

# PRINCÍPIOS E FUNDAMENTOS DOS MÉTODOS DE PREDIÇÃO DA MACIEZ EM CARNE BOVINA

*Eduardo Francisquine Delgado<sup>1</sup>*

*Rafael Ferreira Soria<sup>2</sup>*

## Introdução

Pelo imperativo de ordem econômica, resultado da crescente integração do comércio mundial, tem-se observado a incorporação de padrões de qualidade alheios, nas mais diversas frentes, social, tecnológica, cultural, entre outras. Na grande maioria das situações, tais padrões são ditados pelas sociedades de maior capacidade econômica. Este é um fenômeno complexo que não faz parte da discussão a ser apresentada. Contudo, este comportamento de mudança de hábitos, que hoje conta com uma difusão mais acelerada pela capacidade de informação, e pelo acesso a mercadorias de padrões antes inexistentes, afeta diretamente as cadeias produtivas exigindo sua reestruturação, a fim de atender às diferentes expectativas dos consumidores.

Algumas iniciativas tímidas têm sido realizadas, para identificar estas expectativas entre os consumidores de carne bovina no Brasil. Por outro lado, os parâmetros de qualidade valorizados e a implementação das medidas da cadeia produtiva a partir destes são óbvias/conhecidas de forma bastante apenas em países desenvolvidos, ou ditos ricos. Nestes, inúmeros estudos evidenciam que a satisfação do consumidor de carne bovina, no

<sup>1</sup> Professor Doutor, Laboratório de Anatomia e Fisiologia Animal (LAFA) - DLZT, ESALQ-USP.  
<sup>2</sup> Bolsista Vet. Mestrando em Ciência Animal e Pastagens, Bolsista CNPq, LAFA - DLZT, ESALQ-USP.

momento da ingestão do alimento, está intrinsecamente relacionada às características organolépticas apresentadas pela carne. Dentre aquelas, a maciez apresentada é o atributo de maior relevância, sendo, contudo, um parâmetro de grande inconsistência (Takahashi, 1996; Campo *et al.*, 1999; Shackelford, *et al.*, 1999; Byrne *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2001; Perry *et al.*, 2001).

Portanto, padrões de maciez devidamente estabelecidos, mas em condições divergentes das nossas estão sendo importados. Não obstante, considerando uma grande parte de países relevantes quanto ao volume de produção, exportação e importação de carne bovina, os padrões internacionais procuram seguir a premissa de que a indústria da carne bovina tem como prioridade satisfazer o consumidor, diminuindo a variação do parâmetro maciez da carne bovina (Savell *et al.*, 1989; Morgan *et al.*, 1991; Miller *et al.*, 1995; Warkup *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996; Boleman *et al.*, 1997; Shackelford *et al.*, 1999).

Predizer maciez com eficiência e acurácia tem dirigido por várias décadas esforços de pesquisadores de ciência da carne bovina, envolvendo a busca da compreensão de eventos bioquímicos e físicos que regulam as fases de endurecimento e amaciamento da carne. As alterações que ocorrem durante a transformação do músculo em carne sobrepujam os aspectos de produção animal, influenciando a qualidade final experimentada pelo último elo da cadeia da carne bovina.

Devido ao elevado número de fatores que alteram a maciez e a interação entre alguns deles, assume grande importância o conhecimento dos princípios e fundamentos dos métodos que buscam predizer esta característica.

### Aspectos Fundamentais da Transformação do Músculo em Carne

A proposta deste trabalho engloba uma revisão parcial, envolvendo aspectos principalmente de interesse para a discussão dos fundamentos e princípios dos métodos de predição de maciez.

Pearson (1994) relata que após a morte do animal ocorre um colapso na homeostase de todos os sistemas. No tecido muscular, a interrupção da circulação sanguínea cessa o aporte de nutrientes e oxigênio, bem como a remoção de produtos do catabolismo celular, ocorrem falhas na regulação nervosa e hormonal, e alterações no equilíbrio osmótico.

O desequilíbrio osmótico e a redução da temperatura muscular, além da depleção das fontes de energia (Jeacocke, 1993), promovem a saída de íons cálcio para o sarcoplasma. Progressivamente as miofibrilas entram em estado de contração irreversível (rigor), através da formação das pontes cruzadas entre miosina e actina, pelo deslizamento dos filamentos finos,

que se sobrepõem aos filamentos grossos no interior da banda A, promovendo o encurtamento do sarcômero. Este processo é desencadeado pela elevação da concentração de cálcio sarcoplasmático que permite a formação da ligação actino-miosina (Greaser, 1986).

A diminuição da concentração intracelular de energia promove a mobilização de compostos fosforilados (i.e., creatina fosfato) encontrados em pequena quantidade, como tentativa inicial da célula para restabelecer a concentração de ATP. Após esgotamento desta fonte, a energia é obtida através da glicólise anaeróbia, mantida através das reservas de glicogênio muscular. Esta é a principal rota bioquímica pós-morte para formação de ATP, utilizado de forma ininterrupta no processo de contração muscular, ocasionando a produção de lactato (glicogenólise anaeróbica).

A quebra de ATP e o acúmulo de lactato no músculo promovem a queda do pH a partir de valores próximos de 7,0 para valores finais, variando entre 5,4 e 5,8, que são considerados pH ótimo ou normal da carne bovina. O padrão de queda da curva é dependente de fatores como a taxa de glicólise, temperatura de resfriamento, níveis iniciais de glicogênio e tipo de estresse pré-abate, além de aspectos genéticos (Pearson, 1994; McIntyre, 2000; Immonen & Puollante, 2000; Immonen *et al.*, 2000).

A resolução, que entende o período entre a morte e o enrijecimento do tecido muscular, do estado de *rigor mortis*, pode variar de 6 a 12 horas em bovinos e está normalmente associado com o momento de estabelecimento do valor mínimo de pH. Apesar desta correlação existente entre queda de pH e resolução do *rigor mortis*, não podemos estabelecer uma condição de causa e efeito. Nesta fase, que podemos chamar de endurecimento, ocorre o aumento da dureza da carne devido ao encurtamento do sarcômero ocorrido no *rigor*, que pode ser observado durante as primeiras 24 horas (Hostetler *et al.*, 1972; Wheeler *et al.*, 1994; Koohmaraie *et al.*, 1996).

Por outro lado, a cor da carne é diretamente afetada pelo pH. A quantidade de luz absorvida ou refletida depende da estrutura da superfície, que varia com o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares e a localização de água dentro das células. A proximidade do ponto isoelétrico promove diminuição da capacidade de retenção de água, mantida na estrutura tridimensional das proteínas miofibrilares, havendo quantidade mínima de água ligada as miofibrilas nesse pH (Pearson, 1994). Portanto, carne com pH mais elevado tem maior capacidade de retenção de água, apresentando uma maior absorbância da luz e coloração mais escura.

Neste primeiro momento, podemos separar alguns aspectos fundamentais da transformação de músculo em carne, importantes para métodos utilizados para predição da maciez da carne, quais sejam: 1) Encurta-

mento dos sarcômeros na fase de endurecimento durante a resolução do *rigor mortis*; 2) Definição da cor da carne, ditada entre outros fatores pelo pH final da carne.

### Fundamentos do Amaciamento Natural da Carne Bovina

A maturação natural, evento caracterizado pelo aumento da maciez na carne bovina, inicia-se logo após o abate e estende-se por algum tempo pós-morte, sendo mais evidente à medida que avança o período de armazenamento refrigerado. Cerca de 65% a 80% do processo de amaciamento ocorre três a quatro dias pós-morte. Num primeiro instante, não é possível verificar o efeito da maturação devido à fase de endurecimento, todavia pode ser observado aumento marcante da maciez entre 24 e 72 horas posteriores ao abate (Davey & Gilbert, 1969; Parrish *et al.*, 1973; Wheeler & Koohmaraie, 1994; Taylor *et al.*, 1995).

Após décadas de estudos, admite-se hoje que o amaciamento natural da carne em condições refrigeradas envolve predominantemente a ação do sistema das calpains, enzimas proteolíticas ativadas pelo cálcio, composto pela  $\mu$ -calpaina, principal enzima no processo de amaciamento, *m-calpaina* e a *calpastatina*, que inativa as calpains (Goll, 1991; Koohmaraie, 1992; 1994; 1996).

A dinâmica do mecanismo de maturação sugere que a hidrólise de proteínas miofibrilares específicas (Robson *et al.*, 1984) provoque o enfraquecimento das estruturas filamentosas que ligam as miofibrilas ao sarcômero e ligações intermiofibrilares (filamentos intermediários), além dos filamentos responsáveis pela integridade estrutural dos sarcômeros (Sayre, 1970; Gann & Merkel, 1978; Penny, 1980). A variação da taxa e extensão da proteólise são consideradas as principais condições determinantes da maciez (Taylor *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996).

Muito embora evidências de degradação de colágeno durante a maturação, bem como alteração na ultra-estrutura da lâmina basal e endomísio não tenham sido apontadas por Tornberg (1996) e Taylor & Koohmaraie (1998), respectivamente, existe a possibilidade de ação proteolítica que altere o ambiente extracelular no músculo de bovinos, incluindo-se a ocorrência de proteólise no tecido conjuntivo pós-morte (Balcerzak *et al.*, 2001), e consequente amaciamento da carne.

### Fatores que afetam a maciez da carne bovina

A maciez final de um corte quando chega à mesa do consumidor é determinada por eventos que antecedem o abate e outros posteriores a este. Entre os primeiros, Ritchie (2003) lista os seguintes: localização e

função do músculo, tipo e diâmetro da fibra muscular, teor de tecido conjuntivo, raça, gênero, idade, tempo de alimentação com grãos, enfermidades, sítios de lesão de injeção intramuscular, altos níveis de vitamina D anterior ao abate, estresse pré-abate, temperamento animal, marmoreio e seleção genética para maciez.

Diversos autores apontam condições que após o abate estão relacionadas com amaciamento da carne, tais como: velocidade de queda da temperatura (May *et al.*, 1992) e pH da carne ou carcaça (Marsh *et al.*, 1987; Marshall & Tatum, 1991; Whipple *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1991; Huff-Loneragan *et al.*, 1995; O'Halloran *et al.*, 1997; Rhee *et al.*, 2000; MCGeehin *et al.*, 2001), pH final (Watabane *et al.*, 1996; Page, *et al.*, 2001), cor do músculo *Longissimus dorsi* (Wulf *et al.*, 1997), comprimento de sarcômero (Herring *et al.*, 1965; Hostetler *et al.*, 1972; Wheeler & Koohmaraie, 1994; Koohmaraie *et al.*, 1996), atividade das enzimas do sistema das calpains (Whipple *et al.*, 1990; Shackelford *et al.*, 1991), degradação de proteínas miofibrilares (Hay *et al.*, 1973; Olson *et al.*, 1976, 1977; Huff-Loneragan *et al.*, 1995), tempo de maturação (Taylor *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996), força iônica nos músculos (Kendall *et al.*, 1993; Koohmaraie, 1994; Geesink & Koohmaraie, 1999). Somando-se a estes eventos que podem interagir entre si, está o modo de preparo pelo consumidor, resultando na maciez final do produto (Shackelford *et al.*, 1995; Koohmaraie, 1996; Lorenzen *et al.*, 2003).

### Métodos de predição da maciez em carne bovina

A relevância da estimativa com antecedência e, conseqüentemente, a prática de classificação da maciez dos diversos cortes, oriundos das diferentes categorias de carcaças, têm incentivado estudos para o desenvolvimento de metodologia apropriada para predição de maciez. Grande parte dos trabalhos é conduzido primordialmente com o músculo *Longissimus dorsi*, especialmente pela sua proporção e valor total na carcaça, e também pela grande variação de sua maciez entre animais (Wheeler *et al.*, 2000).

Os métodos a serem apresentados utilizam avaliação subjetiva ou objetiva, sendo que nesta última categoria dividiremos em três grandes grupos, de acordo com os fundamentos e princípios utilizados para determinação.

#### AVALIAÇÃO SUBJETIVA

Métodos que utilizam avaliação visual, os quais, embora bem estabelecidos, convivem com elevado grau de subjetividade, sem quantificação dos fatores físico-químicos fundamentais para determinação da qualidade (maciez) da carne.

**Quality Grade:** Programas de classificação de carcaça utilizados em vários países como EUA, Canadá, Austrália e Japão fazem uso deste critério. Conforme observações realizadas entre 12ª e 13ª costela para o grau de marmorização do *Longissimus dorsi*, e o grau de maturidade fisiológica dos processos cartilagosos do esqueleto, as carcaças são distribuídas em grupos na tentativa de identificar, entre estas classes, diferenças na palatabilidade da carne cozida, através da combinação destas verificações (USDA, 1997).

Os conceitos fundamentais estão relacionados com uma maior satisfação dos consumidores daqueles países, com a presença de gordura intramuscular e ao fato do aumento da idade dos animais representar uma contribuição cada vez maior de tecido conjuntivo nos músculos e menor solubilidade do colágeno, presente em grande quantidade naquele tecido. As implicações destas mudanças para a textura e maciez da carne são bastante conhecidas. Portanto, o 'quality grade' premia os animais jovens e com maior grau de marmorização, na expectativa de assegurar maior maciez da carne proveniente da carcaça destes animais.

O sistema tem limitações demonstradas pela inconsistência na maciez de carne proveniente de carcaças 'Prime' e 'Choice'. Esta constatação seria um fato esperado, já que a marmorização responde por uma pequena parte da variação da maciez, em carnes de animais jovens (Smith *et al.*, 1984, 1987; Koochmaraié, 1992; Wheeler *et al.*, 2002a).

#### AVLIAÇÃO OBJETIVA

##### Métodos físicos

Envolvem técnicas que registram modificações em parâmetros físicos e são determinadas por princípios de física, envolvendo princípios de reologia, microscopia e espectroscopia.

**Warner-Bratzler Shear Force (WBSF ou WBS) ou Força de Cisalhamento:** Desenvolvido por K. F. Warner (1928) e por L. J. Bratzler (1932), é a técnica mais difundida pela sua alta correlação com painéis sensoriais (Shackelford, *et al.*, 1997). Consiste na preparação de bifes com 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi* (contra-filé) e, após serem cozidos em determinada temperatura, passam por resfriamento, para retirar vários cilindros com 1,27 cm de diâmetro paralelos ao sentido das fibras musculares e medição realizada em texturômetros dotados de lâmina do tipo Warner-Bratzler. Leva em conta a medição da força mecânica necessária, em kg, para corte transversal das fibras do cilindro. Como

apontam Wheeler *et al.* (1997), esta metodologia apresenta grande variabilidade nos valores obtidos entre laboratórios devido a modificações nas metodologias (métodos de cozimento, forma de retirada das amostras, tamanho dos cilindros etc.); portanto esforços têm sido realizados para a padronização do método, tendo por referência o procedimento da American Meat Science Association (AMSA, 1995).

O método 'MARC Beef Classification System' procura prever a maciez da carne maturada a partir da medição da WBS de amostras retiradas após o estabelecimento do rigor (1, 2 ou 3 dias após abate) (Shackelford *et al.*, 1997, 1999). Apresentando a capacidade de classificar acuradamente (acima de 90%) carne percebida como macia após um período de maturação de 14 dias. Outro aspecto interessante do sistema é a possibilidade de classificar pelo menos três outros músculos, *gluteus medius* (picanha), *semimembranosus* (coxão mole) e *biceps femoris* (coxão duro), em três grupos de maciez (macio, intermediário e duro) baseando-se apenas no valor de WBS registrado pelo 'MARC Beef Classification System' para o *Longissimus dorsi* (Wheeler *et al.*, 2000).

**Comprimento de Sarcômero:** Ainda utilizando elementos estruturais, podemos considerar o arranjo dos sarcômeros nas miofibrilas através da microscopia óptica ou pela difração de feixe de laser, obtendo-se medição da distância entre duas linhas Z (USDA, 2003). Relaciona-se com a maciez pelo grau de contração miofibrilar.

Baixas correlações foram relatadas entre comprimento do sarcômero e maciez do *Longissimus*, armazenados por 2, 7 ou 14 dias pós-morte (Shackelford *et al.*, 1994; O'Halloran *et al.*, 1997). Entretanto, a verificação deste parâmetro pode ter importância na identificação de carne potencialmente dura, resultante do fenômeno de encurtamento excessivo pelo rigor durante a fase de endurecimento (*cold shortening*). Esta condição é observada quando a carne é resfriada a temperaturas inicialmente muito baixas (Marsh & Leet, 1966). A resolução do rigor a temperaturas abaixo de 10°C e pH > 6,0 tem sido relacionada a condições para estabelecimento do 'cold shortening' (Lochner *et al.*, 1980).

Existe uma limitação desta metodologia para identificação de potenciais problemas devido a sarcômeros considerados excessivamente curtos (Smulders *et al.*, 1990), em função provavelmente da interação entre pH e número e condição das pontes actino-miosina (Goll *et al.*, 1995) e/ou contraposição da proteólise muscular pós-morte aos efeitos do endurecimento (Koochmaraié, 1994).

Recentemente Wheeler *et al.* (2002b) determinaram que esta característica não está significativamente correlacionada com maciez, sendo 0,38