentemente, não foi possível determinar a relação gás/produto (g/p). De modo que, devido a ausência de porção gasosa no *headspace* das embalagens, estas submergiram antes que se pudesse realizar o teste de grau de enchimento.

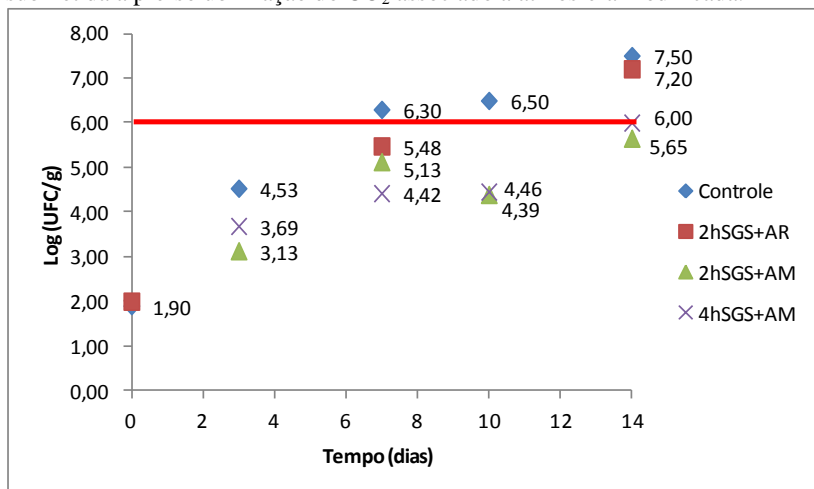
O resultado obtido neste estudo para a absorção do CO₂ pela carne, condiz com resultados obtidos por Sivertsvik (2004). O autor afirma que, em sistema de embalagens flexíveis, ao utilizar apenas o CO₂, a embalagem pode colapsar em torno da carne, o gás é absorvido, e a pressão parcial de CO₂ no interior da embalagem será inferior à atmosférica a menos que o CO₂ tenha sido adicionado em quantidade suficiente para saturar a carne em pressão atmosférica. Considera-se então a capacidade de absorção de CO₂ pela carne. Embora as solubilidades de CO₂ no tecido do músculo pode ser estimada a partir de dados sobre solubilidade de CO₂ em água, estudos paralelos a este estão sendo realizados em laboratório para verificar a solubilidade de CO₂ na carne de cordeiro, considerando o tecido muscular, constituído em grande parte por água, e a porção lipídica do alimento em condições diversas de refrigeração (2 a 6°C).

4.3.3. Avaliação microbiológica das amostras submetidas ao SGS associado a AM

A carne utilizada no estudo de pré-solubilização foi proveniente de um mesmo lote, portanto, submetidas às mesmas condições desde o frigorífico até o momento de aplicação dos processos.

A contagem microbiana antes do processamento foi similar entre as amostras. Os bifes de carne ovina *in natura* apresentaram contagem total de micro-organismos psicrófilos menor que 2 log UFC/g da amostra (Figura 4.5), enquanto para as bactérias ácido lácticas os valores foram próximos a 2,11 log UFC/g da amostra e 1 log UFC/g de amostra para contagem de coliformes totais, dentro da margem de segurança para o consumo alimentar.

Figura 4.5. Contagem de micro-organismos psicrófilos em carne ovina submetida a pré-solubilização do CO₂ associado a atmosfera modificada.



A vida útil das carnes foi baseada na contagem de psicrófilos, de modo que as amostras do grupo controle tiveram vida útil em torno de 7 dias (6 Log UFC/g de amostra), as amostras submetidas a 2h SGS+AM e a 4h SGS+AM alcançaram vida útil de 14 dias (5,6 e 6,0 Log UFC/g, respectivamente).

Com relação a contagem de BAL do grupo controle chegou a 4,1 Log (UFC/g de amostra) aos 14 dias quando submetido a pré-solubilização de CO₂ por 4 horas associado a AM com 100 % de CO₂. A

deterioração de produtos cárneos pela ação de bactérias ácido lácticas ocorre em níveis bastante elevados, cerca de 7 a 9 log (UFC/g) e resulta na produção de limosidade, sabores e odores desagradáveis, descoloração, produção de gás e diminuição do pH (BORCH et al., 1996). Mediante a contagem de BAL obtida nas amostras sob pré-solubilizadas e AM com 100 % de CO₂ e as características físico-químicas, como pH e cor, e contagem de psicrófilos, é possível afirmar que as amostras estavam em condições adequadas ao consumo.

O uso de SGS com 2 e 4 h, associado ao envase com 100% de CO₂ em atmosfera modificada promove a preservação das características físico químicas e microbiológicas com vida útil de 14 dias, mostrando-se uma estratégia viável para acondicionamento de cortes cárneos em pequenas porções sob refrigeração.

4.4. CONCLUSÕES

A aplicação do processo SGS promove a manutenção das características físico-químicas do produto por um período de até 14 dias, com o tempo de 2 horas como o mais adequado para a manutenção das características da carne.

CONCLUSÕES FINAIS

Mediante aplicação dos processos de congelamento e refrigeração com aplicação de atmosfera ativa, a carne ovina apresentou-se estável com relação a maioria dos índices físicos e químicos avaliados e dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira durante todo o período de estocagem

O pernil ovino apresenta excelente valor nutricional, e após aplicação dos processos, ao término dos períodos de estocagem as amostras não apresentaram oxidação e continuavam com aspectos aceitáveis sensorialmente, no que diz respeito a cor, textura e aparência geral. Sugere-se estudos que visem a aceitação em relação ao sabor, aroma e maciez.

As temperaturas de congelamento aplicadas nas carnes de cordeiro não alteram suas características físico-químicas e microbiológicas. O congelamento ultrarápido preserva a integridade do tecido muscular, o que sugere a possibilidade de maior tempo de estocagem.

Das técnicas de acondicionamento sob refrigeração para prolongamento da vida útil da carne de cordeiro avaliadas, o uso de 100 % de CO₂, é a atmosfera mais indicada, por não apresentar mudanças significativas quantos aos parâmetros de cor, pH, aw e CRA, além de promover a menor contagem microbiana das carnes.

A maior concentração de dióxido de carbono associado à baixa temperatura retarda o desenvolvimento dos micro-organismos alvo durante a maturação com atmosfera modificada. A pré-solubilização do dióxido de carbono associada a atmosfera modificada com 100 % deste gás, promove a estabilidade das características físico-químicas do produto por um período maior que a carne ovina sem tratamento, durante o período de maturação utilizado (aproximadamente 14 dias). A maturação inibiu o crescimento de micro-organismos, aumentando a vida útil do produto em até 14 dias em relação ao grupo controle. A vida útil da carne de ovinos é de até 21 dias.

A utilização de dióxido de carbono se mostra como alternativa viável para obtenção de um produto cárneo maturado, pois mantém as características físico-químicas e microbiológicas adequadas ao consumo.

O uso de atmosfera modificada com uso do dióxido de carbono se mostra mais eficiente na conservação de carnes refrigeradas, considerando que no processo SGS a vida útil é de até 14 dias, e o uso

de 100% de dióxido de carbono em atmosfera modificada atinge 21 dias de vida útil.

Sugere-se a realização de estudos quanto à viabilidade econômica do processo de pré-solubilização, tendo em vista que pode ser uma alternativa aos processos utilizados pela indústria na conservação de alimentos que não respiram. Faz-se necessário verificar a eficácia em outros cortes cárneos, inclusive preservando a integridade das peças (cobertura de gordura) utilizadas comercialmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABULARACH, M. L. S.; ROCHA, C. E.; FELÍCIO, P. E. Características de Qualidade do Contrafilé (m. *L. dorsi*) de Touros Jovens da Raça Nelore. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n.2, p.205-210, 1998.

AL-NEHLAWIA, A.; SALDOB, J.; VEGAA, L.F.; GURIA, S. Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks. **Meat Science**. v.94. p. 1–8, 2013.

ALVES, D.D., TONISSI,R.H., GOES, B., MANCIO, A.B. **Ciência Animal Brasileira** v. 6, n. 3, p. 135-149, jul./set. 2005.

ALVES, F.J.X., SILVA, T.J.P., FRANCO, R.M. Efeito da radiação gama sobre a contaminação da carne resfriada de cordeiro Santa Inês. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012; 71(3):588-92

AMSA (1995). Research guideliner for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of fresh meat. **National Live-stock and Meat Bard**, Chicago. Il.

ANVISA. **Rotulagem nutricional obrigatória: manual de orientação aos consumidores Alimentos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Universidade de Brasília – Brasília : Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Universidade de Brasília, 2001.

ANUALPEC 2006. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria

ASHIE, I.N.A., SMITH, J.P. e SIMPSON, B.K. Spoilage and self-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**, 36, 87–121, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. Washington, 2000.

BISCONTINI, T. M. B.; SHIMOKOMAKI, M.; OLIVEIRA, S. F.; ZORN, T. M. T. An ultrastructural observation of charquis, salted and intermediate moisture meat products. **Meat Science**, Champaign, v. 43, n.3, p. 351–358, 1996.

BORGES, A.S., ZAPATA, J.F.F, GARRUTI, D.S., RODRIGUES, M.C.P., FREITAS, E.R., PEREIRA, A.L.F. Medições Instrumentais e Sensoriais de Dureza e Suculência na Carne Caprina. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(4): 891-896, out.-dez. 2006.

BÓRNEZ, R.; LINARES, M. B., e VERGARA, H. (2010). Effect of different gas stunning methods on Manchega suckling lamb meat packed under different modified atmospheres. *Meat Science*, 84(4), 727–734.

BOUTON, P.E.; HARRIS, P.V.; SHOR-TOSE, W.R. Effect of ultimate pH upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. **Journal of Food Science**, v.36, n.3, p.435-439, 1971.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Total lipid, cholesterol, and fatty acids of farmed freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and wild marine shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schmitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 4, p. 359-369, 2001

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Resolução – RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões Microbiológicos em Alimentos**. Disponível em: < <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/yAF>> Acesso em: 16 de julho de 2014.

BRISKEY, E.J ; KAUFFMAM, R.G. Quality characteristics of muscle as food. In: Prince, J.F; Schweigert, B.S **The science of meat and meat products**. 2ed. San Francisco: Freeman, 1971.p367-401.

CABRAL, G. J. **Determinação experimental da solubilidade e do coeficiente de difusão efetivo do CO₂ em queijo tipo Minas Frescal e**

simulação de embalagem sob atmosfera modificada. 90 p. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

CALVETE R. e VILLWOCK L.H. 2007. Perfil da ovinocultura de lã e carne do Rio Grande do Sul e seus desafios para o futuro. **Anais.** 45º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Londrina, PR.

CARVALHO, R. B. **Potencialidades dos Mercados Para os Produtos Derivados de Ovinos e Caprinos.** 2004. Fortaleza, [s.d]. Disponível em <http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdf/bol_53.pdf >

CASTRO, A.M.G. **Análise da Competitividade de Cadeias Produtivas.** Workshop cadeias produtivas e expansão rural na Amazônia, Manaus: Embrapa, 2000. 1-18.

CESAR, M.F.; SOUSA, W.H. Carcaças ovinas e caprinas: Obtenção - Avaliação - Classificação. 1.ed. Uberaba: Agropecuária Tropical, 2007. 147p.

CHAIB, M.A. **Métodos de avaliação de textura da carne.** 1973. 97 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 1973.

CHURCH, N. Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. **Trends in Food Science e Technology**, v. 5, p. 345-352, 1994.

CODEX ALIMENTARIUS. Code of practice for fish and fishery products. World health organization food and agriculture organization of the united nations, Roma, 2009. Codex Alimentarius.

COIMBRA FILHO, Adayr. **Ovinocultura: desafio e oportunidades para 2005.** Porto Alegre, 2005. Disponível em <<http://paginarural.com.br/artigos> > Acesso em 16 jul 2014.

CONCEIÇÃO, M. P. J. **Avaliação de sistemas de embalagem e condições de comercialização de carne bovina moída em atmosfera modificada.** 2002. Tese de doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 134p.

CORNFORTH, D. P.; PEARSON, A. M.; MERKEL, R. A. (1980). Relationship of mitochondria and sarcoplasmic reticulum to cold shortening. **Meat Science**, 4(2): 103-121.

CORTE, O.O.; FELÍCIO, P;E.; CIA, G. **Sistematização da avaliação final de bovinos e bubalinos.** III Qualidade da carne. Boletim técnico do CTC, Campinas, n3, p. 66-76, 1979.

COSTA, R.G.; CARTAXO, F.Q.; SANTOS, N.M. et al. Carne caprina e ovina: composição lipídica e características sensoriais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.497-506, 2008.

CULLER, R.D., PARRISH JUNIOR, J.D., DIKEMAN, M.E. (1978). Relationship of miofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus dorsi muscle. **Journal of Food Science**, Chicago, 43(4): 1177-1180.

DABÉS, A. C. (2001). Propriedades da carne fresca. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, 25(288): 32-40.

DESMOND, E.M., KENNY, T.A., WARD, P, SUN, D-W. Effect of rapid and conventional cooling methods on the quality of cooked ham joints. **Meat Science**, v. 56, p. 271 – 277, 2000.

DEVLIEGHERE, F., DEBEVERE, J. AND VAN IMPE, J. 1998. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. **International Journal of Food Microbiology** 43(1-2): 105-113.

DOULGERAKI, A. I.; ERCOLINI, D.; VILLANI, F.; NYCHAS, G.J.E. “Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions” **International Journal of Food Microbiology**, Review. 12p., 2012.

DRANSFIELD, E. Modeling postmortem tenderization. IV - Role of calpain and calpastatin in conditioning. **Meat Science**, v. 34, n. 2, p. 217- 234, 1993.

DRANSFIELD, E.; LOCKYER, D.K. Cold-shortening toughness in excised pork *M. longissimos dorsi*. **Meat Science**, Barking, v.13 p 19-32, 1985.

DRUMMOND, L.; SUN, D.-W. Immersion vacuum cooling of cooked beef – safety and process considerations regarding beef joint size. **Meat Science**, v. 80, p. 738-743, 2008.

ESMER, O. K.; IRKIN, R.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DEGIRMENCIOGLU, A. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. **Meat Science**. V.88. p. 221-226, 2011.

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Importação de Produtos de Origem Animal, 2007. Disponível em <https://www.fao.org.br/>. Acesso em 16 jul 2014.

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

FERNANDES, J. R. A maturação da carne bovina. In: Seminário e Workshop - **Preservação e Acondicionamento de Carne Bovina In Natura**, 1997, Campinas. Campinas: ITAL, 1997. p. 47-55.

FERNANDES, R. P. P.; FREIRE, M, T, A; PAULA, E. S. M.; CARRER, C.C., TRINDADE, M. A. Evaluation of Physicochemical, Microbiological and Sensory Stability of Frozen Stored Vacuum-Packed Lamb Meat. **Journal of Integrative Agriculture**. 2013, 12 (11): 1946-1952

FERNANDES, R. P. P.; FREIRE, M, T, A; PAULA, E. S. M.; KANASHIRO, A. L. S.; CATUNDA, F. A. P; ROSA, A.F; BALIEIRO, J. C. C; TRINDADE, M. A. Stability of lamb loin stored under

refrigeration and packed in different modified atmosphere packaging systems. **Meat Science**. 96 (2014) 554–561.

FERNANDES, R. P. P; FREIRE, GUERRA, C.C; CARRER, C.C; BALIEIRO, J. C. C; TRINDADE, M. A. Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina embalada a vácuo estocada sob refrigeração. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.4, p.724-729, abr,2012.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, v.226, n.1, p.497-509, 1957.

FONTES, T.C ; LOPES, M.N F. **Congelamento de alimentos: Técnicas e normas**, Viçosa –MG. 194. 68p. 1994.

FOX, J. B. (1966). **The Chemistry of Meat Pigments**. 14(3), 207-310.

GARCIA, I. F. F.; PEREZ, J. R. O.; BONAGURIO, S.; et al. Estudo dos cortes da carcaça de cordeiros Santa Inês puros e cruza Santa Inês com Texel, Ile de France e Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.2, p. 453-462, 2004.

GAYA, L. G.; FERRAZ, J. B. S. Aspectos genético-quantitativos da qualidade da carne em frangos. **Ciência Rural**. v.36, n. 1, p. 349-356, Santa Maria, 2006.

GODRIM, J. S., FARIA, D. S., BARROS, L. H. A., MORAIS, J. C. F., FRANCISCO, W. C., CARDOSO, T. A. B., BRIDI, A. M., FAGAN, E. Inovações Tecnológicas e Mercado Consumidor, XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, **Anais...** Maceió, 23 a 27 de maio de 2011.

GOLL, D. E. et al. Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, Paris, france, v.74, n.3, p. 225-237, 1992.

GRUJIĆ, R.; PETROVIC, L.; PIKULA, B.; AMIDŽIĆ, L. Definição da taxa-1 congelamento ideal. Investigaçao da estrutura e ultra-estrutura de

carne *M.Longissimus dorsi* congelado em diferentes taxas de congelamento. **Meat Science**, 1993.

HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v.22, p.475-476, 1973.

HOTCHKISS, J. H.; WERNER B. G.; LEE E. Y. C. Addition of carbon dioxide to dairy products to improve quality: A comprehensive review. **Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 158-168, 2006

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S.M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, Barking, Inglaterra, v.71, n.1, p.194-204, 2005.

HUNT, M. C. **Meat Color measurements**. 33° Meat Conference of the American Meat Science Association, Manhattan, 1980. Meat quality measurement systems. Kansas State University: American Meat Science association, 1980. P. 1-21.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 22 abril de 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores, Produção Pecuária. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 22 abril de 2014.

ICTA, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. Publicaciones. **La estructura da fibra muscular**. 2002. Acesso em 16 jul 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo, 2009.

ISHIHARA, Y.M. **Estudo da maciez em carne-de-sol**. Tese de doutorado. João Pessoa, 2012. 90f. Programa de Pós-Graduação em

Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba.

ISHIHARA, Y.M. MADRUGA, M.S. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3721-3738, 2013.

ISHIHARA, Y.M.; MOREIRA, R.; Souza, G.; Salviano, A.; Madruga, M.S. Study of the Warner-Bratzler Shear Force, Sensory Analysis and Sarcomere Length as Indicators of the Tenderness of Sun-Dried Beef. *Molecules* 2013, 18, 9432-9440; doi:10.3390/molecules18089432

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Predicting the amount of carbon dioxide absorbed in meat. **Meat Science**. V. 68, p. 603-610. 2004.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. The use of CO₂ in packaging of fresh red meats and its effect on chemical quality changes in the meat: A review. **Journal of Muscle Foods**, v.13, p. 143-168, 2002.

JAKOBSEN, M.; JESPERSEN, L.; JUNCHER, D.; BECKER, E. M.; RISBO, J. Oxygen- and light-barrier properties of thermoformed packaging materials used for modified atmosphere packaging. Evaluation of performance under realistic storage conditions. **Packaging Technology and Science**. John Wiley eSons Ltd, 2005, 18:265-272.

JAMES, G. (1993). **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 454p.

JARDIM, R. D; OSÓRIO, J. C. S; OSÓRIO, M. T. M; MENDONÇA, G; DEL PINO, F. A. B; OLIVEIRA, M; PREDIÉE, G.. Composição Tecidual e Química da Paleta e da Perna em Ovinos da Raça Corriedale. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 231-236 , abr-jun, 2007.

JOSE, C. G., PETHICK, D. W., JACOB, R. H., GARDNER, G. E. (2009). CT scanning carcasses has no detrimental effect on the colour stability of *M. longissimus dorsi* from beef and sheep. **Meat Science**, 81(1),183–187.

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

KANNAN, G.; KOUAKOU, B.; GELAYE, S. Color changes reflecting myoglobin and lipid oxidation in chevon cuts during refrigerated display. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 67-75, 2001. 2001

KEMP, J.D.; ELY, D.G.; FOX, J.D.; MOODY, W.G. Carcass and meat characteristics of crossbred lambs with and without finnish landrace breeding. **Journal Animal. Science**, v. 52, n. 5, p. 1026-1033, 1981.

KLONT, R.E., BROCKS, L, EIKELENBOOM, G. (1998). Muscle fibre type and meat quality. **Meat Science**, 49(1): 219-229.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n. 3, p. 93-104, 1994.

KOOHMARAIE, M.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L. et al. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): Characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3596-3607, 1995.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.

LANGE, J.; WYSER, Y. Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging - a review. **Packaging Technology and Science**. John Wiley eSons Ltd, 2003, 16:149-158.

LAWRIE, R. A e LEDWARD, D. A. **Lawrie's Meat Science** (7th ed.) Cambridge: CRC Press LLC, 2006

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: Artmed. 2005.

LEÃO, A.G.; SOBRINHO, A.G.S.; MORENO, A.M.B.; SOUZA, H.B.A; GIAMPIETRO,A.; ROSSI, R.C; PEREZ, H.L. Características

físico-químicas e sensoriais da carne de cordeiros terminados com dietas contendo cana-de-açúcar ou silagem de milho e dois níveis de concentrado. **R. Bras. Zootec.** vol.41 n.5 Viçosa, May2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982012000500024> **On-line version** ISSN 1806-9290

LEE J H, KANNAN G, EEGA K R, KOUAKOU B, GETZ W R. Nutritional and quality characteristics of meat from goats and lambs finished under identical dietary regime. **Small Ruminant Research**, 74, 255-259.1976.

LEITÃO, M.F.F. Aspectos microbiológicos das carnes. In: CONTRERAS, C.J. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2003. Cap.1, p.1-5.

LEYGONIE C, BRITZ T J, HOFFMAN L C. 2012. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. **Meat Science**, 91, 93-98.

LIMA, M. C. O. **Estabilidade da carne caprina armazenada sob congelamento**. Itapetinga-BA: UESB, 2011. 66p. Dissertação - Mestrado em Engenharia de Alimentos – Ciência dos Alimentos.

LIMA, M. **Aplicação do CO₂ para aumento da vida útil de mexilhão perna perna e *Mytillus edulis*: processo de pré-solubilização e acondicionamento sob atmosfera modificada ativa**. Florianópolis, 2014. 277 pág. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia Química e Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

LINARES, M. B; BÓRNEZ, R. e VERGARA, H. (2008). Effect of stunning systems on meat quality of Manchego suckling lamb packed under modified atmospheres. **Meat Science**, 78(3), 279–287.

LÓPEZ-VÁSQUEZ e VANACLOCHA, 2004. **Tecnologia de Mataderos**. Mundi-Prensa, 430 p.

LUCHIARI FILHO, A., MOURA, A. C. Situação atual e tendências da pecuária de corte no Brasil relacionados à qualidade da carne. In: **I**

Simpósio Internacional sobre Produção Intensiva de Gado de Corte. São Paulo, p. 42-44, 1997.

MADRUGA, M. S. Qualidade da carne de caprinos e ovinos nativos do Nordeste do Brasil. In: In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2005, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2005. 1 CD-ROM.

MADRUGA, M. S., SOUSA, W. H., MENDES, E. M. S., BRITO, E. A. Carnes Caprina e Ovina, Processamento e Fabricação de Produtos Derivados. **Tecnol. e Ciên. Agropec.**, João Pessoa, v.1., n.2, p.61-67, dez. 2007

MADRUGA, M. S.*et al.* Castration and slaughter age effects on panel assessment and aroma compounds of the "mestiço" goat meat. **Meat Science**, Barking, v. 56, n. 2, p. 117-125, 2000.

MADRUGA, M. S; GALVÃO, M. S; COSTA, R. G, et al. Perfil aromático e qualidade química da carne de caprinos Saanen alimentados com diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v.37, n.5, p.936-943, 2008.

MANO, S. B; PEREDA, J. A.O; FERNANDO, G. D. G. Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, 22(1): 1-10, jan.-abr. 2002.

MARTÍNEZ-CEREZO, S., SAÑUDO, C., PANEA, B., OLLETA, J.L. (2005). Breed, slaughter weight and ageing time effects on consumer appraisal of three muscles of lamb. **Meat Science**, 69(4): 795-805.

MCDONALD, K.; SUN, D-W.; KENNY, T. Comparison of the quality of cooked beef products cooled by vacuum and by conventional cooling. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 33, p. 21-29, 2000.

MENDES, R.; SILVA, H.A.; ANACLETO, P.; CARDOSO C. Effect of CO₂ dissolution on the shelf life of ready-to-eat *Octopus vulgaris*. **Innovative Food Science e Emerging Technologies**. v. 12. p. 551-561. 2011.

MINOLTA, C.O., **Precise Color Communication** – color control from perception to instrumentation. Osaka: Minolta Co., Ltd., 1998. 59p.

MITTMANN, E. **Technical and Marketing Document of Presentation**. Multivac Sepp Haggenmüller GmbH e Co. KG. Germany, 2005.

MONTE, A. L. S.; GONÇALVES, H. R. O.; VILLARROEL, A. B. S.; DAMACENO, M. N.; CAVALCANTE, A. B. D. Qualidade da carne de caprinos e ovinos: uma revisão. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.8, n.3, p11-17, 2012

MONTEIRO FILHO, A.F., BRAGA, M.E.D., MATA, M.E.R.M.C. Congelamento de carne suína a temperaturas criogênicas: alterações de algumas características físico-químicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n1, p51 -62, 2002.

MORENO, SILVA SOBRINHO e LEÃO. 2007. **Principais cortes comerciais da carcaça ovina**. Disponível em <http://www.farmpoint.com.br/radares-técnicos>, acesso em 02/05/2014.

MORGADO, E. S., SOBRINHO, A. G. S., ZEOLA, N. M. B. L., SILVA, W. L., TAMELE, O., SOUZA, H. B. A. Influência do tipo de embalagem e tempo de armazenamento sobre os parâmetros qualitativos da carne ovina. **Scientia Plena**, v. 7, n. 10. 2011.

MUELA, E.; SAÑUDO, C.; CAMPO, M. M.; MEDEL, I.; BELTRÁN, J. A. Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display. **Meat Science**, Barking, v. 84, n. 4, p. 662-669, 2010.

NGAPO, T.M.; BABARE, I.H.; REYNOLDS, J.; MAWSON, R.F. Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork. **Meat Science**, 53 (1999). 159-168.

OLIVEIRA, M. V. M.; PÉREZ. J. R. O.; ALVES. E. L. Avaliação da composição de cortes comerciais, componentes corporais e órgãos internos confinados e alimentados com dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1459-1469, 2002. (Supl.).

OLIVO, R. et al. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 25, n. 289, p. 44-49, 2001.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. Vol 2: Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre: Artamed, 2005, 280 p.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; SAÑUDO, C. Características sensoriais da carne ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, p. 292-300, 2009.

OTREMBA, M. M. et al. Interrelationships among evaluations of beef longissimus and semitendinosus muscle tenderness by Warner-Bratzler shear force, a descriptive texture profile sensory panel, and a descriptive attribute sensory panel. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 4, p. 865-873, 1999.

OUALI, A., TALMANT, A. (1990). Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. **Meat Science**, 28(4): 331-348.

OURIQUE, J.M.R.; NICOLAIEWSKY, S. Características físico-químicas e organolépticas e suas relações na avaliação da qualidade da carne suína. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.19, n.2, p.118-125, 1990.

PAINE F A, PAINE H Y. 1992. Frozen foods. **A Handbook of Food Packaging**. Blackie Academic e Professional, Glasgow, UK. p. 497.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: Editora UFG, 2006, v.2.

PATSIAS, A. et al. Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. **Food Microbiology**, v. 23, p. 423-429, 2006.

PEARSON, A.M. (1994). **La función muscular y los cambios postmortem**. 2ª ed. Zaragoza: Acribia, 273p.

PEARSON, A.M., YOUNG, R.B. (1989). Skeletal muscle fiber types. In: **Muscle and meat biochemistry**. San Diego: Academic Press Inc., cap. 9, p. 235-265.

PENNACCHIA, C., ERCOLINI, D., VILLANI, F. Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. **Food Microbiol** 28: 84–93. 2011.

PEREIRA, A.S.C. Efeito do congelamento e da maturação na qualidade da carne bovina. FZEA – USP, Pirassununga, SP. Disponível em (www.beefpoint.com.br), acesso em 10 março 2014.

PEREIRA, L. A. **Estudo comparativo de técnicas de determinação da força de cisalhamento de carnes**. Dissertação de mestrado. Pirassununga, 2012. 69f. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

PETRIS, S.; LAURIENZO, P.; MALINCONICO, M.; PRACELLA, M.; ZENDRON, M. Study of blends of nylon 6 with EVOH and carboxyl-modified EVOH and a preliminary approach to films for packaging applications. **Journal of Polymer Science**. Wiley e Sons, Inc. Vol. 68, 637-648 (1998).

PHILIPS, C. A. Modified Atmosphere Packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. Review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 31, n. 6, p. 463-479, 1996

PILAR, Rui de Castro et al. Considerações Sobre Produção de Cordeiros. Minas Gerais, dez 2002. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdf/bol_53.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2014.

PINHEIRO, R. S. B; JORGE, A. M; MOURÃO, R. C; POLIZEL NETO, A; ANDRADE, E. N; GOMES, H. F. B. Qualidade da carne de cordeiros confinados recebendo diferentes relações de

volumoso:concentrado na dieta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.29, n.2, p.407-411, 2009.

PINTO, M.F.; POSANO, E. H. G.; ALMEIDA, A. P. S. Espessura da lâmina de cisalhamento na avaliação instrumental da textura da carne. **Ciência Rural**. Santa Maria, RS. V.40, n.6, p. 1405-1410, 2010.

PORTER, M.E. **Vantagem Competitiva**: criando e sustentando um desempenho superior. 13.ed. Rio de Janeiro: Campus, 1990.

PORZIO, M.A.; PEARSON, A.M. Improved resolution of myofibrillar proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.490, n.1, p.27-34, 1977.

PRATES, J. A. M. (2000). Maturação da carne dos mamíferos: 1. Caracterização geral e modificações físicas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, 95(533): 34-41.

PRATES, J.A.M.; COSTA, F.J.S.G.; RIBEIRO, A.M.R.; CORREIA, A.A.D. Contribution of major structural changes in myofibrils to rabbit meat tenderization during ageing. **Meat Scienc.**, v. 61, n. 1, p. 103-113, 2002.

RASBAND, W. ImageJ: Image processing and analysis in Java (software). Versão 1.42j. Bethesda, Maryland: National Institute of Mental Health. 2009.

RIVISK, E. Propriedades Sensoriais e Preferências. 1994. **Meat Science**, Volume 36, Issues 1-2, Pages 67-77.

ROÇA, R.O.; SERRANO, A.M. Abate de bovinos: alterações microbianas da carcaça. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.9, p.589-596, 1995.

ROCHA, H. C. et al. **Produção de Carne Ovina**. In: CURSO DE PRODUÇÃO DE OVINOS DE CORTE, 2002, Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo / Faculdade de Agronomia e Medicina

Veterinária / Disciplina de Produção de Ovinos de Corte. Apostila. Passo Fundo: [s.ed], 2004.1-11.

ROSEIRO, L. C.; SANTOS, C.; MELO, R. S. Muscle pH₆₀, color (L, a, b) and water holding capacity and influence of post mortem meat temperature. **Meat Science**, Barking, v.38, p.353-359. 1994.

ROTABAKK, B. T.; BIRKELAND, S.; JEKSRUD, W.; SIVERTSVIK, M. Effect of modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization on the shelf life of skinless chicken breast fillets. **Journal of Food Science**, v. 71(2), p. 124-131, 2006.

ROTABAKK, B. T.; BIRKELAND, S.; LEKANG, O. I.; SIVERTSVIK, M. Enhancement of modified atmosphere packaged farmed Atlantic Halibut (*Hippoglossus Hippoglossus*) fillet quality by soluble gas stabilization. **Food Science and Technology International**, v. 14(2), p. 179-186, 2008.

ROTABAKK, B. T.; LEKANG, O. I.; SIVERTSVIK, M. Volumetric method to determine carbon dioxide solubility and absorption rate in foods packaged in flexible or semi rigid package. **Journal of Food Engineering**, v.82, p. 43-50, 2007.

ROTABAKK, B.T.; LEKANG, O. I.; SIVERTSVIK, M. Solubility, absorption and desorption of carbon dioxide in chicken breast fillets. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 442-446, 2010. 124

ROTABAKK, B.T; WYLLER, J.; LEKANG, O.I; SIVERTSVIK, M. A mathematical method for determining equilibrium gas composition in modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization systems for non-respiring foods. **Journal of Food Engineering**, v. 85, p. 479-490, 2008.

SAÑUDO, C., MUELA, E., CAMPO, M. M. 2013. Key factors involved in lamb quality from farm to fork in Europe. **Journal of Integrative Agriculture**, 12, 1919-1930.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L., Embalagem a vácuo e com atmosfera modificada para carnes frescas. In: Embalagens para produtos cárneos – ITAL – Campinas, S.P., 1991.

SCHIMIDT, F.C. **Desenvolvimento de um processo integrado de cozimento e resfriamento a vácuo aplicado a cortes de peito de frango.** Florianópolis, 2010. 177p. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia Química e Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

SEABRA, L. M. A. J., ZAPATA J. F. F., NOGUEIRA C. M., DANTAS M. A., Almeida, R. B. 2002. Cassava starch and oatmeal as fat replacers of lamb burgers. **Food Science and Technology**, 22, 244-246.

SEVERO, A. F. M. **Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite.** 2011. 85p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação Integral em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Repeatability of tenderness measurements in beef round muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2411-2416, 1997.

SHIRMER, B. C.; LANGSRUD, S. A dissolving CO2 *headspace* combined with organic acids prolongs the shelf-life of fresh pork. **Meat Science**, v. 85, p. 280-284, 2010.

SILVA SOBRINHO, A.G. (2005). Produção de carne ovina com qualidade. In: Simpósio de Qualidade da Carne, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 25p.

SILVA SOBRINHO, A.G., SAÑUDO, C., OSÓRIO, J.C.S., ARRIBAS, M.M.C., OSÓRIO, M.T.M. (2008). **Produção de carne ovina.** 1ª ed. Jaboticabal:FUNEP, 228p.

SILVA, N. V.; SILVA, J. H. V.; COELHO, M. S.; OLIVEIRA, E. R. A.; ARAÚJO, J. A.; AMÂNCIO, A. L. L. Características de carcaça e carne ovina: Uma abordagem das variáveis metodológicas e fatores de influencia. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.4, p.103-110, 2008

SILVEIRA, E.T.F., NETO, M.P., VIANA, A.G., COUTINHO, L.L. The effects of blast air cryogenic chilling on hot boned PSE pork cuts. **Meat Science**. V.44, p. 494-495, 1988.

SIMPSON, R.; ACEVEDO, C.; ALMONACID, S. Mass transfer of CO₂ in MAP systems Advances for non-respiring foods. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 233–239, 2009.

SIVERTSVIK, M. The optimized modified atmosphere for packaging of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100 ml oxygen and 37ml/100ml carbon dioxide, **LWT-Food Science and Technology**, 40, 430-438, 2007.

SIVERTSVIK, M.; BIRKELAND, S. Effects of Soluble Gas Stabilisation, Modified Atmosphere, Gas to Product Volume Ratio and Storage on the Microbiological and Sensory Characteristics of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus borealis*). **Food Science and Technology International**, v.12(5), p. 445-454, 2006.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, K.; ROSNES, T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.107-127, 2002.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; VAGANE, A.; ROSNES, J. T. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 1: Development and validation of experimental apparatus using a manometric method. **Journal of Food Engineering**, v. 61(3), p. 449-458, 2004.

SIVERTSVIK, M.; JENSEN, J. S. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 3: Cooked meat products. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 499-505, 2005.

SIVERTSVIK, M.; ROSNES, J. T.; JEKSRUD, W. K. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 2: Raw fish fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 451-458, 2004.

SIVERTSVIK, M.; ROSNES, J. T.; KLEIBERG, G. H. Effect of modified atmosphere packaging and superchilled stored on the microbial and sensory quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 1467-1472, 2003.

SOARES, L.S. **Pré-Solubilização de CO₂ em ostras (*Crassostrea gigas*): avaliação do processo de absorção e desorção do gás no produto**. Florianópolis, SC, 2013. 79 p. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia Química e Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

SOCOL, M.C.H.; OETTERER, M. Use of modified atmosphere in seafood preservation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 46, n.4, p.569-580, 2003.

SOUSA, O. C. R. **Rendimento de carcaça, composição regional e física da paleta e quarto em cordeiros Romney Marsh abatidos aos 90 e 180 dias de idade**. 1993. 102f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas.

SOUTHGATE, D. **Conservación de frutas e horatizas**. 14^a Ed. Zaragoza (España). Editorial ACRIBA S.A., 1992. 216p.

SUBRAMANIAM, P. J. Dairy foods, multi-component products, dried foods and beverages. In: **Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Food**, B. A. Blackistone, ed, p. 158-193, 1998.

SUN, D. W.; WANG, L. Heat Transfer Characteristics of Cooked Meats using Different Cooling Methods. **International Journal of Refrigeration**, v. 23, p. 508-516, 2000.

SUN, D-W.; ZHENG, L. Vacuum cooling technology for the agri-food industry: past, present and future. **Journal of Food Engineering**, v.77, p.203-214, 2006.

SVOBODA, W. K. Estudo da carne suína PSE em relação ao resfriamento e a textura. 1998. Dissertação de Mestrado. Campinas. 133p.

TAYLOR, R.G.; GEESINK, G.H.; THOMPSON, V.F. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 5, p. 1351-1367, 1995.

TERLOUW, C. (2005). Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: Genetic background and prior experience: A brief review of recent findings. **Livestock Production Science**, 94(1/2), 125–135.

VALDES, S. S., VILLARREAL, F. O., QUINTANILLA, M. L., FLORES, I. Y., VALLE, L.F. R. Performance of multilayer films using maleated linear low-density polyethylene blends. **Polymer Engineering and Science**. 1998, v.38, nº1.

VERGARA, H. e GALLEGO, L. (2001). Effects of gas composition in modified atmosphere packaging on the meat quality of Spanish Manchega lamb. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 81(14), 1353–1357.

VERISSIMO, Cecília José. et al. Carne de Cordeiro: uma nova opção à mesa. São Paulo, [s.d]. Disponível em <http://www.iz.sp.gov.br>.

VESTERGAARD, M.K., SEJTSEN, M.K., KLAstrup, S. (1994). Growth, composition and eating of Longissimus from young bulls fed the β -agonist climaterol at consecutiv developmental stages. **Meat Science**, 38(1): 55-66.

VICENTE, A. M.; RUBIO, J. M. G. P.; REGIDOR, F. S.; VICENTE, J. M. M. **Refrigeración, congelacion e envasado de los alimentos**. Madrid, 1994. Igara, S.S. Bardala, Madrid, 1994. 227p.

VIEIRA, T. R. L.; CUNHA, M. G. G; GARRUTI, D. S; et al. Propriedades físicas e sensoriais da carne de cordeiros Santa Inês terminados em dietas com diferentes níveis de caroço de algodão integral (*Gossypium hirsutum*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.30, n.2, p.372-377, 2010.

WITTMANN, W.; ECOLAN, P.; LEVASSEUR, P.; FERNANDEZ, X. Fasting induced glycogen depletion in different fibres types of red and White pig muscle: relationship with ultimate pH. **Journal of the Science of food and Agriculture**, v.66, p.257-266, 1994.

WOLTERS DORF, W.; TROEGER, K. Mejoramiento de la capacidad de la carne PSE de cerdos mediante refrigeración extra rápida. **Fleischwirtschaft**, Español, n. 1, p. 29-37,1990.

YAMAMOTO, S. M., MACEDO, F.A.F., MEXIA, A. A., ZUNDT, M., SAKAGUTI, E. S., ROCHA, G. B. L., REGAÇONI, K. C. T., MACEDO, R.M.G. Rendimentos dos cortes e não-componentes das carcaças de cordeiros terminados com dietas contendo diferentes fontes de óleo vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1909-1913, nov-dez, 2004.

YAMAMOTO, S.M.; SILVA SOBRINHO, A.G.; SOUZA, H.B.A et al. Características sensoriais da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo silagem de resíduo de peixe. Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43., João Pessoa, 2006. **Anais...** João Pessoa, SBZ, 2006.

ZAPATA, J. F. F., GONÇALVES, L. A. G., RODRIGUES, M. C. P, BORGES, A. S. Efeitos do sexo e do tempo de maturação sobre a qualidade da carne ovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(3): 459467, jul.-set. 2004.

ZEOLA, N. M. B. L., SILVA SOBRINHO, A. G., GONZAGA NETO, S., E SILVA, A.M. (2002). Influência de diferentes níveis de concentrado sobre a qualidade da carne de cordeiros Morada Nova. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, 97(544): 175-180.

ZEOLA, N. M. B. L., SILVA SOBRINHO, A. G., SOUZA, H. B. A., LIMA, T. M. A. Qualidade da carne Ovina Submetida ao Processo de Salga. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(3): 369-372, jul.-set. 2004.

ZEOLA, N. M. B. L., SOUZA, P.A.S., SOUZA, H. B. A., SILVA SOBRINHO, A. G.. Parâmetros qualitativos da carne ovina:um enfoque à maturação e marinação. (2007) **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, 102(563-564): 215-224.

ZHENG, L.; SUN, D-W. Vacuum cooling for the food industry: a review of recent research advances. **Trends in Food Science e Technology**, v. 15, p. 555-568, 2004.

APÊNDICE A

Tabela A.1. Força de cisalhamento (FC) da carne ovina submetida a diferentes temperaturas de congelamento inicial e estocada por 90 e 150 dias

	FC (N)
Tratamentos	(n= 36)
Lento	41,18 ^a
Rápido	43,83 ^a
Ultrarápido	40,10 ^a
Efeito do tratamento (valor P)	0,6105
Tempo	
0	49,13 ^A
90	34,22 ^B
150	n.d. ¹
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$)

1. não determinado.

Tabela A.2. Força de cisalhamento (FC) em carne ovina submetida a diferentes sistemas de maturação por até 21 dias.

	FC (N)
Tratamentos (n = 60)	
Controle	53,74 ^a
Vácuo	43,05 ^b
AM 70 % CO ₂	43,93 ^b
AM 100 % CO ₂	35,50 ^b
Efeito do tratamento (valor P)	0,025
Tempo (dias)	
0	n.d. ¹
3	n.d. ¹
7	46,58 ^A
10	n.d. ¹
14	30,98 ^B
17	n.d. ¹
21	47,56 ^A
Efeito do tempo (valor P)	<0,0001

Médias seguidas com a mesma letra, na mesma coluna, minúscula para tratamento e maiúscula para tempo, são semelhantes ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

1. não determinado.