



IPBeja

INSTITUTO POLITÉCNICO
DE BEJA

LIÇÃO

**TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO
EM CARNE, INFLUÊNCIA NA
QUALIDADE DA CARNE**

Silvina Ferro Palma

INSTITUTO POLITÉCNICO DE BEJA

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Beja, 2017

LIÇÃO

TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE, INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DA CARNE

Lição apresentada no âmbito das Provas Públicas de Avaliação de Competência Pedagógica e Técnico-Científica na área disciplinar de Ciência e Tecnologia da Carne, área CNAEF das Indústrias Alimentares, para efeitos de admissão à categoria de Professor Coordenador (Despacho N.º 64/PIPB/2017) do Instituto Politécnico de Beja, para a Escola Superior Agrária, publicado no D.R. 2.ª série n.º111 de 8 de Junho de 2017, Com o Despacho n.º 5147/2017, e de acordo com o estipulado n.º 5 do artigo 8.º-A do Decreto-Lei n.º 207/2009, de 31 de Agosto na redacção dada pela Lei n.º 7/2010, de 13 de Maio, o disposto nos n.os 8 a 11 do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 207/2009, de 31 de Agosto na redacção dada pela Lei n.º 7/2010, de 13 de Maio, o disposto nos artigos 21.º a 24.º-A do Decreto-Lei n.º 207/2009, de 31 de Agosto, que aprovou o Estatuto da Carreira do Pessoal Docente do Ensino Superior Politécnico, o disposto no artigo 2.º do Regulamento das Provas Públicas de Avaliação de Competência Pedagógica e Técnico-Científica, homologado em 19 de Março de 2012 e aprovado na reunião n.º 58 do Plenário do Conselho Técnico Científico do Instituto Politécnico de Beja, em 18 de Janeiro de 2012,

LIÇÃO

TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE, INFLUÊNCIA NA QUALIDADE DA CARNE

JÚRI

Presidente

Professor Doutor João da Silva Boavida Canada,
Professor Coordenador do Instituto Politécnico de Beja

Membros efectivos

Professora Doutora Aida Maria Gonçalves Moreira da Silva,
Professora Coordenadora do Instituto Politécnico de Coimbra

Professor Doutor António José Faria Raimundo,
Professor Coordenador do Instituto Politécnico de Santarém

Professora Doutora Edite Maria Relvas das Neves Teixeira de Lemos,
Professor Coordenador do Instituto Politécnico de Viseu

Professor Doutor Jorge Alberto Guerra Justino,
Professor Coordenador Principal do Instituto Politécnico de Santarém

Professor Doutor Luís Pedro Mota Pinto de Andrade,
Professor Coordenador do Instituto Politécnico de Castelo Branco

Membros suplentes

Professor Doutor Carlos Dias Pereira,
Professor Coordenador do Instituto Politécnico de Coimbra

Professora Doutora Raquel de Pinto Ferreira Guiné,
Professora Coordenadora do Instituto Politécnico de Viseu

INDÍCE

INDÍCE	i
Apresentação	iii
I - 1ª PARTE - Enquadramento	1
1 - Enquadramento pedagógico da Lição.....	1
2 - Recursos e estratégias científico-pedagógicas	3
II - 2ª PARTE - Lição	5
1 - Transformação do músculo em carne.....	5
2 - Alterações da qualidade da carne	18
2.1 - Espécie.....	18
2.2 - Raça.....	18
2.3 - Músculos.....	19
2.4 - Stresse <i>ante-morte</i>	19
2.4.1 - Carnes PSE.....	19
2.4.2 - Carnes DFD	21
2.5 - Aplicação do frio <i>post mortem</i>	22
2.5.1 - Encurtamento pelo frio (cold shortening).....	23
2.5.2 - Rigor da descongelação (thaw rigor).....	24
3 - Maturação - proteólise <i>post mortem</i>	25
4 - Consequências da maturação sobre a qualidade organoléptica da carne	40
III - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

ANEXOS

ANEXO 1	I-1
ANEXO 2	II-1
ANEXO 3	III-1
ANEXO 4	IV-1

INDÍCE FIGURAS

Figura 1 – Organização da fibra muscular.	6
Figura 2 – Esquema elaborado a partir de microfotografia electrónica apresentando a organização do músculo esquelético, desde a estrutura macroscópica a nível molecular.	7
Figura 3 – Consequências da paragem de circulação no tecido muscular.....	11
Figura 4 – Evolução do pH e CRA no músculo.	12
Figura 5 – Alterações bioquímicas e mecânicas no músculo <i>post mortem</i>	13
Figura 6 – Variação do pH nas 24 horas <i>post mortem</i>	21
Figura 7 – Representação esquemática das proteínas miofibrilares e principais componentes do sarcómero.	30
Figura 8 – Diagrama do citoesqueleto do sarcómero da fibra muscular esquelética dos mamíferos.	31
Figura 9 – Diagrama relacionando os resultados da transformação do músculo em carne e características organolépticas e tecnológicas resultantes.	40
Figura 10 – Compostos aromáticos na carne.	44

INDÍCE TABELAS

Tabela 1 – Factores sugeridos como responsáveis pelas modificações físicas, bioquímicas e/ou estruturais características da transformação do músculo esquelético de mamífero em carne	38
--	----

Apresentação

O presente trabalho visa, dar cumprimento, no âmbito das Provas Públicas de Avaliação da Competência Pedagógica e Técnico-Científica para acesso à categoria de Professor Coordenador, no disposto nos n.os 8 a 11 do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 207/2009, de 31 de Agosto na redacção dada pela Lei n.º 7/2010, de 13 de Maio, da carreira docente do ensino Superior Politécnico. O oponente ao concurso de provas públicas para professor coordenador tem de apresentar uma lição no âmbito da área científica para que concorre.

Este documento, encontra-se organizado em duas partes, sendo a primeira relativa ao enquadramento pedagógico da Lição e, a segunda, respeitante ao desenvolvimento detalhado da matéria ministrada na mesma.

O tema seleccionado para esta lição “Transformação do músculo em carne, influência na qualidade da carne”, deve-se, à permanente actualidade do tema, reflectindo na tecnologia da carne a importância que representa, e ainda no facto do tema ser leccionado no conteúdo de unidade curricular do curso de 1º ciclo de Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja.

I – 1ª PARTE - Enquadramento

1 – Enquadramento pedagógico da Lição

A lição é adaptada a uma “aula didáctica” de 60 minutos, prevista no Regulamento das Provas Públicas do Instituto Politécnico de Beja aprovado em reunião de Conselho Técnico Científico de 18 de Janeiro de 2012 e Homologado pelo Presidente do IPB a 19 de Março de 2012, (<https://www.ipbeja.pt/RepositorioDocumentosOficiais/Lists/Regulamentos/Attachments/72/Regulamento%20de%20Provas%20P%C3%BAblicas%20de%20Av%20alia%C3%A7%C3%A3o%20de%20Competencias%20e%20Tecnico-Cientifica%20do%20IPBEJA.pdf>) enquadrada na Unidade Curricular (UC) de “Tecnologia da Carne e do Pescado”, do curso de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, 1º ciclo de estudos conducente ao grau de licenciado, ministrado na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja, com o registo DGES R/A-Cr 29/2013, acreditado para cinco anos desde 15/03/2013.

A lição intitulada “**Transformação do músculo em carne, influência na qualidade da carne**” é leccionada na quarta aula de Tecnologia da Carne e do Pescado, com descritor anexo (Anexo 1), sendo apresentada de acordo com o Plano de Estudos da UC “Tecnologia da Carne e do Pescado” (Anexo 2).

Em contexto real, fazem ainda parte desta aula uma ficha de trabalho e a aula prática a realizar em laboratório. Por fim deve ser seguida de uma visita ao matadouro.

Nesta lição relacionam-se os aspectos teóricos e práticos da tecnologia da carne, incidindo na composição do músculo esquelético e nas suas transformações.

São definidos os pré-requisitos, os objectivos específicos a atingir em termos de conhecimentos e competências e os materiais pedagógicos utilizados.

No plano da lição apresentam-se os conteúdos, as didácticas e os tempos (aproximados) atribuídos a cada um dos tópicos abordados. (Anexo 3)

No fim da aula o estudante deve responder à ficha de trabalho. (Anexo 4)
Este desafio é complementado com a elaboração do relatório da aula prática.

Com estes elementos o estudante tem a opção de uma avaliação contínua.

Como nota gostaria de realçar que no regulamento destas provas “o candidato apresentará uma lição de 60 minutos”, em aula real a planificação e as estratégias propostas tem aproximadamente 120 minutos de duração. Contudo tendo esta prova uma condição específica, onde não existe turma com a qual se estabeleceria uma interacção com os alunos, com esclarecimento de dúvidas e questões, considero possível nos 60 minutos focar os aspectos mencionados.

O grande desafio dos docentes não consiste na transmissão dos conhecimentos, mas sim no desenvolvimento de um espírito crítico acerca dos problemas e essa capacidade crítica é claramente potenciada pelo confronto das ideias de vários autores.

2 – Recursos e estratégias científico-pedagógicas

A execução pedagógica da Lição suportar-se-á numa metodologia expositiva, com recurso a computador/data show/vídeo, acentuando e retendo os aspectos mais importantes da matéria e propiciando a participação dos estudantes, estimulando as potencialidades e fragilidades do conhecimento base que constitui o objecto da Lição.

PRÉ-REQUISITOS - Antes da aula os estudantes deverão:

- Conhecer composição do músculo-esquelético
- Conhecer a histologia do músculo
- Conhecer a fisiologia da contracção muscular

OBJETIVOS - Após a aula os estudantes deverão:

- Conhecer a bioquímica da transformação do músculo em carne
- Compreender a influência da tecnologia do abate na qualidade da carne
- Factores que influenciam a instalação do *rigor mortis*
- Compreender a influência do stresse *ante morte*
- Identificar carnes PSE
- Identificar carnes DFD
- Compreender a influência da aplicação do frio *post mortem*
- Compreender o fenómeno da maturação da carne e as suas alterações organolépticas

METODOLOGIA DE ENSINO

- São apresentados aos estudantes materiais de apoio, para efeitos da didáctica demonstrativa, que consistem numa ficha de trabalho, protocolos de trabalhos laboratoriais e os diapositivos de apoio à lição.
- São ainda disponibilizados os textos de apoio à lição e a bibliografia apresentada, que para além do normal objectivo associado à descrição das fontes utilizadas na preparação da lição, visa em grande medida facultar ao aluno fontes para o arranque de uma eventual investigação acerca do tema e desenvolver a sua capacidade crítica mediante o confronto de diferentes teses.

II – 2ª PARTE – Lição

Sumário: Transformação do músculo em carne

Alterações da qualidade da carne

Maturação-proteólise *post mortem*

Consequências da maturação sobre a qualidade organoléptica da carne

1 – Transformação do músculo em carne

A carne é um alimento procedente da musculatura dos animais. A conversão do músculo em carne é o fundamento do processo que começa no animal vivo até à sua transformação em alimento. A operação central deste processo é o sacrifício do animal, contudo esta operação não está isolada do maneio e do processo posterior.

À que fazer a distinção entre os termos músculo e carne. O que consumimos como carne depende fundamentalmente da natureza estrutural e química dos músculos no seu estado *post mortem* e difere dos mesmos numa série de alterações bioquímicas e biofísicas que tem início no músculo ao morrer o animal.

Somente com a compreensão dos eventos bioquímicos que ocorrem no tecido muscular vivo foi possível saber que a carne, como organização complexa de músculo esquelético, tecido conjuntivo e gordura, resulta de uma série de reacções físico-químicas que ocorrem no tecido muscular a partir do abate, ou mesmo antes, e que determinam a qualidade final do produto (Judge *et al.*,1989, citado por Rübensam e Monteiro, 2000).

O tecido muscular esquelético representa 40 a 50% do peso corporal. É formado por feixes de células muito longas (até 30 cm), cilíndricas e multinucleadas, com um diâmetro que varia de 10 a 100µm, chamadas fibras musculares esqueléticas. Num músculo, os feixes de fibras musculares estão organizados em feixes envolvidos por uma membrana externa de tecido conjuntivo, o epimísio. Do epimísio partem septos muito finos de tecido conjuntivo, que se dirigem para o interior do músculo, dividindo-o em fascículos. Esses septos são chamados de perimísio. Cada fibra muscular, por sua vez, é envolvida por uma camada muito fina de fibras reticulares, formando o endomísio. (Mantese, 2002)

A fibra muscular é delimitada por uma membrana, o sarcolema, e o seu citoplasma apresenta-se preenchido principalmente por fibrilas paralelas, as

miofibrilas. As miofibrilas são estruturas que apresentam um diâmetro de 1 a 2 μ m e correm longitudinalmente à fibra muscular, preenchendo quase completamente o seu interior (Figura 1). Ao microscópio electrónico aparecem com estriações transversais, pela alternância de faixas claras e escuras, banda I e banda A, respectivamente. No centro de cada banda I aparece uma linha transversal escura, a linha Z. A estriação da miofibrila é devida à repetição de unidades iguais, chamadas sarcómeros. Cada unidade é formada pela parte da miofibrila que fica entre duas linhas Z sucessivas e contém uma banda A, separando duas semibandas. Uma observação mais atenta da banda A revela a presença de uma zona mais clara no seu centro, a banda H. A disposição dos sarcómeros coincide nas várias miofibrilas da fibra muscular, formando um sistema de estriações transversais paralelas. Essa disposição dos sarcómeros é devida principalmente à presença de dois tipos de filamentos, dispostos longitudinalmente ao eixo mais longo das miofibrilas e organizados numa distribuição simétrica e paralela. (Mantese, 2002)

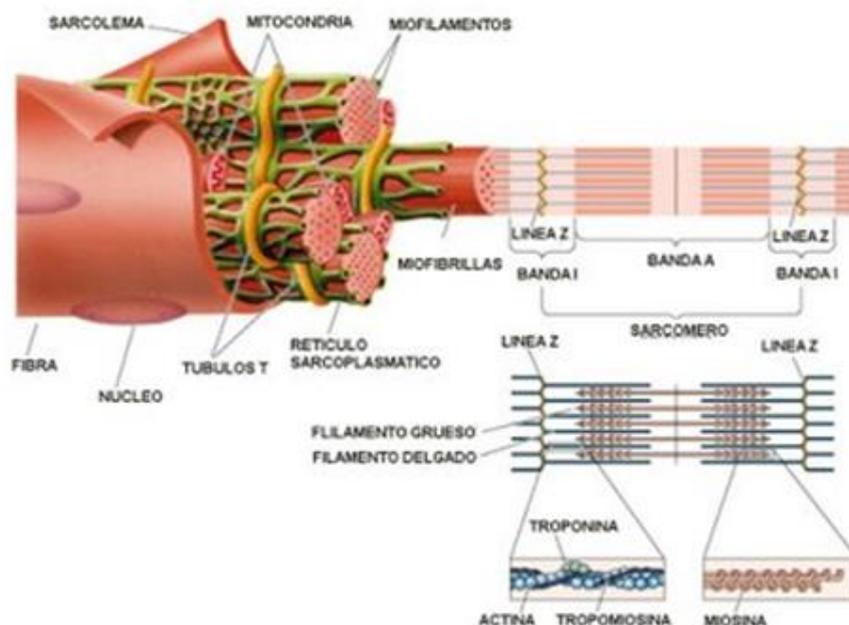


Figura 1 – Organização da fibra muscular (Geneser, 2000)

As miofibrilas do músculo estriado contêm pelo menos quatro proteínas principais: miosina, actina, tropomiosina e troponina.

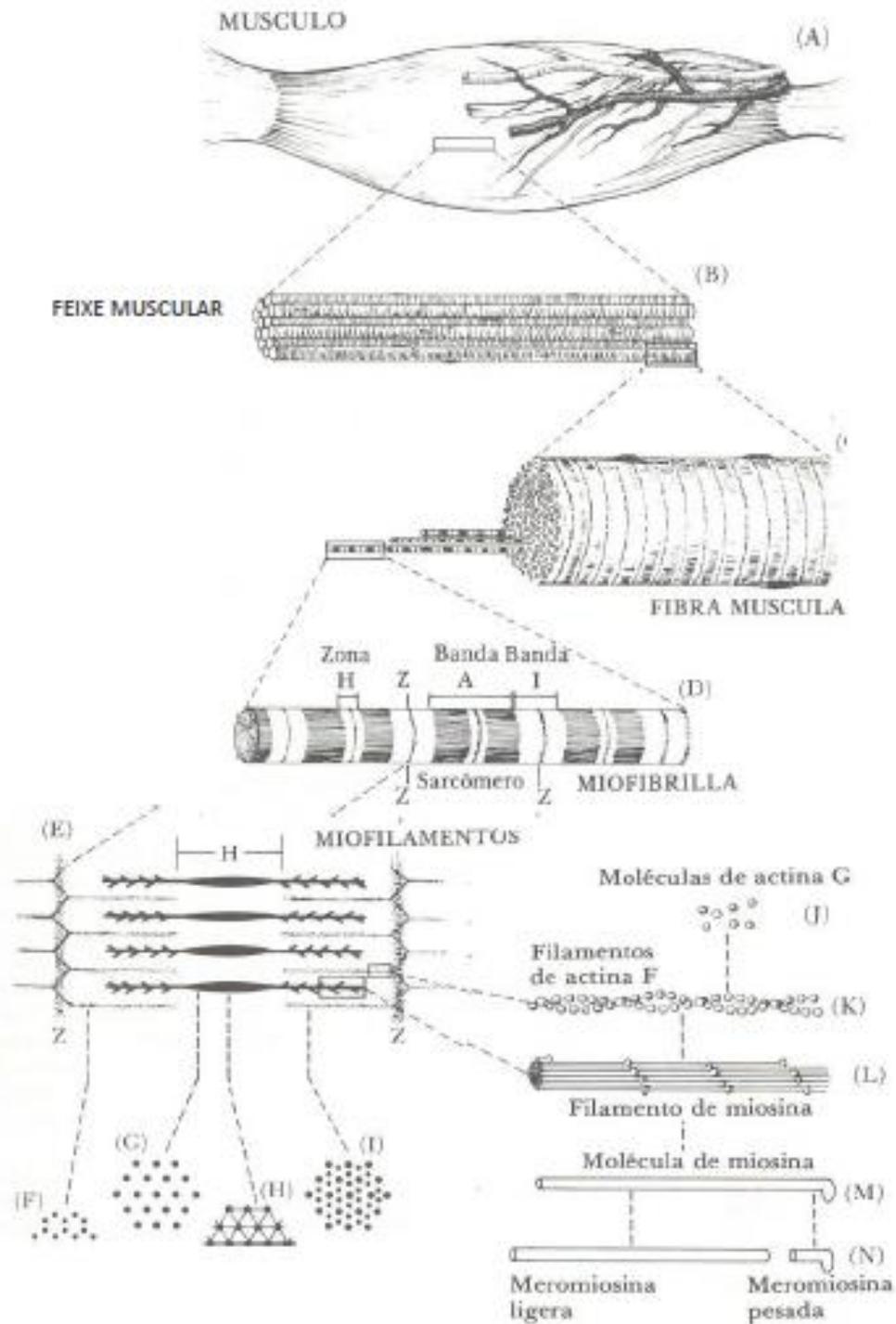


Figura 2 – Esquema elaborado a partir de microfotografia electrónica apresentando a organização do músculo esquelético, desde a estrutura macroscópica a nível molecular. (A) músculo esquelético, (B) feixe muscular, (C) uma fibra muscular com miofibrilas, (D) miofibrila e sarcómero, (E) sarcómero com miofilamentos, (F-I) secção transversal com miofibrilas no sarcómero. (J) moléculas de actina G, (K) filamento de actina F, (L-M) filamento de miosina, (N) meromiosina (Forrest, 1979)

A miosina é a mais abundante das proteínas miofibrilares. Tem alto conteúdo de ácido glutâmico e ácido aspártico e de aminoácidos dibásicos, por isso tem alta afinidade por íons cálcio e magnésio. A miosina é formada por duas subunidades: L e H-meromiosina, leve e pesada, respectivamente. A H-meromiosina contém ATPase e possui propriedades de se combinar com a actina, que está situada na periferia dos filamentos de miosina.

Outra proteína importante na miofibrila é a actina, que existe em duas formas: G-actina, uma molécula relativamente pequena, e a F-actina, cujas unidades globulares são agregadas formando uma dupla cadeia. A G-actina polimeriza-se dentro da F-actina na presença de sais e pequenas quantidades de ATP. É esta F-actina que se combina com a miosina para formar actomiosina, que é contráctil no músculo vivo ou em pré-rigor e não é elástica no músculo em *rigor mortis*. (Figura 2)

A troponina é composta por duas unidades que estão intimamente relacionados com o processo de contracção: o factor sensível ao cálcio, a troponina A, e um factor inibidor, a troponina B.

A troponina promove a agregação da tropomiosina e previne a formação de actomiosina; a α -actinina promove a associação lateral da F-actina; a β -actinina inibe a polimerização da L-meromiosina mas não da H-meromiosina. (Mantese, 2002)

A contracção muscular não ocorre pelo encurtamento dos filamentos, mas sim pelo aumento da zona de sobreposição entre os filamentos. Inicia-se na banda A, onde os filamentos finos e grossos se sobrepõem. Durante o ciclo de contracção a actina e a miosina interagem da seguinte forma: durante o repouso o ATP liga-se à ATPase das cabeças da miosina. Para atacar a molécula de ATP e libertar energia a miosina necessita da actina como cofactor. No músculo em repouso, o complexo troponina-tropomiosina, fixado sobre um filamento de actina F, não permite a associação da miosina com a actina. (Mantese, 2002)

Quando há disponibilidade do cálcio (Ca^{++}), o qual é libertado com a despolarização da membrana do retículo sarcoplasmático, causada pelo estímulo nervoso, a molécula de tropomiosina é deslocada, permitindo a ligação actina-miosina. Nesta fase, há activação do complexo miosina-ATPase e o ATP é convertido em ADP, Pi e energia. Ocorre uma deformação da cabeça da miosina

que promove o deslizamento do filamento de actina sobre o filamento de miosina. À medida que as cabeças de miosina movimentam a actina, novos locais para formação das pontes de actina-miosina aparecem. As pontes antigas de actina-miosina só são desfeitas depois da miosina se unir à nova molécula de ATP. Esta acção determina também a volta da posição primitiva da cabeça da miosina, preparando-se para um novo ciclo. A actividade contráctil continua até que os iões Ca^{++} sejam removidos e o complexo troponina-tropomiosina cubra novamente o local de combinação da miosina. Os iões Ca^{++} são transportados activamente (com consumo de energia - ATP) para dentro do retículo sarcoplasmático quando cessa a despolarização.

Após a morte (sangria), há interrupção do fluxo sanguíneo e, com isto, é interrompido, também, o aporte de nutrientes e a excreção de metabólitos. (Figura 3). O tecido muscular, assim como outros tecidos, continuam exercendo suas funções metabólicas, provavelmente na tentativa de manter sua homeostase. (Mantese, 2002)

Os processos bioquímicos do músculo após o abate são, principalmente, processos de degradação e ressíntese de ATP. Como consequência da morte, três fontes de energia tornam-se disponíveis: ATP, creatina fosfato (CP) e o glicogénio. Tanto o ATP como a CP estão presentes em pequenas quantidades no músculo, fazendo com que o glicogénio seja a principal fonte de energia para a glicólise.

O glicogénio pode ser degradado tanto por via aeróbia como anaeróbia. A degradação anaeróbia (glicólise) produz ácido láctico a partir do ácido pirúvico. Na via aeróbia, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, formando CO_2 e H_2O para que o ADP seja fosforilado e transformado em ATP (mediante a redução do NAD). Além da fosforilação glicogénica e da fosforilação oxidativa, o músculo dispõe de uma fonte de rápida mobilização energética, a creatinafosfato (CP), que se encontra armazenada em quantidade suficiente. Por actividade da creatinafosfoquinase a CP transfere seu grupo fosfato a um ADP, produzindo ATP.

Com a interrupção do aporte de oxigénio, a síntese de ATP realiza-se exclusivamente por via anaeróbia (fosforilação glicolítica) a partir da creatinafosfato e por acção da adenilato quinase muscular, o que ocorre quando as reservas de CP se esgotam e mantém esta via por um curto espaço de tempo. Em condições anaeróbias, o ácido pirúvico é reduzido a ácido láctico ao invés de ser

metabolizado a acetil coenzima A e entrar na cadeia respiratória, como acontece por via aeróbia.

A formação de ácido láctico fornece energia para a “reabilitação” da creatina fosfato, permitindo a contracção muscular. Como não há mais fluxo sanguíneo, o ácido láctico produzido acumula-se no músculo. Consequentemente há uma descida do pH no músculo *post mortem* essencialmente ligado à quantidade de glicogénio presente no músculo no momento do abate. Outro factor que contribui para a alteração do pH no músculo *post mortem* é o facto de que as enzimas da cadeia respiratória, que atuam como receptoras de iões hidrogénio, não deixam de estar activas.

A queda do pH causa uma diminuição no metabolismo anaeróbio porque afecta as enzimas do sistema Embden-Meyeroff, já que o pH está afastado do valor óptimo da sua actividade. (Farraia da Graça, 1987)

A descida do pH causa inactivação gradual do complexo troponina, levando a um aumento da actividade da miosina-ATPase e acelera a hidrólise do ATP (Prändl, 1994).

O facto de haver uma paragem circulatória leva consequentemente a uma paragem da respiração celular. A falta de oxigénio leva à transformação da oximioglobina em mioglobina (perda de oxigénio), que por sua vez se transforma em metamioglobina, promovendo a alteração da cor. (Figura 3)

Sendo o teor em ATP praticamente inexistente e considerando que a existência de ATP inibe a junção dos filamentos de actina, a actina e a miosina ligam-se, então definitivamente, no complexo actomiosínico e por consequência, há contracção isométrica (sem variação do comprimento).

A consistência do músculo torna-se firme, ficando os iões Ca^{++} retidos electricamente no complexo actomiosínico. Para haver relaxamento, o Ca^{++} teria de ser bombeado para o retículo sarcoplasmático mas, devido à ausência de ATP, a bomba não funciona.

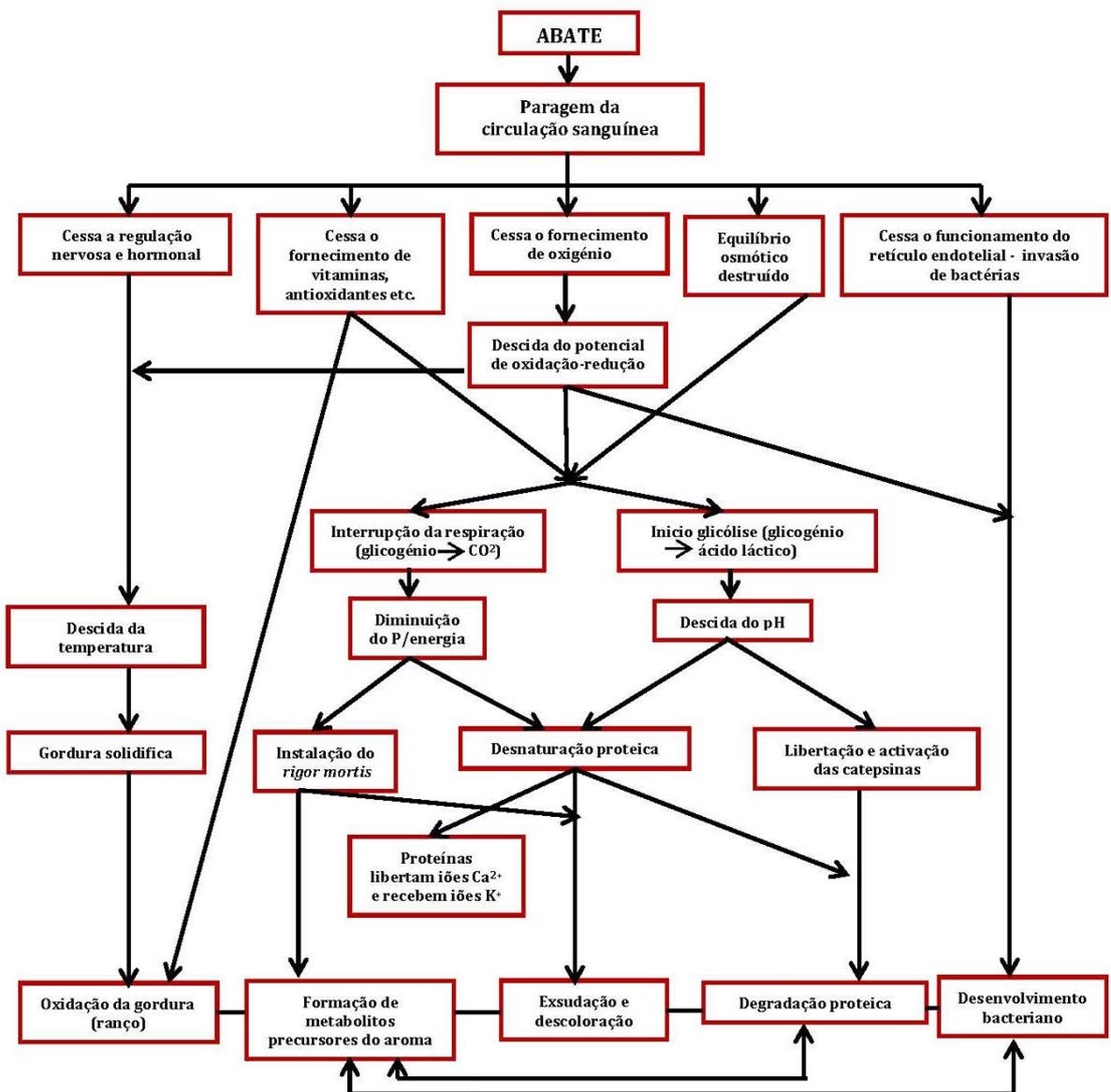


Figura 3 – Consequências da paragem de circulação no tecido muscular (Lawrie, 1998) adaptado

A descida de pH e a formação do complexo actomiosínico provocam modificações nas cargas eléctricas, pois vai actuar o mecanismo que fixa uma fracção de iões Mg^{++} e Ca^{++} sobre as proteínas, camuflando uma parte das cargas, havendo igualmente uma modificação na configuração das proteínas. Assim, vai haver uma diminuição do potencial redox de 250 para -50 mV e uma agregação das proteínas, pois perto do seu ponto isoeléctrico (pH 5,5; note-se que o pH desce para 5,5 – 5,7) as cadeias proteicas têm tendência a agregar-se, de tal modo que

diminui o espaço disponível para as moléculas de água, provocando uma exsudação, e passando a haver uma menor capacidade de retenção para a água (CRA). (Figura 4)

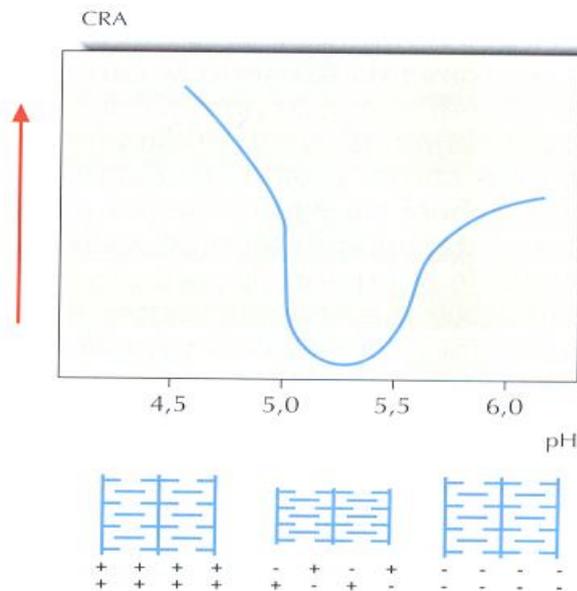


Figura 4 – Evolução do pH e CRA no músculo (López *et al.*, 2001)

A libertação dos iões Ca^{++} e o aparecimento do ATP no decurso da transformação do músculo em carne, reduz igualmente a água retida por capilaridade; os iões Ca^{++} e Mg^{++} em solução (não fixados no retículo sarcoplasmático por falta de ATP) formam ligações com as moléculas proteicas para dar uma estrutura fechada que expulsa a água retida pelo complexo proteico inicial.

A quebra do glicogénio não ocorre de maneira uniforme em todos os estágios após o abate. Segundo Bate-Smith (citado por Price, 1971) parece haver um aumento progressivo na velocidade da glicólise até atingir o pH que corresponde ao momento em que as membranas perdem a resistência. Neste momento, o músculo perde a sua capacidade de contracção e há livre passagem de iões pelas membranas. Disto resulta uma rápida equalização do pH em todo o tecido. A partir deste ponto, a glicólise vai diminuindo até que as reservas de glicogénio estejam esgotadas ou até que o pH seja tão baixo a ponto de inibir completamente as enzimas glicolíticas (pH <5,4).

As particularidades da rigidez cadavérica (*rigor mortis*) ainda não são totalmente conhecidas. Prändl (1994) divide os processos bioquímicos que ocorrem até a instalação do *rigor mortis* em duas fases:

1) A flexibilidade e a elasticidade do músculo permanecem inalteradas. A carne é macia e elástica. Esta fase tem uma duração variável, de 1 a 20 horas, dependendo das reservas de glicogénio e CP, assim como da temperatura do músculo. A hidrólise do ATP aumenta como consequência da queda progressiva do pH, porém é compensada pela ressíntese de ATP.

2) A capacidade de extensão e a elasticidade diminuem rapidamente, em 2 a 3 horas, e como consequência da menor concentração de ATP, diminuem até desaparecer completamente, ou seja até ao *rigor mortis*.

A figura 5 representa de forma esquemática as alterações dos principais parâmetros em função do tempo. O tempo não se apresenta quantificado de forma a ser aplicado a diferentes espécies e diferentes músculos.

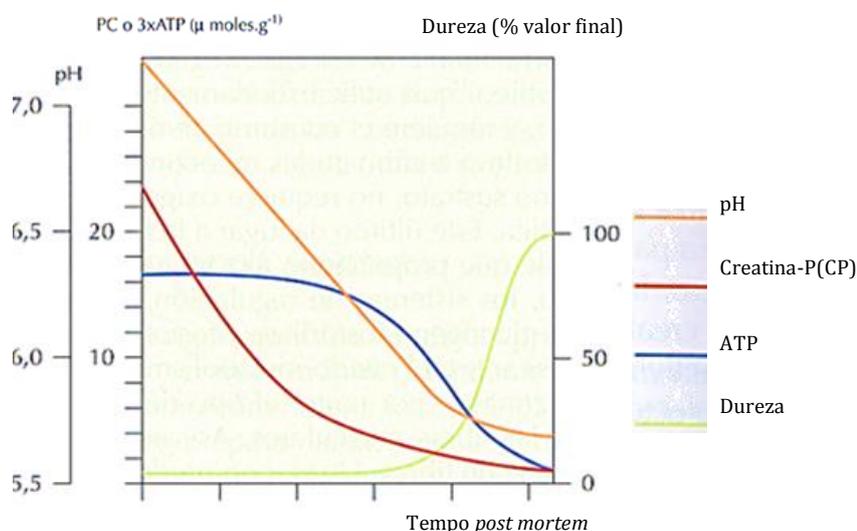


Figura 5 – Alterações bioquímicas e mecânicas no músculo *post mortem* (Roncalés, 2001)

O endurecimento muscular ocorre quando a concentração de ATP não é suficiente para manter as miofibrilas em estado de relaxamento. Neste ponto, actina e miosina interagem formando o complexo actomiosina de maneira irreversível, responsável pelo endurecimento muscular. O encurtamento provocado pelo *rigor mortis* difere da contracção normal porque se formam mais

pontes cruzadas de actomiosina. Durante a contracção normal ligam-se somente 20% dos sítios de ligação possíveis, durante o *rigor mortis*, praticamente todos os sítios de ligação entre actina e miosina são utilizados, fazendo com que ocorra um significativo encurtamento do sarcómero. (Mantese, 2002)

O tempo de instalação do *rigor mortis* depende de factores internos e externos. Os factores internos mais importantes são as reservas de glicogénio e CP. Quanto maior é o conteúdo de glicogénio e CP no momento do abate, mais tarde aparece o *rigor mortis* e vice-versa. Como factores externos pode citar-se como o mais importante a temperatura. A glicólise e, conseqüentemente, a queda do pH ocorre mais lentamente quanto menor for a temperatura da carne. Com o arrefecimento rápido da carne os processos *post mortem* são retardados e o *rigor mortis* aparece mais tardiamente do que quando a temperatura da carne é mais alta. (Felício, 1993).

Os processos bioquímicos são quase completamente interrompidos quando a carne é congelada antes do aparecimento do *rigor mortis*. Neste caso, o rigor só se completará após o descongelamento da carne.

O *rigor mortis* começa a aparecer cerca de 9 a 12 horas após a morte (sangria), atingindo um máximo em 20 a 24 horas, para sofrer um progressivo declínio. (Mantese, 2002)

Em suínos, o rigor começa a ocorrer 3 a 4 horas após o abate. Muitas vezes o *rigor mortis* e a queda do pH acontecem uma hora após o abate. Nestes animais a resolução do *rigor* pode ocorrer em 12 horas.

Quando o *rigor mortis* está completo (momento que coincide com o esgotamento do ATP) começa a haver ruptura da linha Z e de outras proteínas do citoesqueleto. A estrutura miofibrilar também começa a sofrer uma progressiva degradação, porém sem que se desfaçam as pontes de actomiosina. Esta degradação é diferente entre as espécies animais de talho e pode ser responsável pelas diferenças de qualidade da carne das mesmas.

A resolução ou final do *rigor mortis* é indicada pela tenrura das massas musculares e resulta de alterações causadas por degradação da ultraestrutura da fibra muscular. Até este momento, dois fenómenos são de extrema importância na transformação do músculo em carne: a queda do pH muscular e a resolução do

rigor mortis. Do ponto de vista tecnológico, considera-se carne o músculo que tenha passado pelo *rigor mortis*.

O valor final do pH da carne influi na conservação e em propriedades tecnológicas da carne. Uma acidificação adequada da carne corresponde a valores de pH entre 5,4 e 5,8. Neste intervalo muitos microrganismos são inibidos, principalmente os proteolíticos. Valores finais de pH superiores podem comprometer a conservação da carne e diminuir sua capacidade de retenção de água. (Mantese, 2002)

Além do valor final de pH, também é muito importante a velocidade de queda do pH. Quando esta é muito rápida após a morte, a carne torna-se defeituosa, conhecida como carne PSE (*pale-soft-exsudative*).

A aceleração do processo de degradação do glicogénio (causa de variações no *rigor mortis* e na acidificação da carne) por causas endógenas ou exógenas está frequentemente associada a alterações na qualidade da carne. Estas alterações são conhecidas como carne PSE de suínos e carne DFD de bovinos e suínos. Também o inadequado arrefecimento das carcaças, antes da instalação do *rigor mortis*, pode causar o fenómeno conhecido como encurtamento pelo frio (*cold-shortening*) observado em carne de ovinos e bovinos.

Se os fenómenos correspondentes à entrada em rigidez são hoje bastante conhecidos, o mesmo já não se verifica para os fenómenos que acompanham a maturação e, em particular a melhoria da tenrura e a evolução da cor. Os mecanismos de acção das enzimas responsáveis da oxidação da mioglobina, bem como os mecanismos de acção das enzimas proteolíticas actuando sobre a tenrura, estão ainda para ser mais profundamente esclarecidos.

Rigidez cadavérica e maturação são fenómenos assépticos. No entanto, a evolução *post mortem* das carnes faz-se geralmente em presença de microorganismos e, salvo no caso de carnes esterilizadas por um ou outro processo, os germes que contaminam inevitavelmente as carcaças a seguir ao abate são susceptíveis de se multiplicar e de estar na origem de alguns problemas. A refrigeração sistemática de carcaças com temperaturas vizinhas de 0 °C, retarda a evolução *post mortem* do músculo, sem todavia modificar a histoquímica do processo, permitindo contudo limitar a multiplicação microbiana que, com temperaturas de congelação inferiores a - 10°C, cessa totalmente, estabilizando-as.

Depois do abate a evolução *post mortem* do músculo, pode ser dividida em três estados distintos:

- Estado palpitante ou de contractura;
- Estado rígido;
- Estado tranquilo ou de relaxamento.

O estado palpitante é uma fase de excitabilidade muscular, em que sobre a carcaça se observam contracções musculares desordenadas, mais ou menos violentas, sob a acção de estímulos externos, tais como correntes de ar, vapor de água e tracções de vários níveis.

A temperatura no músculo pode ser superior à que tinha o animal.

A duração deste estado é função da qualidade da carne (daqui deriva a importância do ATP) e da temperatura.

Este estado prolonga-se mais que os outros no caso do animal anteriormente ao abate não ter sofrido excitação nervosa (stress). No caso de esta excitação existir passa-se rapidamente ao estado seguinte havendo uma acidificação *post mortem* promovendo nas carcaças uma menor CRA.

O período considerado de latência, apresenta valores de extensibilidade do músculo iguais ao apresentado no momento do abate e permanece constante ao longo deste período.

Esta fase varia com:

- reservas energéticas do músculo. Aparece tanto mais rapidamente quanto mais pobre está o músculo em ATP;
- estado de fadiga do animal no momento do abate. Quanto maior a fadiga, mais rápido é o aparecimento desta fase;
- temperatura ambiente.

Se as reservas estão esgotadas dá-se um decréscimo rápido da extensibilidade, acabando esta por se anular totalmente. Os músculos tornam-se rígidos.

A rigidez cadavérica instala-se numa ordem determinada (Lei de Nysten): começa pelo músculo cardíaco e diafragma para se estabelecer depois nos músculos da carcaça, começando pelos da cabeça, seguindo-se os do pescoço e

tronco e por último os dos membros, primeiro nos anteriores e depois nos posteriores. (Farraia da Graça, 1987)

No rigor instalado o músculo apresenta-se inextensível. Estas três fases encontram-se interligadas, processando-se o mecanismo do seguinte modo:

- Com o esgotamento das reservas energéticas há a passagem de uma estrutura aberta a uma estrutura fechada (por ligações de iões Ca^{++} e Mg^{++} , em solução, às moléculas proteicas).

A ausência de circulação sanguínea impede o provisionamento do músculo em glicogénio e fosfocreatina, matérias-primas essenciais para a existência do ATP.

Segue-se um estado tranquilo, o músculo “envelhece ou amadurece”, há a resolução da rigidez. As massas musculares amolecem e libertam um exsudado mais ou menos abundante; tornam-se vermelho carregado na superfície e ao corte são mais claras e húmidas. É o início da maturação as propriedades organolépticas começam a desenvolver-se: tenrura, sabor e suculência.

Os fenómenos de autólise que estão na base desta evolução consistem numa digestão da carne por ela mesma. Os agentes em causa são as enzimas contidas nas células musculares, que provocam uma lenta degradação dos constituintes celulares, sem agir sobre os tecidos conjuntivos e as fibras elásticas.

A maturação não resulta de uma dissociação das ligações estabelecidas entre a actina e a miosina, mas, antes, da desunião dos filamentos de actina da estria Z, sob influência de modificações iónicas e de enzimas – catepsinas – provenientes dos lisossomas libertados pelo abaixamento do pH.

É o momento óptimo para consumo da carne. A partir daqui a carne começa a ser sede de reacções de degradação – química ou microbiana – libertando produtos desagradáveis e algumas vezes perigosos.

2 – Alterações da qualidade da carne

As modificações que se verificam no músculo com o desenvolvimento do *rigor mortis* e a subsequente maturação determinam em grande parte a qualidade da carne, sensorial, higiénica, nutricional e a sua aptidão tecnológica. Os factores que influem o *rigor mortis* influenciam a qualidade directamente, são variados e numerosos no entanto podemos considerar os 5 principais: a espécie, a raça, o músculo, o stress *ante morte* e por fim a temperatura, como factor *post morte*.

2.1 – Espécie

A **espécie** apresenta uma grande variedade na capacidade bioquímica de cada músculo devido à quantidade de enzimas e substratos que possuem. Em condições normais o intervalo de tempo necessário para que se instale o *rigor mortis* apresenta grandes diferenças entre espécies. Em condições consideradas normais de refrigeração das carcaças podemos prever o tempo de instalação do *rigor mortis* para: (Roncalés, 2001)

Aves e coelhos – 1-3 h

Suínos – 4-12 h

Ovinos – 12-24 h

Bovinos – 15-30 h

Para efeitos práticos, nos matadouros considera-se alcançado o *rigor mortis* às 24h, este intervalo de tempo deve cumprir a legislação vigente, em que a temperatura da musculatura da carcaça deve atingir os 7 °C para ser manipulada e comercializada.

2.2 – Raça

A **raça** apresenta um efeito menor que o factor espécie. A excepção é nos suínos, onde existe grande variabilidade entre indivíduos e raças. Devido à distinta sensibilidade ao stress os suínos apresentam um metabolismo *post mortem* que resulta na hidrólise do glicogénio muscular, factor determinante para a qualidade

da carne suína fresca, que está relacionado com dois genes, o gene halotano (Hal) e o gene rendimento napole (RN) afectando drasticamente a cinética do abaixamento do pH muscular. (Rübesensam e Monteiro, 2000)

2.3 – Músculos

Os **músculos** apresentam pequenas diferenças entre si devidas à concentração de glicogénio e à actividade enzimática. Os músculos brancos tem maior quantidade de glicogénio e tem um pH final de 5,5 – 5,6 enquanto os músculos vermelhos tem menor quantidade de glicogénio e tendem para um pH final de 5,6 – 5,8. (Roncalés, 2001)

2.4 – Stresse *ante-morte*

O stresse é a resposta do organismo a situações excitantes negativas. A sensibilidade ao stresse não é igual em todas as espécies. Os suínos são os mais sensíveis em comparação com outras espécies. Mesmo dentro da espécie suína determinadas raças, com alterações genéticas, são especialmente sensíveis. (Roncalés, 2001)

Em animais submetidos ao stresse, ou cujas reservas de glicogénio sejam baixas, a descida do pH faz-se com maior rapidez, muito embora o grau de acidificação atingido não seja tão acentuado quanto o que se dá quando as reservas de glicogénio são elevadas, conseqüentemente, a contracção do músculo é máxima e a capacidade de retenção de água diminui o que, aliado a um pH mais elevado, proporciona um meio mais favorável para o desenvolvimento bacteriano.

O stresse *ante morte* tem como resposta o desenvolvimento anómalo do *rigor mortis* dando lugar ao aparecimento de carnes tidas como defeituosas as carnes PSE e DFD. (Roncalés, 2001)

2.4.1 – Carnes PSE

Estas carnes são caracterizadas por serem pálidas, flácidas e exsudativas (*pale, soft, exsudatives*). Este defeito é relacionado com o genótipo de

determinadas raças suínas, principalmente naquelas que sofreram intensa selecção para melhor conversão alimentar e produção de carcaças magras. Estes animais são muito susceptíveis ao stresse e à hipertermia causada por ele. Nestes animais ocorre uma rápida degradação do glicogénio, principalmente após o abate, o que faz com que o pH atinja valores inferiores a 5,8 uma hora após o abate.

Em suínos sensíveis ao stresse a quantidade de iões cálcio libertados das mitocôndrias em anaerobiose é, aproximadamente, o dobro da libertada em suínos resistentes ao stresse, além da incapacidade do retículo sarcoplasmático de reter estes iões. Somado a isto, em músculos PSE tem-se encontrado elevada actividade ATPásica e de enzimas glicolíticas. No soro destes animais encontram-se maiores conteúdos de creatinafosfoquinase, que coincide com o facto de que no momento do abate o conteúdo de creatina fosfato nestes animais diminuí. Isto significa que a utilização do glicogénio começa antes em músculos PSE, levando a uma rápida queda do pH (Prändl, 1994).

A combinação do baixo pH e da elevada temperatura destas carnes, causa uma maior desnaturação das proteínas miofibrilares nas carnes PSE. Estas carnes apresentam um pH cerca de 5,5, muito próximo ao ponto isoeléctrico das proteínas miofibrilares. Neste pH, as proteínas, ao terem cargas positivas e negativas em igual quantidade, apresentam uma aproximação máxima dos filamentos, grossos e finos, fazendo com que o espaço entre eles diminua ou mesmo desapareça, impossibilitando a ligação destas moléculas com a água, reduzindo a estabilidade e a capacidade de retenção de água (CRA). A água fora das células e a estrutura proteica extremamente fechada provocam reflexão da luz incidente fazendo com que as carnes PSE sejam extremamente pálidas. O maior defeito da carne PSE é a exsudação. Nestas carnes, a água encontra-se pouco ligada às proteínas e também as membranas celulares são mais permeáveis. A exsudação também pode ser explicada pela desnaturação das proteínas.

Este defeito das carnes suínas tem grande impacto económico, uma vez que estas carnes são inadequadas para a industrialização, e tem um aspecto desagradável ao consumidor. Além disto, os principais músculos afectados são os de maior valor, o lombo e o pernil. (López *et al.*, 2001)

A rápida detecção de carnes PSE é de grande importância dentro de uma

indústria. O método mais utilizado é a aferição do pH das carcaças aos 45 minutos após o abate e ao final do arrefecimento (24h). (Figura 6)

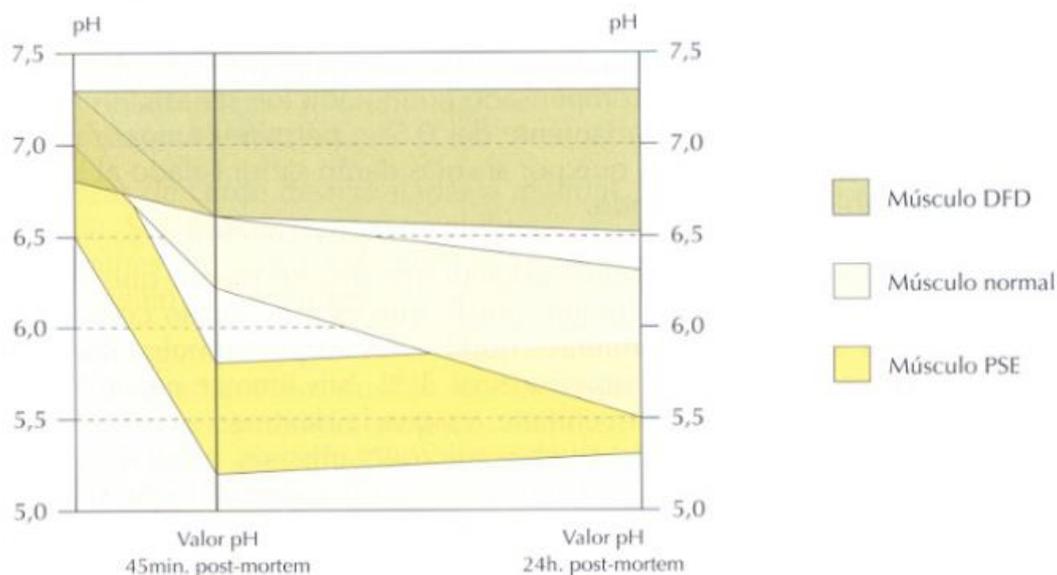


Figura 6 – Variação do pH nas 24 horas *post mortem* (López *et al.*,2001)

2.4.2 - Carnes DFD

São carnes de aspecto escuro, firme e seco (*dark, firm, dry*), também denominadas carnes de corte escuro (*dark cutting beef*) em bovinos. Em carne bovina apresenta superfície de corte pegajosa. Em suínos a carne pode parecer muito escura, dando um aspecto vitrificado. Como nas carnes PSE, parece haver uma ligação hereditária. Aparece em animais sensíveis ao stresse, associado a altas temperaturas ambientais, esforços e forte excitação.

Entre outros motivos, cita-se como principal causa, o stresse prolongado antes do abate, com esgotamento total das reservas de glicogénio, não permitindo a acidificação do músculo após o abate. Nestas carnes, para a identificação do problema usa-se a medida do pH final (após o arrefecimento das carcaças o pH permanece acima de 6,0). Nestas condições, a carne tem uma vida-de-prateleira muito reduzida pois, devido ao elevado pH, as proteínas miofibrilares apresentam máxima capacidade de retenção de água, o que favorece a proliferação bacteriana.

2.5 – Aplicação do frio *post mortem*

O arrefecimento rápido das carcaças é desejável para ter redução de perdas de peso, de desnaturação de proteínas e de proliferação de microorganismos, conferindo-lhe a cor vermelho vivo. O abaixamento rápido da temperatura dos músculos, no início do desenvolvimento do *rigor mortis*, pode provocar o endurecimento da carne. (Felício, 1997)

A instalação do *rigor mortis* é fortemente dependente da temperatura de armazenamento *post mortem*. As temperaturas altas permitem uma elevada actividade enzimática e uma elevada velocidade de crescimento microbiano. Entre os 38 °C e os 10 °C a velocidade de hidrólise diminui de um modo mais ou menos constante.

A partir dos 0 °C (temperatura a que a carcaça vai ser submetida) há uma aceleração da hidrólise do ATP.

Com temperaturas superiores a 15 °C a miosina ATPase tem um papel de destaque, abaixo de 15 °C o que se demonstra é que a taxa de Ca⁺⁺ livre aumenta no sarcoplasma seguido de um enfraquecimento no poder de captação deste ião pelo retículo sarcoplásmico e mesmo pelas mitocôndrias. Isto leva à entrada em actividade ATPásica da actomiosina e a um aumento da capacidade global d a hidrólise do ATP.

Alguns estudos demonstram que, de modo geral, a combinação entre altas temperaturas durante o pré-rigor (≥ 35 °C), associadas à queda brusca do pH, resulta em redução do potencial de proteólise durante o processo de maturação e conseqüentemente afecta a tenrura da carne. Tal processo é conhecido como *heat toughening*. Contudo, o mecanismo exacto pelo qual baixos valores de pH associados às elevadas temperaturas afectam o processo de tenrificação da carne está longe de ser completamente esclarecido. O *heat toughening* refere-se à redução da tenrificação da carne, ou seja, a carne oriunda de músculos que sofreram o *heat toughening* pode vir a apresentar a tenrura comprometida em relação àquelas oriundas de músculos que não estiveram expostos a estas temperaturas.

Tem sido sugerido que a redução da tenrura da carne devido ao *heat toughening* ocorre em virtude da redução da actividade e/ou inactivação de

sistemas enzimáticos que promovem a fragmentação miofibrilar durante o período *post mortem* (Paulino e Duarte, 2014).

2.5.1 – Encurtamento pelo frio (cold shortening)

Em carne de bovinos e ovinos, quando armazenada a uma temperatura inferior a 14 °C tem início o processo *post mortem* e quando o pH ainda é superior a 6,8, apresenta uma forte predisposição à contração muscular intensa. Este fenómeno é chamado de encurtamento pelo frio ou *cold shortening*. É tanto mais intenso quanto mais próxima esteja a temperatura de arrefecimento do ponto de congelação. Esta carne, quando cozida, apresenta-se extremamente dura.

No interior de grandes massas musculares este fenómeno é menos intenso. A musculatura vermelha é mais susceptível a este processo que a musculatura branca.

Nestes músculos há libertação mais rápida e em maiores quantidades de iões cálcio pelo retículo sarcoplasmático estimulada pelo frio excessivo. Outra causa pode estar ligada à paralisação da bomba de cálcio devido ao frio excessivo, impedindo que o retículo sarcoplasmático retire o cálcio do sarcoplasma, mesmo na presença de ATP suficiente.

A maneira mais usual de evitar este processo é controlar a temperatura de arrefecimento das carcaças, de modo a evitar que a carne alcance temperatura igual ou inferior a 10 °C nas primeiras 10 horas após o abate de ovinos e bovinos.

Considerando isto, é importante ressaltar que se deve reduzir a temperatura das carcaças logo após o abate de modo a retardar ao máximo a queda do pH e, principalmente, o desenvolvimento do *rigor mortis*, evitando a formação excessiva da actomiosina, assegurando a tenrura da carne. As carcaças suínas são mantidas com a pele e, portanto, a gordura subcutânea serve como isolante térmico, podendo ser submetidas a temperaturas de arrefecimento mais baixas, permitindo a utilização de choque térmico com o objectivo de evitar o aparecimento de carnes PSE.

2.5.2 – Rigor da descongelação (thaw rigor)

A congelação das carcaças em pré-rigor interrompe os processos bioquímicos do músculo *post mortem*. A quando da descongelação, estes tecidos apresentam uma intensa e repentina libertação de iões cálcio. Também ocorre uma intensa actividade ATPásica e, em consequência disto, uma forte contracção, com grande encurtamento das fibras musculares, que pode chegar a 80% do comprimento original, além da intensa perda de líquidos (até 30-40%).

A maneira mais simples de prevenir este fenómeno, também conhecido como *thaw rigor*, é proporcionar a descongelação lenta das carnes congeladas em pré-rigor. As alterações bioquímicas que desencadeiam estas “carnes anormais” deixam claro a importância do descanso regulamentar a que devem ser submetidos os animais antes do abate, de modo a garantir adequada reposição do glicogénio muscular, assim como a importância da tecnologia de arrefecimento das carcaças, garantindo a refrigeração ideal para cada espécie. Ainda se deve considerar que o estado de saúde do animal também é importante, visto que a carne de animais febris ou doentes crónicos tende a apresentar reacção alcalina logo após a morte. Também animais cansados, de trabalho, geralmente com idade mais avançada, apresentam desenvolvimento do *rigor mortis* mais rapidamente, não ocorrendo a glicólise por falta de reposição do glicogénio muscular. (Mantese, 2002)

O estímulo eléctrico aplicado logo após a sangria (90V) ou dentro da primeira hora após o abate (500 a 1000 V), acelera a glicólise *post mortem* fazendo com que o pH caia rapidamente até 6,2. Ocorre libertação de iões cálcio, provocando uma intensa contracção muscular. Entretanto, o retículo sarcoplasmático está apto a recapturar estes iões devido às concentrações de ATP e ADP serem suficientemente altas, permitindo o relaxamento do sarcómero neste momento.

3 – Maturação - proteólise *post mortem*

Após a resolução do *rigor mortis*, a carne retoma as suas características, voltando a ser tenra e succulenta. São muitos os factores que influenciam a tenrura da carne, podendo ser divididos em factores *ante mortem* e factores *post mortem*. Os factores *ante mortem* incluem características genéticas e fisiológicas, manejo e alimentação. Os factores *post mortem* são o tempo e temperatura de armazenamento após o abate (maturação, congelação, etc.), o modo como a carne é cortada, a adição de agentes amaciantes e os métodos de cozimento. (Mantese, 2002)

A tenrificação progressiva da carne durante certos períodos de armazenamento em refrigeração (maturação da carne) tem sido objecto de estudos que datam do século XIX (Lawrie, 1974). Desde 1917, Hoagland *et al.* (citados por Koohmaraie, 1994) já afirmavam que o amaciamento *post mortem* da carne era consequência da proteólise. Porém, somente com o advento da eletroforese em gel foi possível demonstrar as mínimas, mas significativas, alterações que ocorrem no músculo esquelético.

Davey (citado por Lawrie, 1974), constatou que na carne, armazenada por algum tempo em temperatura acima do ponto de congelação, os filamentos de actina desprendiam-se da linha Z. Para Davey & Gilbert, 1969 (citados por Lawrie, 1974), o processo é iniciado pela libertação de iões cálcio do retículo sarcoplasmático para o sarcoplasma. Eles observaram também que etilenodiaminotetracetato (EDTA), agente quelante de cálcio, evitava que ocorressem mudanças na linha Z durante a maturação. Goll *et al.* (citados por Lawrie, 1974), formularam a hipótese de que o rompimento das miofibrilas, ao nível da linha Z, era de natureza enzimática devido às semelhanças encontradas entre as alterações estruturais das proteínas miofibrilares ocorridas durante a maturação e aquelas causadas pela digestão das mesmas com tripsina. Além disso, postularam que as mudanças sofridas pelas proteínas musculares, que resultavam no amaciamento da carne, poderiam ocorrer por uma proteólise limitada, com rompimento de poucas ligações proteicas, mas importantes do ponto de vista estrutural.

Segundo Koohmaraie (1994), após o abate várias alterações ocorrem no

músculo esquelético, algumas das quais resultam na perda da integridade do tecido, explicando o amaciamento da carne. São elas:

- 1) Degradação da linha Z que leva à fragmentação das miofibrilas;
- 2) Degradação da desmina que leva à fragmentação das miofibrilas, provavelmente através da ruptura das ligações transversas entre as miofibrilas;
- 3) Degradação da titina (cujos filamentos unem os filamentos de miosina ao longo do seu comprimento da linha M até a linha Z) que pode causar o afrouxamento da miofibrila;
- 4) Degradação da nebulina. Como a localização da nebulina ainda não está bem definida, não se sabe ao certo o quanto sua degradação afecta a tenrura.
- 5) Desaparecimento da troponina T e aparecimento simultâneo de polipeptídeos, indicando proteólise;
- 6) Aparecimento de polipeptídeos de peso molecular diferente dos anteriormente citados, também indicando proteólise;
- 7) Talvez a mais importante observação é que as principais proteínas contratem, actina e miosina, não são afectadas.

Claramente, as alterações descritas acima são resultado de proteólise e, portanto, as alterações responsáveis pelo amaciamento da carne são produzidas por proteinases endógenas.

Enquanto a teoria da proteólise é aceita pela maioria, a questão de quais as proteinases que estão envolvidas ainda gera controvérsia (Koohmaraie, 1994). As proteinases devem possuir algumas características para serem consideradas como possíveis “candidatas” a induzir as alterações responsáveis pela tenrificação da carne *post mortem*:

- 1- Estarem localizadas no interior da célula muscular;
- 2- Terem acesso ao substrato;
- 3- Terem habilidade para degradar as mesmas proteínas que são degradadas na maturação da carne.

Os sistemas proteolíticos com potencial envolvimento na proteólise *post mortem* incluem: catepsinas lisossomais, complexo proteinases-multicatalíticas

(em inglês, “MCP”) e as calpaínas. Muitas experiências sugerem que as catepsinas lisossomais não exercem um papel significativo na proteólise *post mortem* pois a proteólise *post mortem* não tem acção sobre actina e miosina, no entanto, estas proteínas miofibrilares são os principais substratos destas enzimas; estas catepsinas estão dentro dos lisossomas, devendo, portanto, ser libertadas para terem acesso às miofibrilas. Mesmo que se considere que os lisossomas são degradados durante o armazenamento *post mortem*, não há evidências que confirmem esta hipótese. Ao contrário, uma experiência com base nesta hipótese observou que, mesmo após a estimulação eléctrica e 28 dias de maturação, as enzimas lisossomais ainda permanecem no interior dos lisossomas (La Court, 1986, citado por Koohmaraie, 1994).

Em 1992, Koohmaraie verificou que as MPC possuem actividade máxima de proteólise em pH 7,5 a 8,0 a 45 °C e que as proteínas miofibrilares são substratos muito pobres para estas proteinases. Ao contrário das outras duas “candidatas”, numerosas pesquisas têm evidenciado que as calpaínas são as principais proteinases responsáveis pela tenrificação *post mortem* da carne (Goll *et al.* e Busch *et al.* (citados por Taylor *et al.*, 1995a).

Koomaraie (citado por Rübensam & Monteiro, 2000) verificou que em carne armazenada sob refrigeração a actividade enzimática das catepsinas permaneceu inalterada durante a maturação de três músculos da carcaça de um mesmo animal, enquanto a actividade proteolítica das calpaínas sofria declínio conforme diminuía a força de cisalhamento. Em outra experiência usando o índice de fragmentação miofibrilar e eletroforese das proteínas musculares em gel de dodecilmiliacrilamida de sódio (SDS- PAGE) como controle da degradação proteica, Koomaraie (citado por Rübensam & Monteiro, 2000) em trabalho com carne ovina, observou que, em presença de EDTA e EGTA (quelantes de cálcio), a actividade das calpaínas foi inibida enquanto a actividade das catepsinas permaneceu inalterada, não ocorrendo aumento da fragmentação miofibrilar. Porém, em presença de cloreto de cálcio, houve aumento da fragmentação das miofibrilas com correspondente declínio da actividade das calpaínas, mas sem alteração da actividade das catepsinas lisossomais. O autor também observou um aumento significativo da tenrura da carne de carcaças ovinas que receberam infusão de cloreto de cálcio. Na carne destas carcaças a actividade das catepsinas não

apresentou diferença em relação ao grupo controle, ao contrário das calpaínas, cuja actividade sofreu declínio. Por outro lado, a infusão de carcaças ovinas com solução de cloreto de zinco, potente inibidor das calpaínas, impediu o amaciamento da carne durante o armazenamento em refrigeração, comprovando que o efeito proteolítico das calpaínas foi inibido pelo cloreto de zinco, como havia sido demonstrado por outros autores, enquanto a actividade das catepsinas permanecia inalterada.

Goll *et al.* (citados por Taylor *et al.*,1995b) resume algumas das evidências de que as calpaínas sejam as principais responsáveis pela tenrificação *post mortem*:

1 - Mínima degradação da actina e miosina ocorre durante as primeiras 72 horas de armazenamento a 2-4 °C (Bandman e Zdanis, 1988). No entanto, a maior parte do amaciamento ocorre neste período.

- a) As calpaínas são as únicas enzimas proteolíticas que não degradam actina e miosina.
- b) Sabe-se que as catepsinas degradam actina e miosina.

2 - Mínima degradação da α - actinina, a principal proteína da linha Z, ocorre durante as primeiras 72 horas de maturação (Hwamand e Bandman, 1989).

- a) Muitas catepsinas e muitas outras proteinases, como a tripsina, degradam a linha Z, e esta degradação é acompanhada pela degradação da α - actinina; as calpaínas, porém, são as únicas que degradam a estrutura da linha Z, mas libertam a α - actinina desta estrutura sem a degradar.
- b) A degradação da miosina, actina e α - actinina ocorre durante o armazenamento a 37 °C e esta pode ocorrer por acção das catepsinas.

3 - Há uma mínima proteólise das proteínas musculares durante o armazenamento sob refrigeração.

A estrutura do sarcómero permanece praticamente intacta, com excepção da perda da linha N2 e de pequenas perdas na integridade da linha Z (Stromer *et al.*, 1967).

- a) Actomiosina e α - actinina funcionais podem ser isoladas de músculo esquelético após 13 dias de maturação.

-
- b) Muitos estudos têm falhado em identificar aumento de aminoácidos livres após longos períodos de maturação (Parrish *et al.*, 1969).

4 - Importantes estudos têm mostrado que aumentar a concentração de cálcio no músculo resulta em aumento da tenrura (Penny *et al.*, 1974; Koohmaraie *et al.*, 1988; Koohmaraie & Shackelford, 1991).

- a) Nenhuma das catepsinas nem as proteases multicatalíticas são activadas por cálcio (Koohmaraie, 1992).

5 - Muitos estudos têm mostrado que uma maior tenrificação, por um grande período de maturação, ocorre em músculos que contêm grandes quantidades de calpaínas (principalmente, μ -calpaína) ou baixa actividade de calpastatina. Baixa actividade de calpastatina está directamente associada com maior tenrura *post mortem* (Koohmaraie *et al.* 1988, 1992; Wheeler *et al.*, 1990).

Um grande número de investigadores sugere que a degradação da linha Z é o principal factor do amaciamento *post mortem*. Esta conclusão relaciona com a actividade das calpaínas com o amaciamento *post mortem*, devido a sua capacidade em degradar a linha Z.

Porém, o período da maturação em que ocorre o maior amaciamento da carne não coincide com o período em que se observam alterações da linha Z. Stromer *et al.* (citado por Taylor *et al.*, 1995c) diz que poucas alterações da linha Z são detectadas durante os 3 primeiros dias da maturação, e que poucas alterações nesta estrutura são verificadas, somente após 13 dias ou mais a 2 – 4 °C. A respeito disto, tem-se argumentado que somente poucas linhas Z, provavelmente menos de 5% do total, precisariam ser degradadas para produzir grandes efeitos na tenrura e que pode haver dificuldades para observar estas pequenas alterações por microscopia electrónica (Koohmaraie *et al.*, 1988, 1992; Wheeler *et al.*, 1990).

Huff-Lonergan *et al.* (1995), mostram que a degradação de 2 proteínas miofibrilares, titina e nebulina, por acção de calpaínas está relacionada com o amaciamento que ocorre nos 3 primeiros dias de maturação. Estas 2 proteínas estão presas pela extremidades na linha Z e estendem-se através da banda I e dentro da banda A. Assim, a degradação delas pode resultar em perda da linha Z.

Outras estruturas, as proteínas dos costameros, que ocorrem periodicamente ao longo da miofibrila, ao nível de cada banda I no músculo

esquelético ou linha Z no músculo cardíaco, são, também degradadas pelas calpaínas. Estas proteínas prendem as miofibrilas ao sarcolema, conseqüentemente, a sua degradação pode resultar em afrouxamento da estrutura do músculo.

Mesmo sendo um processo conhecido e utilizado há muitos anos, somente agora se comprovou cientificamente as transformações que ocorrem durante a maturação. No entanto é aparente que a acção de vários complexos enzimáticos na proteólise de proteínas estruturais é determinante na tenrura final (Kemp *et al.*, 2010). De acordo com os mesmos autores, a maciez final da carne depende do grau de alteração das proteínas estruturais associadas ao músculo, especificamente as miofibrilas citoesqueléticas e proteínas dos costameros, tais como titina, desmina e vinculina, actina e miosina (Figura 7 e 8).

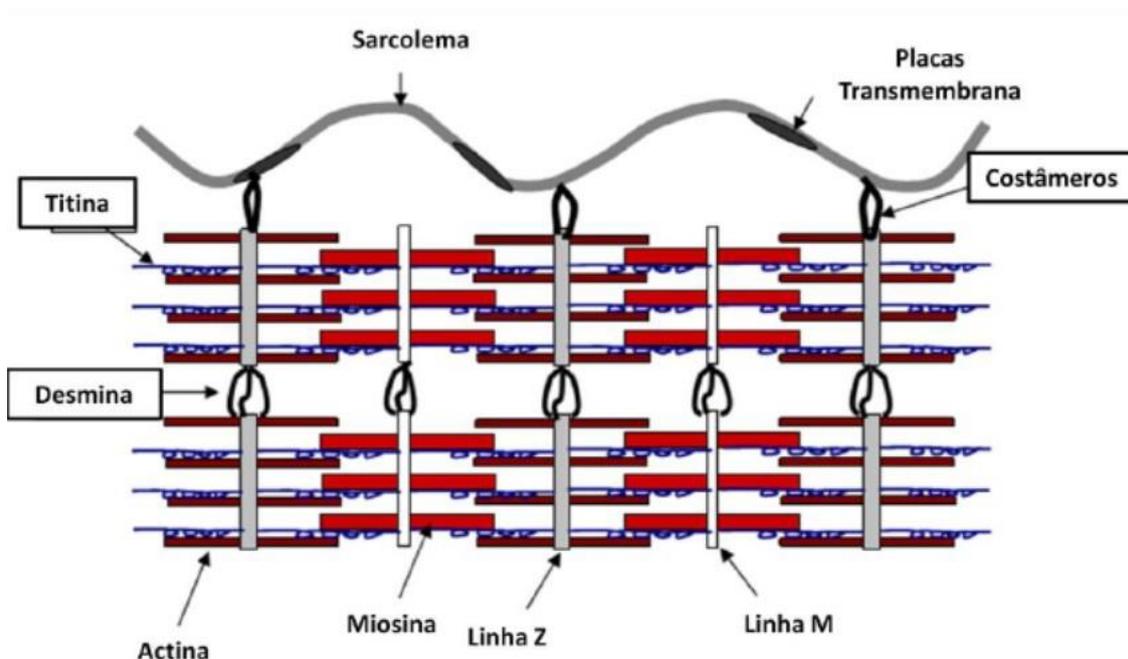


Figura 7 - Representação esquemática das proteínas miofibrilares e principais componentes do sarcômero (Sousa, 2012) Adptado de (Kemp *et al.*, 2010)

Taylor *et al.*, (1995b) referem que as estruturas dos costameros são perdidas durante as primeiras 24 a 72 horas da maturação, paralelamente à perda das linhas N2. Assim, a perda destas duas estruturas, que pode ser mimetizada pelo tratamento de músculos com calpaínas, ocorre no mesmo período em que ocorre o maior amaciamento da carne.

Os costameros também são completamente destruídas dentro das primeiras 72 horas a 4 °C. Conseqüentemente, devido ao importante papel desempenhado por estas estruturas na estabilidade da fibra muscular, a degradação destas poderia contribuir significativamente para a tenrificação na maturação.

Os costameros (do latim *costa*, costela, e do grego *meros*, parte) são estruturas filamentosas transversais responsáveis pela ligação das linhas Z das miofibrilas às placas transmembranárias do sarcolema (Figura 7) Embora pareça que a estrutura e a composição proteica básica dos costameros são semelhantes às placas de adesão focal dos fibroblastos (complexo proteico de integrina – talina – vinculina – actinina α – actina) encontram-se-lhe associadas outras proteínas (desmina, distrofina, anquirina, espectrina, actina α e claritina) (Figura 8). Um segundo conjunto de estruturas filamentosas transversais do tipo costameros são responsáveis pela ligação das linhas M das miofibrilas ao sarcolema. (Prates, 2000a)

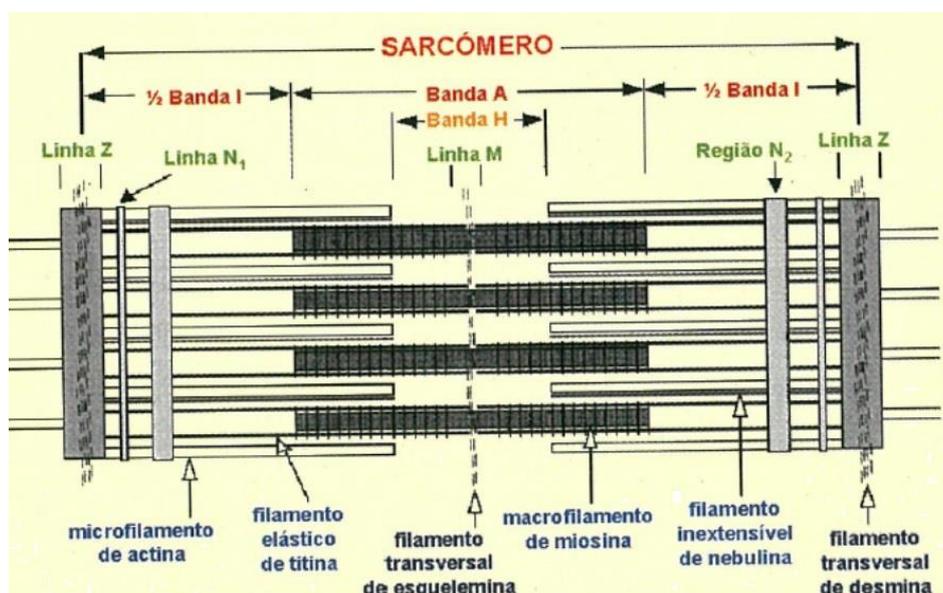


Figura 8 – Diagrama do citoesqueleto do sarcômero da fibra muscular esquelética dos mamíferos (Prates, 2000a)

Taylor *et al.*, (1995b), concluíram que o amaciamento *post mortem* envolve, pelo menos, a interação de 3 factores:

1. aumento do rigor seguido do relaxamento da interação actina/miosina, o que aumenta muito a maciez nas primeiras 24 a 72 horas.

-
2. ruptura ou relaxamento das conexões entre os filamentos finos na banda I e na linha Z, principalmente devido à degradação da titina e nebulina.
 3. degradação dos costameros e ligações intermiofibrilares.

Dependendo do estado fisiológico do animal ao abate e das condições de temperatura de armazenamento após o abate, qualquer combinação destes 3 eventos descritos pode ter um efeito predominante no amaciamento da carne. O grande aumento no rigor observado nas primeiras 24 horas certamente ocorre pela interacção actina/miosina. Não está claro se o decréscimo do rigor observado entre 24 e 72 horas pelo relaxamento desta estrutura é devido aos eventos 2 e 3 supracitados. O que se pode afirmar é que o relaxamento da actina/miosina representa uma grande parte deste processo, e que os eventos 2 e 3 são responsáveis por uma parte dele, talvez 50%. A degradação das proteínas desmina, titina, nebulina e vinculina poderia contribuir para a continuidade do amaciamento, principalmente após 4 – 6 dias. A degradação destas proteínas no período entre 24 e 48 horas é encoberta pelo efeito da actomiosina. Somente após o relaxamento desta interacção é que se observa o efeito da degradação destas proteínas.

A degradação da titina e nebulina, quase completa após 72 horas, provavelmente resulta em um significativo relaxamento da interacção entre os filamentos finos e a linha Z.

Os costameros também são completamente destruídos dentro das primeiras 72 horas a 4 °C. Consequentemente, devido ao importante papel desempenhado por estas estruturas na estabilidade da fibra muscular, a degradação destas poderia contribuir significativamente no amaciamento durante a maturação.

Este modelo de tenrificação *post mortem* proposto por Taylor *et al.*, (1995b) difere portanto, dos modelos que relacionam principalmente a degradação da linha Z, mas não diminuem a importância central dos sistemas das calpaínas neste processo, uma vez que os processos de degradação descritos são consequência da acção das calpaínas.

Existem várias enzimas que estão envolvidas no processo proteolítico, entre elas as catepsinas, proteossomas, calpaínas, calpastatins e caspases. As catepsinas são enzimas compostas a partir de exo e endopeptidases, formando três grupos: Cisteínas (catepsinas B, H, L, X), Aspárticas (catepsinas D, E) e Serinas (catepsina G) (Sentandreu *et al.*, 2002). De acordo com Whipple *et al.* (1990), estas estão pouco associadas à variação na sensibilidade da carne. No entanto, o efeito proteolítico dessas enzimas é demonstrado em vários trabalhos com carne bovina (Zamora *et al.*, 2005; O'Halloran *et al.*, 1997; Hopkins & Taylor, 2002).

Outras enzimas descritas na literatura como os proteossomas, estão envolvidas no processo de maturação da carne por meio da degradação de proteínas do citosol e do núcleo (Coux *et al.*, 1996). De acordo com Robert *et al.* (1999) tais enzimas são abundantes no músculo esquelético. Estes autores mostraram que essas enzimas foram capazes de causar proteólise de proteínas miofibrilares, incluindo a nebulina, miosina, actina e tropomiosina. Este efeito também foi observado por Taylor *et al.* (1995b). Vários estudos estão a tentar demonstrar que o sistema proteolítico calpaína desempenha um papel central na proteólise *post mortem* e no amaciamento da carne. No músculo esquelético, o sistema calpaína é composto em pelo menos três proteases, a μ -calpaína, m-calpaína e calpaína 3, e um inibidor, calpastatina. Entretanto há controvérsias sobre o envolvimento da calpaína 3 no processo proteolítico (Koohmaraie & Gessink, 2006). Recentemente têm sugerindo que a família das caspases poderia actuar durante a proteólise muscular (Ouali *et al.*, 2006; Sentandreu *et al.*, 2002). Essas enzimas pertencem à família da cisteína proteases de aspartato, identificadas por actuar durante o processo de apoptose ou inflamação, e podem ser divididas em caspases iniciadoras e caspases efectoras (Kemp *et al.*, 2010). Com tantos factores envolvidos na determinação do amaciamento da carne, torna-se difícil a compreensão geral acerca dos mecanismos responsáveis por este processo. A partir disso, deve-se continuar a procurar ferramentas experimentais para elucidar o envolvimento de todo esse complexo enzimático.

Calpaínas são enzimas proteolíticas presentes em todas as células eucarióticas examinadas até o momento e também em células de animais invertebrados. As calpaínas estão envolvidas em processos de proteólise de proteínas musculares decorrentes de distrofia muscular de mamíferos e aves

estando, ainda, envolvidas na destruição dos tecidos sinoviais em artrites reumatóides (Després *et al.* citado por Rübensam e Monteiro, 2000).

Estas enzimas são endopeptidases intracelulares, não lisossomais. Apresentam-se sob 2 formas μ -calpaínas e m-calpaínas. Foram denominadas, inicialmente, como factor de activação da quinase (em inglês “KAF”), factor activado pelo cálcio (em inglês “CAF”), protease neutra activada pelo cálcio (em inglês “CANP”) e protease dependente de cálcio (em inglês “CDP”). São encontradas em homogeneizados de tecidos com seu o inibidor específico, a calpastatina.

As calpaínas apresentam absoluta dependência de iões cálcio para manifestarem a sua actividade proteolítica. O requerimento de iões cálcio para μ -calpaínas varia de 5 a 45 μ M e para m-calpaínas, de 200 a 1000 μ M (Dayton *et al.*; Koohmaraie, citados por Rübensam e Monteiro, 2000). No músculo, a concentração de iões cálcio é suficiente para activar a μ -calpaína, responsável pelo processo proteolítico que se instala na célula muscular (Goll *et al.*, 1991; Koohmaraie, 1992).

As calpaínas, em presença de cálcio, sofrem autólise, mesmo na presença de substrato. A autólise tem um papel fisiológico importante pois a actividade catalítica destas proteinases depende disso (Koohmaraie, 1994).

Uma das descobertas mais importantes em trabalhos que envolveram as calpaínas é o facto de que, após a autólise, ambas as formas μ -calpaínas e m-calpaínas, tornam-se sensíveis a concentrações mais baixas de cálcio. Somente a μ -calpaína autolisada pode ter actividade proteolítica na concentração de 0,2 a 0,8 μ M de iões cálcio existente na célula muscular. A isoforma milimolar de calpaína, em solução de cloreto de cálcio 1mM, dissocia-se em duas subunidades, mas não em cloreto de cálcio a 100 μ M.

A actividade proteolítica das calpaínas é regulada pela calpastatina, proteína que exerce acção inibidora específica. Quanto mais calpastatina na célula, mais baixo é o requerimento de iões cálcio para a actividade das calpaínas. A quantidade de calpaína que pode ser activada, mantendo a mesma concentração de cálcio, é controlada pela concentração de calpastatina. Calpastatinas já foram purificadas a partir de diferentes tecidos humanos e de várias espécies animais.

Como já foi visto anteriormente, o processo de conversão do músculo em

carne é complexo e envolve uma série de alterações no metabolismo celular, bem como na estrutura proteica, que se caracteriza pelo *rigor mortis*, queda do pH, glicólise, esgotamento das reservas de ATP, queda da temperatura do músculo, aumento da concentração de iões cálcio no citosol, entre outras. A combinação destes eventos resulta no aparecimento de novas condições intracelulares, muito diferentes daquelas encontradas na célula muscular viva.

Não se sabe ao certo quanto estas modificações podem afectar os sistemas enzimáticos intracelulares. Mas favorecem a actividade das calpaínas, resultando no amaciamento da carne após o *rigor mortis* (Koohmaraie; Huff-Lonergan *et al.*, citados por Rübensam e Monteiro, 2000).

Sabe-se que a actividade das calpaínas é inibida especificamente pela calpastatina. Porém, a natureza desta regulação ainda não foi bem definida. A velocidade de inactivação da calpastatina é altamente correlacionada com o amaciamento durante a maturação da carne. Em geral, alta actividade de calpastatina é relacionada a uma reduzida degradação das proteínas miofibrilares nos músculos de bovinos, nos quais a actividade de calpastatina se sobrepõe à da μ -calpaína (Koohmaraie *et al.*; 2000)

O grau de severidade dos fenómenos que acompanham a rigidez cadavérica dependem do estado nutricional do animal na altura do abate e da temperatura à qual as carcaças são tratadas. Num animal esfomeado ou submetido a stresse, a reserva de glicogénio é pequena, após a morte segue-se uma descida rápida do teor em ATP do músculo.

A maturação (aging), refere-se, ao processo pelo qual a carne fresca é armazenada por vários períodos, sob condições controladas, para uma melhoria na tenrura e no sabor.

O valor inicial do pH, no momento do abate é aproximado a 7,0, desce com o ataque do *rigor mortis* e aumenta depois gradualmente, com armazenagem, a temperatura de refrigeração ou com outras temperaturas e condições de maturação. Como a refrigeração opõe-se ao desenvolvimento das bactérias mesófilas e prolonga o tempo do *rigor mortis*, as catepsinas podem manifestar a sua actividade e a sua autólise, daí resultando a maturação.

A melhoria na tenrura obtida durante a maturação é atribuída à resolução da rigidez cadavérica e à proteólise autolítica, pois a carne que tenha sofrido a

maturação, comparada com a carne fresca, tem maior percentagem de azoto aminado livre e creatina, mas menos proteína solúvel. (Koochmaraie *et al.*, 2000)

A maturação da carne também pode ser conseguida, utilizando temperaturas mais altas. Pode dizer-se que este é um processo rápido de maturação, por se fazer durante um período de tempo muito mais curto. Constitui um processo de maturação comercial, muito utilizado nos U.S.A., em que se utilizam temperaturas de 20 °C, controlando-se a deterioração microbiana com as radiações ultravioleta (processo Rentschler). A maturação a 0,5 °C para além de duas semanas podem ser indesejável, contudo estas carnes por vezes são procuradas e preferidas por gastrónomos.

A carne de vaca é mais frequentemente maturada do que a carne de porco, vitela ou carneiro, devido ao facto desta carne ser naturalmente menos tenra. A carne de vitela e porco são normalmente bastante tenras, é rara a sua maturação. As carcaças de carneiro também se submetem a maturação como carcaças inteiras, podendo ocasionalmente os lombos e as costeletas serem submetidas a um período de maturação.

A duração do período de maturação é muito importante, pois se for muito prolongado a carne pode tornar-se friável, bem como adquirir sabores e aromas estranhos. No caso de a carne se destinar à congelação, o período de maturação deve ser relativamente curto porque os períodos longos de maturação, oxidam ligeiramente as gorduras, o que vai limitar o período de conservação em congelação das carcaças.

Relativamente a alterações das fibras musculares sob a acção da maturação, pouco se sabe, a não ser que a estrutura histológica é alterada, sobretudo a estriação transversal, talvez por acção das enzimas autolíticas. O sarcolema mantém-se intacto.

O tecido muscular esquelético contém inúmeras enzimas que actuam em diversas vias metabólicas no tecido vivo e permanecem activos no músculo esquelético no período *post mortem* e promovem alterações na qualidade final da carne. Os sistemas enzimáticos catepsina, calpaína e caspase tem sido investigados ao longo dos anos para determinação do papel desempenhado na proteólise *post mortem* e tenrificação da carne, como temos visto.

A fragmentação miofibrilar e de proteínas citoesqueléticas são resultado da activação de sistemas enzimáticos proteolíticos. As principais proteínas deste processo são as miofibrilas citoesqueléticas e proteínas dos costameros tais como titina, desmina e vinculina como evidenciaram (Goll et al., 1992; Koohmaraie & Geesink, 2006).

Na tabela 1 de acordo com vários autores, podemos observar os factores responsáveis pelas modificações físicas, bioquímicas e/ou estruturais características da transformação do músculo esquelético de mamífero em carne.

A qualidade microbiológica, tenrura e massa, têm que se conjugar para a obtenção de um bom produto e com valor económico. Estes tratamentos actuam muitas vezes em sentido oposto, pelo que se observa a tenrura da carne, a sua qualidade bacteriológica e as perdas de massa durante a conservação e deste modo é necessário chegar-se a um acerto, de maneira a obter um produto tão satisfatório quanto possível.

Tabela 1 - Factores sugeridos como responsáveis pelas modificações físicas, bioquímicas e/ou estruturais características da transformação do músculo esquelético de mamífero em carne: adaptado de (Prates J.M. 2000b)

FACTORES E CONDIÇÕES DE ACTUAÇÃO	CARNE	REFERÊNCIA
1 - Factores físico-químicos		
pH: - Velocidade glicolítica - Potencial glicolítico	Mamífero Mamífero	Ouali (1991) Watanabe <i>et al.</i> (1996)
Pressão osmótica: - Acção isolada - Sinergismo com as endopeptidases	Mamífero Mamífero	Winger e Pope (1981) Wu e Smith (1987)
Iões Cálcio: - Teoria do cálcio para a tenrificação da carne - Teoria do domínio PEVK da titina para textura da carne - Tenrificação da carne em maturações prolongadas - <i>Salting-in</i> selectivo de proteínas miofibrilares (30mmol/l)	Mamífero Mamífero Mamífero Mamífero	Takahashi (1996) Tanabe <i>et al.</i> (1997) Takahashi (1996) Taylor e Etherington (1991)
Processos oxidativos: - Radicais livres de oxigénio - Oxido nítrico (fase inicial da maturação)	Bovino Bovino	Martunaud <i>et al</i> (1997) Cook <i>et al</i> (1998)
2 - Enzimas sem actividade péptido hidrolásica		
- Enzimas glicolíticas e ATPases	Bovino	Oísson <i>et al</i> (1994)
- Glicosidasas lisossomais	Bovino Suíno	Nishimura <i>et al</i> (1998) Takahashi (1996)
3 - Péptido hidrolases		
Péptido hidrólases em geral: - Acção sequencial das endo e exopeptidases - Teoria dos filamentos de titina para tenrificação da carne	Mamífero Mamífero	Roncalés <i>et al</i> (1998) Locker (1987)
4 - Catepsinas		
Catepsinas em geral: - Acção isolada - Sinergismo com aa calpaínas - Acção sequencial das calpaínas e catepsinas	Mamífero Mamífero Mamífero	Chambers <i>et all</i> (1994) Roncalés <i>et al</i> (1995) Taylor <i>et al</i> (1995b)
Catepsina B - Acção isolada - Associação com a catepsina L (Teoria das linhas N ₂) - Associação com a catepsina H e a μ -calpaína	Mamífero Mamífero Bovino	Noda <i>et al</i> (1981) Valin e Ouali (1992) Calkins e Seideman (1988)

FACTORES E CONDIÇÕES DE ACTUAÇÃO	CARNE	REFERÊNCIA
Catepsina L - Acção isolada - Associação com a catepsina B (Teoria das linhas N2)	Mamífero Mamífero	Mikami <i>et al</i> (1987) Valin e Ouali (1992)
Catepsina H - Associação com a catepsina B e a μ -calpaína	Bovino	Calkins e Seideman (1988)
Catepsina D - Maturação da carne a +10 °C - Armazenamento da carne entre +15 e +55 °C - Maturação de miofibrilas acidificadas a +5 °C - Tenrificação da carne em maturações prolongadas (+4 °C)	Bovino Bovino Mamífero Mamífero	Alarcon-Roijo e Dransfiel (1995) Zeece e Kalon (1989) Sauderes (1994) Nishimura <i>et al</i> (1998)
5 - Calpaínas		
Calpaína em geral: - Teoria da linha Z para a tenrificação da carne - Teoria de Taylor <i>et al</i> , (1995a) para a tenrificação da carne - Teoria do costameros para a tenrificação da carne - Sinergismo com as catepsinas - Acção sequencial das calpaínas e catepsinas	Mamífero Mamífero Mamífero Mamífero Mamífero	Robson (1995) Taylor <i>et al</i> (1995a) Dransfiel <i>et al</i> (1995) Roncalés <i>et al</i> (1995) Taylor <i>et al</i> (1995b)
μ-Calpaína - Acção isolada - Associação com a m-calpaína - Associação com as catepsina B e H	Bovino Mamífero Bovino	Thomson <i>et al</i> (1996) Dransfiel <i>et al</i> (1994b) Calkins e Seideman (1988)
m- Calpaínas - Acção isolada - Associação com a μ -calpaína - Activação em carne adicionada de iões cálcio (10mmol/l)	Ovino Mamífero Bovino	Whipple e Koohmaraie (1991) Dransfiel <i>et al</i> (1994b) Wheeler <i>et al</i> (1997)
6 - Complexo endopeptidásico multicatalítico		
CEM em geral	Bovino	Dutaud <i>et al</i> (1996)
CEM	Coelho	Otsuka <i>et al.</i> (1998)
7 - Outras endopeptidases musculares		
Colagenase intersticial	Mamífero	McCormick (1992)
Endopeptidase desconhecidas	Mamífero	Whipple <i>et al.</i> (1990)
8 - Exopeptidases		
Exopeptidases em geral	Mamífero	Feidt <i>et al.</i> (1998)
Sistema das aminopeptidases	Mamífero	Nishimura <i>et al</i> (1996)

4 – Consequências da maturação sobre a qualidade organoléptica da carne

Os factores que influenciam a qualidade visual e gustativa da carne foram divididos em duas categorias: os *ante mortem*, ou intrínsecos, (stresse, genética, alimentação, idade) e os *post mortem*, ou extrínsecos (estimulação eléctrica, aplicação do frio, maturação, métodos de cozedura). Na primeira categoria encontram-se os factores vinculados ao genótipo dos animais e às condições ambientais em que se desenvolveram. Na segunda estão aqueles que se confundem com os procedimentos técnicos adoptados pelos matadouros-frigoríficos e demais segmentos, até ao consumidor final. (Felicio, 1997)

As condições de manejo pré e pós-abate estão directamente relacionadas à qualidade nutricional e sensorial da carne. A espécie, raça, sexo, peso corporal, dieta, tempo de maturação e suas interacções são considerados como agentes formadores do *flavour* e apresentam influência sobre a aceitabilidade do produto pelos consumidores (Khan *et al.*, 2015).

A figura 9 relacionando os resultados da transformação do músculo em carne e características organolépticas e tecnológicas resultantes.

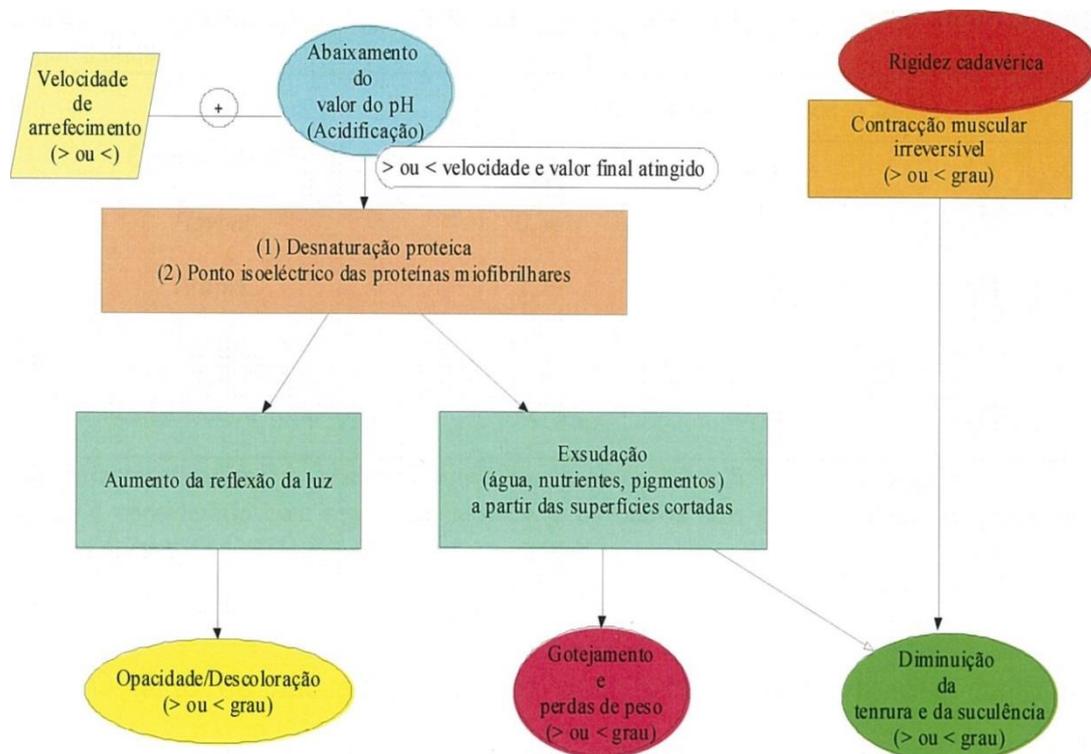


Figura 9 – Diagrama relacionando os resultados da transformação do músculo em carne e características organolépticas e tecnológicas resultantes. (Lawrie, 1989; Warriss 2000) adaptado por Raimundo, 2009

O processo de conversão do músculo em carne, com diferentes graus de degradação enzimática e desnaturação de proteínas, pode resultar em marcantes variações nas propriedades da carne, como a capacidade de retenção de água, cor e firmeza da carne fresca, tenrura, sabor e suculência da carne preparada para consumo e capacidade de emulsificação das matérias primas, rendimentos de processo e cor dos produtos processados. Estas últimas propriedades, referentes ao processamento, são comumente agrupadas sob o termo “qualidade tecnológica da carne”, principalmente porque as suas alterações atingem com maior intensidade e frequência a carne da espécie suína. Embora existam alguns factores, como a idade ou maturidade fisiológica e os métodos de cocção, que influenciam as propriedades físicas da carne sem afectar o processo de conversão, praticamente todos os outros causam alterações no processo, seja porque modificam a curva de declínio de pH em função do tempo *post mortem*, seja porque promovem ou permitem que ocorra o encolhimento das miofibrilas (estrutura contráctil da célula muscular), em grau variável, durante o estabelecimento do *rigor mortis*, ou, ainda, porque influenciam a velocidade ou a extensão da proteólise enzimática, durante a maturação. (Felicio, 1997)

As características das quais depende a palatibilidade da carne são o sabor, a cor, o aroma, a suculência e a tenrura. As pesquisas até hoje feitas para correlacionar as propriedades físicas e químicas da carne, com as suas características de palatibilidade estão ainda longe de serem convenientemente interpretadas, pelo que a apreciação organoléptica é ainda o resultado de testes subjectivos. (Farraia da Graça, 1987)

Sucessiva e proporcionalmente, à medida que a carne envelhece a sua dureza atenua-se e a textura após a cozedura melhora.

Um melhor conhecimento destes fenómenos permitirá orientá-los, num sentido favorável, com intervenção ao nível da força iónica e do pH, etc.; Constatou-se, por exemplo, que uma injeção de solução de sulfato de magnésio, antes do abate, reduz a perda de líquido que acompanha a descongelação.

As enzimas proteolíticas endógenas do músculo não têm acção sobre as miofibrilas, nem sobre o colagénio, excepto se o tecido for mantido à temperatura de 37 °C, não se constatou, com efeito qualquer proteólise visível da carne durante a maturação, a uma temperatura de 0 a 25 °C. (Whipple *et al.*, 1990)

No caso da carne de vaca, a determinação da rigidez cadavérica demora 3 a 4 semanas a uma temperatura de -1,5°C, 15 dias a 0°C, 2 dias a 20°C e 1 dia a 43°C.

A atenuação da dureza é tanto mais acentuada quanto a rigidez inicial seja menos severa.

A maturação da carne é acompanhada por outras reacções a oxidação dos lípidos pode dar origem a odores indesejáveis. Pelo contrário, a formação de nucleótidos e a formação de amoníaco, de hidrogénio sulfurado, de acetaldéido, de acetilo, de acetona, dentro de certos limites – são favoráveis para o sabor e para o aroma.

TENRURA

A carne, logo após o abate, é dura. O tratamento ao qual se submetem as carcaças após o abate é muito importante no que respeita à sua posterior tenrura. Um tratamento apropriado, como a estimulação eléctrica das carcaças, permite atenuar as contracções no momento da entrada em rigidez, pois a contracção é sinónimo de dureza.

Alguns autores interpretam a melhoria da tenrura, principalmente como sendo devida ao amolecimento do colagénio. Outros são da opinião que as modificações no tecido conectivo não explicam a tenrura produzida pela maturação.

Do mesmo modo, uma ligeira despolimerização do colagénio, pode ser observada no decurso da maturação e estar ligada à evolução da tenrura. Contudo, a quantidade de colagénio e o seu grau de polimerização (que é função da idade do animal), é sempre um factor limitante para a tenrura da carne. Retenha-se que com o avanço da idade do animal, o tropocolagénio passa sucessivamente de termolábil a termo estável, donde a sua transformação em gelatina pela cozedura tende a diminuir. (Whipple *et al.*, 1990)

Segundo Bernard *et al.* (2007), vários genes já foram associados à tenrura da carne de bovinos, entre eles os mais estudados são aqueles relacionados ao complexo calpaína/calpastatina, que é considerado o principal sistema responsável pelo processo de amaciamento *post mortem* devido ao processo de proteólise dos componentes estruturais da musculatura esquelética.

SUCULÊNCIA-ASPECTO

Estas duas qualidades estão ligadas à capacidade de retenção de água da carne e portanto à evolução das proteínas miofibrilares. A maturação tem tendência para aumentar ligeiramente a capacidade de retenção da água da carne aumentando o número de cargas livres das proteínas. A capacidade de retenção de água condiciona a suculência, especialmente durante os primeiros momentos da mastigação. Também se encontra relacionada com a sensação de dureza e com a percepção da cor. A capacidade de retenção de água é um parâmetro muito importante na qualidade da carne, não só pela aparência e suculência mas também pela influencia em processos de desidratação e difusão de sal no interior de peças inteiras, como seja nos produtos de salsicharia.

FLAVOUR

A carne fresca em estado cru tem um sabor suave, difícil de avaliar e descrever. A carne crua tem um "flavour" pouco pronunciado, É a cozedura que permite o desenvolvimento dos "flavours" característicos de cada carne. A análise cromatográfica dos compostos voláteis libertados no momento da cozedura põe em evidência um grande número de compostos orgânicos. As reacções de Maillard (ácidos aminados-açúcares), podem ser tidas como responsáveis pelo aparecimento de vários compostos. O "flavour" específico de cada carne, provém da oxidação dos ácidos gordos desta carne, cuja natureza e proporção variam com a espécie animal. Na realidade, é possível que os lípidos intervenham de duas maneiras diferentes: (Baines e Milokiewics, 1984) (Figura 10)

1. Pela oxidação dos ácidos gordos livres insaturados, com libertação de compostos carbonilicos (porco).

2. Pela presença nestas gorduras de compostos aromáticos lipossolúveis, libertados no momento da cozedura (carneiro).

Parece que a idade, sexo e a raça dos animais não exercem tanta influência sobre o "bouquet" das carnes. A dieta constitui um factor importante no desenvolvimento de aromas e sabores desagradáveis na carne, contudo também pode constituir um meio de manipular o "bouquet", por exemplo encapsulando suplementos alimentares. (Lawrie, 1984).

A utilização de embalagens a vácuo para armazenamento em refrigeração e congelamento de carne, proporciona um meio eficaz de prolongar o tempo de prateleira e no futuro próximo, as investigações apontam para a utilização de flora microbiana da carne sobre o efeito do “bouquet” durante a conservação. (Lawrie, 1984).

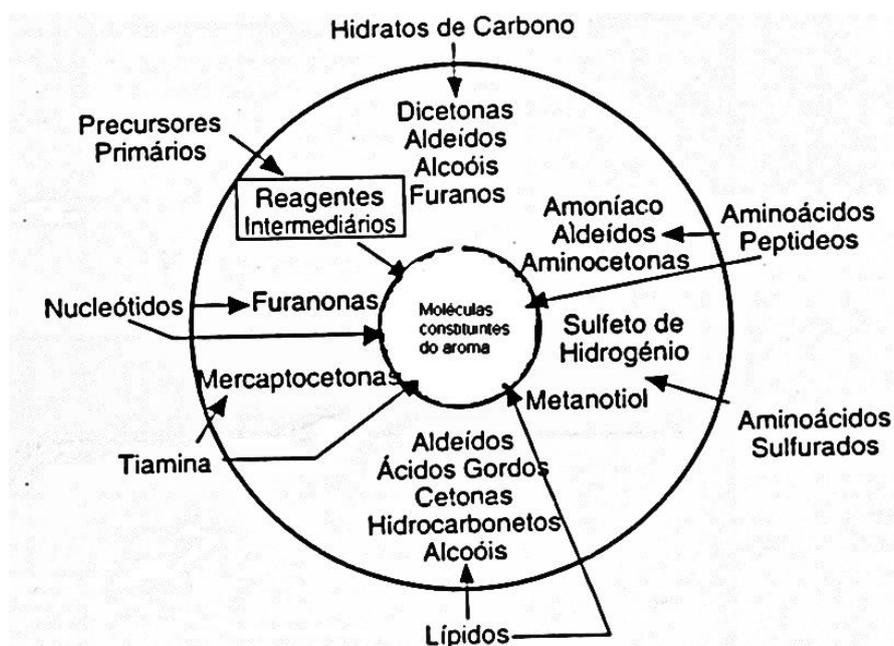


Figura 10 – Compostos aromáticos na carne. (Baines e Milokiewics, 1984)

COR

A intensidade da cor da carne fresca reflecte a quantidade de mioglobina (Mb) presente, o seu estado químico, a luminosidade e o estado físico da carne, dependendo este do pH e da velocidade de descida do pH e estrutura das proteínas. (Lawrie, 1974)

Os pigmentos heme são responsáveis pela cor da carne. A mioglobina (Mb) é o seu principal pigmento, sendo que a hemoglobina, que é o pigmento do sangue, é de importância secundária. A maior parte da hemoglobina é removida quando os animais são abatidos e sangrados. Dessa forma, com o sangramento devido, a Mb de tecido muscular é responsável por 90% ou mais da pigmentação. A quantidade de Mb varia consideravelmente entre os tecidos musculares, sendo influenciada pela espécie, idade, género e actividade física.

O teor de hemoglobina só influenciará a cor da carne se o processo de sangria for mal executado. Aspectos como idade, sexo, músculo e actividade física afectam a cor da carne. A cor natural e ideal da carne é um vermelho brilhante.

A evolução da cor no decurso da maturação está ligada às modificações da mioglobina e também da estrutura da superfície reflectora. A mioglobina pode existir, como já se referiu, sob três formas, em função do seu grau de oxidação.

Imediatamente após o abate, a mioglobina encontra-se sob a forma reduzida.

No momento do corte, em contacto com o oxigénio do ar, transforma-se em oximioglobina, adquirindo a carne uma cor agradável, vermelho vivo. No decurso da maturação a globina é desnaturada (pH, temperatura...) sendo então a formação de metamioglobina acelerada.

No caso das carnes exsudativas, a queda do pH provoca uma desnaturação rápida da globina e a formação de metamioglobina, que conjugada com exsudação importante, confere então à carne a cor escura acinzentada característica.

As Carnes que conservam um pH elevado e que retêm uma grande quantidade de água têm uma coloração escura carregada.

As carnes vermelhas são as principais fontes de proteínas de alto valor biológico, minerais, ferro, zinco, fósforo e magnésio e vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, B6 e B12, um alimento de alta densidade nutricional, e de baixo valor calórico. (Felicio, 1997)

A qualidade da carne também é influenciada por vários factores nutricionais da dieta animal. Uma das influências da alimentação é na tenrura da carne, que está associada principalmente ao teor de gordura intramuscular da carcaça que garante à carne mais suculência, aroma, sabor e tenrura, devido aos espaços formados entre as fibras quando é cozida. A gordura também confere valor nutritivo, como fonte de energia, de ácidos gordos essenciais e de vitaminas lipossolúveis.

Que carne comeremos?

Será que o que acabámos de estudar é mais passado do que futuro?

Uma alternativa completamente diferente para produzir carne, têm sido os esforços realizados para preparar **carne artificial**, a partir de fibras proteicas isoladas utilizando células vegetais e microbianas com desperdícios dos matadouros. (Lawrie, 1998).

A Carne cultivada, também conhecida como **carne de laboratório**, **carne de cultura** ou ainda **carne *in vitro***, é a carne que nunca foi parte de um animal vivo completo. Muitos biólogos alegam que esta tecnologia está pronta para uso comercial. Segundo estes, a produção de carne criada em laboratório poderia até mesmo ser mais barata que a carne comum, considerando que na carne tradicional os custos incluem o crescimento do animal e a protecção ambiental (salientando que há poucos pontos negativos associados à carne *in vitro*).

Cientistas da Universidade de Maastricht, na Holanda, que produziram o primeiro hambúrguer em laboratório do mundo, querem agora vendê-lo. De acordo com os investigadores, a carne artificial será mais saborosa e barata do que as carnes tradicionais vendidas actualmente. O hambúrguer foi sintetizado pela primeira vez em 2013 e custou 250 mil euros.

III - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alarcon-Rojo, A., & Dransfield, E. (1995). Alteration of post-mortem ageing in beef by the addition of enzyme inhibitors and activators. *Meat Science*, 41(2), 163-178. doi:10.1016/0309-1740(95)99781-v

Bandman, E., & Zdanis, D. (1988). An immunological method to assess protein degradation in post-mortem muscle. *Meat Science*, 22(1), 1-19. doi:10.1016/0309-1740(88)90023-x

Baines, D.A. & Mlotkiewicz, J.A. (1984). In: A.J. Bailey (Eds.), *Recent Advances in the Chemistry of Meat*. London: Royal Society Chemistry.

Bernard, C., Cassar-Malek, I., Le Cunff, M., Dubroeuq, H., Renand, G., & Hocquette, J. (2007). New Indicators of Beef Sensory Quality Revealed by Expression of Specific Genes. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 55(13), 5229-5237. doi:10.1021/jf063372l

Calkins, C., & Seideman, S. (1988). Relationships among Calcium-Dependent Protease, Cathepsins B and H, Meat Tenderness and the Response of Muscle to Aging. *Journal Of Animal Science*, 66(5), 1186-1193. doi:10.2527/jas1988.6651186x

Chamber, J., Reville, W. & Zeece, M. (1994). Lysosomal integrity in post mortem bovine skeletal muscle. *Sciences des Aliments*, 14, 441-457.

Cook, C., Scott, S., & Devine, C. (1998). Measurement of nitric oxide and the effect of enhancing or inhibiting it on tenderness changes of meat. *Meat Science*, 48(1-2), 85-89. doi:10.1016/s0309-1740(97)00079-x

Coux, O., Tanaka, K., & Goldberg, A. (1996). Structure and Functions of the 20S and 26S Proteasomes. *Annual Review Of Biochemistry*, 65(1), 801-847. doi:10.1146/annurev.bi.65.070196.004101

Dransfield, E. (1994). Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Science*, 36(1-2), 105-121. doi:10.1016/0309-1740(94)90037-x

Dransfield, E., Lacourt, A., & Lacourt, P. (1995). Fibre fracture of Bovine m. pectoralis profundus muscle cooked pre- and postrigor. *Journal Of Texture Studies*, 26(1), 71-87. doi:10.1111/j.1745-4603.1995.tb00785.x

Dutaud, D., Taylor, R., Picard, B., Ouali, A., Robert, N., Briand, M. & Briand, Y. (1998). Le protéasome: une nouvelle protease impliquée dans la maturation de la viande?. *Viandes et Produits Carnés*, 17(6), 333-335.

Farraia da Graça, J.C. (1997). Ciência da Carne. *Publicações Ciência e Vida*, (Nº6).

Feidt, C., Brun-Bellut, J., & Dransfield, E. (1998). Liberation of peptides during meat storage and their interaction with proteinase activity. *Meat Science*, 49(2), 223-231. doi:10.1016/s0309-1740(97)00118-6

Felício, P. E. (1993). Fatores *ante e post mortem* que influenciam na qualidade da carne vermelha. In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia (pp. 43-52). Rio de Janeiro: SBZ.

Felício, P. E. (1997). Fatores *ante e post mortem* que influenciam na qualidade da carne bovina. In: Peixoto, A.M., Moura, J.C., Faria, V.P. (Org). *Produção de Novilho de Corte*. Piraciaba, SP: FEALQ.

Forrest (1979). *Fundamentos de Ciência de la carne*. Editorial Acribia.

Geneser, F. (2000). *Histologia* (3ª ed., pp. 305-321). México: Editorial Médica Panamiana.

Goll, D. E., Dayton, W.R., Singh, I & Robson, R.M. (1991). Studies of the actinin/actin interaction in Z-disk by using calpain. *The Journal of Biological Chemistry*, 266(13), 8501-8510.

Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G., & Christiansen, J. A. (1992). Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie*, 74(3), 225-237. doi:10.1016/0300-9084(92)90121-t

Hopkins, D. L. & Taylor, R. G. (2002). Post-mortem muscle proteolysis and meat tenderisation. In: M. te Pas, M. Everts, & H. Haagsman (Eds.), *Muscle development of livestock animals* (pp. 363-389). Cambridge, MA, USA: CAB International.

-
- Huff-Lonergan, E., Parrish, F.C., Robson, R. M. (1995). Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 73(4). doi:1064-1073. 10.2527/1995.7341064x
- Hwan, S., & Bandman, E. (1989). Studies of Desmin and α -Actinin Degradation in Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science*, 54(6), 1426-1430. doi:10.1111/j.1365-2621.1989.tb05126.x
- Kemp, C., King, D., Shackelford, S., Wheeler, T., & Koohmaraie, M. (2009). The caspase proteolytic system in callipyge and normal lambs in longissimus, semimembranosus, and infraspinatus muscles during postmortem storage. *Journal of Animal Science*, 87(9), 2943-2951. doi:10.2527/jas.2009-1790
- Kemp, C., Sensky, P., Bardsley, R., Buttery, P., & Parr, T. (2010). Tenderness – An enzymatic view. *Meat Science*, 84(2), 248-256. doi:10.1016/j.meatsci.2009.06.008
- Khan, M., Jo, C., & Tariq, M. (2015). Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. *Meat Science*, 110, 278-284. doi:10.1016/j.meatsci.2015.08.002
- Koohmaraie, M., Seideman, S., Schollmeyer, J., Dutson, T., & Babiker, A. (1988). Factors Associated with the Tenderness of Three Bovine Muscles. *Journal of Food Science*, 53(2), 407-410. doi:10.1111/j.1365-2621.1988.tb07717.x
- Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D., Crouse, J., & Mersmann, H. (1991). Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 69(2), 617-624. doi:10.2527/1991.692617x
- Koohmaraie, M. (1992). Role of the neutral proteinases in postmortem muscle protein degradation and meat tenderness. In: Proc. Rec. Meat Conference, Colorado State University, 45. 63-71.
- Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36(1-2), 93-104. doi:10.1016/0309-1740(94)90036-1
- Koohmaraie, M. (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, 43, 193-201. doi:10.1016/0309-1740(96)00065-4

-
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43. doi:10.1016/j.meatsci.2006.04.025
- Lawrie, R. A. (1974). *Meat Science* (2^a ed., 419p.). Oxford: Pergamond.
- Lawrie, R. A. (1984). *Avance de la Ciencia de la carne*. Zaragoza: Acribia.
- Lawrie, R. A. (1998). *Lawrie's meat science* (6^a ed.). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Locker, R. (1987). The non-sliding filaments of the sarcomere. *Meat Science*, 20(3), 217-236. doi:10.1016/0309-1740(87)90013-1
- López, N. *et al.* (2001). Tecnologia de elaboración de produtos cozido. In Martín Bejarano, S. (2001). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos* (Vol. II, Cap. 4). Plasencia (Cáceres): Martin & Macias.
- Mantese, F. (2002). *Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal (VET00036) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS*. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/carne.pdf>, Acedido em 3/2017.
- Martinaud, A., Mercier, Y., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P., & Renerre, M. (1997). Comparison of Oxidative Processes on Myofibrillar Proteins from Beef during Maturation and by Different Model Oxidation Systems. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 45(7), 2481-2487. doi:10.1021/jf960977g
- McCormick, R.J. (1992). The flexibility of the collagen component of muscle. *Proceedings [of the] 38th International congress of meat science and technology, August 23-28, 1992*. (1992) (pp. 51-60). Clermont-Ferrand.
- Mikami, M., Whiting, A., Taylor, M., Maciewicz, R., & Etherington, D. (1987). Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin l and lysosomal lysates. *Meat Science*, 21(2), 81-97. doi:10.1016/0309-1740(87)90022-2
- Nishimura, T., Liu, A., Hattori, A., & Takahashi, K. (1998). Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef. *Journal Of Animal Science*, 76(2), 528-532. doi:10.2527/1998.762528x

Nishimura, T., Rhyu, M.R., Tajima, T. & Kato, H. (1996). Mechanism of the increase of free amino acids during the storage of meats. *Proceedings of the 42th International Congress of Meat Science and technology: Meat for the Consumer*, (pp. 412-413).

Noda, T., Isogai, K., Hayashi, H., & Katunuma, N. (1981). Susceptibilities of Various Myofibrillar Proteins to Cathepsin B and Morphological Alteration of Isolated Myofibrils by This Enzyme¹. *The Journal of Biochemistry*, 90(2), 371-379. doi:10.1093/oxfordjournals.jbchem.a133483

O'Halloran, G., Troy, D., Buckley, D., & Reville, W. (1997). The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. *Meat Science*, 47(3-4), 187-210. doi:10.1016/s0309-1740(97)00046-6

Olsson, U., Hertzman, C., & Tornberg, E. (1994). The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of *rigor mortis*, ageing and tenderness of beef muscles. *Meat Science*. 37(1), 115-131. doi:10.1016/0309-1740(94)90149-x

Otsuka, Y., Homma, N., Shiga, K., Ushiki, J., Ikeuchi, Y., & Suzuki, A. (1998). Purification and properties of rabbit muscle proteasome, and its effect on myofibrillar structure. *Meat Science*, 49(4), 365-378. doi:10.1016/s0309-1740(97)00141-1

Ouali, A. (1991). Sensory quality of meat as affected by muscle biochemistry and modern technologies. In Fiems, L. O. & Demeyer, D.I. (1991) *Animal Biotechnolgy and The Quality of Meat Production*. (pp. 85-105) Amsterdam: Elsevier Science Publishier. doi:10.1016/b978-0-444-88930-0.50012-2

Ouali, A., Herrera-Mendez, C., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74(1), 44-58. doi:10.1016/j.meatsci.2006.05.010

Parrish, F., Goll, D., Newcomb, W., Lumen, B., Chaudhry, H., & Kline, E. (1969). Molecular Properties of Post-Mortem Muscle. 7. Changes in Nonprotein Nitrogen

and Free Amino Acids of Bovine Muscle. *Journal of Food Science*, 34(2), 196-202.
doi:10.1111/j.1365-2621.1969.tb00918.x

Paulino, P.V.R. & Duarte, M.S. (2014). Mecanismos Fisiológicos e Moleculares Envolvidos com a Maciez da Carne. In: Valadares Filho, S.C. *et al*, (Eds.). *Anais do 9º Simpósio de Produção de Gado de Corte e 5th International Symposium of Beef Cattle Production*. (pp. 109-126) Viçosa, MG: UFV. ISBN 978-85-8179-063-3

Penny, I.F. (1984). Enzimologia de la maduración. In: Lawrie, R. (1984). *Avances de la ciencia de la carne* (Cap. V). Zaragoza: Acribia.

Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., Sinell, H., & Escobar, J. (1994). *Tecnologia e higiene de la carne*. Espanha: Acribia.

Prates, J.M. (2000a). *Proteínas e Organização Estrutural do Citoesqueleto das Fibras Musculares Esqueléticas dos Mamíferos*. Lisboa: Direcção Geral de Veterinária. ISBN: 972-97376-3-0.

Prates, J.M. (2000b). *Possíveis Factores e Mecanismos Responsáveis Pela Maturação da Carne dos Mamíferos*, Lisboa: Dir. Geral de Veterinária. ISBN 972-97376-2-2

Price, J.F., Schweigert, B.S. (1971). *The Science of Meat and Meat Products*. (2ª ed.). San Francisco.

Raimundo, A.J.F. (2009) *Motivos para se estudar a carne como alimento*. Lição Apresentada no Âmbito das Provas Públicas do Concurso de Recrutamento para Professor Coordenador, ESAS, Santarém.

Robert, N., Briand, M., Taylor, R., & Briand, Y. (1999). The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle. *Meat Science*, 51(2), 149-153.
doi:10.1016/s0309-1740(98)00113-2

Robson, R.M. (1995). Myofibrillar and cytoskeletal structures and proteins in mature skeletal muscle cells. In: Ouali, A., Demeyer, D., & Smulders, F. (1995). *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. (pp. 311-332) Utrecht: ECCEAMSTechnology. ISBN 90-75319-02-9

Roncalés, P. (2001), *Transformação del musculo en carne, Rigor Mortiz y Maduración*. In Martín Bejarano, S. (2001). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos* (Vol. I, Cap. 14). Plasencia (Cáceres): Martin & Macias.

Roncalés, P., Geesink, G.H., Van Lack, R.L., Jaime, I., Beltrán, J.A., Barnier, V.H. & Smulders, F.J. (1995). In: Ouali, A., Demeyer, D., & Smulders, F. (1995). *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. (pp. 311-332) Utrecht: ECCEAMSTechnology. ISBN 90-75319-02-9

Roncalés, P., Melendo, J. & Beltrán, J.A. (1998). Uso de proteasas de preparación sencilla en el procesado de alimentos de base muscular. *Book of Abstract of 4th International ANQUE Chemistry Conference: Food Chemistry ant Technology*, (pp. 75-82). Lugo: Universidad de Santiago de Compostela.

Rübensam, J. M., Monteiro, E. (2000). *Estudos sobre maciez e atividade de calpastatina em carne bovina*. Documento, Embrapa, Brasil

Saunders, A. (1994). The effect of acidification on myofibrillar proteins. *Meat Science*, 37(2), 271-280. doi:10.1016/0309-1740(94)90086-8

Sentandreu, M., Coulis, G., & Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends In Food Science & Technology*, 13(12), 400-421. doi:10.1016/s0924-2244(02)00188-7

Shackelford, S., Koohmaraie, M., Miller, M., Crouse, J., & Reagan, J. (1991). An evaluation of tenderness of the longissimus muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. *Journal of Animal Science*, 69(1), 171-177. doi:10.2527/1991.691171x

Souza, G. M. (2012). *Estudo da expressão gênica do músculo longissimus dorsi de vacas e seus efeitos na maciez da carne* (Trabalho de Dissertação para a realização da Defesa Final para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia). URGs.

Stromer, M., & Goll, D. (1967). Molecular Properties of Post-Mortem Muscle. 3. Electron Microscopy of Myofibrils. *Journal of Food Science*, 32(4), 386-389. doi:10.1111/j.1365-2621.1967.tb09691.x

-
- Takahashi, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization. *Meat Science*, 43, 67-80. doi:10.1016/0309-1740(96)00056-3
- Tanabe, R., Muroya, S., Nakajima, I., Chikuni, K., & Nakai, H. (1997). Skeletal Muscle Connectin Primary Structures as Related to Animal Species and Muscle Type. *Journal Of Food Science*, 62(3), 451-453 e 461. doi:10.1111/j.1365-2621.1997.tb04404.x
- Taylor, M., & Etherington, D. (1991). The solubilization of myofibrillar proteins by calcium ions. *Meat Science*, 29(3), 211-219. doi:10.1016/0309-1740(91)90050-z
- Taylor, R., Tassy, C., Briand, M., Robert, N., Briand, Y., & Ouali, A. (1995a). Proteolytic activity of proteasome on myofibrillar structures. *Molecular Biology Reports*, 21(1), 71-73. doi:10.1007/bf00990974
- Taylor, R., Geesink, G., Thompson, V., Koohmaraie, M., & Goll, D. (1995b). Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?. *Journal of Animal Science*, 73(5), 1351-1367. doi:10.2527/1995.7351351x
- Taylor, R.G., Goll, D.E. & Ouali, A. (1995c). Enzyme localization during post mortem muscle tenderization. In: Ouali, A., Demeyer, D., & Smulders, F. (1995). *Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality*. (pp. 311-332) Utrecht: ECCEAMSTechnology. ISBN 90-75319-02-9
- Thomson, B., Dobbie, P., Singh, K., & Speck, P. (1996). Post-mortem kinetics of meat tenderness and the components of the calpain system in bull skeletal muscle. *Meat Science*, 44(3), 151-157. doi:10.1016/s0309-1740(96)00081-2
- Valin, C. & Ouali, A. (1992). Proteolytic muscle enzymes and post mortem meat tenderization. In: Smulders, F.J., Toldrá, F., Flores, J. & Prieto, M. (1992). *New Technologies for meat and Meat Products: PartII. Muscle Enzymology and Meat Ageing*. (pp. 163-179) Nijmegen: Audet Tijdschriften. ISBN 90-800360-4-8
- Wang, K., Posmantur, R., Nadimpalli, R., Nath, R., Mohan, P., & Nixon, R. et al. (1998). Caspase-Mediated Fragmentation of Calpain Inhibitor Protein Calpastatin during Apoptosis. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, 356(2), 187-196. doi:10.1006/abbi.1998.0748

Warriss, P.D. (2000). *Meat Science: An introductory text*. Wallingford: CABI Publishing.

Warriss, P.D. (2003). *Ciencia de la carne* (1st ed.). Zaragoza: ACRIBIA. ISBN: 84-200-1005-7

Watanabe, A., Daly, C., & Devine, C. (1996). The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. *Meat Science*, 42(1), 67-78. doi:10.1016/0309-1740(95)00012-7

Wheeler, T., Koohmaraie, M., & Shackelford, S. (1997). Effect of postmortem injection time and postinjection aging time on the calcium-activated tenderization process in beef. *Journal Of Animal Science*, 75(10), 2652-2660. doi:10.2527/1997.75102652x

Wheeler, T., Savell, J., Cross, H., Lunt, D., & Smith, S. (1990). Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *Journal of Animal Science*, 68(12), 4206-4220. doi:10.2527/1990.68124206x

Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M., Crouse, J., Hunt, M., & Klemm, R. (1990). Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 68(9), 2716-2728. doi:10.2527/1990.6892716x

Winger, R. J. & Pope, C.G. (1981). Osmotic properties of post rigor beef muscle. *Meat Science*. 5(3), 355-369. doi:10.1016/0309-1740(81)90034-6

Wu, F. Y. & Smith, S. B. (1987) Ionic strenght and myofibrilar protein solubilization. *Journal of Animal Science*. 65(2), 597-608. doi:10.2527/jas1987.652597x

Zamora, F., Aubry, L., Sayd, T., Lepetit, J., Lebert, A., Sentandreu, M., & Ouali, A. (2005). Serine peptidase inhibitors, the best predictor of beef ageing amongst a large set of quantitative variables. *Meat Science*, 71(4), 730-742. doi:10.1016/j.meatsci.2005.05.021

Zeece, M.G. & Katoh, K. (1989). Cathepsin D and its effects on myofibrillar proteins: a review. *Journal of Food Biochemistry* 13(3), 157-178. doi:10.1016//j.1745-4514.1989.tb00391.x



ANEXOS

ANEXO 1

Unidade Curricular: **935027 - Tecnologia da carne e do pescado**

Ano 3	Semestre 5	Área CNAEF: 541	ECTS: 6,5
Tipo de Unidade Curricular: Obrigatória		Modo de Ensino: Presencial	Língua de Trabalho: Português
DOCENTE RESPONSÁVEL: Silvina dos Anjos Pimenta Marque Maia Ferro Palma			

TEMPO DE TRABALHO DO ESTUDANTE EM HORAS									
HORAS TOTAIS	Horas de Contacto								Horas de Trabalho Autónomo
	Ensino teórico (T)	Ensino teórico-prático (TP)	Ensino prático e laboratorial (PL)	Trabalho de campo (TC)	Seminário (S)	Estágio (E)	Orientação tutorial (OT)	Outra (O)	
162,5	30	15	45						72,5

Pré-requisitos (se aplicável): Não aplicável

OBJETIVOS EDUCACIONAIS / RESULTADOS DE APRENDIZAGEM

(1) O estudante deve conhecer o subsector das carnes e pescado em Portugal, destacando a importância do controlo de qualidade e rastreabilidade da carne e pescado. (2) Sendo capaz de por em marcha um processo de controlo em produtos cárneos e pescado, na indústria do abate e da pesca, (3) e na transformação e controlo destes produtos.

CONTEÚDOS PROGRAMÁTICOS

- 1 - Subsector da carne e do pescado em Portugal.
- 2 - Estrutura do consumo em Portugal e na União Europeia
- 3 - A carne, estrutura histológica, química e bioquímica.
- 4 - Transformação do músculo em carne, Rigor mortis. Carnes DFD e PSE.
- 5 - Qualidade da carne, principais fatores que a determinam.
- 6 - Microbiologia geral da carne e suas alterações e putrefações. .
- 7 - Tecnologia geral dos produtos de salsicharia.
- 8 - Pescado, conceitos de refrigeração e congelação.
- 9 - Pescado, processos bioquímicos de alteração, índices de frescura.
- 10 - Conservas de peixe

DEMONSTRAÇÃO DA COERÊNCIA DOS CONTEÚDOS PROGRAMÁTICOS COM OS OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM

Os pontos 1 e 2 dão resposta ao 1º objetivo

Os pontos 3 a 6 dão resposta ao 2º objetivo

Os pontos 7 e 10 dão resposta ao 3º objetivo

MÉTODOS DE ENSINO E APRENDIZAGEM

Aulas expositivas, práticas laboratoriais, relatórios e visitas a indústrias da especialidade, trabalhos de pesquisa.

75% das aulas práticas asseguram a frequência prática da unidade curricular

A frequência das aulas práticas quando obtida é válida por 2 anos.

Exame teórico-prático para admissão ao exame teórico

Testes ou Exame final e Exame de recurso

Nota Final = 50% Teórico + 50% Teórico-prático

DEMONSTRAÇÃO DA COERÊNCIA DAS METODOLOGIAS DE ENSINO COM OS OBJETIVOS DAS APRENDIZAGENS*

As aulas teóricas e práticas e visitas a indústrias da especialidade, completam as diferentes vertentes programáticas. Nas aulas teóricas são expostos os conceitos, fundamentos, métodos e normas para compreender e aplicar na análise de laboratório, nas aulas práticas.

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

Aulas expositivas, práticas laboratoriais, relatórios e visitas a indústrias da especialidade, trabalhos de pesquisa.

75% das aulas práticas asseguram a frequência prática da unidade curricular

A frequência das aulas práticas quando obtida é válida por 2 anos.

Exame teórico-prático para admissão ao exame teórico

Testes ou Exame final e Exame de recurso

Nota Final = 50% Teórico + 50% Teórico-prático

BIBLIOGRAFIA PRINCIPAL

- Asdruboli, M. (1979) Los Mataderos - Editorial Acribia
- Bejarano, S.M., (2001), Enciclopédia de la Carne y de los Productos Cárnicos, Ediciones Martín y Macias, Vol. I y II.
- CTCF (1974) Métodos de análise de la industria charcutera, Centro Técnico Conserveiro Francés, Ed. Acribia Zaragoza
- Connel, J.J.; (1988) Control de la calidad del pescado, Editorial Acribia, Zaragoza
- Cheftel J. C. e H. Cheftel, 1976, Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos, Vol. I, Acribia, Zaragoza
- Frasier, W.C., (1999) Microbiología de los Alimentos, Editorial Acribia
- Genot, L. (2003), Congelación y Calidad de la Carne, Editorial Acribia
- López, V. y Vanoclocha, A. (2004), Tecnología de los Mataderos, Ed. Mundi-Prensa
- Price, D.F., (1994), Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos, Ed. Acribia
- Warris, P.A., (2003), Ciencia de la Carne - Editorial Acribia

Ano letivo de entrada em vigor: 2012/2013 | Data de aprovação em Conselho Técnico-Científico: 2015-09-01

ANEXO 2

Plano da Lição

Tópicos	Tempo aproximado de exposição
Transformação do músculo em carne - Introdução	10 minutos
Alterações na qualidade das carnes	5 minutos
Stresse <i>ante-morte</i>	5 minutos
Carnes PSE	5 minutos
Carnes DFD	5 minutos
Aplicação do frio <i>post morte</i>	5 minutos
Encurtamento pelo frio (cold shortening)	5 minutos
Rigor da descongelação (thaw rigor)	5 minutos
Maturação-proteólise <i>post mortem</i>	10 minutos
Consequências da maturação sobre as qualidades organolépticas da carne	5 minutos

ANEXO 3

Ciência e Tecnologia dos Alimentos

Tecnologia da Carne e Pescado

PLANO SEMANAL

Semanas	Aulas Teóricas	Aulas TP /Práticas
1	Subsector da carne e do pescado em Portugal. Estrutura do consumo em Portugal e na União Europeia	-----
2	A carne, estrutura histológica, química e bioquímica.	Amostragem pH%, %Cinza
3	A carne, estrutura histológica, química e bioquímica – Contração muscular	Água na carne % de Humidade, CRA, Aw
4	Transformação do músculo em carne, <i>Rigor mortis</i> , maturação da carne	Compostos azotados %N
5	Qualidade da carne, principais factores que a determinam	NNP
6	Microbiologia geral da carne e suas alterações e putrefacções.	NBVT
7	Tecnologia geral dos produtos de salsicharia	%GB e %GT
8	Tecnologia geral dos produtos de salsicharia	Índices de avaliação de gordura IP, IA, II
9	Tecnologia geral dos produtos de salsicharia	TBA
10	Pescado, estrutura histológica, química e bioquímica	Cloretos
11	Pescado, conceitos de refrigeração e congelação	Nitritos
12	Pescado, processos bioquímicos de alteração, índices de frescura	Fosfatos
13	Aplicação do frio, métodos de congelação	Ac. Ascórbico
14	Conservas de peixe	Visita/Salsicharia/ Matadouro
15	Bacalhau – Tecnologia de secagem	Exame TP



ANEXO 4

TECNOLOGIA DA CARNE E PESCADO

2º Ficha de avaliação

Nome _____ Nº _____

- 1 - Quais as 4 principais proteínas miofibrilares do músculo estriado esquelético.

Resposta:

As quatro proteínas principais miofibrilares do músculo estriado são a miosina, actina, tropomiosina e troponina.

- 2 - Após o abate, qual o papel do glicogénio no músculo.

Resposta:

Os processos bioquímicos do músculo após o abate são, principalmente, processos de degradação e ressíntese de ATP. Como consequência da morte, três fontes de energia tornam-se disponíveis: ATP, creatina fosfato (CP) e o glicogénio. Tanto o ATP como a CP estão presentes em pequenas quantidades no músculo, fazendo com que o glicogénio seja a principal fonte de energia para a glicólise.

A glicólise (degradação anaeróbia) produz ácido láctico a partir do ácido pirúvico. Consequentemente desce o pH no músculo *post mortem*, dependendo do glicogénio no momento do abate.

- 3 - Após a paragem da circulação sanguínea quais as 5 principais consequências.

Resposta:

O facto de haver paragem circulatória leva consequentemente à 1-paragem da respiração celular pois cessa o fornecimento de oxigénio. A falta de oxigénio leva à 2-descida do potencial de oxidação-redução o 3- fim da regulação nervosa e hormonal e o 4- equilíbrio osmótico é destruído 5- terminando o fornecimento de vitaminas, antioxidantes etc.

-
- 4 - O stresse ante morte pode ser a causa de dois tipos de carnes, consideradas anómalas, quais são e qual o parâmetro analítico que o identifica.

Resposta:

O stresse *ante morte* tem como resposta o desenvolvimento anómalo do *rigor mortis* dando lugar ao aparecimento de carnes tidas como defeituosas as carnes DFD e PSE. O parâmetro analítico que o identifica o pH. A rápida detecção de carnes PSE e DFD é de grande importância dentro de uma indústria. O método mais utilizado é a aferição do pH das carcaças aos 45 minutos após o abate e ao final do arrefecimento (24h).

- 5 - Diga o que entende por "Cold shortening" e explique porquê e como afecta a qualidade da carne.

Resposta:

A carne de bovinos e ovinos quando armazenada a uma temperatura inferior a 14°C, e quando o pH ainda é superior a 6,8 no início do processo *post mortem* apresenta uma forte predisposição à contracção muscular intensa. Este fenómeno é chamado de encurtamento pelo frio ou *cold shortenig*. É mais intenso quanto mais próxima esteja a temperatura de arrefecimento do ponto de congelação. Esta carne, quando cozida, apresenta-se extremamente dura.

- 6 - Nas diferentes teorias apresentadas para explicarem a maturação da carne, todas concluem que é nas proteínas de uma das bandas do sarcómero que se inicia a maturação. Qual?

Resposta:

Um grande número de investigadores sugere que a degradação da linha Z é o principal factor do amaciamento *post mortem*. Esta conclusão relaciona com a actividade das calpaínas com a tenrificação *post mortem*, devido a sua capacidade em degradar a linha Z.