



SÂMIA KARLA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE CONGELAMENTO E DO TEMPO
DE ARMAZENAMENTO CONGELADO NA QUALIDADE DE
CONTRAFILÉS BOVINOS MATURADOS APÓS
DESCONGELAMENTO**

LAVRAS – MG

2019

SÂMIA KARLA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE CONGELAMENTO E DO TEMPO DE
ARMAZENAMENTO CONGELADO NA QUALIDADE DE CONTRAFILÉS BOVINOS
MATURADOS APÓS DESCONGELAMENTO**

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

Orientador
Dr. Eduardo Mendes Ramos
Coorientador
Dr. Jaime Vilela de Resende

**LAVRAS – MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).

Oliveira, Sâmia Karla de.

Avaliação da taxa de congelamento e do tempo de
armazenamento congelado na qualidade de contrafilés bovinos
maturados após descongelamento / Sâmia Karla de Oliveira. - 2019.
55 p.

Orientador (a): Eduardo Mendes Ramos.

Coorientador(a): Jaime Vilela de Resende.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Maciez. 2. Congelamento. 3. Armazenamento. I. Ramos,
Eduardo Mendes. II. Resende, Jaime Vilela de. III. Título.

SÂMIA KARLA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE CONGELAMENTO E DO TEMPO DE
ARMAZENAMENTO CONGELADO NA QUALIDADE DE CONTRAFILÉS BOVINOS
MATURADOS APÓS DESCONGELAMENTO**

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

Aprovada em 20 de dezembro de 2019.

Dra. Alcinéia de Lemos Souza Ramos UFLA

Dr. Jaime Vilela de Resende UFLA

Dr. Thales Leandro Coutinho de Oliveira UFLA

Dr. Paulo Rogério Fontes UFV

Dr. Eduardo Mendes Ramos

Orientador (UFLA)

LAVRAS – MG

2019

*Aos meus pais, Silvania e Sebastião por todo apoio e esforço para minha felicidade,
Ao meu amor, Rafael pela motivação e companheirismo,
A toda minha família e amigos,
Dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre ser luz em meu caminho e me mostrar a melhor direção para seguir.

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

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq) pela concessão da bolsa, sem ela teria sido impossível, CNPq (processo 430206/2016-0) e à Fundação para a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG; processo CVZ APQ-02015-15) pelo financiamento do projeto.

Ao meu orientador, Eduardo Mendes Ramos, obrigada pelo acolhimento em seu laboratório, pelos ensinamentos e por estar sempre disposto a ajudar. Ao meu coorientador, professor Jaime pelo paciente trabalho. Obrigada!

Aos membros da banca examinadora, Alcinéia Ramos, obrigada por sempre ter me ajudado e pelo carinho. Aos professores Jaime e Paulo Rogério e Thales, por todas as contribuições para melhorar meu trabalho. À professora Cristina do DZO, por ter sido tão prestativa e me auxiliado durante as análises histológicas, juntamente com o técnico Isaac que sempre foi paciente e disposto a ajudar. À professora Roberta por permitir a realização das análises microbiológicas em seu laboratório e por se apresentar tão solícita quando necessário.

A Plena Alimentos, por terem aberto suas portas no intuito de contribuir para pesquisa.

Aos meus pais, Sylvania e Sebastião, que sempre me apoiaram e lutaram para que eu conseguisse conquistar esse sonho, por tudo que fazem para que eu seja feliz, e por sempre me abraçarem nesse amor incondicional. Tenho muita sorte de ter vocês!

A toda minha família, tia Cirlene e tia Dora que sempre vi como inspirações de garra e determinação, e que sempre me incentivaram a seguir esse caminho. Minhas primas, em especial Thassiana e Rayane, que desde pequeninhas foram meus grudes e agora estamos seguindo pelo mesmo caminho. Enfim, muito obrigada família por serem a melhor parte de mim e me acolherem com tanto amor.

Ao meu namorado, Rafael, por todos os conselhos, pelo apoio emocional nas decisões, pelas incansáveis palavras de motivação e pela valorização do meu trabalho. Não posso deixar de agradecer-lhe também, pelas inúmeras vezes em que ouviu pacientemente minhas lamúrias de como as coisas estavam difíceis, mas esteve sempre ali comigo, me apoiando, independente da distância.

Aos meus amigos de laboratório, Gabi, Marielle, Angélica, Lorena, Adelaide, Hewerton, Greicey, Lucas, Irina, Lethicia, Amanda, Bruna, Amanda, Ana Paula, Douglas e Abel por sempre me ajudarem. Um agradecimento especial para minhas amigas e mosqueteiras, Ana Paula e Amanda Carlyne, por sempre serem tão parceiras, tanto nas viagens e alegrias quanto nos dias incansáveis de análises. Também meus amigos Douglas e Lucas, parceiros de sofrência por tornarem os dias difíceis sempre mais leves. Levarei essas amizades para o resto da vida!

Aos meus amigos de Barbacena que mesmo de longe sempre me deram suporte, em especial a minha amiga Paola, que me acompanhou todos os dias dessa jornada, do bom dia ao boa noite. Todos os amigos baderneiros que me apoiaram e deixaram essa caminhada mais alegre com os encontros e risadas aos finais de semana.

Ao IF Sudeste – Campus Barbacena, por ter me proporcionado tantos momentos maravilhosos e tantas oportunidades durante a graduação, que com certeza, fizeram com que me tornasse a profissional que sou hoje. A todos os meus professores desta instituição, pelos ensinamentos, em especial a professora Márcia Maria de Carvalho, que foi minha primeira orientadora e uma mãe durante a graduação, um exemplo a seguir.

RESUMO

Avaliou-se no presente trabalho os efeitos de diferentes taxas de congelamento (lento, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ar estático; e rápido, $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, ar forçado) e tempos de armazenamento congelado (1, 14 e 28 dias a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) prévios à maturação ($2\text{ }^{\circ}\text{C}$, 14 dias) sobre características de qualidade da carne (músculo *Longissimus thoracis*) de contrafilés bovinos da raça Nelore. O congelamento lento aumentou ($P < 0.05$) o pH, a purga e as perdas por descongelamento e por cozimento. O índice de fragmentação (IF) e força de cisalhamento (FC) apresentaram efeito ($P < 0.05$) de maturação. O IF não foi afetado ($P > 0.05$) pela forma de congelamento e tempo de estocagem. Para FC, o congelamento rápido armazenado por um dia apresentou a menores valores ($P < 0.05$). O congelamento diminuiu ($P < 0.05$) a taxa de consumo de oxigênio e a proporção de oximioglobina e aumentou ($P < 0.05$) a formação de metamioglobina. As carnes congeladas, independentemente do tipo e tempo de armazenamento apresentaram menores ($P < 0.05$) valores de luminosidade (L^*), índices de vermelho (a^*), de amarelo (b^*), saturação (C^*) e maiores ($P < 0.05$) valores de tonalidade (h^*). Na contagem de psicotróficos, as amostras congeladas e armazenadas por 14 e 28 dias, obtiveram contagens menores ($P < 0.05$) do que na contagem logo após o descongelamento (dia zero). O congelamento prévio à maturação pode ser uma alternativa para melhorar o amaciamento de carnes, principalmente na taxa de congelamento rápida sob armazenamento por um dia, pois apresenta menores perdas e favorece a maciez das amostras, ficando menos tempo estocado.

Palavras-chave: Maciez. Cor. Congelamento. Armazenamento. Cristais de gelo.

ABSTRACT

The effects of different freezing rates (slow, -20°C , static air; and fast, -25°C , forced air) and frozen storage times (1, 14 and 28 days at -18°C) prior to aging time (2°C , 14 days) on meat quality characteristics (*Longissimus thoracis* muscle) of Nellore beef. The slow freezing increased ($P < 0.05$) the pH, purge, drip and cooking loss. The fragmentation index (IF) and shear force (FC) had a aging time effect ($P < 0.05$). The IF was not affected ($P > 0.05$) by the freezing method and storage time. For FC the fast freezing stored for one day showed lower values ($P < 0.05$). Freezing decreased ($P < 0.05$) the rate of oxygen consumption and the proportion of oxymyoglobin and increased ($P < 0.05$) the formation of metmyoglobin. regardless of type and storage time, presented less ($P < 0.05$) brightness values (L^*), red (a^*), yellow (b^*), saturation (C^*) and higher ($P < 0.05$) shade values (h^*). In the psychrotrophic count, the samples frozen and stored for 14 and 28 days, obtained lower counts ($P < 0.05$) than in the count immediately after thawing (day zero). Freezing prior to maturation can be an alternative to improve meat tenderization, especially at the rapid freezing rate under storage for one day, as it presents less losses and favors the tenderness of the samples, leaving less time stored.

Keywords: Tenderness. Color. Freezing. Storage. Ice crystals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma da obtenção e preparo das amostras de contrafilés bovinos (<i>Longissimus thoracis</i>) da raça Nelore.....	27
Figura 2- Taxas de declínio da temperatura central de contrafilés bovinos (peças de ~30 cm de comprimento e ~2,9 kg) submetidos aos processos de congelamento rápido (túnel de congelamento a -25 °C, com velocidade de ar forçada de 3 m/s.) e lento (freezer comercial a -20 °C, com ar estático). A área delimitada por linhas pontilhadas representa a faixa crítica de congelamento (-1 a -5 °C).....	33
Figura 3- Efeitos dos tratamentos e armazenamento na contagem de psicrotófilos (log UFC/g) em músculos <i>L. thoracis</i> de bovinos. Tratamentos: CONT = amostra não-congelada; SLOW1, SLOW14 e SLOW28 = congelamento lento seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente; e FAST1, FAST14 e FAST28 = congelamento rápido seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente. Armazenamento: d0 = dia zero; d14 Vácuo = armazenamento (2 °C) a vácuo por 14 dias; e d6 Display = armazenamento (4 °C) em exposição ao oxigênio por 6 dias. Médias seguidas de letras diferentes (<i>a-e</i>) diferem entre si ($P < 0.05$) pelo teste de Duncan. Barras de erros representam o erro padrão da média.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Efeitos dos tratamentos (T) e tempo de maturação (M) nos valores de pH, perdas de água, índice de fragmentação miofibrilar (IF) e força de cisalhamento (FC) em músculos <i>L. thoracis</i> de bovinos.....	35
Tabela 2- Efeitos dos tratamentos (T) e tempo de maturação (M) na capacidade redutora, taxa de consumo de oxigênio (TCO) e formas químicas da mioglobina (Mb) em músculos <i>L. thoracis</i> de bovinos.....	39
Tabela 3- Efeitos dos tratamentos (T) e tempo de maturação (M) nos índices de cor da CIE em músculos <i>L. thoracis</i> de bovinos.....	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	Produção de carne bovina no Brasil	14
2.2	Maciez e processo de maturação em carne bovina	15
2.3	A cor e os pigmentos em carnes	17
2.4	Psicrotróficos em carnes	19
2.5	Congelamento em carnes	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Obtenção e preparo das amostras	26
3.2	Procedimento analítico	28
3.2.1	Índice de fragmentação miofibrilar	28
3.2.2	Perda por cozimento e força de cisalhamento	29
3.2.3	Cor instrumental e formas químicas da mioglobina	29
3.2.3.1	Atividade redutora de metamioglobina	30
3.2.3.2	Taxa de consumo de oxigênio	30
3.2.4	Análise microbiológica	31
3.3	Análise estatística	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	Taxa de congelamento	33
4.2	Características associadas à maciez	34
4.3	Características associadas à cor	39
4.4	Avaliação microbiológica	43
5	CONCLUSÃO	46
	REFERENCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o maior exportador de carne bovina do mundo, sendo que a maioria de seu rebanho é de animais zebuínos (*Bos indicus*). A produção de zebuínos apresenta vantagens zootécnicas, por serem mais resistentes aos efeitos do clima tropical, porém possuem uma grande desvantagem quanto a qualidade da carne, que é notadamente menos macia do que a carne de animais Europeus (taurinos; *Bos taurus*). É indiscutível que a qualidade é o principal fator responsável pela aceitação de um produto alimentício. Em carnes, a maciez é um dos principais atributos relacionado à qualidade da carne, tendo em vista que está diretamente relacionada à satisfação do consumidor, com isso, a melhoria desse atributo de qualidade se apresenta como grande desafio para a indústria brasileira.

Com o intuito de melhorar a maciez utiliza-se a manutenção da carne embalada a vácuo em um ambiente refrigerado (maturação) antes da distribuição para o varejo, resultando um produto mais homogêneo e aceitável para os consumidores. No entanto, como alternativa para aprimorar ainda mais a maciez da carne bovina, estudos têm sugerido o congelamento prévio à maturação, tanto em carne de bovinos, animais taurinos ou zebuínos, quanto de suínos. A taxa de congelamento apresenta impactos importantes nos atributos de qualidade da carne, visto que desempenha um papel crucial na formação inicial (nucleação) e determinação do tamanho e localização (ou distribuição) de cristais de gelo dentro do tecido muscular. No congelamento rápido, tem-se uma maior formação de núcleos, refletindo em um grande número de cristais, com tamanho reduzido, enquanto no congelamento lento tem a formação de um menor número de cristais com maior tamanho, causando assim, mais efeitos prejudiciais.

Além dos efeitos da taxa de congelamento na qualidade da carne, a duração do armazenamento sob congelamento demonstra ser um fator crucial em se tratando de manutenção da qualidade da carne. Apesar disso, nos estudos sobre a maturação de carnes descongeladas, frequentemente não há uma preocupação com o tempo em que a carne permaneceu estocada sob congelamento, sendo relatados tempos que variam de 1 a 40 dias.

O processo de congelamento/descongelamento, por si só, pode resultar em atributos de qualidade inferiores quando comparado à carne nunca congelada, como perda excessiva de água, aceleração da oxidação proteica e lipídica, descoloração e, ocasionalmente, problemas de textura. Além disso, apesar de estudos sobre a qualidade microbiológica e a vida-útil da carne

descongelada serem escassos, especialmente naquelas expostas em condições de varejo, há uma preocupação de que a deterioração microbiana seja mais rápida na carne congelada/descongelada do que na carne fresca, devido à reativação da atividade microbiana após o descongelamento, associada aos danos celulares resultantes do armazenamento congelado que conferem melhores condições para a multiplicação microbiana.

Assim, embora alguns estudos tenham determinado os efeitos da sequência congelamento/descongelamento/maturação nos atributos de qualidade da carne, os impactos combinados da taxa de congelamento e do tempo de estocagem congelada nas características de qualidade da carne não foram estudados. Desta forma, o objetivo deste experimento foi avaliar os efeitos da taxa de congelamento e do tempo de armazenamento sob congelamento conduzido antes da maturação na qualidade da carne bovina *in natura*, em especial nas características associadas à maciez.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Produção de carne bovina no Brasil

O Brasil se apresenta atualmente como um dos principais países na produção e no comércio de carne bovina no mundo, consequência de um processo bem desenvolvido que elevou a produtividade e a qualidade das carnes brasileiras. O efetivo de bovinos registrado pela Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM) para o ano de 2017 foi de 214,9 milhões de cabeças, com aumento do número de animais abatidos em 3.9 % e do volume exportado em 7.2 %. (IBGE, 2017). No ano de 2018 foi registrado um crescimento de 6.9 % no número de abates, que chegou a 44,23 milhões de cabeças. Dessa forma, também houve crescimento no volume de carne bovina produzida, com um total de 10,96 milhões de toneladas equivalente carcaça (TEC), 12.8 % acima de 2017. Em 2019, o País já conseguiu se consolidar como o maior exportador de carne bovina do mundo, de acordo com a ABIEC (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne), com consumo *per capita* em torno de 42,12 kg por habitante/ano (ABIEC, 2020).

Melhoramento genético dos animais, solo, condições climáticas favoráveis, manejo adequado, reforma de pastagens e recursos humanos são fatores que constituem vantagens comparativas, e que somadas à extensão territorial permite o País oferecer aos mercados nacional e externo carne bovina de alta qualidade, em volumes crescentes e a preços competitivos (EMBRAPA, 2007).

O rebanho brasileiro é constituído em sua grande maioria de bovinos com genótipo *Bos indicus* e, de acordo com a Associação dos Criadores de Nelore do Brasil (ACNB), cerca de 80% do gado de corte é Nelore ou anelorado, que pela sua rusticidade e alta resistência à temperatura tropical e aos parasitas, toleram melhor as condições de estresse térmico por calor e se adaptam melhor à criação a pasto em relação às raças européias (*Bos taurus*). Essas características de adaptabilidade constituem o grande trunfo dos animais das raças *Bos indicus*, normalmente criados e terminados em regiões de clima tropical (ACNB, 2020).

Em função de terem evoluído em condições ambientais adversas, os animais *Bos indicus* apresentam menor teor de massa muscular, menor gordura de marmoreio e carne mais dura, principalmente devido à presença de calpastatina que inibem a ação das calpaínas, que são as principais proteases envolvidas no processo de maturação (MARSHALL, 1994; AROEIRA et al,

2016). Diferentemente dos zebuínos, os taurinos, apesar de apresentarem a carne mais macia, não se adaptaram tão bem ao clima tropical e subtropical do Brasil (WHIPPLE et al., 1990), a maior parcela dos animais deste genótipo está localizada na região sul, onde as temperaturas são mais amenas do que no restante do país.

Devido a esta inconsistência na maciez, a maturação apresenta grande importância na maciez final da carne bovina. O processo envolve alterações bioquímicas e físico-químicas que melhoraram a palatabilidade do produto, em especial sua maciez (CAMPBELL et al., 2001).

2.2 Maciez e processo de maturação em carne bovina

Qualidade em carnes é um fator fundamental para a capacidade competitiva do setor produtivo frente às oportunidades de expansão do mercado. Desta forma, a maciez apresenta papel importante dentro dos atributos de qualidade, sendo considerada como a característica sensorial que apresenta maior influência na aceitação da carne por parte dos consumidores (PAZ; LUCHIARI FILHO, 2000).

A satisfação do consumidor em relação ao produto é baseada na interação entre maciez, suculência e sabor, sendo a maciez provavelmente o atributo mais importante. Fatores *ante mortem* como raça ou genótipo, idade, sexo, nutrição, exercício, estresse antes do abate, presença de tecido conjuntivo, espessura e comprimento do sarcômero, e *post mortem* como estimulação elétrica, *rigor mortis*, resfriamento da carcaça, maturação, e pH final podem afetar significativamente a maciez da carne (HEINEMANN; PINTO; ROMANELLI, 2003).

Dentre estes fatores o que apresenta maior impacto na maciez da carne bovina é a raça ou genótipo, sendo que os animais *Bos taurus* geralmente apresentam carne mais macia do que os animais *Bos indicus*. Esta menor maciez deve-se principalmente ao maior teor de calpastatina presente no músculo, que inibe a ação das calpaínas, principais proteases envolvidas no processo de maturação (KOOHMARAIE, 1994).

Muitos estudos demonstram que o sistema proteolítico da calpaína apresenta um papel muito importante na proteólise *post mortem* e amaciamento da carne. De acordo com Geesink et. al. (2006) as calpaínas são enzimas que realizam proteólise miofibrilar *post mortem*, e são liberadas na presença de cálcio livre no sarcoplasma, apresentando maior ação nas primeiras

horas do *post mortem*, pois agem principalmente em pH próximo a 6 e, após serem ativadas causaram proteólise, estas proteases perdem atividade.

Koohmaraie (1994) relatou uma influência do sistema das calpaínas e de seu inibidor (calpastatina), sobre a proteólise *post mortem*, caracterizando a relação calpastatina/calpaína como fator determinante na maciez da carne. A calpastatina é degradada pela calpaína, no entanto a significância fisiológica desta degradação ainda é incerta, embora isto possa ser considerado como uma parte do processo regulatório do sistema proteolítico (GEESINK e KOOHMARAIE, 1999).

Além do teor de calpastatina, o teor de gordura distribuída entre as fibras musculares, conhecida como gordura intramuscular ou de marmoreio, é induzido pelo genótipo, sendo que animais *Bos tauros* possuem maior tendência em acumular este tipo de gordura (MARSHALL, 1994) e quanto maior o marmoreio maior a sensação de suculência e, conseqüentemente, de maciez. O teor de gordura intramuscular também é relacionado ao sexo, tipo de criação, localização do músculo e alimentação animal, sendo a principal característica relacionada com a qualidade da carne em sistemas de classificação (USDA, 2016).

Fatores como a idade do animal e a intensidade de esforço físico feito durante sua vida influenciam negativamente a maciez por gerar aumento do número de ligações cruzadas termoestáveis entre as moléculas de colágeno, afetando sua solubilidade e aumentando sua resistência (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Com o objetivo de melhorar as características sensoriais, em especial a maciez, sabor e suculência, utiliza-se o processo de maturação em carnes. A maturação é um método importante a fim de favorecer o amaciamento da carne e consiste em armazenar a carne *in natura* acima do seu ponto de congelamento (-1,5 °C), geralmente sob refrigeração, variando de 0 a 4 °C, durante um período de 7 a 28 dias em embalagem a vácuo, a fim de retardar o crescimento de bactérias aeróbicas putrefativas e favorecer o crescimento das bactérias lácticas, que, por sua vez, produzem substâncias antimicrobianas (PUGA et al., 1999; ZEOLA et al., 2007).

O processo natural de maturação consiste no afrouxamento da estrutura muscular, iniciando após o rigor mortis (rigidez) e prosseguindo até a autólise total. O processo é natural, pois ocorre pela ação de enzimas endógenas que já existem nos próprios tecidos, sem a adição de nenhuma substância ao alimento (FELÍCIO & PFLANZER, 2018).

2.3 A cor e os pigmentos em carnes

A cor é outro fator importante na aparência da carne e está diretamente ligada com a satisfação do consumidor em relação ao produto. O consumidor escolhe o corte cárneo influenciado pela aparência, ou seja, pela cor da carne que é determinada pela concentração de mioglobina e seu estado de oxigenação ou oxidação na superfície do músculo (CORNFORTH, 1994). Desta forma, a apresentação de carnes *in natura*, com cor vermelho brilhante, no ponto de venda é de extrema importância, pois os consumidores avaliam negativamente o produto que não atende a esta expectativa (MANCINI; HUNT, 2005; TROY; KERRY, 2010).

A coloração vermelho brilhante remete aos consumidores carne fresca e faz com que rejeitem àquelas que possuem coloração amarronzada. A base bioquímica da cor vermelha em carnes depende da concentração e do estado de redução da mioglobina, da hemoglobina e dos citocromos na carne. A mioglobina é o pigmento primário associado com a cor vermelha da carne (BEKHIT; FAUSTMAN, 2005). É o estado químico da mioglobina que irá definir a coloração aparente da carne (MANCINI; HUNT, 2005).

Existem três formas químicas da mioglobina responsáveis pela cor da carne fresca: mioglobina reduzida ou deoximioglobina (Mb^+) quando o ligante presente na sexta valência é o ferro no seu estado ferroso Fe^{+2} , o que resulta na coloração vermelho púrpura; a metamioglobina (MMb), resultado da descoloração da carne através da oxidação dos metais ferrosos (Fe^{+2}) da mioglobina para o estado férrico (Fe^{+3}) e responsável pela coloração amarronzada da carne; e a oximioglobina (O_2Mb) resultando na coloração vermelha brilhante (RAMOS; GOMIDE, 2007).

A oximioglobina é responsável pela cor que é considerada pelos consumidores como a ideal, o vermelho-brilhante. É uma forma ferrosa diamagnética, estável sob altas pressões de oxigênio. A conversão da deoximioglobina (Mb^+) em oximioglobina (O_2Mb) é causada pela oxigenação (ligação covalente do oxigênio atmosférico com o sexto ligante do ferro da mioglobina) é uma reação rápida, devido a mioglobina apresentar alta afinidade pelo oxigênio (RAMOS; GOMIDE, 2007). A formação da O_2Mb a partir da oxigenação da Mb^+ determina a intensidade da cor vermelha inicial, após a oxigenação e depende de alguns fatores como: profundidade de penetração do oxigênio (O_2), temperatura da carne, pressão parcial de O_2 , pH e competição do O_2 por outros processos respiratórios (taxa de consumo do oxigênio - TCO) (MANCINI; HUNT, 2005).

A metamioglobina, apresenta coloração amarronzada e é formada quando ferro heme é rapidamente oxidado à sua forma férrica, ou seja, é formada por duas reações opostas: a autooxidação e a redução. A mioglobina passará a ser chamada de deoximioglobina, a forma reduzida da mioglobina (Fe^{2+}). Estas reações, conhecidas como atividade redutora de metamioglobina (MRA), são responsáveis pela alteração da valência do ferro da mioglobina da carne, de ferroso para férrico, e depende de alguns fatores como pressão parcial de O_2 , temperatura, pH, atividade da metamioglobina redutase (MRA) e, em alguns casos, do crescimento microbiano (MANCINI; HUNT, 2005).

As características bioquímicas de atividade de metamioglobina redutase (MRA) e taxa de consumo de oxigênio (TCO) no músculo *post-mortem* são tidas como as maiores responsáveis pela estabilidade da cor da carne fresca (RENERRE; LABAS, 1987).

A atividade da metamioglobina redutase (MRA) é reconhecida por prolongar a estabilidade da coloração dos músculos reduzindo a forma química de metamioglobina à mioglobina, permitindo subsequente ligação com o oxigênio, e conseqüentemente o retorno à coloração vermelho brilhante (McKENNA et al., 2005). Outro determinante importante na estabilidade da cor em carnes é a taxa de consumo de oxigênio (TCO) que está relacionada a respiração residual da mitocôndria durante o período *post mortem*, e remete à profundidade de penetração do oxigênio através da superfície exposta do músculo (McKENNA et al., 2005). Menores valores de TCO estão relacionados à maior penetração de oxigênio no músculo e com isso, à maior estabilidade da cor (KLONT et al., 1998).

Sales et al (2020) afirmaram que em carnes congeladas e maturadas, a MRA foi maior nas amostras controle que nas amostras congeladas e descongeladas, sugerindo que o processo de congelamento pode acelerar a deterioração da coloração da carne, já que quanto menor a MRA menor a taxa de redução da MMb (metamioglobina) a Mb^+ (mioglobina reduzida), assim, a carne tende a ficar mais amarronzada (AROEIRA et al, 2017, MCKENNA et al., 2005).

2.4 Psicrotróficos em carnes

A carne é um alimento extremamente perecível, com atividade de água que favorece a multiplicação da maioria dos micro-organismos, e contribui significativamente para a deterioração ou contaminação (NYCHAS et al., 2008).

Vários métodos de conservação são utilizados para conservar e evitar a deterioração de carnes, dentre os quais, existem a refrigeração e o congelamento que visam aumentar a vida útil de carne *in natura*. Estes métodos conservam os alimentos, pois, a baixas temperaturas, os micro-organismos têm suas taxas metabólicas reduzidas (LEBERT; BEGOT; LEBERT, 1998).

No entanto, mesmo sob baixas temperaturas, pode haver o desenvolvimento de micro-organismos psicrotróficos, que tem a capacidade de se multiplicar em temperatura de refrigeração. Os psicrotróficos são micro-organismos que se desenvolvem em temperaturas entre 0 °C e 7 °C e são os principais agentes de deterioração de carnes. A elevada população destes micro-organismos nos alimentos pode resultar em alterações nas características da carne, principalmente sensoriais, que podem provocar sabor de “ranço” e sabor amargo no alimento (OLIVEIRA, 2015).

Normalmente as bactérias mais envolvidas na deterioração da carne embalada à vácuo armazenada sob refrigeração são, em sua maioria, bactérias do ácido lático, espécies *Clostridium spp.* e da família *Enterobacteriaceae*, as quais são anaeróbias estritas ou facultativas (NYCHAS et al., 1998; ADAM et al., 2010; SILVA et al., 2011). Os clostrídios psicrotolerantes tais como *estertheticum* subsp. *laramiense*, *C. frigidicarnis* e *C. gasigenes* que são frequentemente associados à deterioração *blown pack* (BRIGHTWELL et al., 2007). Os clostrídios psicrofílicos e psicrotróficos geralmente proliferam-se em temperaturas entre 12-15°C e 25 a 30°C respectivamente (ADAM et al., 2010).

A vida útil da carne bovina é dependente do número e do tipo de bactérias inicialmente presentes, assim como das condições de armazenamento, como temperatura, pH e atmosfera gasosa. Além destes fatores, a competição microbiana do meio pode afetar significativamente o tipo e tempo de deterioração (DOULGERAKI et al., 2012; RUSSO et al. 2006). A combinação destes fatores, comumente resultam em mudanças nas características sensorial da carne, como cor, aroma, textura e sabor (LAMBERT; SMITH; DODDS, 1991). Contagens microbianas a 10^7 UFC.cm⁻² são normalmente associadas à ocorrência de odores desagradáveis como “queijo” e

“manteiga”, que podem resultar em odores frutados e posteriormente pútridos, com o aumento da carga microbiana para 10^9 UFC.cm-2 (JAY, 2005; DAINTY et al., 1985).

2.5 Congelamento em carnes

O congelamento é um dos métodos de conservação mais antigos do mundo, pois mantém a alta qualidade do produto que se pretende congelar. Este processo em carnes resulta em um produto nutricionalmente similar à carne fresca quando comparado a outros processos de conservação, mas ainda assim pode alterar características sensoriais do produto, como: textura, cor, sabor, aparência e contagem microbiológica (LEYGONIE; BRITZ; HOFFMAN, 2012; ABDALLAH; MARCHELLO; AHMAD, 1999). O congelamento e posterior descongelamento são, no entanto, processos complexos que envolvem a transferência de calor, bem como alterações químicas e físicas que podem afetar a qualidade desse produto (GAMBUTEANU; BORDA; ALEXE, 2013).

Nesse método de conservação parte da água do alimento sofre mudança em seu estado, formando cristais de gelo (FELLOWS, 2006), diminuindo assim a atividade de água do alimento, o que proporciona aumento da vida útil do produto. A formação de cristais de gelo (nucleação) e o subsequente aumento no tamanho do cristal (crescimento) são as duas principais etapas do processo de congelamento (cristalização). A etapa inicial é a nucleação, onde ocorre a formação de um pequeno cristal de gelo inicial que servirá como um núcleo para a propagação do cristal. Abaixo de 0 °C, o gelo é a forma estável de água pura e como a nucleação não é uma etapa energeticamente favorável, o processo não se inicia de modo espontâneo. A nucleação pode ser heterogênea e homogênea sendo a heterogênea a mais comum e ocorre a formação de um núcleo ao redor de partículas suspensas ou em uma parede celular, enquanto na nucleação homogênea, a orientação e a combinação de moléculas de água são casuais. Após a formação do núcleo inicial, o crescimento do cristal de gelo ocorre espontaneamente em temperaturas pouco abaixo de 0 °C (FELLOWS, 2006; WHATEN e JIA, 2005).

O ponto de congelamento de um alimento é descrito como “a temperatura na qual um cristal de gelo minúsculo existe em equilíbrio com a água ao seu redor”. Contudo, antes que um cristal de gelo possa se formar, um núcleo de moléculas de água deve estar presente, portanto a nucleação precede a formação dos cristais de gelo (FELLOWS, 2006).

Em se tratando do congelamento de alimentos, o processo é mais complexo que o congelamento de água pura, pois os alimentos possuem água e solutos e possuem comportamentos semelhantes ao de uma solução. No caso de água pura, a temperatura diminui e o calor sensível é removido. Durante a nucleação, o calor é liberado no sistema. Isso causa um aumento na temperatura até o ponto de fusão de 0 °C, e a temperatura permanece em 0 °C até toda a água ser convertida em gelo (o calor latente de fusão da água é 333,15 J / g.). No caso de alimentos, é conveniente analisar a curva temperatura-tempo obtida nas condições de congelamento mais lentas, pois isso representa razoavelmente uma situação de equilíbrio (ZARITZKY, 2000).

O congelamento da água em carnes tem início a temperaturas próximas de -1,5 °C, sendo que cerca de 50% da água congelável se encontra congelada a -2 °C. Os congelamentos lentos e rápidos são definidos com base no tempo gasto para se vencer a faixa crítica de -1 °C a -5 °C, em que ocorre máxima formação de cristais de gelo (LAWRIE, 1998), e o congelamento se torna inteiramente completo após atingir -30 °C. Assim, a velocidade do congelamento desempenha um papel crucial na determinação do tamanho e localização dos cristais de gelo dentro do tecido de carne congelada, que, posteriormente, irá influenciar na qualidade da carne descongelada.

A velocidade do congelamento pode ser medida em cm/h e depende da espessura e composição química do produto, do meio de contato com o meio refrigerante e da diferença de temperatura entre o produto e o meio refrigerante. O congelamento a -5 °C permite que 70 a 75% da água congele e o produto já pode ser considerado como congelado, mas o restante da água será congelada a temperaturas inferiores -5 °C, sendo necessário manter o alimento com temperaturas próximas às da câmara de estocagem, entre -18 °C e -30 °C (CONTRERAS-GUZMAN, 1982). Na prática comercial, taxas de congelamento variam de 0,2 a 100 cm/h. Taxas de 0,2-0,5 cm/h correspondem ao congelamento lento (congelamento em câmaras frias), 0,5-3,0 cm/h ao congelamento rápido (congeladores com circulação de ar e freezer de placas de contato), 5-10 cm/h ao congelamento rápido (congelamento rápido individual de produtos de tamanho pequeno em leitos fluidizados) e 10-100 cm/h para congelamento ultra-rápido por pulverização ou imersão em fluidos criogênicos (nitrogênio líquido, dióxido de carbono) (IIR, 2006).

A velocidade de congelamento é o principal fator para determinar o tamanho do cristal de gelo e pode ser definida pelo tempo de congelamento característico (t_c), que é definido como o tempo necessário para alteração do ponto de congelamento inicial para uma temperatura na qual

80% do conteúdo total de água é convertida em gelo. Outra definição para a velocidade de congelamento considera a média da velocidade de formação de gelo ou a taxa da frente de congelamento, em que é relativo à taxa de remoção de calor da amostra (ZARITZKY, 2006). Quando o calor é removido de uma forma mais rápida, há formação de um maior número de núcleos, mais estáveis, refletindo em um grande número de cristais, com tamanho reduzido. Uma taxa mais lenta de retirada de calor leva à formação de um menor número de cristais, mas com maior tamanho. O tempo requerido para que a temperatura do alimento passe pela *zona crítica* determina tanto o número quanto o tamanho dos cristais de gelo (FELLOWS, 2006). Na prática, o processo de congelamento se torna completo quando a maioria da água líquida congelável do produto se converta em gelo.

De acordo então com a velocidade o congelamento pode ser classificado de duas formas, como congelamento lento e rápido. No primeiro, a temperatura do produto permanece próximo ao ponto de congelação inicial durante bastante tempo. A água extracelular se congela mais rapidamente que a intracelular, porque tem uma menor concentração de solutos. Durante o congelamento lento é maior o período de cristalização ocorrendo numerosos cristais de gelo extracelulares que se perdem facilmente como “gotejamento” durante a descongelação. No congelamento rápido, a temperatura do produto cárneo a ser congelado cai rapidamente abaixo do ponto de congelação inicial. O congelamento rápido da carne causa menos efeitos prejudiciais do que o congelamento lento (ROÇA, 2005).

A medida que a temperatura de um alimento vai baixando lentamente, a água cristaliza no ponto de congelamento e se separa da solução. Como resultado, a concentração de soluto na solução restante não congelada aumenta. O processo continua, de acordo com a diminuição da temperatura até que a concentração de soluto na fase líquida atinja um nível de saturação. À medida que a temperatura diminui, o soluto não cristaliza devido à sua baixa difusividade em uma solução altamente viscosa, mas a água continua cristalizando devido a sua alta difusividade. O sistema finalmente alcança um estágio no qual a fase líquida de concentração máxima congelada se transforma em vítreo. Assim, um alimento congelado lentamente contém uma mistura de gelo e fases vítreas aquosas, e em contrapartida, quando o alimento é congelado rapidamente, a uma taxa de resfriamento mais rápida que a taxa de crescimento de cristas de gelo, todo alimento é transformado em vítreo aquoso na temperatura de transição vítrea (DAMODARAN e PARKIN, 2018). De um modo geral, quanto mais rápida a taxa de

congelamento, menores cristais de gelo são formados enquanto menor a taxa de resfriamento, maiores cristais de gelo são formados (STUBY, LAMKEN & DOLEZAL, 1993).

No congelamento lento há formação de cristais de gelo fora das células, e o dano é do tipo físico-químico, devido à alteração no equilíbrio iônico na fase líquida (a concentração do soluto é maior no interior da célula) (PELAEZ, 1983). Este tipo de congelamento causa desidratação das células dos alimentos, ocorre um dano permanente devido ao aumento da concentração de solutos e colapso da estrutura celular. Durante o descongelamento as células não recuperam sua forma e turgidez originais, o alimento amolece, e o material das células rompidas é perdido (FELLOWS, 2006).

Já no congelamento rápido ocorre uma diminuição rápida de temperatura e, geralmente, o processo se completa em alguns minutos. Nesse tipo de congelamento praticamente não ocorrem alterações na qualidade do alimento, pois é formado um número muito grande de pequenos cristais de gelo, intracelulares, que não alteram de maneira significativa a textura do produto (POTTER, 1995).

Quanto à taxa de congelamento, pode se afirmar que o congelamento rápido contribui para obtenção de produtos congelados de melhor qualidade, devido à formação de pequenos cristais de gelo entre as estruturas das células, nos espaços intercelulares e intracelulares, que por apresentar cristais pequenos faz com que as células sejam menos danificadas.

Sabe-se que taxas de congelamento lento causam a formação de grandes cristais de gelo extracelular e intracelular, resultando em danos consideráveis nas proteínas musculares e membranas celulares, conseqüentemente diminuindo as características de qualidade da carne (mostrando uma perda de umidade alta como purga e/ou gotejamento), enquanto o congelamento rápido resulta em formação de numerosos cristais de gelo finos, distribuídos uniformemente principalmente em níveis intracelulares no músculo (KIM, 2015).

Vários estudos atuais vêm relatando que o congelamento da carne pode apresentar uma alternativa na redução da ação da calpastatina, conseqüentemente minimizando os seus efeitos e favorecendo a maciez da carne. Grayson et al. (2014) obtiveram resultados de força de cisalhamento menores (carnes mais macias) ao congelar as carnes e posteriormente maturá-las. Segundo estes autores, o congelamento da carne antes da sua maturação contribuiu para a maciez da carne, pois pode aumentar a proteólise *post mortem* durante a maturação, devido, provavelmente, à perda da atividade do inibidor das calpaínas, a calpastatina.

Aroeira e colaboradores (2016) puderam perceber durante o experimento comparando animais Nelore e Aberdeen Angus que o congelamento agiu positivamente na proteólise durante a maturação destas carnes. Smith et al. (1969) não encontraram efeito do tempo de congelamento em carnes estocadas por períodos de três a seis semanas, porém concluíram que o congelamento resultou em carnes mais macias, com melhores valores de força de cisalhamento. Kim et al. (2015) observaram que a taxa de congelamento (lento ou rápido) não apresentou efeito sobre a força de cisalhamento das carnes após maturação por até 3 semanas, no entanto o congelamento rápido melhorou significativamente a capacidade de retenção de água da carne, reduzindo as perdas por purga e por gotejamento.

Kim et al. (2018) relataram que o congelamento rápido reduziu a perda total de exsudado de lombo suínos durante o descongelamento, mas a menor força de cisalhamento (maior maciez) foi observada nos lombos congelados lentamente e maturados depois do descongelamento.

Mosimanyana (2017) concluiu que a qualidade dos alimentos congelados está intimamente relacionada ao tamanho e distribuição dos cristais de gelo dentro dos tecidos musculares da carne, uma vez que os grandes cristais de gelo que são formados dentro dos tecidos musculares, devido ao congelamento lento, podem resultar em danos mecânicos, perda por gotejamento e, portanto, redução na qualidade do produto.

Balan et al. (2019) encontraram em sua pesquisa evidências de que o congelamento rápido antes da maturação resultou em lombos de cordeiro mais macios e com maior capacidade de retenção de água devido à formação de cristais de gelo mais finos e maior dano crio-intracelular. Crouse e Koohmaraie (1990) também relataram uma menor força de cisalhamento em amostras maturadas após o congelamento do que em amostras maturadas por 6 dias antes do congelamento. Esses resultados corroboram com a hipótese de que o congelamento prévio à maturação poderia melhorar a proteólise *post mortem* da carne (GAMBUTEANU; BORDA; ALEXE, 2013).

Jeong et al. (2011) relataram que apesar do congelamento ser um dos métodos mais importantes para conservação de carnes, alguns mecanismos que não podem ser evitados durante esse processo devido, principalmente, a formação de cristais de gelo que leva ao dano mecânico da carne e desnaturação proteica, sugerindo que esse processo pode levar a uma maior deterioração da coloração em carnes bovinas. O armazenamento da carne congelada por um

longo período pode afetar a estabilidade oxidativa e as propriedades sensoriais da mesma (VIEIRA et al., 2009; AROEIRA et al., 2017).

O congelamento da carne e posterior armazenamento congelado pode refletir em efeitos nas propriedades estruturais e químicas de alimentos, incluindo alterações nas fibras musculares, lipídios e proteínas, com potencial para influenciar significativamente os atributos de qualidade da carne e seus derivados. Cho et al. (2017) realizaram um estudo sobre o armazenamento congelado de carne bovina Hanwoo e observaram uma diminuição nos valores de Warner Bratzler Shear Force (WBSF) de acordo com o aumento do tempo de maturação e período de armazenamento, juntamente com aumento da capacidade de retenção de água, concluindo que o congelamento, juntamente com armazenamento e maturação contribuem para uma carne final mais macia.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizados 22 cortes desossados de ambos os contrafilés (*M. Longissimus lumborum*) de meias-carcaças de 11 bovinos da raça Nelore, obtidos 48 horas *post mortem* diretamente de um frigorífico com selo de Inspeção Federal no estado de Minas Gerais. As carnes foram transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados (LabCarnes), da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em Lavras, Minas Gerais, onde o experimento foi conduzido.

Cada peça de contrafilé, esquerdo e direito, de cada animal, foi dividida em duas seções, uma de 30 cm e outra de 5 cm. As duas seções de 5 cm de cada animal foram destinadas ao tratamento controle (CONT), não sendo congeladas. As seções das amostras CONT foram individualmente pesadas, embaladas a vácuo (BS420; R.Baião, Ubá, MG, Brasil) em embalagens de náilon-polietileno e aleatoriamente destinadas aos tratamentos com e sem maturação, sendo conduzida em câmara climática (EL202; EletroLab, São Paulo, SP, Brasil) a uma temperatura de $2,0 \pm 0,5$ °C.

As outras duas seções de 30 cm do contrafilé de cada animal foram embaladas a vácuo e distribuídas aleatoriamente em dois tratamentos relativos ao processo de congelamento: SLOW, destinada ao congelamento lento, conduzido em freezer horizontal comercial, a uma temperatura de -20 °C com ar estático por 24 horas; e FAST, destinada ao congelamento rápido, em túnel de congelamento com ar forçado, a uma temperatura de -25 °C e velocidade do ar em torno de 3 m/s até atingir a temperatura interna de aproximadamente -15 °C e passou para o freezer horizontal a -20 °C, onde ficou até completar as 24 horas. A temperatura interna das peças foi registrada no ponto geométrico, utilizando termopares (tipo T de cobre constantan AWG-24). Os termopares foram conectados a um sistema de dados (National Instruments- Modelo SCXI- Hungria) e a leitura da temperatura foi registrada em intervalos de 5 minutos, utilizando o *software* LabVIEW 8.5.

Após congelamento, cada seção de 30 cm foi cortada ainda congelada em seis seções de 5 cm, com o auxílio de uma serra fita, que foram individualmente pesadas, embaladas a vácuo (BS420; R.Baião, Ubá, MG, Brasil) e aleatoriamente destinadas (aos pares) a três tempos de

armazenamento sob congelamento (1, 14 e 28 dias; denominando os tratamentos em SLOW1, SLOW14, SLOW28, FAST1, FAST14 e FAST28) em freezer horizontal a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após cada período de congelamento pré-determinado, as peças de 5 cm foram descongeladas sob refrigeração ($4\text{ }^{\circ}\text{C}/24\text{ h}$) e aleatoriamente destinadas aos tratamentos com e sem maturação, conduzido da mesma forma que para as amostras CONT.

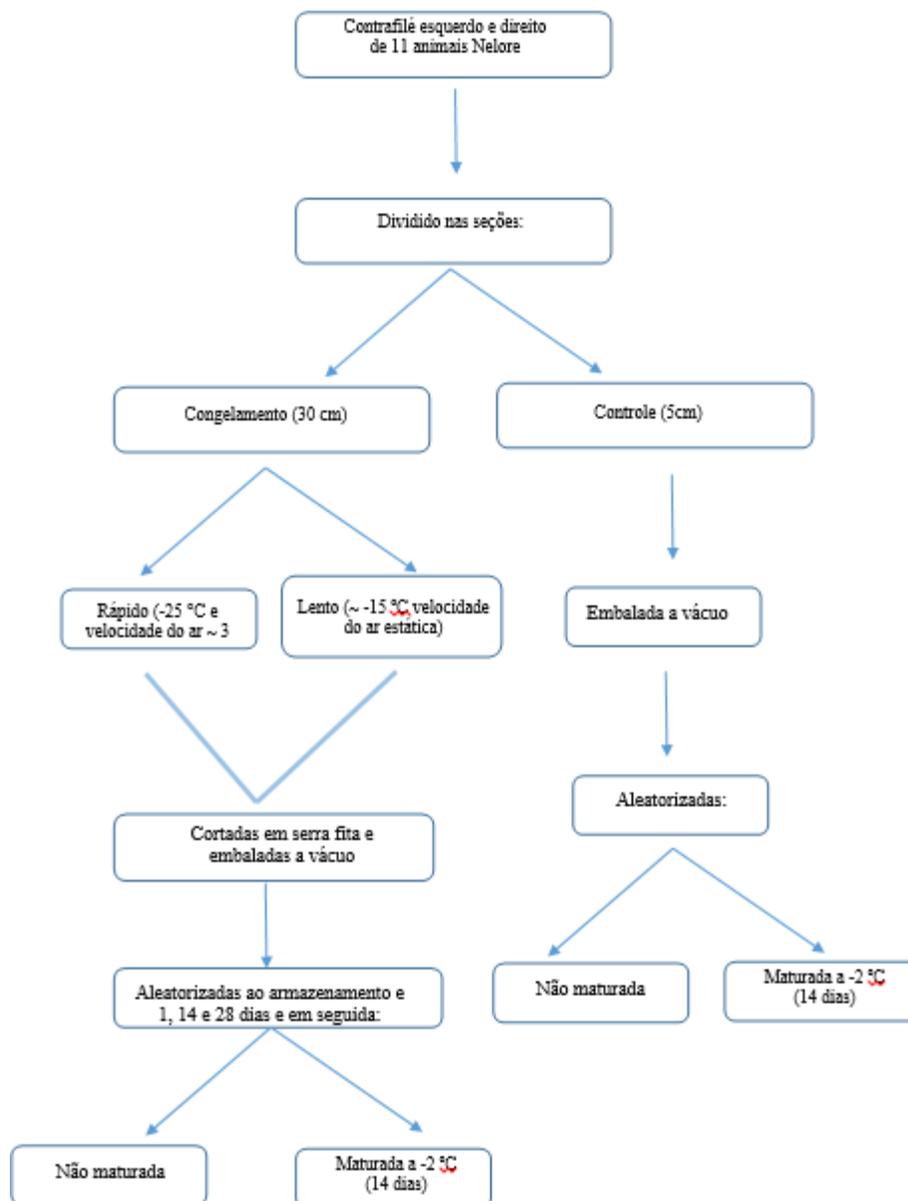


Figura 1. Fluxograma da obtenção e preparo das amostras de contrafilés bovinos (*Longissimus thoracis*) da raça Nelore.

3.2 Procedimento analítico

As amostras de contrafilé foram removidas da embalagem, secas em papel toalha e novamente pesadas. A perda de massa por descongelamento (PMD) foi obtida pela diferença de peso das amostras antes do congelamento e depois de descongeladas (sem maturação), enquanto a purga foi determinada pela diferença de peso das amostras antes do congelamento e depois de descongeladas e maturadas por 14 dias, sendo ambas expressas em porcentagem.

O pH foi mensurado, utilizando um pHmetro portátil (Thermo Fisher scientific modelo FJ64311- Finlândia) com eletrodo de inserção em 3 pontos distintos do bife.

Cada peça de 5 cm foi dividida com o auxílio de um molde em dois bifes de 2,5 cm de espessura, sendo um bife destinado para as análises de perda de peso por cozimento (PMC) e força de cisalhamento (WBsSF) e o outro para a condução das análises de índice de fragmentação (IF), cor instrumental (CIELAB) e formas químicas da mioglobina, taxa de consumo de oxigênio (TCO), atividade da metamioglobina redutase (MRA) e análises.

3.2.1 Índice de fragmentação miofibrilar

As amostras foram novamente congeladas, e o índice de fragmentação (IF) determinado conforme descrito por Aroeira *et al.* (2016). Cinco gramas da amostra ainda congelada foram homogeneizadas (Turratec TE 102; TECNAL, Piracicaba, SP, Brasil) em 50 mL de solução refrigerada (4 °C) de sacarose 0,25 M e KCl 2 mM, a uma velocidade de 15.000 rpm, por cerca de 40 segundos. O homogenato foi filtrado à vácuo (bomba de vácuo NOF-650; New Pump, Brasil) por uma tela de náilon com poros de 250 µm previamente pesada. A tela contendo o resíduo foi transferida para uma folha de papel filtro para absorção do exsudado por 10 minutos à temperatura ambiente, e a tela novamente pesada. A massa do resíduo (Pr) foi determinado por diferença e o IF expresso como $100 \times Pr$. Menores valores de IF indicam maior proteólise da estrutura miofibrilar.

3.2.2 Perda por cozimento e força de cisalhamento

Para determinação da perda de massa por cozimento (PMC), as amostras foram pesadas e grelhadas a 200-220 °C (Croydon Modelo Sace; D. de Caxias, RJ-Brasil) até atingirem a temperatura interna de 71 °C, monitorada por um termômetro digital (Chugod-Smart Wireless BBQ Thermometer) inserido no centro geométrico de cada bife de 2,5 cm de espessura. Após o cozimento, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente por aproximadamente 2 h e novamente pesadas. A PMC foi determinada pela diferença da pesagem do bife antes e após o cozimento e o resultado foi expresso em porcentagem.

A força de cisalhamento foi determinada segundo método *Warner-Bratzler square Shear Force* (WBsSF), descrito por Silva *et al.* (2015), após avaliação da PMC. De cada bife cozido foram retiradas seis amostras retangulares (1,0 x 1,0 x 2,5 cm), no sentido das fibras musculares, que foram cisalhadas transversalmente, a uma velocidade de 3,33 mm/s, por uma lâmina tipo Warner-Bratzler acoplada a um texturômetro TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK). A força máxima (N) necessária para cisalhar por completo cada amostra foi medida e a média das leituras de cada bife utilizada na análise estatística.

3.2.3 Cor instrumental e formas químicas da mioglobina

A determinação da cor instrumental (CIELAB) e da proporção das formas químicas da mioglobina das amostras em cada tempo de maturação foi conduzida utilizando um espectrofotômetro portátil CM-700 (Kônica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão), com porta de abertura de 8 mm, iluminante A e ângulo de 10° para o observador. O aparelho foi calibrado para fazer a leitura, utilizando o modo “luz especular incluída” (SCI) e o modo “luz especular excluída” (SCE). As amostras foram expostas a ambiente refrigerado por 30 min sob refrigeração para oxigenação (*blooming*), sendo em seguida realizadas cinco leituras em posições distintas na superfície da carne.

A partir das leituras conduzidas no modo SCI, curvas de reflectância entre 400 a 710 nm (intervalo de 10 nm) foram obtidas e as proporções das formas químicas da mioglobina, foram estimadas pelo método matemático de Krzywicki (1979). Os valores intermediários (473, 525 e 572 nm) de reflectância foram determinados por interpolação linear e o conteúdo relativo dos

pigmentos heme, expressos como oximioglobina (O_2Mb), deoximioglobina (Mb^+) e metamioglobina (MMb). A partir das leituras conduzidas no modo SCE, os índices luminosidade (L^*), índice de vermelho (a^*) e índice de amarelo (b^*) foram obtidos. A saturação (C^*) e o ângulo de tonalidade (h) também foram determinados (Ramos & Gomide, 2007): $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$; e $h = \tan^{-1} (b^*/a^*)$.

3.2.3.1 Atividade redutora de metamioglobina

A atividade redutora de metamioglobina (MRA) foi avaliada pelo método proposto por Watts *et al.* (1966), com adaptações descritas por Cardoso *et al.* (2019). Amostras de tamanho 5,0 x 2,5 cm (e 2,5 cm de espessura) foram obtidas e cortadas ao meio, obtendo-se duas peças com 2,5 x 2,5 x 1,25 cm. As peças foram imersas em solução de nitrito de sódio 0,3% por 30 min à temperatura ambiente, para induzir a formação de metamioglobina (MMb), sendo em seguida secas em papel toalha, embaladas a vácuo em filme de náilon-polietileno e o espectro de reflectância (420 a 710 nm, em intervalos de 10 nm) imediatamente obtido com um espectrofotômetro portátil CM-700 (Kônica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão) com porta de abertura de 8 mm. As peças foram, então, mantidas por 2h à temperatura ambiente (20-25 °C), para induzir a redução da MMb à nitrosomioglobina (NOMb), quando nova leitura do espectro foi conduzida. O espectrofotômetro foi previamente calibrado com o filme da embalagem a vácuo cobrindo a cerâmica branca padrão e as leituras das amostras foram conduzidas sobre uma superfície branca. A concentração relativa de MMb antes (MMbi) e após o período de incubação foi estimada pelo método matemático de Krzywicki (1979), e a MRA expressa como a percentagem de MMb reduzida após 2h sob vácuo.

3.2.3.2 Taxa de consumo de oxigênio

A taxa de consumo de oxigênio (TCO) foi avaliada pela conversão da oximioglobina (O_2Mb) a deoximioglobina (Mb^+) na superfície dos cortes embalados a vácuo, segundo o procedimento proposto por Madhavi e Carpenter (1993), com modificações descritas por Cardoso *et al.* (2019). Amostras de tamanho 5,0 x 2,5 cm (e 2,5 cm de espessura) foram obtidas e cortadas ao meio, obtendo-se duas peças com 2,5 x 2,5 x 1,25 cm. A superfície recém cortada das peças

foi exposta ao ar atmosférico por 60 min em ambiente refrigerado (4 °C) para completa oxigenação (*blooming*), sendo, a seguir, embaladas a vácuo e o espectro de reflectância (420 a 710 nm, em intervalos de 10 nm) imediatamente obtido com um espectrofotômetro portátil CM-700 (Kônica Minolta 50 Sensing Inc., Osaka, Japão) com porta de abertura de 8 mm. As peças foram, então, mantidas por 20 min à temperatura ambiente (20-25 °C), quando nova leitura do espectro foi conduzida. O espectrofotômetro foi previamente calibrado com o filme da embalagem a vácuo cobrindo a cerâmica branca padrão e as leituras das amostras foram conduzidas sobre uma superfície branca. A concentração relativa de O₂Mb antes e após o período de incubação foi estimada pelo método matemático de Krzywicki (1979), e a TCO expressa como a porcentagem de O₂Mb reduzida após 20 min sob vácuo.

3.2.4 Análise microbiológica

A avaliação microbiológica foi realizada pela contagem de bactérias psicrotróficas, conduzida no dia 0 (d0) e após a maturação a vácuo (d14 Vácuo). Além disso, uma contagem foi conduzida após a manutenção (a 4 °C) das amostras maturadas em um sistema de embalagem altamente permeável ao oxigênio (4 °C) por seis dias (d6 Display), simulando a estocagem refrigerada (*display*) destas comercialmente. Assim, nas amostras maturadas por 14 dias, uma porção (10 g) de cada tratamento foi assepticamente obtida, colocada em bandejas de poliestireno, embalada em filme de polivinilcloro (PVC), sendo o conjunto armazenado antes da análise.

Para a contagem de psicrotróficos a metodologia utilizada seguiu a Técnica de Microgota de contagem de células descrito por Gonçalves et al. (2018). As amostras foram diluídas em água peptonada e semeadas em meio TSA em alíquotas de 0,01 mL. Após a absorção pelo ágar, as placas foram incubadas e invertidas a 7 °C por 72 horas. Após este período, as colônias (unidades formadoras de colônias, UFC) foram quantificadas e os resultados expressos como log UFC/g.

3.3 Análise estatística

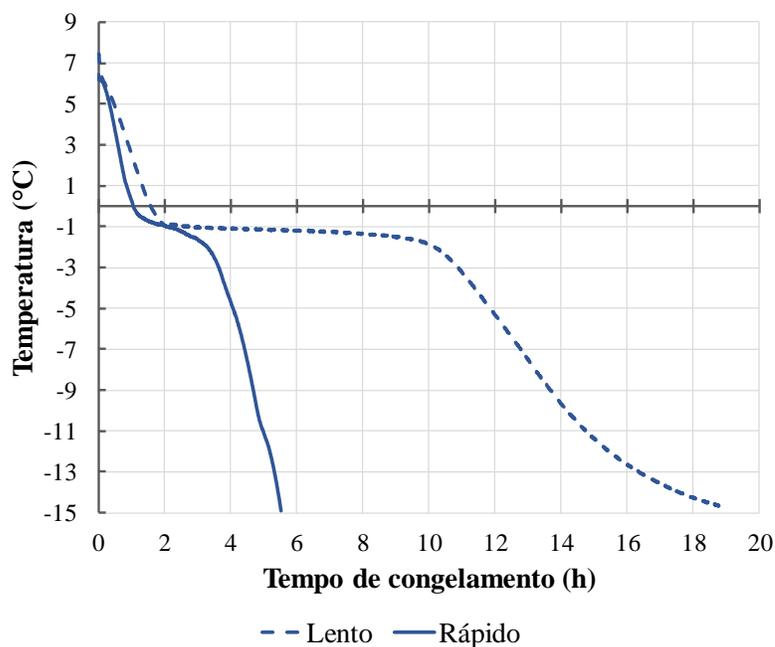
O experimento foi disposto em um delineamento de blocos casualizados (DBC), em um esquema fatorial 7 (tratamentos) x 2 (tempos de maturação), para as análises físico-químicas e tecnológicas, e 7 (tratamentos) x 3 (tempos de armazenamento), para as análise microbiológica, em que os blocos foram constituídos por 11 diferentes animais (repetições). De acordo com as significâncias ($P < 0.05$) obtidas na ANOVA, os efeitos dos fatores foram avaliados pelo teste de Duncan. As análises estatísticas foram realizadas no software SAS, versão 9.2 (Statistical Analysis System - SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Taxa de congelamento

As diferenças nas taxas de congelamento entre os processos de congelamento empregados foram avaliadas pelo histórico de temperaturas obtidas pelos sensores instalados no centro geométrico das amostras de carne. Os dois métodos de congelamento influenciaram o tempo de congelamento das amostras de contrafilé bovino (Figura 2).

Figura 2 - Taxas de declínio da temperatura central de contrafilés bovinos (peças de ~30 cm de comprimento e ~2,9 kg embaladas a vácuo) submetidos aos processos de congelamento rápido (túnel de congelamento a -25 °C, com velocidade de ar forçada de 3 m/s.) e lento (freezer comercial a -20 °C, com ar estático).



Fonte: Do autor (2019).

Segundo Zaritzky (2000), para fins práticos, o processo de congelamento é concluído quando a maior parte da água congelável no centro térmico do produto é convertida em gelo. A velocidade de congelamento é melhor definida considerando a velocidade de formação de gelo no alimento, ou seja, o tempo que se leva para atravessar uma faixa de temperatura (considerada faixa crítica) em que ocorre a maior formação de cristais de gelo (FELLOWS, 2017). No caso da

carne, a faixa crítica de congelamento situa-se entre -1 e -7 °C (T_{fc}), entre a temperaturas de início do congelamento e a temperatura em que 75 a 80% da água se encontra congelada (AÑÓN & CALVELO, 1980). Neste experimento, nas amostras submetidas ao congelamento rápido o tempo necessário para passar pela faixa crítica de congelamento (T_{fc}) foi de aproximadamente 162 min, enquanto para o congelamento lento o tempo necessário foi de cerca de 642 min.

De acordo com o Instituto Internacional de Refrigeração (IIR, 2006), a taxa de congelamento de um alimento é definida como a razão entre a distância mínima da superfície ao centro térmico e o tempo decorrido para passar de 0 °C na superfície para uma temperatura de 10 °C menor do que a temperatura inicial de formação de gelo (no caso da carne -1,1 °C). Assim, na prática comercial, taxas médias de congelamento entre 0,2-0,5 cm/h correspondem ao congelamento lento; 0,5-3,0 cm/h ao congelamento rápido; 5-10 cm/h ao congelamento muito rápido; e 10-100 cm/h ao congelamento ultra-rápido (ZARITZKY, 2000). Considerando a espessura média das peças de aproximadamente 10 cm, a taxa de congelamento do presente estudo foi de 1,25 cm/h para o congelamento rápido e de 0,38 cm/h para o congelamento lento.

4.2 Características associadas à maciez

Na Tabela 1 são expressos os valores médios obtidos para as análises de pH, perdas de água (perda de massa no descongelamento, purga e perda de massa por cozimento), índice de fragmentação (IF) e força de cisalhamento (FC). Para todas as análises, não foi verificado ($P > 0,05$) interação entre os tratamentos e os tempos de maturação.

As amostras não-congeladas (CONT) apresentaram ($P < 0.05$) maiores valores de pH, quando comparado àquelas que sofreram o congelamento, independentemente da taxa de congelamento ou do tempo de armazenagem congelado. De acordo com Leygonie et al. (2012), uma pequena redução nos valores de pH com o congelamento e descongelamento da carne pode ocorrer devido a um desequilíbrio iônico causado pela desnaturação de proteínas tamponantes com o congelamento. Além disso, esta desnaturação pode ser agravada por um aumento na concentração de solutos (AROEIRA et al., 2016) oriundo da maior perda de exsudado (purga) devido ao descongelamento, o que também foi observado neste experimento. Aroeira et al. (2016) e Sales et al. (2020) observaram menores valores de pH em amostras congeladas/descongeladas em relação as não-congeladas já no primeiro dia de maturação. Kim et

al. (2018) ao avaliar a taxa de congelamento em músculos suínos não perceberam diferença entre congelamento e taxa de congelamento para os valores de pH, resultados semelhantes também ao de Kim e Kim para músculos bovinos (2017).

Tabela 1 - Efeitos do tipo de congelamento associado ao tempo de armazenamento sob congelamento (T) e tempo de maturação (M) nos valores de pH, perdas de água, índice de fragmentação miofibrilar (IF) e força de cisalhamento (FC) em músculos *L. thoracis* de bovinos.

Efeitos	pH	Perda de água (%)			IF	FC (N)
		PMD	Purga ¹	PMC		
Tratamentos ²						
CONT	5,69 ^a	-	2,46 ^a	24,19 ^a	821	74,95 ^{ab}
SLOW1	5,63 ^b	5,73 ^a	7,70 ^b	23,33 ^a	897	78,67 ^a
SLOW14	5,61 ^b	7,72 ^b	9,21 ^{cd}	21,06 ^{bc}	837	67,24 ^{bc}
SLOW28	5,63 ^b	9,04 ^c	10,09 ^d	19,27 ^c	907	62,39 ^c
FAST1	5,61 ^b	4,62 ^d	6,33 ^e	22,62 ^{ab}	854	64,69 ^c
FAST14	5,62 ^b	6,00 ^a	8,09 ^{bc}	23,75 ^a	840	66,77 ^{bc}
FAST28	5,62 ^b	7,19 ^c	8,47 ^{bc}	19,99 ^{bc}	832	68,42 ^{bc}
Maturação						
0 dia	5,62	-	-	22,42	939 ^x	79,95 ^x
14 dias	5,64	-	-	21,65	772 ^y	58,09 ^y
EPM	0,06	0,34	0,39	0,46	14	1,50
Pr>F ³						
T	0,047	<0,001	<0,001	0,008	0,225	0,003
M	0,878	-	-	0,354	<0,001	<0,001
T×M	0,281	-	-	0,264	0,082	0,178

PMD = perda de massa por descongelamento nas amostras não maturadas; PMC = perda de massa no cozimento; EPM = erro padrão da média: PMD ($n = 66$); Purga ($n = 77$); e pH, PMC, IF e WBsSF ($n = 154$).

¹Purga = nas amostras congeladas corresponde a soma das perdas por descongelamento e por exsudação no 14º dia de maturação.

²CONT = amostra não-congelada; SLOW1, SLOW14 e SLOW28 = congelamento lento seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente; e FAST1, FAST14 e FAST28 = congelamento rápido seguido de armazenamento sob congelamento (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente.

³Valores significativos ($P < 0.05$) foram representados em negrito.

Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0.05$) pelo teste de Duncan, para os tratamentos (*a-f*), e pelo teste F, para o tempo de maturação (*x,y*).

Com relação à purga, foi observado um efeito significativo entre os tratamentos. De forma geral, as amostras congeladas apresentaram maiores valores de perda de peso por descongelamento juntamente com a purga quando comparado ao tratamento controle, o que também foi verificado em diversos outros trabalhos (AROEIRA et al., 2016; LAGERSTEDT et al., 2008; SALES et al., 2020). O congelamento e posterior descongelamento tem um forte impacto na quantidade de água perdida pela carne, devido à formação de cristais de gelo que danifica a integridade estrutural da membrana celular, permitindo a saída de água do meio intracelular para o espaço extracelular (LEYGONIE et al., 2012).

Nas amostras congeladas, foi observado maiores ($P < 0.05$) perdas de massa por descongelamento (PMD) naquelas submetidas ao congelamento lento (média de 7,50%) do que no congelamento rápido (média de 5,94%), sendo que estas perdas foram maiores para maiores tempos de armazenamento congelado. Os maiores valores de PMD podem ser devidos a formação de maiores cristais de gelo durante o congelamento lento e que poderia ter sido agravado pela degradação de proteínas durante a maturação. Diversos estudos têm relatado que o congelamento rápido resulta em pequenos cristais de gelo intracelulares que reduziram a perda de exsudado (BALAN et al., 2019; KIANI & SUN, 2011; GRUJIĆ et al., 1993). O tempo de armazenamento congelado foi afetado possivelmente devido a recristalização, que é frequentemente propiciado pelas flutuações na temperatura, que ocorrem frequentemente durante a estocagem congelada (ZARITZKY, 2000).

O mesmo comportamento observado para PMD também foi observado na purga após 14 dias de maturação, embora as perdas das amostras congeladas e mantidas por 14 e 28 dias não tenham sido diferentes ($P > 0.05$) dentro de cada taxa de congelamento aplicada (médias de 9,65% para o congelamento lento e de 8,28% para o congelamento rápido). A presença de purga é inevitável em qualquer sistema de embalagem em que a vida útil da carne é prolongada, especialmente nos sistemas a vácuo (TROY & KERRY, 2010), sendo os menores valores para o tratamento controle justificados por estas não terem sofrido perdas por descongelamento.

Os valores de PMD e purga corroboram com outras afirmações de que o congelamento rápido minimiza a água perdida na carne descongelada, possivelmente reduzindo a interrupção física das células e alterações químicas de proteínas através da formação de pequenos cristais de gelo (KIANI & SUN, 2011).

Kim e Kim (2017) ao observar o congelamento rápido com cerca de 2 horas e o congelamento lento por 24 horas, relataram que os músculos bovinos das amostras congeladas e posteriormente maturadas tiveram perda de purga/descongelamento significativamente mais alta do que os demais tratamentos.

Para os valores de perda de peso por cozimento (PMC), apenas o efeito do tratamento foi significativo. Observou-se que a PMC das amostras controle e aquelas congeladas e mantidas com os menores tempos de armazenamento (por 1 dia para a SLOW e até 14 dias para FAST) sob congelamento não diferiram entre si ($P > 0.05$). Com o aumento do período de armazenamento sob congelamento, as perdas no cozimento reduziram, o que pode ser devido à grande perda de água (purga) ocorrida nas amostras congeladas com o período de maturação, induzindo a menores perdas durante a cocção. Diferenças devido à taxa de congelamento nos valores de PMC não foram observadas em contrafilés bovinos (KIM et al., 2015) e lombos suínos (KIM et al., 2018). Aroeira et al. (2017) observaram que nas amostras não-congeladas a PMC aumentou no sétimo dia de maturação, permanecendo constante até o final dos 21 dias avaliados, enquanto nas amostras congeladas não houve diferença entre os tempos, apresentando resultados semelhantes (~27,40 %) ao do presente trabalho com 14 dias de maturação.

O IF não foi afetado ($P > 0.05$) pela forma de congelamento e tempo de estocagem. Isto não condiz com a observação de Aroeira et al. (2016) que observaram que o congelamento favoreceu uma maior fragmentação nas carnes de animais Angus e Nelore em que onde a proteólise foi maior naquelas maturadas após o congelamento, sendo que a maior taxa proteolítica ocorreu nos primeiros 7 dias. Segundo estes autores, maiores taxas de proteólise são devidas, possivelmente, à inativação do inibidor calpastatina durante o congelamento, o que favoreceria a atividade proteolítica das calpaínas durante a maturação das amostras descongeladas.

O índice de fragmentação (IF) foi afetado ($P < 0.05$) apenas pelo tempo de maturação. Isto é previsto, uma vez que a maturação permite a ação prolongada das proteases presentes naturalmente na carne, o que resulta na fragmentação dos componentes estruturais das miofibrilas (KOOHMARAIE, 1988). Assim, o IF é uma análise de medida indireta, principalmente, da atividade do sistema enzimático das calpaínas/calpastatinas (MCDONAGH et al., 2001), cujos valores menores indicam maior degradação das miofibrilas e, conseqüentemente, carnes mais macias (RAMOS & GOMIDE, 2017).

Para a força de cisalhamento (FC), foi observado diferença significativa ($P < 0.05$) entre os tratamentos e os tempos de maturação de forma isolada. Em relação aos tipos de congelamento observa-se que não houve diferença ($P > 0.05$) entre o SLOW1 e controle, sendo possível observar carnes mais resistentes ao corte, uma vez que não houve tempo suficiente para a ação eficiente das calpaínas que causam perda da integridade estrutural das miofibrilas, tornando as carnes mais macias (AROEIRA et al., 2016). Os tratamentos SLOW14, SLOW28, FAST1, FAST14 e FAST28 não diferiram ($P > 0.05$) entre si, ou seja, o tempo de maturação apesar de ter levado a uma maior maciez da carne, não se apresentou tão expressivo como o tipo de congelamento, já que, segundo as médias, observa-se que o congelamento rápido maturado por um dia apresentou a segunda carne mais macia, apenas acima do congelamento lento e 28 dias, esta redução pode ser atribuída à perda da integridade estrutural, ocasionada pela formação de cristais de gelo intracelular, que rompem as estruturas físicas, quebrando grande parte das miofibrilas e favorecendo a maciez da carne, conforme reportado por outros autores (CROUSE & KOOHMARAIE, 1990; GRAYSON et al., 2014; AROEIRA et al., 2016). Menores valores de FC com o congelamento também foi reportado por vários outros pesquisadores (KIM et al., 2018; KIM & KIM, 2017; BALAN et al., 2019).

Sendo assim, o tempo de armazenamento sob congelamento influenciou a FC de forma distinta quanto a taxa de congelamento. O FAST1 teve a menor FC ($P > 0.05$) e foi a amostra que menos perdeu peso durante o descongelamento, justificando estar entre as amostras mais macias. Vieira et al. (2009) relataram que a formação de pequenos cristais de gelo intracelulares durante o congelamento rápido aumenta a taxa dos processos de maturação, pois libera mais proteases. Comparando a amostra controle com os tratamentos SLOW28 e FAST1, verifica-se que as amostras congeladas se apresentaram mais macias, sendo assim, o tratamento FAST1 pode ser apontado como a melhor alternativa, uma vez que apresenta menores perdas e fica menos tempo estocado.

Conforme esperado, as carnes maturadas apresentaram-se mais macias (menores valores de FC) do que as carnes não-maturadas.

4.3 Características associadas à cor

Os efeitos dos tratamentos e do tempo de maturação na capacidade redutora, taxa de consumo de oxigênio e formas químicas da mioglobina estão descritos na Tabela 2. Para nenhuma destas características foi verificado ($P > 0.05$) interação entre os tratamentos e os tempos de maturação.

Tabela 2 - Efeito dos tipos de congelamento associado ao tempo de armazenamento sob congelamento (T) e tempo de maturação (M) na capacidade redutora, taxa de consumo de oxigênio (TCO) e nas formas químicas da mioglobina (Mb) em músculos *L. thoracis* de bovinos.

Efeitos	Capacidade redutora (%)		TCO (%)	Forma química da Mb (%)		
	MMbi	MRA		O ₂ Mb	Mb ⁺	MMb
Tratamentos ¹						
CONT	43,68	4,71	72,66 ^a	66,03 ^a	12,31	21,67 ^b
SLOW1	44,38	3,57	52,76 ^b	59,05 ^b	14,82	26,12 ^a
SLOW14	44,48	7,00	45,51 ^b	59,78 ^b	12,37	27,85 ^a
SLOW28	45,45	7,47	43,81 ^b	58,08 ^b	13,85	28,06 ^a
FAST1	44,50	5,18	52,35 ^b	56,97 ^b	15,11	27,92 ^a
FAST14	44,94	6,39	49,72 ^b	59,01 ^b	13,66	27,33 ^a
FAST28	45,56	6,38	42,66 ^b	58,54 ^b	13,30	28,16 ^a
Maturação						
0 dia	43,94 ^x	5,35	71,84 ^x	62,18 ^x	15,48 ^x	22,34 ^x
14 dias	45,49 ^y	6,28	30,87 ^y	57,09 ^y	11,79 ^y	31,12 ^y
EPM	0,25	0,40	1,39	1,05	0,39	0,98
Pr>F ²						
T	<i>0,107</i>	<i>0,089</i>	0,001	0,041	<i>0,156</i>	0,011
M	<0,001	<i>0,217</i>	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
T×M	<i>0,528</i>	<i>0,072</i>	<i>0,158</i>	<i>0,632</i>	<i>0,786</i>	<i>0,588</i>

MMbi = metamioglobina inicial; MRA = atividade redutora da metamioglobina; O₂Mb = oximioglobina; Mb⁺ = deoximioglobina; MMb = metamioglobina; e EPM = erro padrão da média ($n = 154$).

¹CONT = amostra não-congelada; SLOW1, SLOW14 e SLOW28 = congelamento lento seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente; e FAST1, FAST14 e FAST28 = congelamento rápido seguido de armazenamento sob congelamento (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente.

²Valores significativos ($P < 0.05$) foram representados em negrito.

Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0.05$) pelo teste de Duncan, para os tratamentos ($a-b$), e pelo teste F, para o tempo de maturação (x,y).

Para a determinação da MRA, a formação de metamioglobina (MMb) foi induzida na presença de um agente oxidante (nitrito de sódio). Assim, a quantidade inicial de MMb formada pela oxidação na solução de nitrito de sódio (MMbi) pode ser relacionada à capacidade redutora da carne (RODRIGUES et al., 2020). Entretanto, tanto a MMbi quanto a atividade redutora de MMb (MRA) não foram afetadas ($P > 0.05$) pelos tratamentos. Isto provavelmente devido à desnaturação de proteínas que são maiores a temperaturas rigorosas de frio, reduzindo a atividade das enzimas que inibem a metamioglobina, permitindo assim uma maior concentração de MMb (LEDWARD 1985). Jeong et al. (2011), também não observaram diferenças significativas na atividade de MRA de amostras de carne bovina submetidas ao congelamento e descongelamento e maturados por 7 dias quando comparado com as amostras controle. Em contrapartida, Sales et al. (2020) observaram uma diminuição nos valores de MRA durante o processo de congelamento/descongelamento. Os efeitos do congelamento sobre a MRA ainda são relativamente escassos.

A MMbi aumentou ($P < 0.001$) com 14 dias de maturação. Sales et al. (2020) relataram que a mensuração do percentual de redução da MMb no teste NORA parece ser mais eficiente na avaliação da capacidade redutora de MMb da carne do que apenas a avaliação da concentração inicial da MMb formada com a exposição ao nitrito, o que pode explicar os resultados para MRA relatados anteriormente.

Foi verificado efeito ($P < 0.05$) isolado nos tratamentos e tempo de maturação para a taxa de consumo de oxigênio (TCO), com os maiores valores sendo observados ($P < 0.05$) nas amostras não-congeladas (controle) e não-maturadas. Uma redução da TCO com o tempo *post mortem* é atribuída à degradação de enzimas e, ou, ao esgotamento de substratos e coenzimas envolvidos na respiração mitocondrial (MCKENNA et al., 2005). Uma redução na atividade mitocondrial também explica os menores valores observados nas amostras de carnes congeladas em relação ao controle, uma vez que Phung et al. (2011) reportaram que a TCO de mitocôndrias isoladas de músculos suínos reduz com o congelamento e descongelamento.

Para as formas químicas da mioglobina, o congelamento reduziu ($P < 0.05$) a proporção de oximioglobina (O₂Mb) e aumentou ($P < 0.05$) a de MMb, independentemente da taxa de congelamento ou tempo de estocagem sob congelamento. Tal fato é condizente com outros trabalhos (AROEIRA et al., 2016; JEONG et al., 2011) que observaram que o congelamento provocou aumento no percentual de MMb, contribuindo, assim, para uma rápida deterioração na

cor da carne bovina. Após 14 dias de maturação, a proporção de O₂Mb diminuiu, assim como a deoximioglobina (Mb⁺) e a MMb aumentou, apresentando efeito de oxidação.

Os efeitos dos tratamentos e do tempo de maturação nos índices de cor da CIE são descritos na Tabela 3. Todos os índices de cor foram afetados ($P < 0.05$) pelo tratamento e pelo tempo de maturação de forma isolada.

Tabela 3 - Efeitos dos tipos de congelamento associado ao tempo de armazenamento sob congelamento (T) e tempo de maturação (M) nos índices de cor da CIE em músculos *L. thoracis* de bovinos.

Efeitos	Luminosidade (L*)	Índice de vermelho (a*)	Índice de amarelo (b*)	Saturação (C*)	Tonalidade (h, graus)
Tratamentos ¹					
CONT	42,70 ^a	22,44 ^a	14,99 ^a	27,00 ^a	33,68 ^a
SLOW1	41,99 ^{ab}	19,88 ^b	13,67 ^b	24,16 ^b	34,86 ^b
SLOW14	41,31 ^b	19,51 ^b	13,91 ^b	24,00 ^b	35,98 ^b
SLOW28	41,25 ^b	18,66 ^b	13,26 ^b	22,93 ^b	35,88 ^b
FAST1	41,32 ^b	19,53 ^b	13,82 ^b	23,98 ^b	35,79 ^b
FAST14	41,63 ^b	19,49 ^b	13,85 ^b	23,96 ^b	35,93 ^b
FAST28	41,32 ^b	18,98 ^b	13,54 ^b	23,36 ^b	35,90 ^b
Maturação					
0 dia	40,45 ^x	20,69 ^x	13,60 ^x	24,77 ^x	33,32 ^x
14 dias	42,84 ^y	18,88 ^y	14,13 ^y	23,63 ^y	37,54 ^y
EPM	0,37	0,32	0,16	0,34	0,29
Pr>F ²					
T	0,003	<0,001	0,007	<0,001	<0,001
M	<0,001	<0,001	0,025	0,013	<0,001
T×M	0,054	0,423	0,670	0,512	0,114

EPM = erro padrão da média ($n = 154$).

¹CONT = amostra não-congelada; SLOW1, SLOW14 e SLOW28 = congelamento lento seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente; e FAST1, FAST14 e FAST28 = congelamento rápido seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente.

² Valores significativos ($P < 0,05$) foram representados em negrito.

Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Duncan, para os tratamentos (*a-b*), e pelo teste F, para o tempo de maturação (*x,y*).

Considerando a diferença entre tratamentos, os resultados da Tabela 3 mostram que os dois tipos de congelamento e tempos de armazenamento sob congelamento não afetaram ($P >$

0.05) a cor das amostras congeladas. O congelamento reduziu ($P < 0.05$) ligeiramente a luminosidade (L^*) das amostras, que se apresentaram mais escuras do que as amostras controle, exceto as amostras congeladas no processo lento e armazenadas por 1 dia (SLOW1), cujo valor médio não diferiu ($P > 0.05$) dos demais tratamentos. Isto pode ser devido a uma maior concentração de solutos, especialmente de pigmentos heme, no meio intracelular ocasionada pelo congelamento/descongelamento, o que contribui para uma maior absorção da luz e, desta forma, pela menor luminosidade observada nas carnes congeladas (AROEIRA et al., 2017). Vários autores (KIM & KIM, 2017; KIM et al., 2015; AROEIRA et al., 2017) relataram que a carne submetida ao congelamento/descongelamento se torna mais escura do que a carne que não foi submetida a congelamento.

Uma redução ($P < 0.05$) nos valores dos índices de cromaticidade (a^* e b^*) com o congelamento também implicou em redução ($P < 0.05$) nos valores de saturação (C^*), tornando a cor das amostras menos intensas, devido a menor proporção de O_2Mb . O processo de congelamento também induziu ($P < 0.05$) maiores valores no ângulo de tonalidade (h), indicando uma mudança para uma tonalidade menos vermelha nas amostras submetidas ao congelamento (média de $35,72^\circ$) quando comparado às amostras controle ($33,68^\circ$). Segundo Aroeira et al. (2017) maiores valores de h em amostras congeladas indicam baixa estabilidade de cor, justificada pela maior proporção de MMb nestas amostras. Além disso, a baixa estabilidade de cor também é evidenciada pelos menores valores de C^* observados.

Os efeitos do congelamento na cor instrumental da carne apresentam relatos variáveis na literatura e apesar de poucos trabalhos relatarem resultados avaliando a cor instrumental da carne bovina maturada após congelamento/descongelamento, estes estudos têm demonstrado uma degradação significativa nos índices de cor durante o processo de maturação. Aroeira et al. (2017) concluíram que a formação de cristais de gelo na carne durante o congelamento induz a uma série de alterações que podem afetar a qualidade da carne, em especial a sua coloração.

Todos os índices de cor foram afetados ($P < 0.05$) pelo tempo de maturação, apresentando amostras mais claras (maiores valores de L^*), de cor menos intensa (menores valores de C^*) e com diminuição da tonalidade vermelha (maiores valores de h). Os valores de a^* diminuiram ($P < 0.05$) com o tempo de maturação, assim como relatado por Jeong et al. (2011), que observaram menores valores de a^* em amostras de carnes bovinas que foram congeladas, descongeladas e maturadas por 7 dias ($4^\circ C$) quando comparadas ao controle maturado. No presente trabalho, a

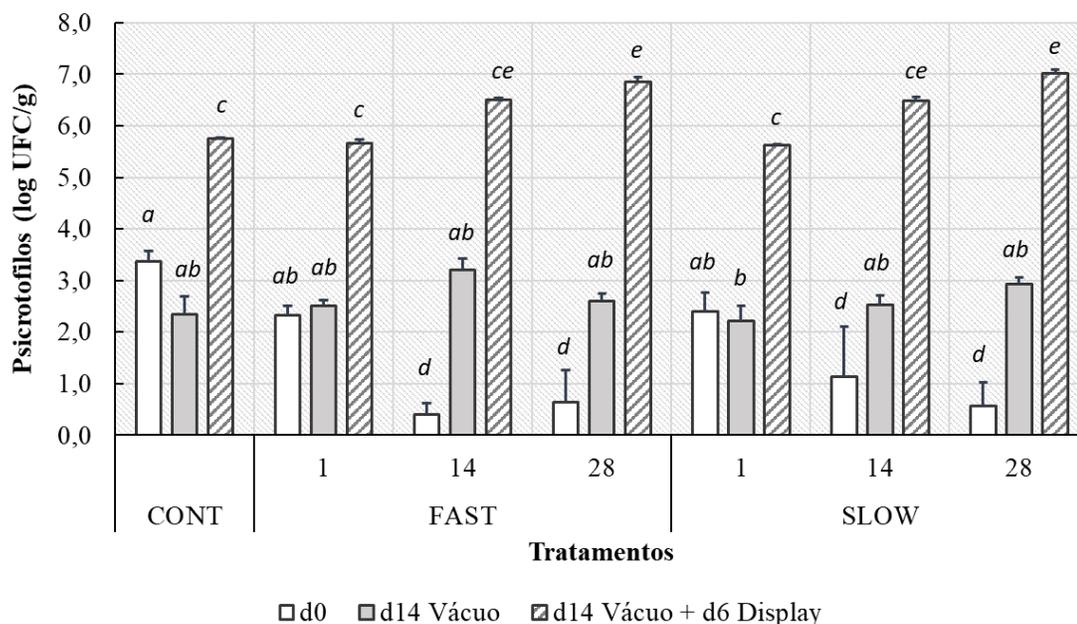
saturação (C^*) das amostras apresentou um comportamento similar aos observados para os valores de a^* e b^* , com maior valor nas amostras controle, menor nas congeladas e diminuindo durante a maturação, resultados condizentes com o relatado por Jeong et al. (2011) que, durante um período de maturação de 7 dias, observaram uma redução nos valores de C^* em carne bovina. Também foi percebido um efeito significativo ($P < 0,001$) em valores de h^* para a maturação, onde, as amostras maturadas por 14 dias apresentaram maiores valores, assim como observados por Aroeira *et al.* (2016) na maturação dos animais Nelore.

4.4 Avaliação microbiológica

Para a contagem de microrganismos psicrotróficos, foi verificado uma interação ($P < 0,001$) entre os tratamentos e o tempo de armazenamento sob refrigeração (a vácuo e em exposição ao oxigênio), sendo os efeitos decompostos e apresentado na Figura. 3.

As amostras congeladas e mantidas por 14 e 28 dias, tiveram valores de contagem significativamente menores ($P < 0.05$) em comparação àquelas que foram analisadas logo após o descongelamento (dia zero). Durante o congelamento, a atividade microbiana é impedida, tendo em vista que a maioria dos microrganismos não se desenvolve em temperaturas inferiores a -10 °C. A principal razão para esta inibição do crescimento microbiano é o fato de que as reações metabólicas dos microrganismos são catalisadas por enzimas e a taxa de reação catalisada enzimaticamente é dependente da temperatura. Desta forma, com a redução da temperatura, ocorre uma redução na taxa de reação (JAY, 2005). Pode-se observar que com 14 e 28 dias de armazenamento sob congelamento as amostras maturadas apresentaram valores maiores ($P < 0.05$) do que as amostras que foram analisadas logo após o descongelamento. Vieira et al (2009) afirmaram que carnes maturadas por 10 dias apresentaram contagem de psicrotróficos superior as carnes maturadas por 3 dias e, carnes congeladas apresentaram maior contagem que as não-congeladas. Os autores atribuíram este resultado à reativação da atividade microbiana após o descongelamento juntamente com danos celulares resultantes do congelamento.

Figura 3 - Efeitos dos tratamentos e armazenamento na contagem de psicrotóxicos (log UFC/g) em músculos *L. thoracis* de bovinos.



Legenda: CONT = amostra não-congelada; SLOW1, SLOW14 e SLOW28 = congelamento lento seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente; e FAST1, FAST14 e FAST28 = congelamento rápido seguido de armazenamento congelado (-20 °C) por 1, 14 e 28 dias, respectivamente. Armazenamento: d0 = dia zero; d14 Vácuo = armazenamento (2 °C) a vácuo por 14 dias; e d6 Display = armazenamento (4 °C) em exposição ao oxigênio por 6 dias. Médias seguidas de letras diferentes (*a-e*) diferem entre si ($P < 0.05$) pelo teste de Duncan. Barras de erros representam o erro padrão da média.

Fonte: Do autor (2019).

A contagem microbiana apresentou menores valores ($P < 0.05$) no dia zero somente para as amostras de carne congeladas e armazenadas por 14 e 28 dias, enquanto no dia 1 os valores foram semelhantes ($P > 0.05$) aos das amostras controle. Esse fato pode ser principalmente devido à morte da forma vegetativa dos micro-organismos na carne por processos térmicos mais intensos, como no caso do armazenamento, que aumenta a formação de gelo, reduz a atividade de água e aumenta a concentração de soluto (HT. et al. 2014). Em contrapartida, Vieira et al. (2009) relataram que a carne congelada por três meses, após um período de maturação de 3 e 10 dias, não apresentou deterioração devido ao crescimento microbiano. No entanto, um aumento nas contagens de psicrotóxicos foi observada durante o armazenamento congelado. Isso se deve ao fato do descongelamento ser realizado em temperaturas de refrigeração, favorecendo o desenvolvimento destes micro-organismos. Porém estes autores realizaram o descongelamento

por 48 horas, o que explica a diferença do presente trabalho ao se tratar do armazenamento congelado.

Independente da taxa de congelamento, as amostras maturadas a vácuo (2 °C) por 14 dias não tiveram a multiplicação microbiana afetada ($P > 0.05$) pelo processo de congelamento. Entretanto, após a maturação, ao serem embaladas em embalagens permeáveis ao oxigênio e armazenadas a 4°C, simulando uma exposição refrigerada (*display*), houve ($P < 0.05$) um aumento da população microbiana.

Pode-se perceber que as amostras que foram conduzidas ao *display* apresentaram contagem superior ($P < 0.05$) a todos os outros tratamentos, de acordo com o esperado devido a ação do oxigênio, apresentando em sua maioria acima do nível crítico indicando que as amostras estavam inaptas ao consumo, pois segundo Gill & Jones (1994) a deterioração da carne inicia-se quando as contagens são próximas ou superiores a 10^5 UFC/g, com descoloração da superfície.

Foram observadas também, diferenças ($P < 0.05$) dentro do período de armazenamento congelado, onde quanto maior o tempo de estocagem congelado maior o crescimento microbiano.

5 CONCLUSÃO

O uso de uma taxa de congelamento rápido minimizou a perda de massa por descongelamento e por exsudação (purga), além de reduzir a força de cisalhamento das carnes, confirmando que o processo de congelamento prévio à maturação torna as amostras mais macias e contribuem para uma menor perda de nutrientes solúveis no geral, contudo, o processo de congelamento rápido sob armazenamento por um dia se apresentou como o mais eficaz, pois além de apresentar menores perdas favorece a maciez das amostras e fica menos tempo estocado.

O congelamento também alterou a coloração da carne bovina tanto no processo rápido quanto lento, tornando-as mais escuras e amareladas. Além disso, o congelamento também induziu a uma maior deposição de metamioglobina na superfície das carnes durante a maturação, demonstrando baixa estabilidade da cor. Pode-se concluir que, com o tempo de maturação as amostras se apresentaram mais claras e com uma tonalidade menos vermelha.

REFERENCIAS

- ABDALLAH, M. B.; MARCHELLO, J. A.; AHMAD, H. A. Effect of Freezing and Microbial Growth on Myoglobin Derivatives of Beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4093–4099, 1999.
- ABERLE, E.D. et al. **Principles of Meat Science**. 4 ed. New York: Kendall/Hunt Publishing Company, 2001. 354p.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Perfil da pecuária do Brasil**. Relatório Anual 2019. Disponível em: < <http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf> >. Acesso em: 31 out. 2019.
- ADAM, K. H. et al. Psychrophilic and psychrotrophic clostridia: sporulation and germination processes and their role in the spoilage of chelled, vacuum-packaged beef, lamb and venison. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, p. 1539-1544, 2010.
- AÑÓN, M. C.; CALVELO, A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. **Meat Science**, v. 4, n. 1, p. 1-14, 1980.
- AROEIRA, C. N. et al. Effect of freezing prior to aging on myoglobin redox forms and CIE color of beef from Nellore and Aberdeen Angus cattle. **Meat Science** v. 125, p.16–21, 2017.
- AROEIRA, C. N. et al. Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Meat Science**, v. 116, p. 118–125, 2016.
- Associação Brasileira de Criadores de Nelore (ACNB). Disponível em: <http://www.nelore.org.br/Raca> Acesso em: 04/02/2020
- BALAN, P. et al. Effect of fast freezing then thaw-aging on meat quality attributes of lamb *M. longissimus lumborum*. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 8, p. 1060-1069, 2019.
- BEKHIT, A. E. D.; FAUSTMAN, C. Metmyoglobin reducing activity. **Meat science**, v. 71, n. 3, p. 407-439, 2005.
- BOEHM, M. L. et al. Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 2415-2434, 1998.
- BOGDANOWICZ, J.; CIERACH, M.; ŻMIJEWSKI, T. Effects of aging treatment and freezing/thawing methods on the quality attributes of beef from Limousin× Holstein-

Friesian and Hereford× Holstein-Friesian crossbreeds. **Meat science**, v. 137, p. 71-76, 2018.

BRIGHTWELL, G.; CLEMENS, R.; URLICH, S.; BOEREMA, J. Possible involvement of psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. **International Journal of Food Microbiology**, Hamilton, v. 119, n. 3, p. 334–339, Nov. 2007

CARDOSO, G. P. et al. Retail display of beef steaks coated with monolayer and bilayer chitosan-gelatin composites. **Meat science**, v. 152, p. 20-30, 2019.

CHO, S. et al. Effect of Aging and Freezing Conditions on Meat Quality and Storage Stability of 1++ Grade Hanwoo Steer Beef: Implications for Shelf Life. **Korean journal for food science of animal resources**, v. 37, n. 3, p. 440, 2017.

CONTRERAS-GUZMAN, E. S. Pescado e Produtos Marinhos. In: **VAN DENDER, A. G. F. Armazenamento de Gêneros e Produtos Alimentícios**. São Paulo: Secretaria de Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia, p.201-225. 1982.

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

CORNFORTH, D. Colour meat – its basis and importance. In PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. (ed) **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish product**. (Advances in meat research series, vol.9), Black Academic & Professional, p.34-78, 1994.

CROUSE, J. D.; KOOHMARAIE, M. Effect of freezing of beef on subsequent postmortem aging and shear force. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 2, p. 573-574, 1990.

DAINTY, R.H., et al. Time course of volatile compounds formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air. **Journal of Applied Bacteriology**, Langford, v. 59, p. 303–309, 1985.

DAMEN, F. W. M.; STEENBEKKERS, L. P. A. Consumer behaviour and knowledge related to freezing and defrosting meat at home: an exploratory study. **British Food Journal**, Bradford, v. 109, n. 7, p. 511-518, 2007.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. Artmed Editora, 2018.

DE PAULA, M. L. **Efeito do congelamento prévio à maturação na qualidade da carne de bovinos Nelore e F1 (Nelore x Simental) terminados a pasto e confinado**. 2013. 124p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2013.

DOULGERAKI, A. I. et al. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. **Int. J. Food Microbiology**, v. 157, p. 130-141, 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Boas práticas agropecuárias: Bovinos de corte**. 1. ed. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 2007. 86 p.

- FAROUK, M. M.; WIELICZKO, K. J.; MERTS, I. Ultra-fast freezing and low storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef. **Meat science**, v. 66, n. 1, p. 171-179, 2004.
- FELÍCIO, P. E. de; PFLANZER, S.B. Maturação da carne bovina. *Revista Bovinos (Associação Brasileira do Tabanel, Campo Grande, MS)*, v.12, maio de 2018, p.42-48.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.
- FELLOWS, P. J. **Food Processing Technology**, v. 4, p. 733-752, 2017.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 196, 2002.
- GAMBUTEANU, C.; BORDA, D.; ALEXE, P. The effect of freezing and thawing on technological properties of meat: review. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, Timisoara, v. 19, n. 1, p. 88-93, 2013.
- GEESINK, G. H., KUCHAY, S., CHISHTI, A. H.; KOOHMARAIE, M. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 10, p. 2834–2840, 2006.
- GEESINK, G. H.; KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on Degradation of Myofibrillar Proteins by μ -Calpain Under Postmortem Conditions. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2685-2692, 1999.
- GILL, C. O.; JONES, T. The display life of retail-packaged beef steaks after their storage in master packs under various atmospheres. **Meat science**, v. 38, n. 3, p. 385-396, 1994.
- GOMIDE, L. A. de M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. Ciência e qualidade da carne: fundamentos. **Viçosa: Editora UFV**, p. 155-185, 2013.
- GONÇALVES, L. D. A. et al. Primary and secondary modeling of *Brochothrix thermosphacta* growth under different temperature and pH values. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 37-43, 2018.
- GRAYSON, A. L. et al. Freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. **Journal of animal science**, v. 92, n. 6, p. 2735-2740, 2014.
- GRAYSON, A.L. et al. The effects of freezing and thawing or freezing, thawing, and aging effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, n. 6, p. 2735-2740, June 2014.
- GROELZ, Daniel et al. Non-formalin fixative versus formalin-fixed tissue: a comparison of histology and RNA quality. **Experimental and molecular pathology**, v. 94, n. 1, p. 188-194, 2013.
- GRUJIĆ, R. et al. Definition of the optimum freezing rate—1. Investigation of structure and ultrastructure of beef *M. longissimus dorsi* frozen at different freezing rates. **Meat Science**, v. 33, n. 3, p. 301-318, 1993.

HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F.; ROMANELLI, P. F. Fatores que influenciam a textura da carne de novilhos Nelore e cruzados Limousin – Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 963-971, ago. 2003.

HOPE-JONES, M. et al. The efficiency of electrical stimulation to counteract the negative effects of β -agonists on meat tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, v. 86, p. 699-705, 2010.

HUFF-LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem muscle-Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 184-195, 2010.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal – 2017. Disponível em: <
https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf>. Acesso em 06 de agosto de 2019.

IIR. Recommendations for the Processing and Handling of Frozen Foods. Pp. 174. Paris, France, **International Institute of Refrigeration**. 2006.

JAY, J. M. I. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 711 p.

JEONG, J. Y. et al. Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef *semimembranosus* muscle. **Food Research International**, Barking, v. 44, p. 3222–3228, 2011.

KIANI, H.; SUN, D.-W.. Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 8, p. 407-426, 2011.

KIM, H.-W. et al. Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins. **Meat Science**, v. 139, p. 162-170, 2018.

KIM, H.-W.; KIM, Y. H. B. Effects of aging and freezing/thawing sequence on quality attributes of bovine *Mm. gluteus medius* and *biceps femoris*. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 30, n. 2, p. 254, 2017.

KIM, Y. H. B. et al. Evaluation of combined effects of ageing period and freezing rate on quality attributes of beef loins. **Meat Science**, v. 110, p. 40-45, 2015.

KLONT, R. E.; BROCKS, L.; EIKELNBOOM, G. Muscle fibre type and meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 49, n. 1, p. 219-229, 1998.

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

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

KOOHMARAIE, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. In: **Proc. Recip. Meat Conf**. 1988. p. 89-100.

- KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, v. 74, p. 34-43, 2006.
- KRZYWICKI, K. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. **Meat Science**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 1979.
- LAGERSTEDT, Å. et al. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. **Meat science**, v. 80, n. 2, p. 457-461, 2008.
- LAMBERT, A.D.; SMITH, J.P.; DODDS, K.I. Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. **Food Microbiology**, London, v. 8, p. 267-297, 1991.
- LAWRIE, R.A. **Lawrie's Meat Science**. 6th Edition. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1998. 336p.
- LEBERT, I.; BEGOT, C.; LEBERT, A. Growth of *pseudomonas fluorescens* and *pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5.8–7.0), water activity (0.97–1.00) and temperature (7–25 °C). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, n. 39, n. 1-2, p. 53–63, Jan. 1998.
- LEDWARD, D.A. Post-slaughter influences on the formation metmyoglobin in beef muscles. **Meat Science**, v.15, p.149-171, 1985.
- LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. **Meat Science**, v. 91, n. 2, p. 93–98, 2012.
- MANCINI, R. A.; HUNT, M.Cy. Current research in meat color. **Meat science**, v. 71, n. 1, p. 100-121, 2005.
- MARSH, B. B.; LEET, N. G. **Journal Food Science**, v.31, p. 450-459, 1966.
- MARSHALL, D. M. Breed differences and genetic parameters for body composition traits in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2745-2755, 1994.
- MCCLELLAND, P.; HATHAWAY, D. R. The calpain-calpastatin system in vascular smooth muscle. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 290. n. 1/2, p. 55-57, 1991.
- MCDONAGH, M. B. et al. Meat quality and the calpain system of feedlot steers following a single generation of divergent selection for residual feed intake. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, n. 7, p. 1013-1021, 2001.
- MCKENNA, D. R. et al. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. **Meat science**, v. 70, n. 4, p. 665-682, 2005.
- MOSIMANYANA, K. G. et al. **The effect of freezing and post mortem ageing on beef quality**. 2017. Tese de Doutorado. University of Pretoria.
- NYCHAS, G. et al. Chemical changes in stored meat. **Microbiology of Meat and Poultry**, p. 288, 1998.

NYCHAS, G. J. E. et al. Meat spoilage during distribution. **Meat Science**, Barking, v. 78, n. 1/2, p. 77-89, Jan./Feb. 2008.

OLIVEIRA, W.P.S. **Efeito da temperatura da sala de desossa sobre a qualidade bacteriológica e a temperatura de cortes cárneos bovinos**. Dissertação de Mestrado UFG. Goiânia – GO, 2015.

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

PELAEZ, C. Congelación de Cuajadas. **Alimentaria**, Madrid, n. 144, n. 144, p. 19-22, 1983.

PETROVIĆ, L.J.; GRUJIĆ, R.; PETROVIĆ, M. Definition of the optimal freezing rate—2. Investigation of the physico-chemical properties of beef M. longissimus dorsi frozen at different freezing rates. **Meat Science**, v. 33, n. 3, p. 319-331, 1993.

PHUNG, V. T. et al. Oxygen Consumption Rate of Permeabilized Cells and Isolated Mitochondria from Pork M. Masseter and Liver Examined Fresh and after Freeze-Thawing at Different pH Values. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. C929-C936, 2011.

POTTER, N. N. **Food Science**. New York: Academic, p.713, 1995.

PROVESI, J. G.; AMANTE, E. R. Revisão: Proteínas anticongelantes—uma tecnologia emergente para o congelamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 1, p. 2-13, 2015.

PUGA, D. U.; CONTRERAS, C. C.; TURNBULL, M. R. Avaliação do amaciamento de carne bovina de dianteiro (Triceps brachii) pelos métodos de maturação, estimulação elétrica, injeção de ácidos e tenderização mecânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 19, n. 1, p. 88–96 , 1999.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 599p

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.D.M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamento e metodologias**. (2 ed.). Viçosa: Editora UFV, UFV, 2017.

RENERRE, M.; LABAS, R. Biochemicals factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. **Meat Science**, Barking, v. 19, p. 151-165, 1987.

ROÇA, R. O. **Congelamento**. F.C.A. – UNESP. BOTUCATU – SP, 2005.

RODRIGUES, L. M. et al. Combined effects of gamma irradiation and aging on tenderness and quality of beef from Nellore cattle. **Food Chemistry**, v. 313, p. 126137, 2020.

RUSSO, F. et al. Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. **Food Microbiology**, London, v. 23, n. 8, p. 797-802, Dec. 2006.

- SALES, L. A. et al. Effect of freezing/irradiation/thawing processes and subsequent aging on tenderness, color, and oxidative properties of beef. **Meat Science**, p. 108078, 2020.
- SETYABRATA, D.; KIM, Y. H. B. Impacts of aging/freezing sequence on microstructure, protein degradation and physico-chemical properties of beef muscles. **Meat science**, v. 151, p. 64-74, 2019.
- SHACKELFORD, S. D. et al. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine posttrigonalpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 857- 863, 1994.
- SILVA, A. R. et al. Involvement of *Clostridium gasigenes* and *C. algidicarnis* in 'blown pack'spoilage of Brazilian vacuum-packed beef. **International Journal of Food Microbiology**, v. 148, p. 156-163, 2011.
- SILVA, D. R. G. et al. Comparison of Warner-Bratzler shear force values between round and square cross-section cores for assessment of beef Longissimus tenderness. **Meat Science**, v.125, p.102-105, 2017.
- SILVA, D. R.G. et al. Comparison of Warner–Bratzler shear force values between round and square cross-section cores from cooked beef and pork Longissimus muscle. **Meat science**, v. 103, p. 1-6, 2015.
- SMITH, G.C et al. Considerations for beef tenderness evaluations. **Jornal of Food Science**, v.34, p.612-618, 1969.
- STUBY, M. A.; LAMKEY, J. W.; DOLEZAL, H. G. The effect of freezing on aging of beef. **Oklahoma Agric. Exp. Sta. Anim. Sci. Res. Rep**, p. 55-59, 1993.
- TROY, Declan J.; KERRY, J. P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat science**, v. 86, n. 1, p. 214-226, 2010.
- United States Department of Agriculture (USDA). **United States Standards for Grades of Carcass Beef**. 16p, 2016.
- VIEIRA, C. et al. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 398–404, 2009.
- WATHEN, B.; JIA, Z. Controlling the freezing process with antifreeze proteins. In: **Emerging technologies for food processing**. Academic Press, 2005. p. 653-674.
- WATTS, B. M. et al. Enzymatic reducing pathways in meat. **Journal of Food Science**, v. 31, n. 6, p. 855-862, 1966.
- WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 9, p. 2716-2728, 1990.

ZARITZKY, N. E. Factors affecting the stability of frozen foods. In: **Managing frozen foods**. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2000. p. 111-133.

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