

# ***TRANSFORMAÇÕES DO MÚSCULO EM CARNE***

**Carmen Contreras Castillo**  
**Professora ESALQ/USP**

# ***Homeostase***

***Manutenção de um ambiente interno fisiologicamente balanceado***

**Condições fisiológicas exigidas:**

- **pH**
- **Temperatura**
- **Concentração de oxigênio**
- **Fornecimento de energia**

# **Homeostase**

**- regulado pelo sistema nervoso**

**Importância:**

**Reações e mudanças durante a conversão de músculo em carne. Condições pre-abate pode alterar mudanças post-mortem e influenciar na qualidade de carne**

# ***Imobilização e sangria***

## **Imobilização**

- o animal é mantido inconsciente para a sangria

## **Sangria**

- deve ser removida a maior quantidade de sangue
- início das alterações *post-mortem* no músculo

# *Alterações post-mortem no músculo*

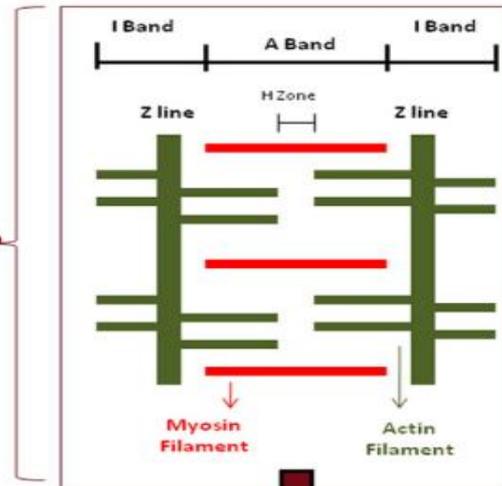
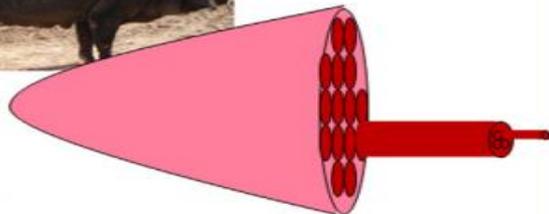
- **Queda da pressão sangüínea**
- **Aumento da atividade cardíaca**
- **Constricção dos vasos periféricos**
- **Cessa o transporte de nutrientes e resíduos**
- **Interrompe-se o suprimento de oxigênio para o músculo**
- **Metabolismo aeróbico → metabolismo anaeróbico**
- **Acúmulo de ácido láctico no músculo**
- **Inativação de enzimas glicolíticas**
- **um aumento da força iônica, devido à acumulação de metabolitos**

## Metabolismo pós-morte Š

Após o abate, o músculo é convertido em carne Š

As principais mudanças que ocorrem são:

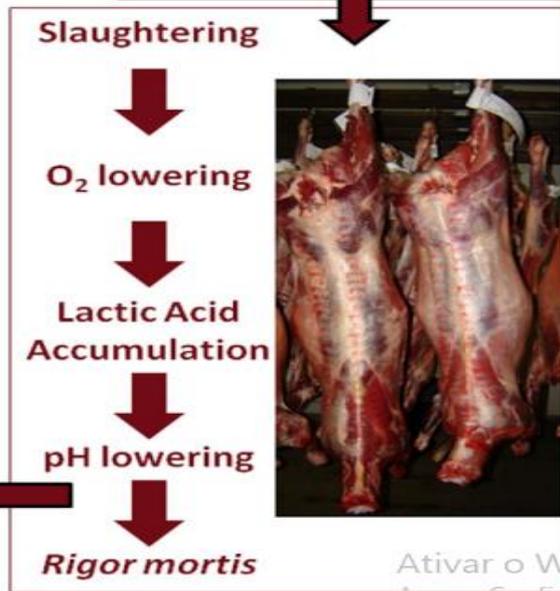
- Depleção das fontes de energia (ATP, ADP, fosfocreatina)
- Depleção das reservas de glicogênio muscular
- Produção e acúmulo de ácido láctico
- Diminuição do pH da carne



# CONVERSÃO DO MÚSCULO EM CARNE



**Conversion of Muscle to Meat**



# ***Consequências do Colapso Circulatório***

- **Interrupção do  $O_2$  → finaliza a via aeróbica**
- **Animal vivo**
  - $O_2$  dos pulmões → fibras musculares → transferida a mioglobina → usado pelas céls. Oxidativas por curto período de tempo dependendo : Q de Mb $O_2$**
- **Cadeia de transporte de e- para de funcionar: falta de  $O_2$**
- **Após sangria**
  - sistema circulatório e linfático não atuam mais**
    - eles não podem prevenir a expansão dos mos.**

# ***Perda dos Mecanismos de Proteção***

- **Aumento do tempo *post-mortem***
  - ✓ **mecanismos homeostáticos são eventualmente perdidos**
  - ✓ **metabolitos armazenados são gastos**
    - **controle nervoso do sistema central → perda 4 - 6min após sangria**
    - **impulsos nervosos locais não controlados podem surgir**
- **No processo da conversão do músculo em carne**
  - ✓ **propriedades da membrana são alteradas**
  - ✓ **tecido começa a ser susceptível a invasão bacteriana**

# ***Produção de calor post-mortem e perda***

- **Após sangria**
  - ✓ **mecanismo de controle da T° no músculo é perdido**
  - ✓ **o calor das partes profundas do corpo vai para os pulmões e outras áreas de superfície para dissipação**
  - ✓ **o calor gerado no metabolismo contínuo causa a elevação da T° imediatamente após sangria**
  - ✓ **glicólise rápida é indicado pelo**
    - **rápido declínio do pH**
    - **produz quantidades elevadas de calor**
    - **resfriamento da carcaça é lenta**
  - ✓ **tamanho e localização dos músculos no corpo e quantidade de gordura**
  - ✓ **fatores externos associados ao processo de abate**

# ***Processo de mudança de músculo em carne***

- ✓ **Complexo**
- ✓ **Alterações metabólicas, físicas e de estrutura**

**Tipos de fibras no músculo:**

■ **Tipo I – vermelha**

- **Contração lenta**
- **Metabolismo oxidativo**
- **Alto conteúdo de mioglobina**
- **Elevado conteúdo de mitocôndria**

➔ **Tipo II – branca**

- **Contração rápida**
- **Fibras com maiores níveis de ATP e glicogênio**
- **Metabolismo predominantemente glicolítico**
- **Menos denso e capilarização**
- **Menos mioglobina, menos mitocôndria**

# ***Metabolismo post-mortem (animal recém abatido)***

## **Compostos de alta energia**

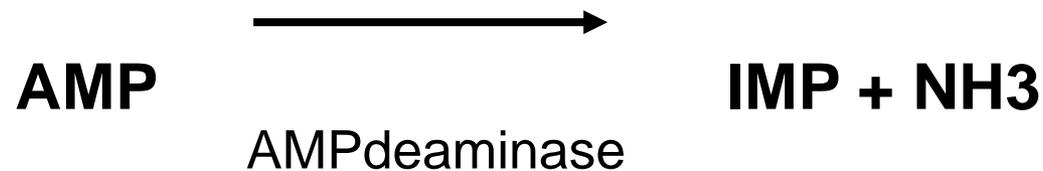
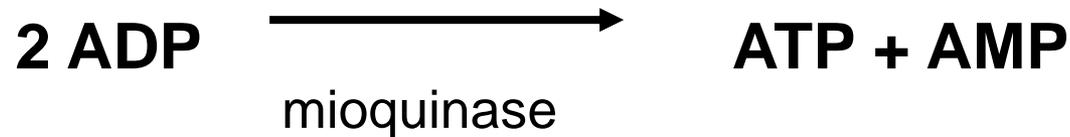
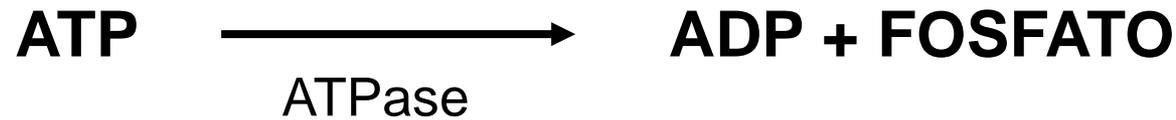
✓ **ATP:** principal composto de alta energia

✓ **pH:** em torno de 6,9 a 7,2

✓ **Creatina fosfato (CP)**



# Produto de quebra de nucleotídeos



# ***Mudanças nas propriedades físicas do músculo***

## **✓ Cor**

### **Animais vivos**

- **Músculos com suficiente  $O_2$  → vermelho-brilhante**
- **Músculos com pouco  $O_2$  → vermelho escuro ou roxo**

### **Músculo *Post-mortem***

- **início → vermelho escuro**
- **após exposição → vermelho brilhante**
- **desnaturação severa → vermelho escuro**
- **é afetada diretamente pelo pH**
- **quantidade de luz absorvida ou refletida depende estrutura superfície (varia com PI proteínas e localização da H<sub>2</sub>O)**

## ✓ **Textura**

- **Músculos de animais vivos: tônus**
- **Rigor mortis : enrijece os músculos**
- **Após rigor mortis: músculos menos firmes**
- **Desnaturação severa: músculos muito moles**

## ✓ **Água**

- **Músculos de animais: 65-80%**
- **Fibras musculares/animais vivos: ligação com proteínas**
- **Músculo *post-mortem*: sem desnaturação, água continua ligada      succulência da carne**



# ✓ Capacidade de retenção de água (CRA)

- pH alto do músculo *post-mortem*  
CRA ~ músculo vivo
- pH cai rapidamente → desnaturação protéica

Proximidade PI

CRA



# ✓ Alterações morfológicas

- **Inicialmente: Fibras musculares pouco diferenciadas**  
**Sem rupturas transversais**
- ***Rigor mortis*: Fibras retorcidas e nodos contráteis**  
**Estrias cruzadas**
- **Maturação (2 dias): Desaparecimento de algumas estrias cruzadas**  
**Rompimentos transversais**

# ***Mudanças bioquímicas***

## ✓ **Músculo estado repouso**

- **Miofibrilas repletas de ATP (MgATP<sup>-2</sup>)**
- **Animal vivo: Ác. Láctico → produzido pelo metabolismo anaeróbico**  
**fígado ressintetiza o ac. láctico em glicogênio e glicose**

## ✓ **Músculo *post-mortem***

- **Decomposição do glicogênio formando ácido láctico**
- **Redução de creatina fosfato nas primeiras 12 horas, com aumento estequiométrico de ácido láctico**
- **Maior queda do pH em 12-15h e completa em 24h, em bovinos**
- **o pH do músculo é tão baixo que as enzimas da glicólise começa inativar**

# ***Mudanças bioquímicas***

- ✓ **No período inicial *post-mortem***
- **Produz um ambiente celular diferente ao que existia no animal vivo**
- **O efeito que o ambiente intracelular tem nas proteínas musculares é profundo**
  - **- pH baixo**
  - **- baixa temperatura**
  - **- elevada força iónica**

# *Rigor mortis*

## Encurtamento

- ✓ **Ca<sup>2+</sup> é liberado no sarcoplasma após estímulo**
  - ↓ATP → bomba de Ca<sup>2+</sup> não opera
  - ↑Ca<sup>2+</sup> → ativa o músculo e há contração
  - Sem ATP → músculo permanece contraído = rigor
- ✓ **Todos os locais de ligações na área de sobreposição de actina e miosina: ligações cruzadas**
- ✓ **Tempo para o estabelecimento do rigor varia com a espécie do animal**

# ***Rigor mortis***

## ***Características físicas do início do rigor mortis:***

- Perda de elasticidade e flexibilidade
- perda de extensibilidade de 5 a 10% da longitude normal
- encurtamento
- desenvolvimento de tensão
- solubilidade da actomiosina está fortemente reduzida

# ***Rigor mortis***

- ✓ **O tempo que transcorre até a plenitude do *rigor mortis* depende:**
  - **Fatores internos como a quantidade de glicogênio e CP**
  - **Fatores externos como a temperatura**
  - **da espécie**
  - **do músculo**
  
- ✓ **ATP tem duas funções no músculo:**
  - **Fornece energia para a contração muscular**
  - **Também fornece energia que opera duas bombas iônicas**

# ***Tempo de demora antes do início do Rigor Mortis***

---

<b>Espécie</b>	<b>Horas</b>
• <b>Bovino</b>	<b>6 -12</b>
• <b>Cordeiro</b>	<b>6 - 12</b>
• <b>Porco</b>	<b>1/4 - 3</b>
• <b>Peru</b>	<b>&lt; 1</b>
• <b>Frango</b>	<b>&lt;1/2</b>
• <b>Peixe</b>	<b>&lt; 1</b>

---

# **Etapas do *rigor mortis***

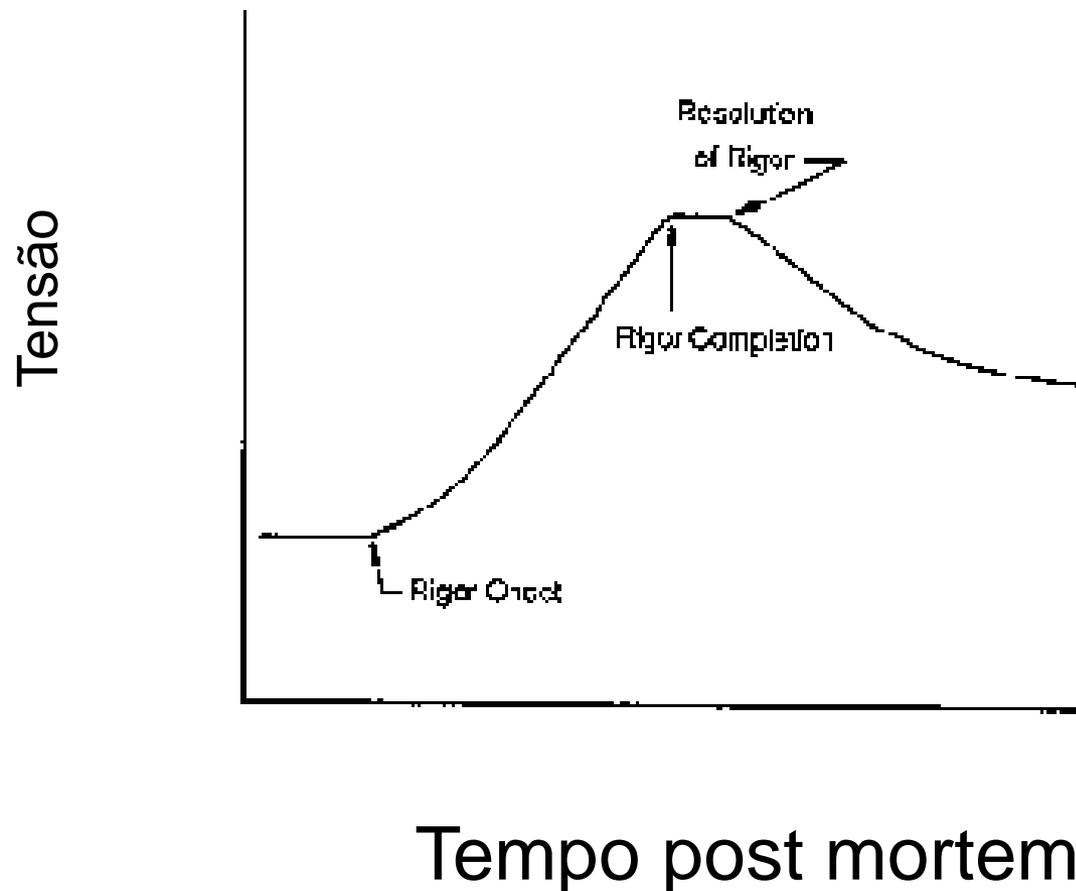
## **1) Fase pré-rigor**

- **Após sangria:**
- **Músculo é extensível e flexível**
- **Poucas ligações actomiosina**
- **Armazenamento de CP  $\Rightarrow$  ADP + P = ATP**
- **Fase de duração variável**
- **reserva de glicogênio e CP**
- **temperatura do músculo**
- **Hidrólise do ATP aumenta, porém permanece compensada**
- **O músculo produz mínima resistência a extensão e elasticidade natural do músculo e retorna a seu comprimento original**

## 2) Início do *rigor mortis*

- **CP é gasto  $\Rightarrow$  ADP + P insuficiente**
- **Ligações de actomiosina começam a formar-se**
- **As fibras musculares começam a ser menos extensíveis e diminui a elasticidade (2-3horas)**
- **O nível de  $\text{Ca}^{+2}$  excede  $10^{-6}\text{M}$   $\rightarrow$  ativa a contração do músculo**

# Tensão Isométrica desenvolvida no músculo durante a fase de *rigor mortis*

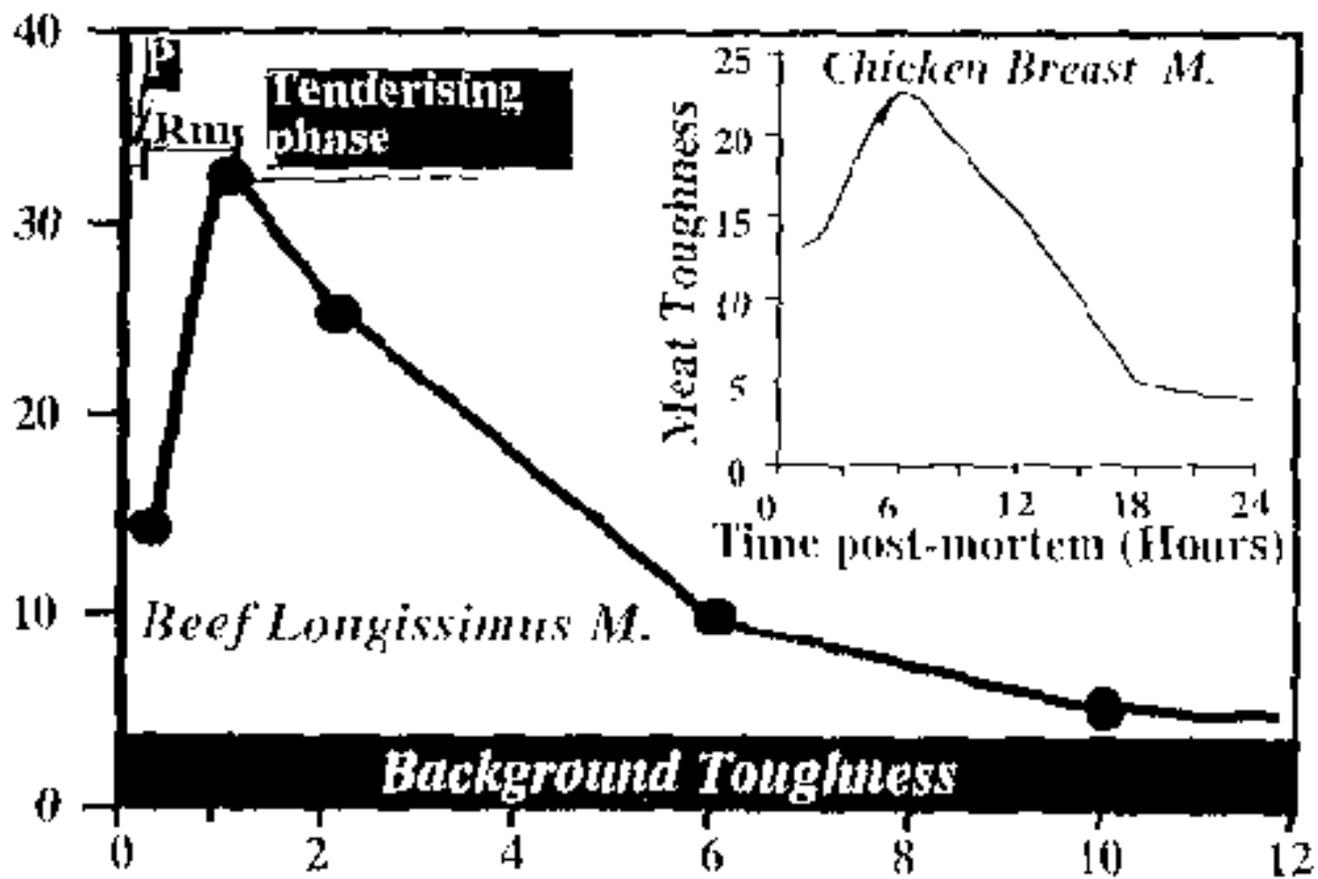


### 3) Estabilização do *rigor mortis*

- Não tem CP e ATP
- Músculo inextensível
- Ligações de actomiosina são formadas (ficam permanentes)
- Produz encurtamento do sarcômero e endurecimento do músculo
- *rigor mortis* e ↓ pH: estão correlacionados
- desintegração de disco Z e outras estruturas começa em algumas espécies

### 4) Resolução do *rigor mortis*

- resultado das alterações na ultraestrutura dos miofilamentos
- Amaciamento dos músculos com “*rigor mortis*” causado pelas enzimas proteases neutras.
- Nas cés. musculares as enzimas proteolíticas catepsinas são mantidos no estado inativo nos lisossomos
- Meios mecânicos

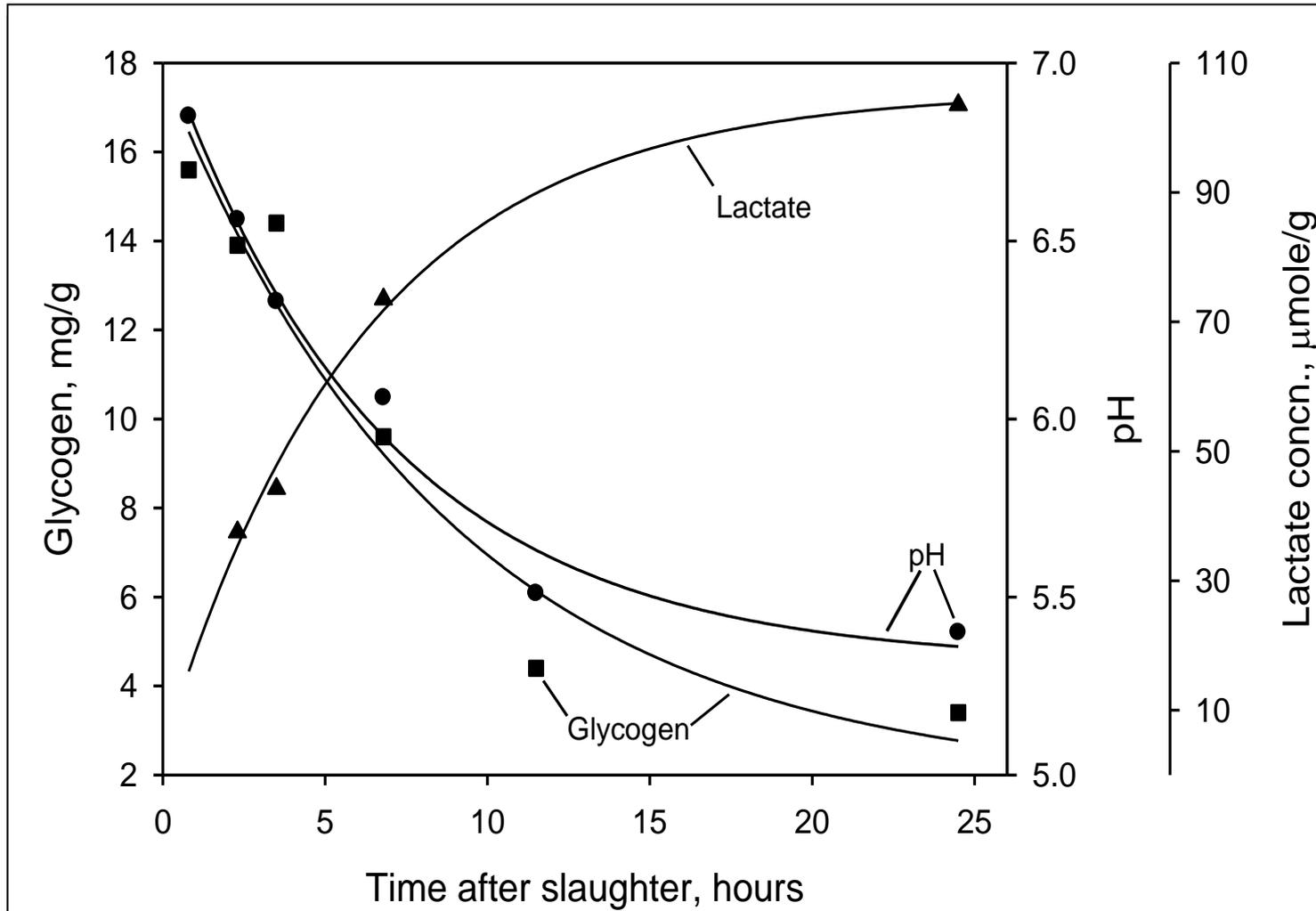


**Tempo pós mortem (dias)**

## **Resultados a quebra de ATP**

- **Quebra de ATP e acúmulo de lactato no músculo promovem:**
  - queda do pH a partir de valores próximos de 7,0  **5,4 e 5,8**
- **Queda da curva depende de fatores:**
  - taxa de glicólise
  - temperatura de resfriamento
  - níveis iniciais de glicogênio
  - tipo de estresse pré-abate
  - aspectos genéticos

## Glicogênio e pH final



# AMACIAMENTO NATURAL DA CARNE

- **Aumento da maciez na carne bovina**

- **inicia-se logo após abate e estende-se por algum tempo *post-mortem*.**
- **Cerca 65 a 80% do processo de amaciamento ocorre 3 a 4 dias *pós-mortem*.**
- **Inicialmente não é possível verificar o efeito da maturação --- fase de rigor mortis**
- **\* Aumento da maciez..... 24 e 72h posteriores ao abate**

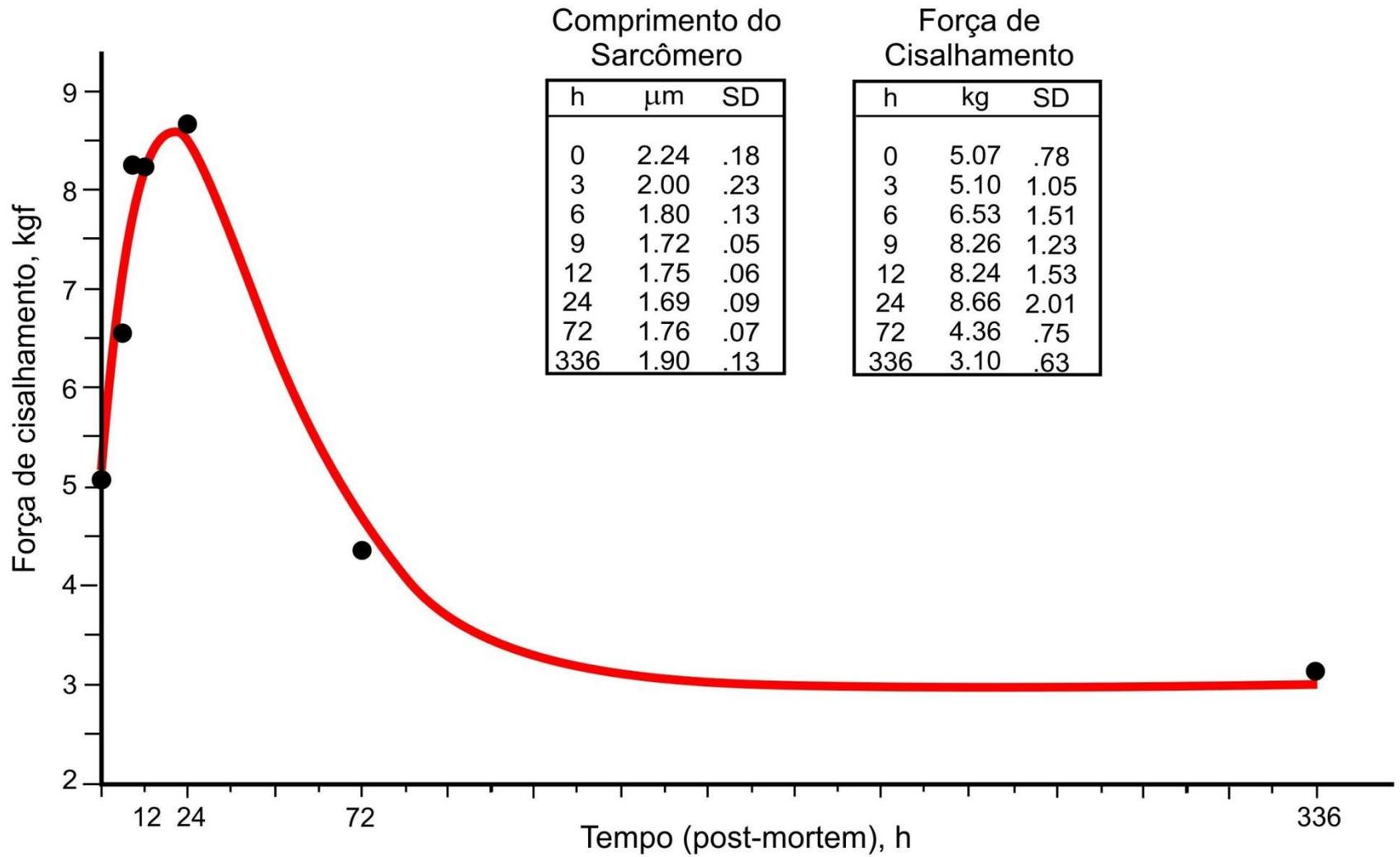
- **Dinâmica do mecanismo de maturação**

- **Hidrólise de proteínas miofibrilares específicas**

- \* Provocam o enfraquecimento das estruturas filamentosas que ligam as miofibrilas ao sarcolema e ligações intermiofibrilares, além dos filamentos responsáveis pela integridade estrutural dos sarcômeros**

# **AMACIAMENTO NATURAL DA CARNE**

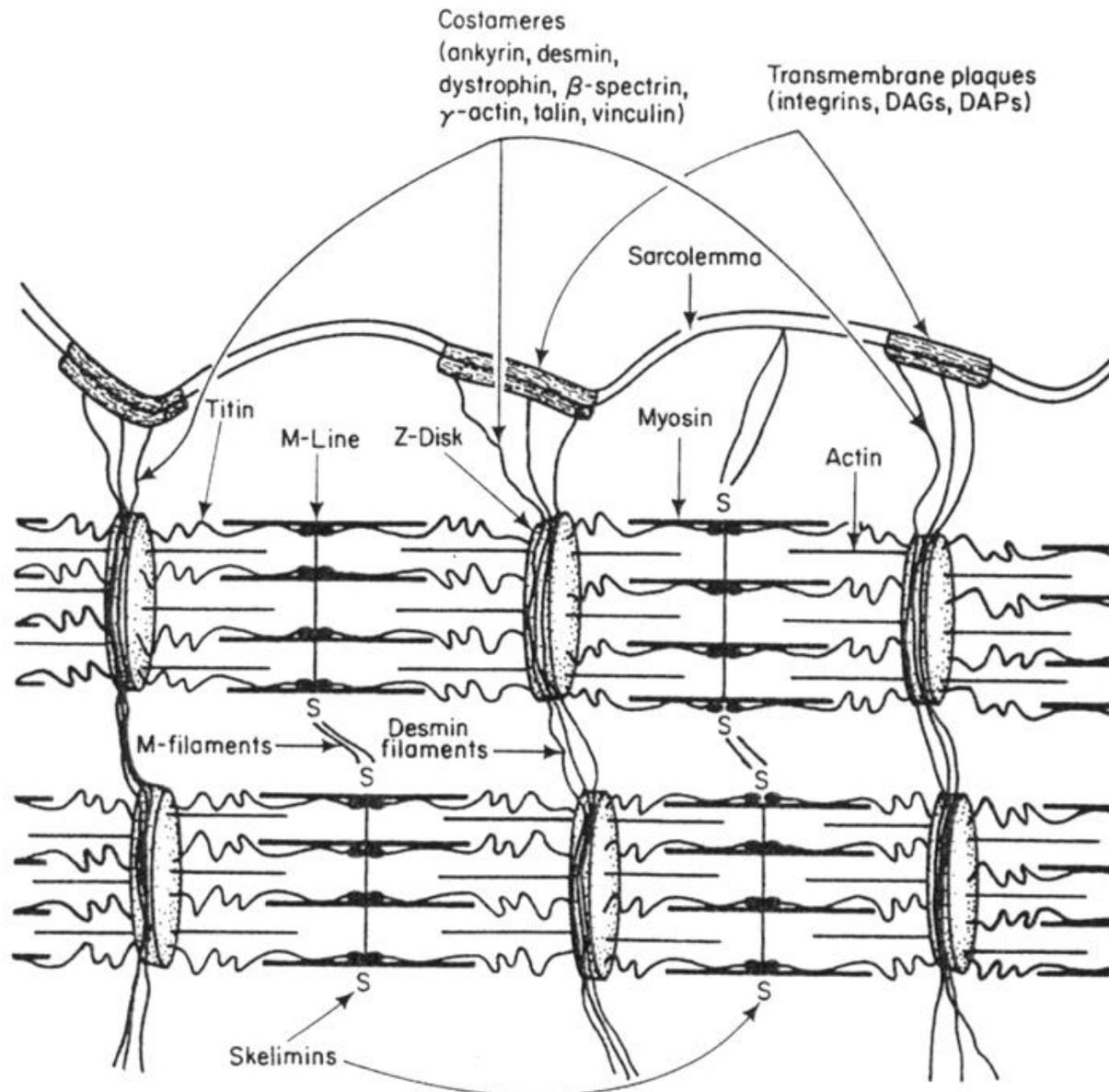
- **A maturação da carne é o fenômeno de resolução do rigor mortis (músculo ≠ carne)**
- **Manter a carne fresca à temperatura superior ao ponto de congelamento (-1,5C)**
- **Proteólise: maciez, sabor e conservação.**



# **• PROTEÓLISE NO AMACIAMENTO DA CARNE**

- **Degradação de proteínas miofibrilares envolvidas na ancoragem dos filamentos contráteis na estrutura das miofibrilas**
- **a) Titina**
- **b) Nebulina**
- **c) Desmina**
- **d) Troponina-T**
- **e) Aparecimento de proteínas com alto peso molecular (95 e 300 kDa)**

- Representação esquemática da estrutura e composição das proteínas costaméricas do músculo estriado**



# Proteólise Muscular

- **Processo iniciado pela atividade das enzimas:**
  - 1) Calpaínas – CAF –enzimas fatoradas pelo cálcio**
    - ✓ **A calpaína é uma protease dependente de cálcio localizada ao redor das miofibrilas.**
    - ✓ **enzimas capazes de hidrolisar proteínas miofibrilares**
    - ✓ **não degradam actina e miosina**
    - ✓ **hidrolisam as proteínas em determinados pontos internos das moléculas**
    - ✓ **Existe em duas formas:  $\mu$ -calpaína e m-calpaína**
      - **devido à sua quantidade micromolar (M) e milimolar (mM) de requisitos de concentração de cálcio para atividade máxima.**

# Proteólise Muscular

**Processo iniciado pela atividade das enzimas:**

- ✓  **$\mu$  - calpaína necessita de 5 a 50  $\mu\text{M}$  de íons de  $\text{Ca}^+$**
- ✓ **m - calpaína necessita de 300 a 1000  $\mu\text{M}$  de íons de  $\text{Ca}^+$** 
  - degradam a linha Z e as proteínas desmina, titina, nebulina, tropomiosina, troponina e proteína C

**Função da calpaína**

- ✓ **As calpaínas hidrolisam as proteínas em determinados pontos internos das moléculas**
  - não capazes de levar o processo de hidrólise até aminoácidos
- ✓ **A concentração de cálcio no citosol está na faixa micromolar, apenas  $\mu$ -calpaína estaria ativa**
- ✓ **A  $\mu$ -calpaína desempenharia um papel significativo na degradação das proteínas miofibrilares específicas**
  - **amaciamento da carne.**

# **Modo de Ação - Calpaínas**

- ✓ **Rompe a estrutura periférica das miofibrilas, mas não afeta a miosina e a actina.**
- ✓ **O pH ideal para a calpaína é  $7,0 \pm 7,2$ , mas a enzima ainda retém uma quantidade significativa de atividade no pH muscular pós-rigor ( $5,5 \pm 5,6$ ).**
- ✓ **A carne que é submetida a um processo normal de proteólise post-mortem raramente se torna mole.**

## **A razão:**

- **a calpaína é suscetível à autólise e é regulada por seu inibidor endógeno calpastatina.**
- **A condição de baixo pH ( $\text{pH } 5,5 \pm 5,6$ ) no tecido muscular pós-rigor também limitaria a atividade das enzimas.**

# Proteólise Muscular

- **Processo iniciado pela atividade das enzimas:**

**1) calpaínas – CAF –enzimas fatoradas pelo cálcio**

- ✓ **ativado em pH mais básico (6,0 a 7,5) e temperatura entre 10 e 25°C.**
- ✓ **Calpastatina – inibidor endógeno das calpaínas**

## **CALPASTATINA**

- ✓ **Reguladora do sistemas proteolítico das calpaínas no músculo pós**
  - **mortem**
    - **Zebuínos**
    - **Não castrados**

# Proteólise Muscular

## CALPASTATINA

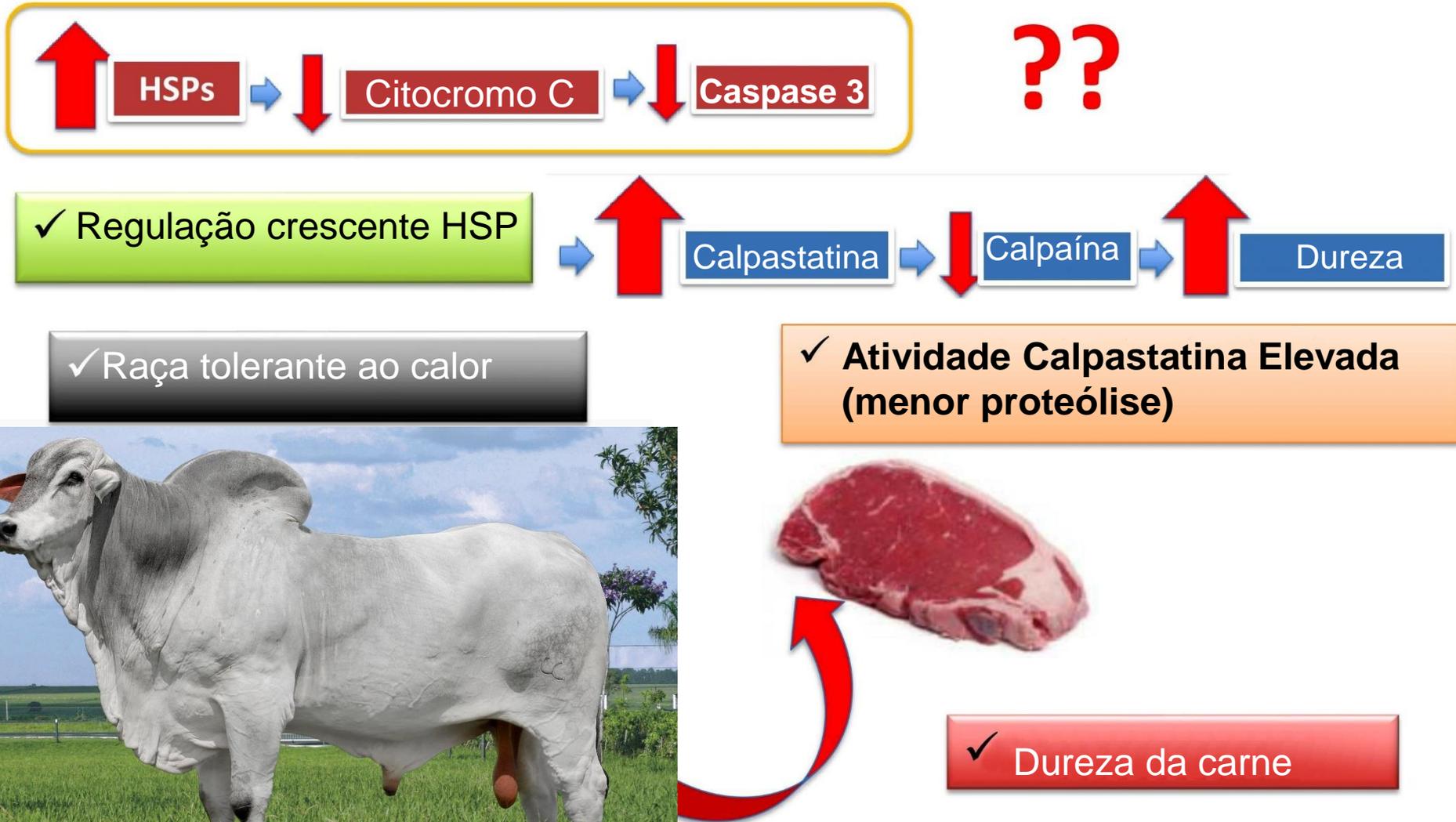
---

	<b>Touros</b>	<b>Macho castrado</b>
<b><math>\mu</math>- calpaína</b>	<b>0,29 a</b>	<b>0,21 a</b>
<b>Calpastatina (UI/g carne)</b>	<b>2,41 b</b>	<b>1,33 a</b>
<b>Força de cisalhamento (kgf)</b>	<b>4,9 b</b>	<b>4,2 a</b>

---

# HSP e dureza da carne

Endurecimento da Carne ----- Gado da Raça *Bos indicus*



# Proteólise Muscular

## 2) Catepsinas

- ✓ proteases localizadas nos lisossomos
- ✓ enzimas que podem ser liberadas: citoplasma e espaços intracelulares
- ✓ ocorre após a queda do pH
- ✓ B e D degradam a actina e miosina nativa
- ✓ Em torno de 20 catepsinas
- ✓ Proteinases ácidas (pH < 6,0)
- ✓ Degradam rapidamente o disco Z, troponina, proteína C, lentamente a tropomiosina, nebulina e actina

## Função das Catepsinas

✓ O papel das catepsinas na proteólise *pós-mortem* da carne é contraditório porque:

- **Em primeiro lugar**, as catepsinas no tecido muscular intacto estão confinadas na membrana lisossomal, ou seja, não estão em contato direto com as miofibrilas.
- **Em segundo lugar**, essas proteases têm um requisito de pH muito baixo para a atividade ideal (1 a 2 unidades de pH abaixo do pH pós-rigor da carne).
- **Terceiro**, a eletroforese de carne maturada não mostra nenhuma alteração apreciável na miosina nem na actina, ambas as quais são substratos favorecidos pelas catepsinas, conforme mostrado nos sistemas modelo.
- Esta última evidência é talvez a indicação mais forte de envolvimento mínimo deste grupo de enzimas.

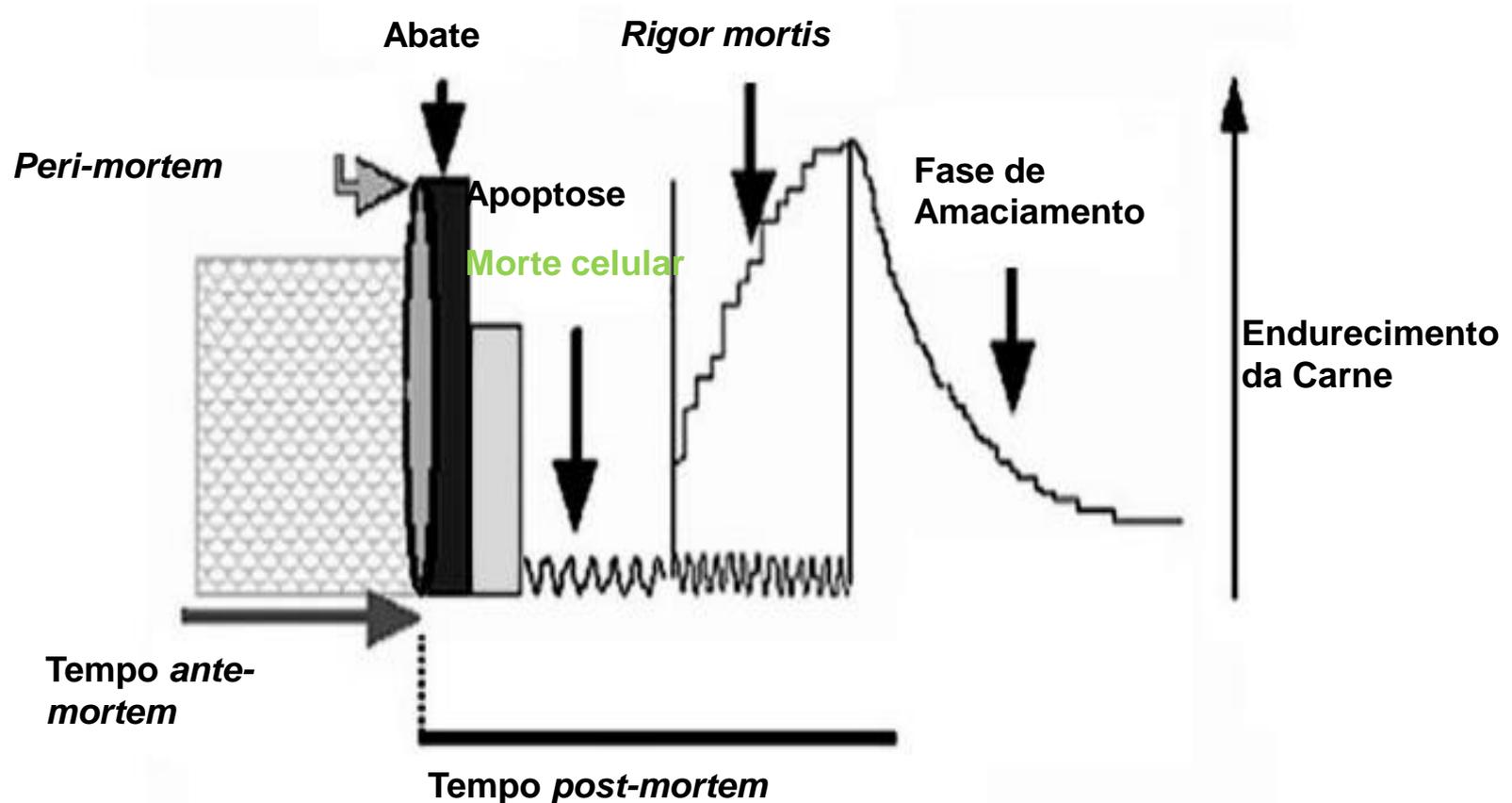
✓ **No entanto, em condições de proteólise pós-mortem lisossomal a membrana poderia se romper e as catepsinas liberadas se difundiriam para o espaço intermiofilamental para iniciar a degradação da proteína.**

✓ **Uma ruptura do compartimento do lisossoma parece ser um pré-requisito para a atividade da catepsina.**

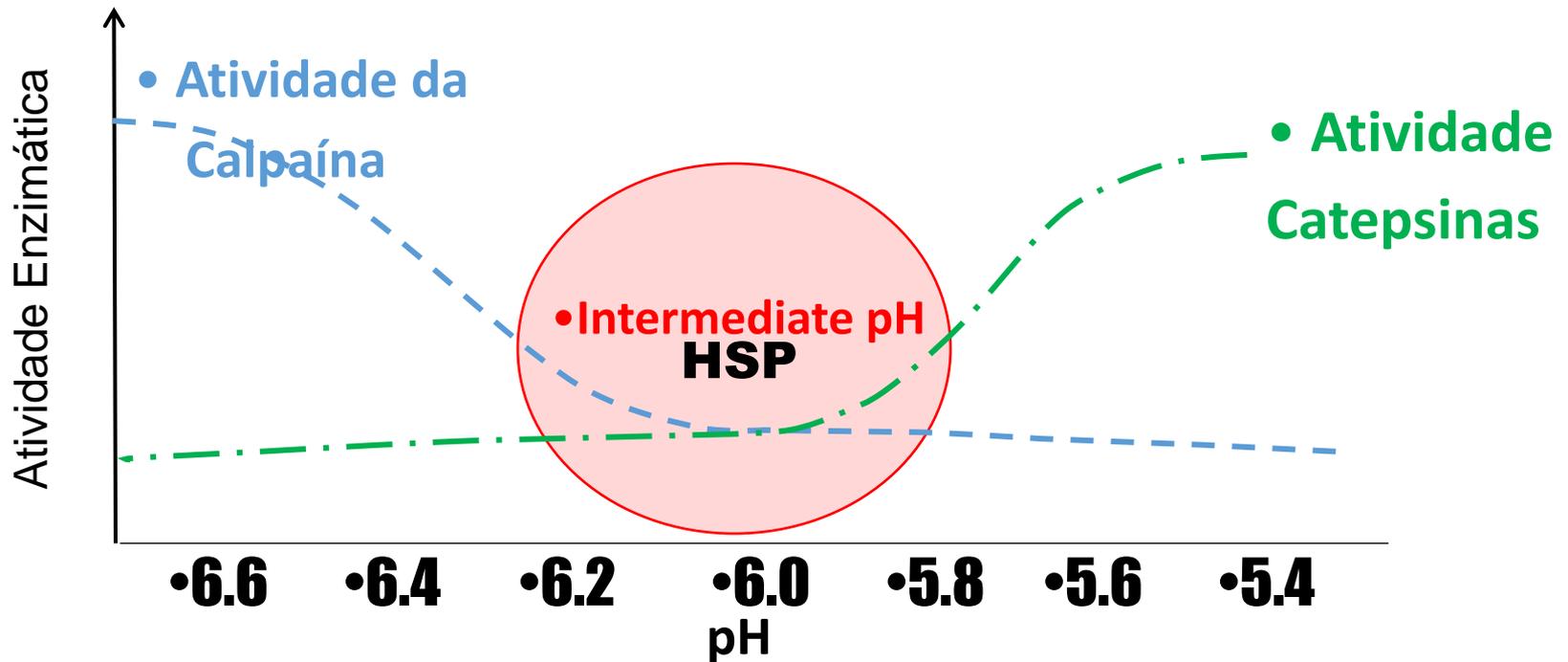
✓ **Isso é corroborado pelas descobertas de que no surimi: um concentrado de proteína bruta preparado pela lavagem do tecido muscular de peixe macerado,**

**- catepsinas B, L e uma protease semelhante a L são altamente ativas → causando rápida degradação de miosina, actina e outras proteínas miofibrilares → enfraquecimento dos géis de surimi.**

# Etapas da conversão do músculo em carne proposto por Ouali et al. (2006)



# • Dinamica de calpains e catepsinas



### **3) Caspases**

- **As caspases são proteases constituídas por cisteína e ácido aspártico que desempenham um papel fundamental no controle e regulação da inflamação e da morte celular programada (apoptose).**
- **Normalmente, as caspases estão no seu estado inativo e necessitam de uma modificação bioquímica para se tornarem ativas e serem capazes de desempenhar as suas funções de regulação.**
- **As caspases que estão envolvidas no processo apoptótico podem dividir-se em dois grupos: caspases iniciadoras (-2, -8, -9 e -10) e caspases executoras (-3, -6 e -7).**

## 4) Heat Shock Proteins - Proteína de Choque Térmico

- Uma das respostas primárias de proteção celular
- Em condições adversas, os níveis de HSP são aumentados:
  - o aumento de temperatura,
  - estresse osmótico ou oxidativos,
- Função das HSP
  - Auxiliar na síntese e maturação de novas proteínas que irão substituir aquelas afetadas pelo estresse metabólico.
  - As HSP também fornecem subsídio às células para identificar e facilitar o redobramento de proteínas danificadas ou destiná-las a um sistema proteolítico adequado, facilitando a eliminação de proteínas cujos danos não são passíveis de restauração.

## Função das HSP

- O aumento de HSP nas células lesadas, além de auxiliar no reparo de proteínas, apresenta um importante papel na manutenção da viabilidade uma vez que inibe a apoptose.