



ESTG



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO

QUALIDADE DE CARNE DE DUAS RAÇAS BOVINAS, EMBALADA EM
ATMOSFERA MODIFICADA E A VÁCUO

QUALIDADE DE CARNE DE DUAS RAÇAS BOVINAS, EMBALADA EM ATMOSFERA MODIFICADA E A VÁCUO

Comparação da raça e sistemas de embalagem nos parâmetros de qualidade

Ana Maria de Sá Barbosa

2019

Escola Superior de Tecnologia e Gestão



**INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO**

Ana Maria de Sá Barbosa

**QUALIDADE DA CARNE DE DUAS RAÇAS BOVINAS,
EMBALADA EM ATMOSFERA MODIFICADA E A VÁCUO**

Comparação da raça e sistema de embalagem nos parâmetros da
qualidade

Mestrado em Engenharia Alimentar
Dissertação / Qualidade Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação de
Professora Doutora Preciosa Pires
Professora Doutora Carla D. Barbosa

Novembro de 2019

Agradecimentos

Este trabalho não teria sido possível sem a ajuda de muitas pessoas, às quais agradeço todo o apoio:

À Doutora Preciosa Pires, orientador, pelo apoio e atenção prestada durante o decorrer deste trabalho.

À Doutora Carla Barbosa, co-orientadora, pelo apoio e atenção prestada durante o decorrer deste trabalho.

Ao departamento de Engenharia Alimentar, pela disponibilização do espaço onde foram realizadas as análises físicas em especial à Engenheira Susana pelo acompanhamento e apoio ao longo deste trabalho.

Aos laboratórios de microbiologia, pela disponibilização do espaço onde foram realizadas as análises microbiológicas, em especial à Engenheira Carla Ramos e ao Vitor pelo apoio prestado.

Aos laboratórios IdealQ, pelo apoio técnico, disponibilização do espaço onde foram realizadas as análises químicas, em especial à Doutora Élia, e a Dona Luísa, por toda atenção, carinho, ajuda, motivação e apoio nos momentos bons e menos bons durante o decorrer deste trabalho e pelas palavras de coragem e incentivo que foram essenciais nesta etapa.

Aos meus amigos Nuno Ramos, Zé Silva e Ricardo Mota, por todo o apoio e motivação no decorrer destes longos meses.

Ao Miguel Lima, por toda a paciência que teve comigo e apoio nos momentos bons e menos bons.

Á minha amiga Rafaela Dias, pelo companheirismo e amizade, por todo o apoio, motivação e por me aturar todos os dias e ouvir todos os meus desabafos no decorrer deste trabalho.

Ao meu padrinho pela paciência, carinho e apoio que teve para comigo ao longo deste tempo.

“Declaro que a presente dissertação é de minha autoria e não foi utilizado previamente noutro curso ou unidade curricular, desta ou de outra instituição. As referências a outros autores (afirmações, ideias, pensamentos) respeitam escrupulosamente as regras da atribuição, e encontram-se devidamente indicadas no texto e nas referências bibliográficas, de acordo com as normas de referência. Tenho consciência de que a prática de plágio e autoplágio constitui um ilícito acadêmico”

RESUMO

Neste trabalho pretendeu-se avaliar as características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas durante o tempo de prateleira de amostras de carne da raça Minhota e Holstein Frísia, embaladas com uma atmosfera modificada (MAP) de 70% O₂, 20% CO₂, 10% N₂ e comparar com a embalagem a vácuo. No entanto, durante a execução experimental a atmosfera introduzida foi 20% O₂, 72% CO₂ e 8% N₂. Esta composição foi detetada numa fase tardia do desenvolvimento do trabalho. Assim, continuaram a ser estudados os parâmetros que já estavam avaliados com esta atmosfera modificada por se considerar que os resultados poderiam conduzir a observações nunca estudadas nestas condições. Foi determinado o pH, cor, perdas por cozimento e gotejamento, dureza (teste *Warner Bratzler Shear Force*), humidade, cinza, proteína, matéria gorda total, ácidos gordos, peróxidos e índice de ácido 2-tiobarbiturico (TBARs), sendo ainda efetuada análise sensorial e contagem de microrganismos a 30 °C, nos tempos 0, 4, 6, 8, 11, 14, 18, 21, 25 e 32 dias de armazenamento.

Verificou-se que as amostras de carne de ambas as raças bovinas quando embaladas em atmosfera modificada apresentaram degradação no tempo final de prateleira, no entanto para as amostras da raça Minhota a degradação foi menor quando comparada com a verificada para a raça Holstein Frísia. A análise dos resultados parece indicar que a MAP escolhida não foi a mais indicada para prolongar o tempo de prateleira deste tipo de produtos, contudo os resultados de TBARs indicam existir uma diferença significativa de comportamento entre as duas raças.

Palavras Chave: embalagem, atmosfera modificada (MAP), carne bovina, Minhota, Holstein Frísia, características físico-químicas, características sensoriais, características microbiológicas, tempo de prateleira.

Novembro de 2019

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the physicochemical, sensory and microbiological characteristics during shelf life of “Minhota” and “Holstein Frísia” meat samples, packaged with a modified atmosphere (MAP) of 70% O₂, 20% CO₂, 10% N₂ and compare with the vacuum packaging. However, during the experimental work, the atmosphere introduced was 20% O₂, 72% CO₂ e 8% N₂. This composition was detected at a late stage in the experimental work development. Thus, the parameters that were already evaluated with this modified atmosphere continued to be studied, because it is considered that the results could lead to observations never studied under these conditions. The pH, color, cooking and drip losses, texture, moisture, ash, protein, total fat, fatty acids, peroxides and 2-thiobarbituric acid index (TBARs) were determined. Sensory analysis and microorganisms count at 30 °C were also performed, at the 0, 4, 6, 8, 11, 14, 18, 21, 25 and 32 days of storage.

Meat samples from both bovine breeds when packaged in a modified atmosphere were found to show lipidic degradation at the shelf end time. However, for Minhota samples, degradation was lower when compared to Holstein Frísia. Analysis of the results seems to indicate that the MAP chosen was not the most suitable for prolonging the shelf life of these products, however the results of TBARs indicate a significant difference in behavior between the two races.

Keywords: packing, modified atmosphere (MAP), bovine meat, Minhota, Holstein, physical-chemical characteristics, sensory characteristics, microbiological characteristics and shelf time.

November 2019

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	i
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE GERAL	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS	xv
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1. RAÇA MINHOTA	3
1.2. RAÇA HOLSTEIN FRÍSIA	6
1.3. SISTEMA ALIMENTAR	8
1.4. CARACTERIZAÇÃO DA CARNE – PARÂMETROS DA QULIDADE	8
1.4.1. CARATERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA CARNE	9
Cor	9
pH	11
Perda por gotejamento – ” <i>drip loss</i> ”	13
Perda por cozimento – ” <i>cooking loss</i> ”	13
Dureza da carne	14
Humidade	18
Cinza	18
Proteína	18
Gordura total	21
Oxidação lipídica	23
Ácidos gordos	24
1.4.2. CARATERISTICAS MICROBIOLÓGICAS	28
1.4.3. ASPETOS ORGANOLÉTICOS.....	29
1.5. EMBALAGEM DE CARNE FRESCA	30
Vácuo	31
Embalagem em atmosfera modificada	32
1.6. OBJETIVO DO TRABALHO	34
CAPÍTULO 2 - PARTE EXPERIMENTAL	35
2.1. ANIMAIS E MANEIO	37
2.2. AMOSTRAS DE CARNE	38

2.2.1. AMOSTRAS E EMBALAGEM	38
Embalagem em atmosfera modificada	38
Embalagem a vácuo	39
Planeamento do estudo a desenvolver	40
2.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	41
Determinação da cor	42
Determinação do pH	42
Determinação da perda por cozimento – “ <i>cooking loss</i> ”	42
Determinação da perda por gotejamento – “ <i>drip loss</i> ”	43
Análise da textura (teste de Warner Bratzler)	44
Determinação de humidade e cinza	45
Determinação da proteína	46
Determinação da gordura	47
Determinação do índice de ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs)	48
Determinação do índice de peróxidos (H ₂ O ₂)	49
Determinação do perfil de ácidos gordos	51
2.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	53
Contagem de microrganismos a 30 °C	53
2.5. ANÁLISE SENSORIAL	54
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	59
3.1.1. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA ATMOSFERA AO LONGO DO TEMPO	59
3.1.2. COR	61
3.1.3. pH	64
3.1.4. PERDAS POR COZIMENTO - “ <i>COOKING LOSS</i> ” E GOTEJAMENTO - “ <i>DRIP LOSS</i> ”	65
3.1.5. DUREZA (WBSF - <i>WARNER BRATZLER SHEAR FORCE</i>)	67
3.1.6. HUMIDADE, CINZAS, PROTEÍNA E GORDURA	67
3.1.7. ÍNDICE DE ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO (TBARs) E ÍNDICE DE PERÓXIDOS	69
3.1.8. PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS	71
3.2. CONTROLO MICROBIOLÓGICO	73
3.3. ANÁLISE SENSORIAL	75
3.4. AVALIAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS EM ESTUDO	77
CAPÍTULO 4- CONCLUSÃO	81

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
APÊNDICES	99
ANEXOS	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Um exemplar de vaca da raça Minhota	6
Figura 1.2	Um exemplar da raça Holstein Frísia (APCRF, 2019)	7
Figura 1.3	Representação do quarto traseiro da carcaça do bovino	9
Figura 1.4	Representação da cor da carne	10
Figura 2.1	Alimentação dos bovinos	37
Figura 2.2	Amostras nas respetivas cuvetes	39
Figura 2.3	Embalamento de amostras: a – embalamento em atmosfera modificada (MAP); b – embalamento em vácuo	40
Figura 2.4	Medição da textura através do teste Warner Bratzler	44
Figura 2.5	Perfil de temperatura do forno do GC para determinação de ácidos gordos..	52
Figura 3.1	Evolução da composição da atmosfera nas cuvetes ao longo do tempo	61
Figura 3.2	Evolução da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo, através do sistema CIELAB (L*a*b*) e avaliação de diferenças estatisticamente significativas através do <i>post hoc test de t-student</i> (p<0,05)	62
Figura 3.3	Evolução da tonalidade/ ângulo Hue (h ⁰) e cromaticidade/saturação (C*) da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo	63
Figura 3.4	Evolução da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo, por simulação dos valores obtidos do sistema CIELAB (L*a*b*). Fonte: https://www.nixsensor.com/free-color-converter/	64
Figura 3.5	pH, ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo	65
Figura 3.6	Perda por cozimento - " <i>cooking loss</i> " e perda por gotejamento - " <i>drip loss</i> ", ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo	66
Figura 3.7	Resultados obtidos ao longo do tempo para o teste <i>Warner Bratzler Shear Force</i> (WBSF) das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo	67
Figura 3.8	Conteúdo de humidade ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo	68
Figura 3.9	Conteúdo de cinza ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo	68
Figura 3.10	Teor proteico e Gordura total ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo	69

Figura 3.11	Concentração do TBARs e Índice de Peróxidos ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo	70
Figura 3.12	Concentração de ácidos gordos das raças para os grupos em estudo, raças - Holstein e Minhota e sistemas de embalagem – vácuo e MAP, ao longo do tempo. (a) composição da gordura em ácidos gordos; (b) composição das amostras de carne em ácidos gordos	72
Figura 3.13	Análise de componentes principais aplicada aos dados da análise sensorial realizada ao longo de 11 dias de armazenamento. (a) representação da importância dos parâmetros da análise sensorial na discriminação das amostras; e (b) projeção das amostras	76
Figura 3.14	Análise de componentes principais com a projeção dos parâmetros físico-químicos estudados (a) e a projeção das amostras (b)	78

INDICE DE TABELAS

Tabela 1.1	Valores obtidos para a cor, pH, “ <i>drip loss</i> ”, “ <i>cooking loss</i> ” e textura - WBSF em amostras de carne de bovino embalada em MAP e vácuo em diferentes estudos	16
Tabela 1.2	Resultados obtidos para as proteínas num estudo com carnes embaladas em MAP e a vácuo	21
Tabela 1.3	Resultados obtidos para o TBARs em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo	24
Tabela 1.4	Resultados microbiológicos obtidos em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo	29
Tabela 1.5	Sistemas de embalagens para carnes usados em diferentes estudos	33
Tabela 2.1	Plano de amostragem definido e parâmetros estudados para o período de armazenamento de 32 dias	41
Tabela 3.1	Resultados da medição da composição da atmosfera nas embalagens longo do tempo em ambas as raças estudadas	60
Tabela 3.2	Resultados da determinação de microrganismos aeróbios a 30 °C (ufc/g) nas amostras das raças em estudo, ao longo do período de armazenamento..	74

LISTA DE ABREVIATURAS

a* - índice de vermelho

ADQ - Análise Descritiva Quantitativa

AG - ácido gordo

b* - índice de amarelos

CIE - Commission Internationale d'Eclairage

CLA - Ácido linoleico

CO₂ - Dióxido de Carbono

CP - Componente Principal

CL - Cooking Loss

DFD - Dark Firme and Bry, Escura, Firme e Seca

DL - Drip Loss

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations

H - Holstein Frísia

L* - Luminosidade

LDL - Low density lipoprotein

M - Minhota

MAP - Modified Atmosphere Packaging, sigla do inglês e que foi adotada para designar atmosfera modificada

MDA - malonaldeído

Meq - miliequivalentes

MUFA - Monounsaturated Fatty Acids, Ácidos gordos monoinsaturados

N₂ - Azoto

O₂ - Oxigénio

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCA - Plate Count Agar

pHu - pHultimate

PUFA - Poliunsaturated Fatty Acids, Ácidos gordos polinsaturados

Rpm - rotações por minuto

SFA - Saturated Fatty Acids, Ácidos gordos saturados

TBARs - Ácido- 2- tiobarbitúrico

UFA - Unsaturated Fatty Acids, Ácidos gordos insaturados

WBSF - Warner Bratzler Shear Force

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Atualmente, é reconhecido o interesse da valorização de raças autóctones por vários motivos que vão desde a manutenção de espécies diversificadas e nutricionalmente mais valorizadas para alimentação humana aos interesses económicos de uma região. Nesta perspetiva e aceitando o desafio de uma exploração onde são produzidos importantes montantes de carne Minhota, raça autóctone da região onde se insere, e Holstein Frísia, foi desenvolvido um estudo comparando parâmetros relevantes da qualidade da carne conservada em embalagem com atmosfera modificada e a vácuo com refrigeração. O interesse neste estudo teve também a intensão de transferir conhecimento para um setor importante da região Norte, onde várias explorações agrícolas se dedicam à criação e produção de carne das raças mencionadas. Para além do interesse para os produtores, a comparação destes dois tipos de carne, em termos de conservação e consequentemente otimização de operações de logística, pela garantia de prazos de validade mais alargados, este estudo é também relevante para o consumidor que no final terá o poder decisivo determinado pelas suas opções de compra.

1.1. RAÇA MINHOTA

A raça minhota encontra-se tradicionalmente associada aos concelhos da extremidade noroeste do território de Entre Douro e Minho, local onde se desenrolou a maior parte da sua história conhecida. No entanto, o outro nome pelo qual também é designada – raça galega – alude à sua relação com animais do território espanhol a norte do rio Minho, a Galiza, de onde no passado foram importados em grande quantidade (Faria, 2007).

A designação inicial de *Gallega* deve-se à proximidade entre esta raça e a espanhola *Rubia Gallega*, originária da região da Galiza com grandes semelhanças, havendo mesmo quem defendesse que as origens eram comuns. Uma vez que a sua localização é no Minho, a sua designação de Minhota, justificando-se pela sua área geográfica de implantação (Araújo, 2005).

Durante grande parte do século XX considerou-se que a criação desta raça era predominante nos concelhos de Viana do Castelo, Ponte do Lima, Caminha e Vila Nova de Cerveira, sendo este espaço uma fração da área ocupada até perto do fim do século XIX. Com efeito, até essa altura o gado minhoto estendia-se para sul, abrangendo o concelho de Barcelos e parte do de Esposende, junto ao rio Cávado, assim como de outros concelhos do interior (Faria, 2007).

Por volta de 1860, a raça Minhota representava cerca de 50% do total de gado bovino na região do Minho, com cerca de 65.000 cabeças. Com a crescente exportação para a Inglaterra da carne da raça Barrosã, a Minhota entrou em claro declínio a favor daquela, atingindo um mínimo em 1940, com menos de 15% (9.500 cabeças). Posteriormente, houve uma grande implantação da raça Turina ou Frisona, que substituiu quase toda a raça Barrosã, nas áreas mais ricas da região. A raça Turina foi sendo cruzada indefinidamente com a raça Minhota, que sem remover a rusticidade, aumentou o potencial do leite da última. Segundo Machado (2000), a criação de indústrias de laticínios foi um duro golpe para a manutenção dessa raça, bem como para a comercialização de leite, voltando a orientar a Minhota às suas origens vianenses, já que as condições climáticas da região não são as apropriadas ao grande produtor de leite que era a raça Frisona. A sua tripla aptidão (carne-leite-trabalho), combinada com a rusticidade característica da Minhota, permitiu aos criadores do Noroeste do Minho adotarem esta raça, para atender às suas necessidades, resultando novamente na sua expansão. O aumento de postos de coleta de leite e a realização de feiras de gado tiveram papel importante na manutenção da raça, valorizando a sua capacidade leiteira (Barbosa & Vaz, 2014).

Na década de 70 os Serviços Oficiais da Intendência Pecuária de Viana do Castelo visavam a preservação do património genético da raça, quando obrigaram os postos de cobrição naturais a serem autorizadas anualmente, com reprodutores que cumprissem os requisitos para obedecer ao padrão da raça com características étnicas bem definidas, não existindo, contudo, uma avaliação das características produtivas e reprodutivas da raça. Sem medidas de proteção para a manutenção da raça Minhota, esta continuou em perigo, sendo alvo de cruzamentos com raças estrangeiras. Em 1997, teve início o Registo Zootécnico da Raça Minhota, iniciando-se ações que visavam a preservação e melhoria da raça, consolidando-se em 2002, com o reconhecimento do perigo de extinção desta raça pela Comunidade Europeia. Nesse ano, foi atribuído uma ajuda financeira, prevista nas medidas Agro-rurais, aos criadores que assumissem o cumprimento de uma norma básica: Manutenção da raça Minhota em linha pura (Araújo, 2005).

Para além das denominações já mencionadas, existiram ainda divisões da raça em três famílias, que levaram a outras denominações, os vermelhos ou *vianneza* devido à pelagem vermelha do animal concentrado na região de Viana do Castelo, o *marrelos* que apresentavam pelagem vermelho claro e os *braguezes* associado ao distrito de Barga. Nos dias de hoje, alguns criadores da raça batizam as suas vacas com o nome de *marela*

quando apresentam pelagem vermelho claro ou *vermelha* para as que têm tons mais escuros da pelagem (Araújo, 2005).

Dada a sua constituição fisiológica, esta raça é conhecida pela aptidão para a tripla função carne-leite-trabalho (Barbosa & Vaz, 2014). Atualmente, a principal aptidão da raça Minhota é a produção de carne, sendo a produção de leite e o trabalho menos relevantes, devido à mecanização agrícola e fecho de salas de ordenha, embora em algumas aldeias do concelho de Ponte de Lima a produção de leite ainda assuma certa importância económica (Araújo, 2005).

As características morfológicas da raça *Gallega/ Minhota* são particulares da raça e da região (Figura 1.1), podendo ser descritas da seguinte forma (Machado, 2000):

Cabeça: um pouco abaixo dos olhos, geralmente mais reta que convexa no nariz, testa larga e levemente convexa. Nariz geralmente retilíneo, longo, soldado às narinas em abóbada circular. Focinho pequeno e levemente convexo nas bordas externas. Olhos superficiais e expressão levemente triste. Orelhas de alta inserção, de tamanho regular e proporcionadas, com pelos grossos e longos no interior. Cornos de tamanho médio, seção elíptica, brancas com pontas fundidas, saindo quase horizontalmente para os lados, virando um pouco para trás, depois virando para frente e com as pontas viradas para fora no último terço do seu comprimento.

Pescoço: curto e grosso, um pouco arrumado, pequeno queixo duplo na parte superior, mas bastante no peitoral.

Tronco: cruz pouco saliente com o lado alto, mas pouco peito arqueado e largo. A região dorso-lombar é quase reta e longa, mas um pouco estreita, com uma barriga ligeiramente volumosa. A garupa é alta, com pernas salientes e bem musculadas, com boa largura isquiática. As nádegas são quase retas e desenvolvidas regularmente, com coxas largas e musculosas, com a cauda longa de inserção alta e com borla abundante.

Sistema mamário: úbere de formato regular e desenvolvido.

Extremidades e aprumos: membros altos, pequenas articulações salientes, bem prumados, finalizados por unhas largas e fortes.

Pele, cabelo e mucosas: Pele grossa, levemente elástica, coberta de pelos lisos, curtos, grossos e ásperos. Os cabelos são mais desenvolvidos no pavilhão auricular. As membranas mucosas das aberturas naturais são rosadas.

Cor: pelagem clara que varia da cor da palha ao vermelho muito claro.

Formato: São animais harmoniosos, com temperamento dócil e fácil manuseio.



Figura 1.1- Um exemplar de vaca da raça Minhota

1.2. RAÇA HOLSTEIN FRÍSIA

A raça Holstein Frísia também reconhecida em Portugal como raça Turina, é caracterizada pela sua elevada estatura e identificada pelo seu padrão malhado (Figura 1.2).

Há 2000 anos as tribos germânicas que povoavam a foz do Reno e Elba criavam os animais que viriam a dar origem à atual vaca Holstein Frísia. Esta raça de tipo leiteiro estendeu-se por todo o litoral do mar do Norte, da Jutlândia à Frísia ocidental (APCRF, 2019).

O desenvolvimento genético destes animais deu-se no início no século XIX, com o trabalho realizado pelos criadores holandeses e com a exportação dos primeiros exemplares destes animais para a América do Norte. O melhoramento da raça incidiu sobre duas vertentes, no continente americano o melhoramento da raça teve como objetivo a produção de leite, enquanto na Europa incidiu sobre a aptidão mista, leite e carne. Este melhoramento deu origem a animais morfologicamente diferentes dentro do mesmo padrão de raça. Na América ao fim de algumas gerações obtiveram-se animais com estrutura mais alta, no entanto mais descarnados e angulosos, enquanto os animais europeus possuíam melhor qualidade de carcaça embora demonstrassem alguma aptidão para produção de leite. A denominação dos animais desta raça bovina é diferenciada, ou seja, na América do Norte são denominados como Holstein e os animais europeus como Frísios (APCRF, 2019).

A primeira alusão em Portugal a animais com este padrão reporta-se ao século XVII em áreas ao redor de Lisboa. Espalhando-se lentamente por todo país, encontrou o espaço ideal para o seu desenvolvimento na foz do rio Vouga, passando Aveiro e região envolvente a ser conhecida como o Solar da Vaca Leiteira. Hoje em dia esta raça de aptidão leiteira está dispersa por todo o país embora com maior densidade no noroeste português, e com os maiores efetivos por exploração no sul de Portugal (APCRF, 2019).

A morfologia dos animais desta raça é consistente com a aptidão leiteira, ou seja, grande desenvolvimento do sistema mamário e capacidade corporal que lhe permite consumir elevadas quantidades de forragem e valorizá-la (APCRF, 2019).

A vaca Holstein Frísia é um animal precoce de grande corpulência, podendo atingir 1,54 m de altura à garupa e pesar 600 a 700 kg. Tem como particularidade o facto de possuir malhas pretas e brancas, podendo em alguns casos ser vermelhas e brancas devido ao seu gene recessivo (APCRF, 2019).

A cabeça destes animais é comprida e dolicocefala, com olhos bem aflorados e o focinho largo. O seu pescoço é comprido e delgado, a barbela pequena, o peito largo e as costelas arqueadas e profundas. A garupa é larga com ossos ilíacos bastante salientes. O ubere é volumoso com ligamentos fortes e a pele macia e fina, coberta de pelos sedosos e curtos. Os membros posteriores devem ser corretamente aprumados, com contornos moderadamente descarnados, o ângulo dos curvilhões moderado, a quartela forte e os pés com angulo inclinado e talão vertical, também deve apresentar boa locomoção (APCRF, 2019).



Figura 1.2- Um exemplar da raça Holstein Frísia (APCRF, 2019).

1.3. SISTEMA ALIMENTAR

A dieta alimentar dos bovinos com finalidade de abate da raça Holstein e Minhota, consiste em feno (20%), silagem de erva e milho (60%) e suplementação de ração (10%) e água *ad libitum*. Para os bovinos em fase inicial até aproximadamente 6 a 8 meses o suplemento é de 1,5 kg/dia, sendo na fase de acabamento entre os 14 a 16 meses fornecido 3 kg/dia de suplemento por animal.

1.4. CARACTERIZAÇÃO DA CARNE – PARÂMETROS DA QUALIDADE

A qualidade da carne depende da alimentação dos animais que influencia vários fatores, tais como o pH, perda por gotejamento - “*drip loss*”, perda por cozimento “*cooking loss*”, cor, textura – dureza (teste *Warner Bratzler Shear Force*), succulência, tenrura, sabor, distribuição, qualidade e quantidade de gordura, tendo estes fatores influência na decisão de compra do consumidor. Os atributos que definem a qualidade da carne são os que levam à diferenciação do produto.

A carne classificada com “qualidade superior” deve possuir características organolépticas excepcionais como cor, capacidade de retenção de água, textura, odor e sabor, que, associadas ao seu valor nutritivo, a torna um dos alimentos de origem animal, mais valorizados pelo consumidor. Essas características são fundamentais tanto para o seu consumo *in natura* como na forma processada.

A carne é composta por água, gordura, proteínas, minerais e uma pequena proporção de hidratos de carbono. A proteína é a sua componente mais valiosa, do ponto de vista nutricional e tecnológico, e o seu teor define a qualidade da matéria-prima carne e a sua aptidão para processamento (Heinz & Hautzinger, 2007). Genericamente, a composição química da carne, desde o estado embrionário até idade adulta, consiste em: 70 a 78% de água, 15 a 22% de proteína, 0,5 a 13% de lípidos, 1,5 a 1,8 % de compostos não proteicos, 1 a 2% de hidratos de carbono e 1 a 2% de minerais (Pearson & Young, 1989).

Neste trabalho, o estudo foi desenvolvido usando peças de alcatra. A Figura 1.3 ilustra a posição dessa peça na carcaça do animal, salientada a vermelho. A alcatra-grossa, o quarto traseiro da carcaça do animal, é também designada de coice e alcatre ou ainda de rabada. Este corte é constituído pelas massas musculares compreendidas entre o lombo e o coxão. As componentes musculares desta são o tensor da fáscia lata, glúteo bíceps, glúteo médio, glúteo acessório e glúteo profundo (Dutra & Silva, 2013).

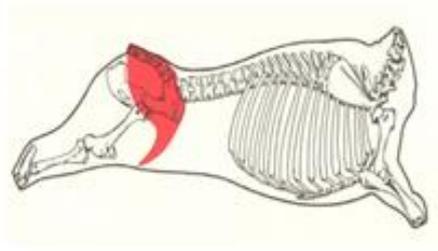


Figura 1.3-Representação do quarto traseiro da carcaça do bovino

1.4.1. CARATERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA CARNE

A carne é um importante elemento da dieta humana, cuja qualidade é avaliada pelos consumidores e a sua percepção sensorial de determinadas propriedades são fatores decisivos no momento de compra ou de consumo. Algumas dessas propriedades são resultantes da composição química muito relacionada com as condições de manejo, abate e pós-abate.

Cor

Em termos organoléticos, a cor, o sabor, o aroma, a tenrura e a consistência da carne estão dependentes da idade e sexo do animal e de fatores *ante* e *post-mortem*.

A cor da carne é resultado do conteúdo e da forma da proteína mioglobina e também da proporção dos estados de oxidação-redução (redox) da mioglobina presente. Existe uma combinação de três formas: desoximioglobina ou mioglobina reduzida (vermelho púrpura), oximioglobina (vermelho brilhante) e metamioglobina (castanho acinzentado) como se observa na figura 1.4 (Mancini & Hunt, 2005; Hunt & King, 2012; Listrat *et al.*, 2016). A cor da carne é um parâmetro importante da qualidade e indicador de frescura e salubridade. A carne quando exposta apresenta uma cor florescida e vermelha, sendo este parâmetro um fator de decisão importante na compra do produto pelo consumidor (Mottin *et al.*, 2019; Schumann & Schmid, 2018; Yang *et al.*, 2016).

A cor da carne depende de vários fatores tais como, a quantidade de mioglobina, que varia com a idade, raça e tipo de músculo, do seu estado químico, do arranjo estrutural da carne e, também, da gordura intramuscular existente (Hunt & King, 2012; Ponnampalam *et al.*, 2017). Em relação à gordura intramuscular, as variações de cor, vão desde uma cor rosada no caso de animais mais jovens a uma cor amarelada no caso de animais mais velhos ou criados em sistemas de pastoreio. Em animais mais novos, a cor da carne é mais clara em comparação com animais mais velhos (Cañeque *et al.*, 2003).

Para além da percepção sensorial, a cor da carne pode ser avaliada instrumentalmente e definida num espaço tridimensional de coordenadas L^* , a^* e b^* , sendo este sistema referenciado como bem correlacionado com a visão humana pela CIE (*Commission Internationale d'Eclairage*), ou seja, representa da melhor forma a percepção de cor pelo olho humano. A luminosidade da carne (L^*) consiste na capacidade de a mesma refletir a luz incidente, o índice de vermelho (a^*) reflete a quantidade de pigmento vermelho das mioglobinas e dos citocromos C presentes e o índice de amarelo (b^*) está associado à sua composição em carotenoides (Hedrick *et al.*, 1983; Priolo *et al.*, 2001).

Os parâmetros a^* e b^* representam tons reveladores da composição da carne, nomeadamente, mioglobina, citocromos C e carotenoides, no entanto, encontram-se também dependentes de processos bioquímicos e do próprio processo de abate. Relativamente ao parâmetro a^* , após o abate, a respiração celular vai sendo inibida e o oxigénio fixa-se à mioglobina, dando origem a cores mais vermelhas na carne (O'Sullivan *et al.*, 2015). Esta oxigenação da carne pode ser comprometida pela não acidificação da carne, ou seja, por um pH final superior a 5,8 e resultar em carnes aparentemente mais escuras. Desde logo este parâmetro é influenciado pela sangria aquando do abate. A hemoglobina que fica na carne, dependendo de uma sangria mais ou menos eficaz, tem efeito na cor de apresentação da mesma. Quanto ao tipo de fibra muscular, estas refletem diferentes teores de mioglobina, assim as fibras do tipo I apresentam elevada concentração de mioglobina, quando comparadas com as fibras do tipo IIA e IIB, afetando a sua disponibilidade nos processos que caracterizam a transformação do músculo em carne (Barradas, 2015).

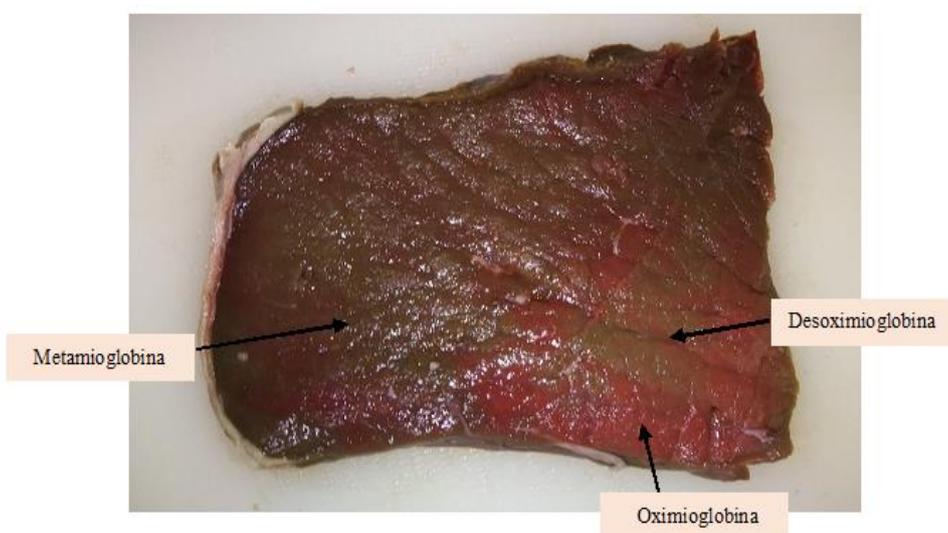


Figura 1.4- Representação da cor da carne

A cor amarelada da carne (b^*) depende da concentração em pigmentos como carotenos e xantofilas procedentes da alimentação em pastagem, no caso de animais produzidos em sistema extensivo ou semi-extensivo (Vieira *et al.*, 2012).

As coordenadas cromáticas, a^* e b^* , também são utilizadas para calcular o ângulo de tonalidade (h^0 - Capítulo 2, Equação 1) e a intensidade ou saturação da cor (C^* - Capítulo 2, Equação 2). O h^0 corresponde ao que se chama cor, sendo função do comprimento de onda da luz refletida, enquanto a C^* indica a pureza da cor, ou seja, o grau de desvio do tom cinza. O C^* depende fundamentalmente da estrutura miofibrilar e do $pH_{ultimate}$ (pH_u), enquanto o h^0 depende da química dos pigmentos (Milharadas, 2015).

pH

A determinação do pH é uma ferramenta utilizada para avaliar a qualidade da carne fresca, sendo esta uma medida objetiva e fiável. O pH além de influenciar determinadas características da carne às quais os consumidores dão elevada importância, tais como, a cor, textura e suculência, também interfere na conservação da carne, capacidade de retenção de água e propriedades tecnológicas.

O tipo de fibra muscular predominante tem influência no pH final, pois determina o metabolismo e a quantidade de glicogénio existente nas reservas musculares. Músculos ricos em fibras do tipo I apresentam baixa concentração de glicogénio e um metabolismo oxidativo, que resulta em pouca produção de ácido láctico e um pH final da carne mais elevado. As fibras do tipo IIA e IIB, com metabolismo glico-oxidativo e glicolítico, apresentam maiores reservas de glicogénio, com resultado em maior produção de ácido láctico e, por isso, menores valores de pH final da carne (Garrido & Bañon, 2000).

Os valores de pH final, resultantes da transformação do músculo em carne, influenciam os valores de L^* , já que determinam o arranjo estrutural da matriz muscular resultante. A estrutura da carne e a sua forma mais ou menos coesa tem influência na absorção e difusão da luz e por conseguinte na intensidade da cor. Quando o pH da carne diminui, devido à acidificação resultante da glicogenólise muscular, a estrutura muscular é enfraquecida através da atividade enzimática, aumentando os espaços extracelulares que são ocupados pela água livre no músculo, dando maior refletância à carne, isto é, tornando-a mais clara, ou seja, carne com valores elevados de L^* (Purchas, 1990).

O valor de L^* está, predominantemente, dependente da quantidade de glicogénio existente no músculo aquando do abate. Se a concentração glicogénio for inferior a 8

mg/g, não existe produção de ácido láctico, e conseqüentemente não existe acidificação do músculo, resultando um pH final da carne superior a 6. Nesta situação, não estão reunidas as condições ideais para a normal desnaturação proteica, mantendo-se o músculo como uma estrutura coesa, fechada e translúcida que absorve luz em vez de refletir. Os valores de L* para estas carnes são menores e caracterizam a carne denominada como DFD (*Dark, Firm and Dry*). Nas carnes não DFD os valores de luminosidade estão compreendidos entre 33,2 e 41,0, sendo considerados valores baixos, ou seja, carnes escuras ou DFD, se o valor de L* for inferior ou igual a 29,68 (Barradas, 2015).

Outro fator associado ao pH é o crescimento microbiano. A acidificação da carne bovina é considerada uma excelente barreira à sua deterioração. Como referido anteriormente, a quantidade de glicogénio que existe no músculo interfere no pH final da carne, verificando-se que a diminuição dos valores deste parâmetro demora 15 a 36 horas no caso da carne de bovino (Arantes, 2014).

Numa situação de *stress ante mortem*, pode ocorrer esgotamento parcial ou total do glicogénio muscular, por outro lado uma quantidade de glicogénio muscular inferior a 0,6 % dificulta o processo de diminuição do pH *post mortem*, resultando um pH final da carne superior a 6. Com concentrações de glicogénio desta ordem de grandeza, a desnaturação proteica da carne é inferior ao normal, o músculo torna-se uma estrutura translúcida e fechada que passa a absorver a luz em vez de a refletir, com a carne a exibir uma cor mais escura relativamente à cor normal (Warriss, 2010; Miller, 2007; Pereira, 2016).

Ao nível de atividade enzimática, o pH tem grande importância. Para valores de pH próximos de 7,0 operam preferencialmente as enzimas bacterianas proteolíticas, enquanto que para valores de pH inferiores a 6,0 as enzimas responsáveis pelo “ataque” aos hidratos de carbono atuam de forma mais intensa, tendo as bactérias lácticas como pH ótimo para a sua ação os valores entre 5,5,-6,0 (Arantes, 2014). O decréscimo do pH para valores inferiores a 5,4 resulta na inativação das enzimas, levando à interrupção das reações enzimáticas (Arantes, 2014).

A medição de pH deve ser realizada 24 horas *post mortem*, sendo esta medição denominada de pH *ultimate*. O valor de pH final da carne é afetado em diferentes períodos *post mortem*, sendo este valor dependente da espécie, do tipo de músculo, da reserva de energia e do nível de *stress* a que o animal foi submetido no manejo *ante mortem*. O valor do pH está ainda relacionado com fatores tais como, a idade dos animais, o peso e a raça (Pereira, 2016).

Perda por gotejamento – “*drip loss*”

O principal constituinte da carne fresca é a água com cerca de 75%. A capacidade de retenção de água na carne torna-se num parâmetro essencial quer para a satisfação do consumidor, quer para a indústria. A baixa capacidade de retenção de água afeta a aparência da carne *in natura*, o seu comportamento durante o tratamento culinário e a suculência durante a mastigação, sendo esta capacidade de retenção da água muitas vezes avaliada pela técnica “*drip loss*”, também comumente designada por perda por gotejamento (Martins, 2017).

A água no tecido muscular existe em três formas, fortemente “ligada” às proteínas, “imobilizada” no tecido muscular e sob a forma “livre”. A água ligada está presente numa quantidade muito pequena no músculo, tem pouca mobilidade e resiste à congelação e à expulsão pelo aquecimento (Martins, 2017).

Nas células musculares a água encontra-se nas miofibrilas, entre estas e o sarcolema (membrana celular), entre as células do músculo e entre os grupos de feixes musculares (Ponnampalam *et al.*, 2017). O espaço entre os filamentos varia entre 320Å a 570 Å em relação ao pH, comprimento do sarcómero, força iónica, pressão osmótica e se o músculo está em *pré-rigor* ou *post-rigor* (Martins, 2017).

A perda da água livre é da maior importância durante o arrefecimento e armazenamento das carcaças e ocorre por evaporação ou gotejamento. A água imobilizada é a que sofre mais alterações no processo de conversão do músculo em carne, já que as alterações nas estruturas das células do músculo e a descida do pH podem originar a sua perda por gotejamento/exsudação. Com a descida do pH, as proteínas dos músculos tendem a desnaturar, reduzindo o poder de retenção de água pelo músculo. Para além disto, as proteínas miofibrilares, actina e miosina, encontram o seu ponto isoeléctrico (pH no qual as moléculas de proteínas não têm carga eléctrica) e assim, tendem a perder a água que normalmente está acumulada nelas. Estes dois fenómenos levam à existência da exsudação do fluido das fibras musculares (Martins, 2017).

Perda por cozimento – “*cooking loss*”

O processo de confeção de carne, além de destruir os microrganismos existentes na carne, também induz o desenvolvimento de propriedades sensoriais específicas dos produtos cozidos. Conjuntamente, com a ternura, a cor e a suculência são as principais qualidades sensoriais da carne bovina (Scussat *et al.*, 2017). Estas propriedades sensoriais são geralmente analisadas na média da amostra, embora as suas alterações

sejam locais e dependam de complexos gradientes térmicos e hídricos gerados na carne durante o aquecimento. A suculência está diretamente relacionada com as mudanças no conteúdo de água da carne que ocorrem durante o cozimento, determinando o rendimento do cozimento, que é um fator crítico. A maior parte da água encontra-se localizada na rede de proteínas miofibrilares, estando as alterações na estrutura das proteínas associadas a mudanças na distribuição da água (Scussat *et al.*, 2017).

Assim, durante o cozimento, a carne pode perder uma grande quantidade da sua massa na forma de suco de carne. O valor da perda de água determina o rendimento tecnológico da operação de cozimento, tornando-se assim, um fator crítico na indústria. O tempo de cozimento e as perdas existentes durante o processo afetam a qualidade da carne cozida, por alteração de atributos sensoriais, tais como, a cor, sabor, suculência, maciez, conteúdo de micronutrientes, entre outros (Kondjoyan *et al.*, 2013; Modzelewska-Kapituła *et al.*, 2012). A perda e/ou migração da água na carne durante o cozimento está relacionada com a desnaturação e a contração das estruturas proteicas causadas pelo aumento da temperatura (Kondjoyan *et al.*, 2013).

A temperatura e o tempo são fatores importantes nos processos de transferência de calor e massa, desnaturação de proteínas e, em alguns casos, de solubilização de proteínas que ocorrem no cozimento. Está bem definido que a quantidade de peso perdido da carne aumenta gradualmente com a temperatura de cozimento e que fatores como o comprimento do músculo, o pH e o teor de sal também influenciam essa perda (Purslow *et al.*, 2016).

Dureza da carne

A carne bovina geralmente atinge maciez adequada aos 10 dias de envelhecimento a vácuo após o abate, mas fica castanha e permanece com uma cor escura, pouco atraente para os consumidores durante a exposição em retalho neste tipo de embalagem (Moczkowska *et al.*, 2017).

A degradação enzimática e a oxidação de lípidos e proteínas também têm um impacto significativo na qualidade da carne durante o seu armazenamento, prejudicando a estabilidade da cor, sabor e maciez (Tørngren *et al.*, 2018; Van Rooyen *et al.*, 2018).

A tenrura da carne é variável e depende de diversos fatores, tais como, raça, idade, sexo, tipo de músculo, temperatura e tempo de maturação. A maturação é um processo que consiste na tenderização (redução da dureza) da carne e que ocorre após *mortem-rigor*, durante a conservação em refrigeração. As raças mais precoces, à mesma idade de

abate, apresentam maior quantidade de gordura depositada, sendo a carne mais tenra e mais suculenta. Existe uma diferenciação de acordo com o sexo do animal, as fêmeas têm maior tendência para deposição de gordura do que os machos, deste modo, as fêmeas apresentam uma carne mais tenra (Beriain & Lizaso, 1998).

A textura e tenrura são parâmetros influenciados pela quantidade de tecido conjuntivo (Listrat *et al.*, 2016) que promove a coesão, a contração das fibras e a dureza miofibrilar, sendo por isso, a gordura inserida no músculo um fator preponderante, já que pode enfraquecer as ligações fibrosas e facilitar a desconexão com a mastigação.

Um fator também de grande influência na tenrura da carne é a maturação, ou seja, quanto maior o tempo de maturação mais tenra será a carne, além disso, a cor, sabor e aroma tornam-se mais intensos e a carne mais suculenta uma vez que a maturação induz a degradação do tecido conjuntivo do músculo, bem como, da própria estrutura proteica (Soria & Corva, 2004).

A dureza da carne é uma característica que pode ser definida por certas propriedades homogêneas detetadas pelos sentidos humanos relacionados com a audição, visão, somestesia e cinestesia. Essas propriedades são percebidas como dureza ou firmeza, gomosidade, resiliência, elasticidade entre outros parâmetros de textura relacionados com sensações de boca. No entanto, as propriedades texturais da carne são frequentemente adaptadas ao processamento de alimentos, onde o objetivo é muitas vezes tornar a estrutura da carne e dos alimentos em geral, mais delicada e fácil de mastigar.

Os métodos utilizados para avaliação da textura podem ser divididos em três grupos: métodos sensoriais, instrumentais e indiretos.

Os métodos instrumentais de avaliação de dureza são frequentemente imitativos e procuram determinar propriedades mecânicas, tais como a resistência do alimento. Como a potência aplicada está para além da força da amostra testada, a amostra frequentemente cede neste procedimento. O teste mecânico de medição de dureza é tipicamente destrutivo (Novaković & Tomašević, 2017).

O teste de Warner-Bratzler (WBSF), força de corte, é um método instrumental clássico para estimar a maciez (resistência). Este procedimento instrumental é o mais utilizado para avaliar a maciez da carne desde a década de 1930. O teste consiste na medição da quantidade de força necessária (N), em função do movimento de uma lâmina (mm) e sua compressão, para cortar um tecido de músculo com tamanho definido - amostra de carne. O resultado desta medição mostra a dureza (resistência) da carne (Novaković & Tomašević, 2017).

Na Tabela 1.1 apresentam-se como exemplo, os valores obtidos para os parâmetros acima mencionados – cor, pH, perdas por gotejamento (*drip loss*), perdas por cozimento (*cooking loss*) e textura, em estudos realizados com carnes embaladas em MAP e a vácuo.

Tabela 1.1- Valores obtidos para a cor, pH, “*drip loss*”, “*cooking loss*” e textura - WBSF em amostras de carne de bovino embalada em MAP e vácuo em diferentes estudos.

Referência bibliográfica	Atmosfera	Dia	Ph	Cor					DL (%) ^a	CL (%) ^b	Textura WBSF (N) ^c
				L	a*	b*	h°	C*			
Zhang <i>et al.</i> , 2018	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	0	5,48	40,3	22,0	14,9					
		4	5,49	44,6	25,0	17,3					
		8	5,48	46,0	23,2	17,7					
		14	5,45	46,3	22,6	17,1					
		20	5,48	45,8	23,6	18,2					
	Vácuo	0	5,48	40,3	22,0	14,9					
		4	5,52	40,3	17,5	11,6					
		8	5,49	41,0	14,5	10,8					
		14	5,48	40,9	15,8	12,2					
		20	5,48	41,1	15,7	11,9					
Łopacka <i>et al.</i> , 2016	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	0		37,8	19,3	7,3			15,7	29,5	
		4		41,0	22,8	11,5		1,2	20,9	28,9	
		8		41,2	20,5	10,4		1,9	20,7	30,4	
		12		41,2	20,5	10,5		2,6	21,1	26,3	
		0		37,8	19,3	7,3		1,0	15,7	29,5	
	Vácuo	4		38,1	17,2	3,4		1,9	18,1	26,6	
		8		37,6	16,3	2,8		2,6	19,4	25,9	
		12		36,2	17,6	3,6			19,6	25,0	
		0	5,72	43,69	26,37	18,58	35,13	32,26			
		4	5,71	45,83	26,32	19,19	36,10	32,57			
Yang <i>et al.</i> , 2016	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	8	5,67	46,95	21,85	17,33	38,52	27,90			
		12	5,65	47,09	16,41	15,55	43,97	22,65			
		0	5,72	43,69	26,37	18,58	35,13	32,26			
		4	5,71	44,93	25,26	18,32	35,97	31,20			
	MAP (50% O ₂ ; 30% CO ₂ ; 20% N ₂)	8	5,66	47,44	17,70	15,37	41,04	23,43			
		12	5,64	47,41	14,26	14,69	46,60	20,54			
		0	5,72	43,69	26,37	18,58	35,13	32,26			
		4	5,70	44,78	28,49	17,89	32,15	33,64			
	MAP (30% CO ₂ ; 70% N ₂)	8	5,66	46,83	30,60	19,73	32,77	36,47			
		12	5,66	47,62	31,23	20,13	32,83	37,16			
0		5,72	43,69	26,37	18,58	35,13	32,26				
4		5,68	41,42	21,13	11,55	28,63	24,08				
Vácuo	8	5,66	42,48	20,37	11,61	29,70	23,45				
	12	5,66	44,11	20,52	12,25	30,85	23,90				

^a Drip loss

^b Cooking loss

^c Textura (Warner Braztler Force)

(continua)

Tabela 1.1- Valores obtidos para a cor, pH, “drip loss”, “cooking loss” e textura - WBSF em amostras de carne de bovino embalada em MAP e vácuo em diferentes estudos (continuação).

Referência bibliográfica	Atmosfera	Dia	pH	Cor					DL (%) ^a	CL (%) ^b	Textura WBSF (N) ^c
				L	a*	b*	h°	C*			
Zakrys-Waliwander <i>et al.</i> , 2010	MAP (40% O ₂ ; 20% CO ₂ ; 40 % N ₂)	0	5,80							47,17	
		4	5,51							37,94	
		8	5,61							41,72	
		12	5,42							41,67	
	MAP (50% O ₂ ; 20% CO ₂ ; 30 % N ₂)	0	5,62							46,82	
		4	5,50							40,55	
		8	5,63							44,13	
		12	5,43							42,75	
	MAP (60% O ₂ ; 20% CO ₂ ; 20 % N ₂)	0	5,82							44,28	
		4	5,56							43,88	
		8	5,61							43,71	
		12	5,46							39,88	
	MAP (70% O ₂ ; 20% CO ₂ ; 10 % N ₂)	0	5,62							45,08	
		4	5,52							45,20	
		8	5,61							47,18	
		12	5,52							40,02	
	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂ ;))	0	5,83							41,36	
		4	5,52							43,66	
		8	5,57							45,39	
		12	5,52							41,38	
Moczowska <i>et al.</i> , 2017	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	14		37,48	18,82	9,54			21,4	38,92	
		14		41,80	20,54	9,52			25,7	33,69	
	Vácuo	28		39,69	15,34	6,35			26,4	42,90	
Zakrys-Waliwander <i>et al.</i> , 2012	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	0							3,14	41,89	
		4							3,09	43,59	
		8							3,74	48,18	
		14							3,74	48,42	
	Vácuo	0								1,28	44,55
		4								2,11	39,92
		8								2,46	41,45
		14								4,18	38,27
Carrizosa <i>et al.</i> , 2017	MAP (20% O ₂ ; 45% CO ₂ ; 35 % N ₂)	0	6,55								
		4	6,42								
		9	6,55								
		14	6,46								
	MAP (55% O ₂ ; 20% CO ₂ ; 25% N ₂)	0	6,65								
		4	6,32								
		9	6,65								
		14	6,43								

^a Drip loss

^b Cooking loss

^c Textura (Warner Braztler Force)

Humidade

A água ocorre naturalmente na carne e está presente no tecido muscular, conjuntivo e adiposo. Esta substância não desempenha papel nutritivo, mas a sua concentração afeta as propriedades organolépticas qualitativas da carne, uma vez que a capacidade de retenção de água na carne pode afetar a cor, suculência e tenrura da mesma (Rodrigues & Andrade, 2004). Na carcaça dos bovinos a água encontra-se principalmente nos tecidos musculares e em menor quantidade nos tecidos adiposos, assim, quanto menor a presença de tecido adiposo na carcaça maior será o teor de humidade da mesma (Ordoñez, 2005).

Cinza

O resíduo inorgânico, cinza, é o produto resultante da combustão da matéria orgânica da amostra e tem como constituintes principais: potássio, sódio, cálcio e magnésio. Podem-se encontrar ainda em pequenas quantidades alumínio, ferro, cobre e zinco. Durante a incineração, a volatilização ou interação entre os vários constituintes do alimento podem promover perdas em alguns minerais que se encontravam originalmente no alimento, o que resulta na sua ausência na cinza. A cinza, ou seja, a fração inorgânica da amostra, pode posteriormente ser utilizada para determinação dos minerais acima mencionados.

Os minerais são constituintes importantes para a nutrição humana, já que atuam como ativadores de enzimas e como componentes estruturais. Estes constituintes podem ser divididos em duas categorias:

- a) macro minerais, cuja ingestão diária deve ser pelo menos de 100 mg;
- b) micro minerais, com necessidades diárias em pequenas quantidades (Fernandes, 2014).

Proteína

As proteínas são polímeros formados a partir da combinação de aminoácidos e podem ser classificadas segundo dois grandes grupos: proteínas fibrosas e proteínas globulares. Esta classificação é definida pela solubilidade da proteína em água, sendo esta propriedade dependente da estrutura e arranjo da mesma. A maioria das proteínas fibrosas são insolúveis em meio aquoso e possuem massas moleculares bastante elevadas. Estas são longas e filamentosas, com tendência a dispor-se lateralmente formando fibras. As proteínas globulares encontram-se dobradas sobre si próprias em unidades compactas formando uma estrutura próxima do esférico, sendo geralmente solúveis em meio

aquoso. As proteínas fibrosas são os principais constituintes estruturais dos tecidos animais, sendo a sua insolubilidade em meio aquoso e arranjo molecular essenciais para a sua aptidão funcional (Morrison & Boyd, 1993). No organismo podem-se encontrar como exemplo de proteínas fibrosas, o colagénio no tecido conjuntivo e a miosina no tecido muscular.

A carne, juntamente com os produtos lácteos e os ovos, são, na dieta das sociedades atuais, as principais fontes de proteína, sendo considerados produtos de elevado valor nutricional. O valor nutricional ou qualidade da proteína é determinada não só pelo seu conteúdo em aminoácidos essenciais e a sua proporção relativa, como também pela digestibilidade e absorção no organismo.

O valor biológico da fração proteica de uma carne varia de acordo com a espécie, já que é uma medida da proporção de proteína absorvida de um alimento que é incorporada às proteínas do corpo do organismo. Assim, um alimento com uma fração proteica de boa qualidade ou de alto valor biológico é aquele que fornece boa digestibilidade, quantidades apropriadas de aminoácidos essenciais e de azoto total. A classificação da FAO/OMS - Graduação Química, para o valor biológico das frações proteicas, baseia-se no conteúdo de aminoácidos essenciais. Assim, o valor biológico é definido como a proporção em que se encontra um aminoácido essencial limitante, no que diz respeito ao padrão de referência. Por definição, o aminoácido limitante é o que tem maior déficit quando comparado com a proteína de referência, ou seja, aquele que, uma vez realizado o cálculo, resulta num valor mais baixo. A "proteína de referência" é uma proteína teórica, definida pela FAO, a qual possui a composição adequada para atender corretamente as necessidades proteicas. Deste modo, se as proteínas possuírem os aminoácidos essenciais em quantidade e proporções adequadas, são classificadas em completas ou de alto valor biológico, se por outro lado, carecerem de algum dos aminoácidos essenciais, são classificadas como incompletas ou de baixo valor biológico (Srikantia, 1981). Refira-se que a proteína da carne é considerada de graduação alta, estando apenas o ovo e o leite humano classificados como de graduação superior (Ferreira, 1983).

Relativamente, à carne de bovino, devido ao perfil de aminoácidos equilibrado, com a presença de todos os aminoácidos essenciais representados e à sua digestibilidade, apresenta-se como uma importante fonte de proteína considerada de alto valor biológico. As proteínas são as principais responsáveis pela aptidão funcional da carne, e representam entre 18 a 23% da sua composição total. Estas proteínas são classificadas como proteínas

miofibrilares, sarcoplasmáticas ou de estrutura (tecido conjuntivo), sendo a concentração em carne de bovino cerca de 60,5 %, 29% e 10,5%, respectivamente (Williams, 2007).

As principais proteínas constituintes do músculo esquelético são as proteínas miofibrilares, actina e miosina, que desempenham um papel fundamental na contração do músculo e na aptidão estrutural da carne, uma vez que formam a matriz proteica que, mais ou menos coesa, retém água e outros nutrientes nos produtos cárneos finais. Apesar das proteínas do tecido conjuntivo constituem apenas 10,5% na carne de bovino, a sua presença tem grande influência na qualidade final da carne. O colagénio, sendo a principal proteína estrutural do tecido conjuntivo intramuscular, pode conferir aos produtos cárneos finais diferentes características, já que a sua presença está intimamente relacionada com a tenrura e com outros aspetos qualitativos dos produtos cárneos, como a sua estabilidade térmica (Listrat *et al.*, 2016). A estrutura proteica é influenciada pela idade, devido ao conteúdo de colagénio presente, ou seja, a idade condiciona a disponibilidade daquele componente proteico na carne. Em animais jovens a proporção de colagénio no músculo é maior do que em animais mais velhos, que apresentam uma menor concentração. Apesar disso, as moléculas de colagénio de animais mais velhos são mais estáveis uma vez que formam ligações cruzadas entre si, o que dificulta a sua desnaturação e digestão enzimática. Assim, os animais mais velhos apresentam menor concentração de colagénio, mas fibras mais rígidas e com maior estabilidade, o que concede um arranjo estrutural do músculo mais coeso, resultando uma carne menos tenra (Ordoñez, 2005).

O sistema de produção para além da idade dos animais, também afeta a quantidade ou proporção de proteína existente no músculo esquelético. A atividade de pastoreio inerente a sistemas de produção extensivos potencia o desenvolvimento da massa muscular, influenciando a proporção músculo/gordura (Rossato *et al.*, 2010).

A oxidação de proteínas pode influenciar as propriedades físicas e químicas das proteínas, incluindo a sua solubilidade, hidrofobicidade, capacidade de retenção de água, funções de gelificação e até alterar a maciez e valor nutricional da carne (Moczkowska *et al.*, 2017).

Existem outras razões para a deterioração da carne, uma vez que mesmo a carne isenta de microrganismos embalada a vácuo tem um prazo de validade limitado, tornando-se amarga com o tempo, provavelmente devido à deterioração proteolítica das proteínas da carne por enzimas intrínsecas (Tørngren *et al.*, 2018).

Na Tabela 1.2 são apresentados os resultados obtidos para a oxidação de proteínas num estudo de Zakrys-Waliwander *et al.* (2012) em carnes embaladas em MAP e a vácuo.

Tabela 1.2- Resultados obtidos para as proteínas num estudo com carnes embaladas em MAP e a vácuo

Referência	Atmosfera	Dia	Proteínas ^a (nmol DNPH/mg proteína) ^b
Zakrys-Waliwander <i>et al.</i> , 2012	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	1	39,03
		4	34,74
		8	28,77
		14	27,00
	Vácuo	1	37,07
		4	37,48
		8	37,26
		14	33,73

^a Protein carbonyl content

^b DNPH: 2,4-dinitrophenyl hydrazine

Gordura total

Os lípidos constituem, juntamente com os hidratos de carbono e as proteínas, uma das grandes classes nutricionais dos alimentos e são compostos naturais que desempenham um papel importante em numerosos processos biológicos.

Quimicamente os lípidos são macromoléculas insolúveis em água e solúveis em solventes apolares, ou seja, podem ser extraídas com solventes orgânicos de baixa polaridade como o éter e o clorofórmio. Apesar disso, os lípidos são uma classe heterogénea, com pouca relação entre si, expeto o facto de serem constituídos por ácidos alifáticos com cadeias lineares compridas, denominados de "ácidos gordos". A estrutura fundamental dos lípidos são os ácidos gordos ou estruturas a eles relacionadas, como aminas, aldeídos e álcoois. Os lípidos são importantes do ponto de vista nutricional, estando ligados a uma função estrutural (fosfolípidos membranares ou fração polar) e a uma função energética (triacilgliceróis/triglicerídeos) depositados nas reservas lipídicas, também designados por fração neutra, que constituem as duas principais frações lipídicas da carne (Curi *et al.*, 2002). De uma forma geral os lípidos constituem uma das mais importantes reservas energéticas do organismo.

Os ácidos gordos são compostos orgânicos simples, cuja molécula apresenta numa extremidade (alfa) um grupo carboxilo (COOH) e na outra (ómega) um grupo metilo (CH₃) não funcional. Entre as duas extremidades existe uma cadeia de átomos de carbono, saturada ou insaturada de comprimento variável, podendo apresentar, no caso de ácidos gordos insaturados, ligações duplas em número e posição variáveis. A classificação destes compostos é elaborada de acordo com o comprimento da cadeia carbonada e o número, posição e configuração das ligações duplas. A nomenclatura utilizada para designar os

ácidos gordos dá prioridade à localização da ligação dupla mais próxima do grupo metilo terminal, por se considerar que as características nutricionais de um ácido gordo dependem da constituição junto da extremidade metílica e não da extremidade carboxílica (Zubay, 1995). Os ácidos gordos encontram-se maioritariamente ligados ao glicerol, formando os glicerídeos, também denominados de acilgliceroís, e uma pequena fração, a um esterol, formando esteroides. Cada gordura é constituída por acilgliceroís diferentes derivados de ácidos carboxílicos diferentes, variando as proporções destes de gordura para gordura, ou seja, cada gordura tem uma composição característica (Morrison & Boyd, 1993).

Em termos nutricionais, a relevância da gordura está intimamente ligada ao seu elevado valor calórico, aos efeitos biológicos de alguns dos seus constituintes, nomeadamente dos ácidos gordos essenciais e do colesterol, à sua função biológica, e ainda por servirem de veículo de transporte para as vitaminas lipossolúveis, em especial A, D, E e K (Momot *et al.*, 2020). Além disso, a fração lipídica, nomeadamente a gordura intramuscular da carne, tem efeitos positivos na tenrura, suculência e *flavour*, influenciando a aceitabilidade da carne por parte do consumidor. Apesar, do teor de gordura intramuscular ter efeitos positivos na qualidade sensorial e nutricional da carne, existem preocupações associadas à composição dessa fração lipídica, principalmente na carne de bovino (Scollan *et al.*, 2006). Assim, a gordura é indispensável para uma boa qualidade organoléptica, no entanto, em termos nutricionais é fator de preocupação e depreciação por parte do consumidor e organizações de saúde (Barradas, 2015).

A carne e os produtos cárneos são uma importante fonte de proteína, vitaminas, minerais e gordura (Momot *et al.*, 2020). Na fração lipídica, a composição de ácidos gordos, colesterol, valor calórico ou os produtos resultantes da oxidação de lípidos podem causar problemas de saúde e estar na origem de doenças degenerativas (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001), resultando numa conotação negativa da carne bovina por parte do consumidor. Assim, a quantidade e qualidade da fração lipídica são parâmetros chave na valorização ou desvalorização da carne de bovino (Barradas, 2015; Carolino, 2015).

A fração lipídica é variável em qualidade e quantidade e desempenha um papel importante na determinação do *flavour* e suculência da carne, atribuindo à carne uma melhor palatabilidade. A quantidade desta fração é dependente da raça - mais ou menos precoce e da idade do animal, ou seja, animais de rápido crescimento e animais mais velhos têm maior deposição de gordura, produzindo músculos com maior teor de gordura intramuscular (Momot *et al.*, 2020). Relativamente à qualidade da fração lipídica, esta

apresenta-se associada à alimentação do animal, já que o tipo de alimentação condiciona as características nutricionais, determinando o perfil de ácidos gordos, assim como as características organoléticas, dotando as carnes de um *flavour* característico (Warren *et al.*, 2008; Geay, *et al.*, 2001; Yves *et al.*, 2001; Daley *et al.*, 2010; Momot *et al.*, 2020).

A oxidação lipídica origina a deterioração das qualidades sensoriais devido ao desenvolvimento de sabor estranho, aquecido e ranço, enquanto as mudanças que ocorrem nas proteínas estão ligadas à deterioração dos aspetos texturais da carne (Moczkowska *et al.*, 2017).

Oxidação lipídica

A peroxidação lipídica é um dos principais fatores que influencia a deterioração da qualidade da carne e dos produtos à base de carne (Sakai, 2004).

A oxidação lipídica é mais perceptível em carnes com alto teor de gordura, resultando em ranço e desenvolvimento de um sabor aquecido. Por outro lado, a carne fresca e processada pode também deteriorar-se através da oxidação de proteínas, resultando odores e sabores que remetam para a deterioração do produto, e potenciais riscos à saúde (Moczkowska *et al.*, 2017; Schumann & Schmid, 2018).

A oxidação é um dos fatores essenciais na degradação não-microbiana de carne e derivados. A oxidação lipídica tem sido intensivamente estudada nesses alimentos, já que os produtos da reação podem reagir prontamente com as proteínas, levando a modificações sensoriais e perda de valor nutricional (Pereira & Abreu, 2018).

A oxidação lipídica é definida como uma reação em cadeia entre ácidos gordos insaturados e radicais livres, que origina uma grande variedade de compostos voláteis e não voláteis, sendo as cetonas, álcoois e ácidos os mais frequentes.

Os hidroperóxidos lipídicos são produzidos por oxidação lipídica de frações de ácidos gordos altamente insaturados dos fosfolipídios da membrana, sendo suscetíveis a oxidação/decomposição adicional. O malondialdeído (MDA) é um produto secundário relativamente estável da degradação oxidativa dos ácidos gordos polinsaturados (PUFAs). Este composto é um dialdeído com três átomos de carbono que pode existir sob várias formas, dependendo do valor de pH, sendo os peróxidos cíclicos, endoperóxidos bicíclicos e hidroperóxil alguns de seus principais precursores. O MDA é relevante para a investigação científica e indústria, pois pode ser usado para determinar a peroxidação lipídica através do teste TBARs (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), o ensaio

mais utilizado para avaliar os efeitos do oxigênio ativo na carne e derivados (Fernandes, 2014).

Existem muitos fatores associados à oxidação lipídica na carne, como o calor e luz, catalisadores, teor e tipos de oxigênio, fosfolípidos, ácidos gordos insaturados, condição de pré-abate, processos que destroem as membranas musculares e pH (Cheng, 2016).

Na Tabela 1.3 são apresentados os resultados obtidos para o TBARs em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo. Nos dois estudos observa-se uma menor concentração de malonaldeído ao longo do tempo nas amostras embaladas em vácuo.

Tabela 1.3- Resultados obtidos para o TBARs em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo.

Referência	Atmosfera	Dia	TBARs (mg MDA/kg)
Yang <i>et al.</i> , 2016	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	0	0,35
		4	1,33
		8	2,35
		12	3,14
	MAP (50% O ₂ ; 30% CO ₂ ; 20% N ₂)	0	0,35
		4	1,18
		8	2,23
		12	2,93
	Vácuo	0	0,35
		4	0,36
		8	0,37
		12	0,37
Zhang <i>et al.</i> , 2018	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	0	0,125
		4	0,198
		8	0,356
		14	0,424
		20	0,501
	Vácuo	0	0,125
		4	0,134
		8	0,129
		14	0,131
		20	0,136

Ácidos gordos

Os ácidos gordos podem ser classificados quer pelo tamanho da cadeia hidrocarbonada, quer pela presença de insaturações (ligações duplas, C = C). Assim, na primeira classificação são agrupados pelo número de átomos de carbono (C), ou seja,

ácidos gordos de cadeia curta (2-4 átomos de C), média (6-12 átomos de C) ou longa (mais de 12 átomos de C). Pela segunda classificação são agrupados pelo número de ligações duplas, ou seja, ácidos gordos saturados (sem C = C) e insaturados (com C = C), subdividindo-se este grupo em monoinsaturados (1 ligação C = C) e polinsaturados (mais de 1 ligação C = C). Os ácidos gordos saturados, característicos de gorduras animais, são constituídos por cadeias simples sem ligações duplas e podem ser sintetizados pelo organismo humano. Os ácidos gordos insaturados, típicos de gorduras vegetais, mas também existentes na gordura dos ruminantes em pequena quantidade, têm ligações duplas na cadeia e não podem ser sintetizados pelo organismo humano (Ferreira, 1983; Curi *et al.*, 2002).

A configuração em torno das ligações duplas C = C pode ser designada por *cis* ou *trans*. A insaturação tem um papel relevante do ponto de vista biológico, já que interfere no ponto de fusão da gordura, baixando-o. As cadeias dos ácidos gordos saturados estão dispostas de forma linear, ajustando-se umas às outras e originando forças intermoleculares mais fortes e, conseqüentemente um ponto de fusão alto e maior estabilidade da gordura. O mesmo acontece com as cadeias dos ácidos gordos insaturados *trans*, que apesar da ligação dupla mantêm a disposição linear, no entanto, as cadeias dos ácidos gordos insaturados *cis* apresentam uma curvatura ao nível da ligação dupla, que dificulta o ajuste das cadeias entre si, resultando em forças intermoleculares mais fracas, ponto de fusão da gordura mais baixo e maior instabilidade da gordura (Carolino, 2015).

Esta "fragilização" das moléculas dos ácidos gordos insaturados *cis* pode levar a alterações químicas, nomeadamente, à halogenação, hidrogenação e oxidação das gorduras. A hidrogenação e a oxidação têm especial relevância nos lípidos presentes em produtos alimentares, nomeadamente em produtos de origem animal.

A hidrogenação, ou seja, a fixação de átomos de hidrogénio sob a ação de catalisadores, transformam os ácidos gordos insaturados em ácidos gordos saturados (total ou parcialmente). Este processo que ocorre naturalmente no rúmen dos ruminantes, toma a denominação de biohidrogenação das gorduras e tem como principais produtos os ácidos trans-octadecenoicos e os isómeros do ácido linoleico conjugado (CLA). Assim, a biohidrogenação modifica as propriedades físicas, químicas e biológicas das gorduras, o que é relevante para o caso das carnes, nomeadamente de bovino (Ferreira, 1983; Curi *et al.*, 2002).

A oxidação lipídica tem particular interesse, nomeadamente ao nível da conservação da carne. A oxidação de ácidos gordos insaturados pela exposição ao

oxigénio atmosférico e calor originam peróxidos, que por sua vez, originam aldeídos, com cheiro e gosto desagradáveis, responsáveis pelo fenómeno de rancificação da gordura (Barradas, 2015).

A gordura intramuscular, como já referido, pode ser dividida em duas frações distintas, uma fração estrutural (fração polar) e uma fração energética (fração neutra), que se caracterizam por ter funções e composição em ácidos gordos diferentes, sendo a fração polar a que apresenta um perfil mais insaturado (Carolino, 2015; Barradas, 2015).

Na fração energética ou neutra da gordura intramuscular da carne de bovino os ácidos gordos saturados (SFA, *saturated fatty acids*) representam cerca de 30 a 60% do total dos ácidos gordos, sendo os principais ácidos gordos saturados presentes, o ácido mirístico (C14:0), o ácido palmítico (C16:0) e o ácido esteárico (C18:0).

Numa dieta alimentar com produtos cárneos, os ácidos gordos saturados normalmente são associados ao aumento de colesterol e LDL (*low density lipoprotein*) plasmáticos, o que tem sido relacionado com o risco de doenças coronárias (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001). De referir, que o ácido mirístico tem elevado poder indutor da produção hepática de colesterol no organismo, comparando com o ácido palmítico (com algum poder indutor) ou com o ácido esteárico (neutro) (Scollan *et al.*, 2006). No perfil de ácidos gordos da carne, no grupo dos ácidos gordos saturados, podem surgir os ácidos gordos saturados ramificados (*iso* e *ante-iso*) (Yves *et al.*, 2001; Chilliard *et al.*, 2001).

Os ácidos gordos saturados ramificados (*iso* e *anti-iso*) têm origem microbiana, são dependentes da população bacteriana do rúmen e representam cerca de 15 a 20% do total de ácidos gordos bacterianos. A sua presença no perfil de ácidos gordos da carne de bovino, advém da digestão e absorção dos ácidos gordos de origem bacteriana, assim, a sua concentração está dependente da população bacteriana predominante, da biomassa bacteriana e do ritmo de passagem do rúmen para o abomaso. A componente fibrosa do regime alimentar dos bovinos tem influência na concentração dos ácidos gordos de origem bacteriana, pois afeta a flora microbiana do rúmen e o ritmo de passagem para o abomaso. A carne de animais criados em sistema de pastoreio apresenta maior teor nestes ácidos gordos saturados, já que promove a atividade de ruminação, e consequentemente, o desenvolvimento da flora microbiana do rúmen (Fievez *et al.*, 2012; Humada *et al.*, 2012; Williams, 2007).

Os ácidos gordos monoinsaturados (MUFA, *monounsaturated fatty acids*) representam cerca de 40 a 50% da gordura total da carne de bovino, sendo o ácido oleico (C18:1*cis*-9), o principal e mais frequentemente encontrado na carne de bovino,

assumindo um papel benéfico para a saúde do consumidor. Este ácido tem uma ação inibidora na produção hepática de colesterol no organismo, estando associado a menores níveis de colesterol e LDL plasmáticos. Outros MUFA que podem estar presentes na gordura da carne são o ácido *cis*-vacénico (C18:1*cis*-11), ácido gadoleíco (C20:1*n*9), entre outros. No conjunto dos MUFA podem constar, de acordo com a sua composição e arranjo, os *cis* e os *trans* (Ferreira, 1983; Curi *et al.*, 2002; Carolino, 2015).

Os ácidos gordos polinsaturados estão presentes, especialmente nos óleos de origem vegetal (sementes). Na carne de bovino, os ácidos gordos polinsaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*) representam 10 a 20% da gordura total. Do ponto de vista nutricional estes ácidos gordos são mais saudáveis, já que a insaturação baixa o ponto de fusão e diminui a estabilidade térmica da fração lipídica da carne (Barradas, 2015).

O nível de PUFA na fração lipídica condiciona a estabilidade oxidativa da carne enquanto produto, as suas características nutricionais e organolépticas, assim como a cor. Apesar disso, a estabilidade de conservação da carne depende em grande extensão, da presença de vitamina E, sendo indicado como valor de referência, uma relação entre a vitamina E (mg) e os PUFA (g) de 0,6. Os PUFA com maior concentração na carne são o ácido linoleico (C18:2*n*-6) e araquidónico (C20:4*n*-6), considerados ácidos gordos essenciais, já que são necessários ao organismo humano para sintetizar outros ácidos gordos indispensáveis para manter o funcionamento normal de todos os tecidos. O ácido linoleico é considerado o PUFA mais importante e encontra-se maioritariamente nos cereais e leguminosas (Nuernberg *et al.*, 2002; Sañudo *et al.*, 2000).

O principal fator determinante do perfil dos ácidos gordos na carne é a alimentação dos animais (Momot *et al.*, 2020), assim dietas de alto valor energético aumentam a proporção de ácidos gordos saturados e monoinsaturados e diminuem a de ácidos gordos polinsaturados, assim como, regimes alimentares com níveis elevados de ingestão de pastagem são associados a ácidos gordos como o C15:0, o C18:1*trans*-11, o C18:1*trans*-16 e o *n*-3 PUFA. No que respeita a PUFA, os cereais são ricos em ácido linoleico e o pasto em ácido linolénico, assim as dietas à base de cereal produzem carnes ricas em ácido linoleico e à base de pastagem ricas em ácido linolénico (Alfaia *et al.*, 2009).

Como o perfil de ácidos gordos na carne é reflexo da dieta alimentar dos animais, alguns ácidos gordos, tais como, os *trans*-octadecenóicos e os isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA), poderão ser utilizados como indicadores da dieta alimentar seguida pelos animais. Assim, dos ácidos *trans*-octadecenóico presentes no perfil de ácidos gordos da carne, o C18:1*trans*-11 (*trans*-vacénico) é o principal para animais

alimentados em pastoreio e o C18:1*trans*-10 o principal para animais alimentados à base de concentrado, ou seja, a sua proporção no perfil global de ácidos gordos pode servir como um "parâmetro de controlo" (Aldai *et al.*, 2011).

O C18:1*trans*-11 e o C18:1*trans*-10 resultam da biohidrogenação que ocorre ao nível do rúmen. A concentração de amido na dieta afeta a multiplicação e desenvolvimento da população microbiana ruminal, nomeadamente das bactérias amilolíticas, e conseqüentemente a concentração destes dois *trans*-octadecenóicos na carne, ou seja, a sua proporção na carne varia mediante uma dieta mais ou menos rica em amido, isto é, uma dieta com alimento concentrado ou não (Aldai *et al.*, 2014).

1.4.2. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

As alterações de deterioração mais comuns estão relacionadas com o odor e o sabor, podendo também ser detetadas, mas, mais raramente, alterações de cor e produção de gás (Doulgeraki *et al.*, 2012).

A deterioração do produto depende de vários fatores, tais como: possíveis contaminações ao longo do processo de abate e desmancha, do grau e tipo de processamento e ainda das condições de armazenamento (temperatura e tipo de embalagem). As estirpes de microrganismos presentes na carne dependem da espécie animal, do estado da sanidade animal, das condições estéreis dos locais onde a carne é manipulada e dos manipuladores.

O processo de abate dos animais e desmancha das carcaças oferecem uma oportunidade para a colonização das superfícies por bactérias. Uma enorme variedade de microrganismos de diferentes origens contamina a superfície da carne, rica em água e nutrientes, mas só alguns dos microrganismos contaminantes iniciam a sua multiplicação e, apenas alguns destes últimos contribuem para a deterioração da carne como consequência da sua atividade metabólica (Paulos, 2015).

A razão predominante para a deterioração da carne é a atividade microbiana, oxidação e autólise enzimática, podendo em alguns casos ser causada por um organismo específico, no entanto a deterioração depende principalmente da composição de uma microflora heterogênea (Tørngren *et al.*, 2018). Apesar disso, existem outras razões para a deterioração da carne, já que a carne estéril embalada a vácuo tem um prazo de validade limitado, tornando-se amarga com o tempo, provavelmente devido à deterioração proteolítica das proteínas da carne por enzimas intrínsecas (Dave & Ghaly., 2011).

A composição da microbiana inicial tem um papel determinante, assim como o momento em que se aplica a embalagem de atmosfera modificada que deve ser a mais apropriada para garantir os resultados desejados. Também deve estar associada a esta o controlo rigoroso da temperatura e a seleção da mistura de gases deve ser a mais adequada.

Na Tabela 1.4 são apresentados resultados microbiológicos, de contagem de unidades formadoras de colónias em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo.

Tabela 1.4- Resultados microbiológicos obtidos em estudos com carnes embaladas em MAP e a vácuo.

Referência	Atmosfera	Dia	Log ₁₀ (UFC/g)
Lopacka <i>et al.</i> , 2016	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	4	3,40
		8	3,97
		12	3,99
	Vácuo	4	3,42
		8	3,61
		12	4,34
Zakrys-Waliwander <i>et al.</i> , 2011	MAP (80% O ₂ ; 20% CO ₂)	1	4,44
		4	5,12
		7	6,06
		10	6,50
		14	6,63
	MAP (30% O ₂ ; 70% CO ₂)	1	4,45
		4	5,17
		7	5,29
		10	5,49
		14	5,68
	MAP (50% O ₂ ; 30% CO ₂ ; 20% N ₂)	1	4,47
		4	5,51
		7	5,65
		10	5,99
MAP (75±5% O ₂ ; 25±5% CO ₂ ; <5% N ₂)	14	6,12	
	1	4,48	
	7	5,19	
	10	5,95	
		14	6,37

1.4.3. ASPETOS ORGANOLÉTICOS

As características da carne, apreciadas pelos consumidores são: num primeiro contacto, o aspeto relacionado com a cor e brilho; e no momento do consumo, o aroma,

sabor e textura. Estas características são a expressão física da qualidade da carne em termos químicos, já mencionados anteriormente.

A maturação da carne influencia a tenrura e os aspetos organoléticos tais como, cor, sabor e aroma (mais intenso) e suculência (maior). No entanto, para uma maior aceitação geral da carne e melhor apreciação de palatabilidade é recomendada uma maturação de 7 a 14 dias, já que neste período ocorre a degradação quer das proteínas quer da gordura intramuscular, sendo estas responsáveis pelo desenvolvimento do sabor e odor da carne (Beriaín & Lizaso 1998).

A análise sensorial é uma ferramenta de análise que através de um painel de provadores, treinado ou com experiência, permite avaliar atributos não aferidos instrumentalmente, como por exemplo: sensações de boca que resultam da integração de aspetos de textura (maciez e suculência) e aspetos relacionados com aroma e sabor (*flavour*), cuja perceção humana é mais completa. Podem ser utilizadas várias técnicas para análise sensorial, desde as que medem a aceitação pelo consumidor até outras mais objetivas na caracterização dos alimentos relativamente às suas propriedades organoléticas quantificando-as em termos de intensidade.

1.5. EMBALAGEM DE CARNE FRESCA

Os consumidores quando se dirigem aos supermercados para fazer a sua escolha da carne para consumo, direcionando-se às câmaras de refrigeração, tendo grande influência na decisão de compra do tipo de embalagem apresentada.

O objetivo da embalagem é conservar as propriedades desejadas da carne durante o tempo de armazenamento e a exposição. A deterioração da qualidade da carne durante o período de armazenamento inclui descoloração, desenvolvimento de sabores e cheiros desagradáveis, perda de nutrientes, alterações de textura, patogenicidade e deterioração (Tørngren *et al.*, 2018).

A embalagem, atua também como uma ferramenta de “*marketing*” e comunicação, um serviço auxiliando na decisão de compra e utilização dos produtos pelo consumidor. Geralmente, na venda a retalho, a carne é apresentada ao consumidor em embalagem plástica composta por bandeja e filme transparente termoselado, permitindo a avaliação do produto pelo consumidor de modo atrativo, higiénico e conveniente (Paulos, 2015).

Na indústria o processo de embalagem de produtos cárneos está a evoluir rapidamente. A opção por determinado tipo de sistema de embalagem depende do tipo de

produto, do tempo de vida útil adequado ao produto, do prazo de validade pretendido e do apelo visual ao consumidor. Atualmente, na venda a retalho a carne bovina é apresentada ao consumidor refrigerada e embalada geralmente num dos três sistemas: (i) involucro de filme permeável ao oxigénio (OWP - *overwrapped packaging*), (ii) embalagem a vácuo e (iii) embalagem com atmosfera modificada (MAP), (Moczkowska *et al.*, 2017; Polkinghorne *et al.*, 2018). A atmosfera protetora, designação que aparece no rótulo, permite a redução do uso de conservantes e o acesso a novos mercados, uma vez que o tempo de vida útil do produto é mais extenso, e as opções de embalagem mais atrativas (Paulos, 2015).

O prazo de validade pode ser definido como sendo o período de tempo em que um produto pode ser armazenado sem se tornar sensorialmente inaceitável ou se tornar um risco para a saúde. A deterioração da carne depende principalmente do número e tipo de microrganismos presentes na mesma, sendo o crescimento bacteriano determinado pelas condições de armazenamento, ou seja, temperatura e tipo de embalagem (Tørngren *et al.*, 2018).

Para um determinado produto, na elaboração de um projeto de um sistema de embalagem com atmosfera modificada é necessário ter em conta os seguintes fatores: parâmetros intrínsecos ao alimento como pH, percentagem de gordura e outros, que determinam a sua sensibilidade a reações de degradação química, enzimática e microbiológica.

Vácuo

O acondicionamento de produtos em embalagens com propriedades de barreira aos gases nas quais se procede à remoção do ar, denomina-se de embalagem a vácuo. O ar é extraído da embalagem a vácuo de forma a prevenir o crescimento de microrganismos que deterioram o produto, a oxidação e a descoloração da carne (Mantilla, *et al.*, 2010).

Nos produtos cárneos embalados a vácuo, normalmente o prazo de validade é de trinta dias, podendo, no entanto, variar dependendo da temperatura de acondicionamento, das propriedades do saco utilizado para a embalagem do produto e do estado da carne antes da embalagem (carga microbiana e pH) (Arantes, 2014).

Este tipo de embalagem oferece condições anaeróbias dentro da embalagem, o que promove um prolongamento de vida útil da carne e cores mais estáveis, no entanto, a ausência de oxigénio promove uma mudança de cor, de vermelho vivo para vermelho escuro, resultante da transformação da mioglobina em desoximioglobina, tornando o

produto pouco atraente ao consumidor (Łopacka, *et al.*, 2016; Moczkowska *et al.*, 2017). Aquela mudança de cor aparece ao fim de cerca de 10 dias após ser embalada (Moczkowska *et al.*, 2017).

Uma das desvantagens da embalagem a vácuo são os exsudados de cor menos apelativa, retidos nas rugas formadas após a remoção do ar (Łopacka *et al.*, 2016).

Embalagem em atmosfera modificada

Embalagens com atmosfera modificada ou protetora, são embalagens seladas, existindo um espaço entre a embalagem e a carne. A carne é colocada numa cuvette e coberta no topo por filme termoselado, sendo a embalagem preenchida com uma mistura de gases adequada ao produto embalado (Paulos, 2015). Este sistema implica a remoção ou substituição da atmosfera envolvente do produto antes de se efetuar a selagem da embalagem. Podem ser efetuadas várias combinações de gases que incluem oxigénio (O₂), azoto (N₂) e dióxido de carbono (CO₂), introduzidos em proporções específicas, de acordo com os requisitos das reações a controlar e características do produto a embalar (Paulos, 2015).

Na embalagem de carne com atmosfera modificada, a concentração de oxigénio está associada ao prazo de validade, atuando sobre parâmetros da qualidade (Moczkowska *et al.*, 2017). Assim, as características do sistema de embalagem, tais como, as propriedades de barreira ao oxigénio, o vapor de água e a luz, e ainda as propriedades mecânicas (resistência à tração e/ou perfuração) são essenciais para garantir a conservação do produto embalado.

No embalamento em atmosfera modificada os produtos são colocados em recipientes e selados com filmes plásticos (baixa, média e alta barreira) que apresentam uma determinada permeabilidade aos gases, sendo a espessura do filme um fator de controlo da permeabilidade. O tipo de filme que forma a embalagem é importante, para minimizar ou controlar as trocas gasosas entre a atmosfera interna e o ambiente externo. Existem filmes com diferentes taxas de permeabilidade ao oxigénio, de modo a controlar a velocidade de trocas gasosas, O₂/CO₂, e assim prolongar a vida útil do alimento embalado. O material utilizado na embalagem deve ter uma propriedade de barreira adequada ao período de vida útil do alimento e à temperatura de armazenamento.

Deste modo, para garantir uma atmosfera constante durante o período de armazenamento, são utilizados os filmes de alta barreira que, maioritariamente, são compostos por laminados, sobrepondo diferentes camadas de polímeros com

determinadas propriedades. Os materiais utilizados podem ser simples, extrudidos ou laminados de copolímeros de etileno-álcool vinílico (EVOH), poliéster e polietileno (PE), nylon e PE, cloreto de polivinilo (PVDC), polipropileno (PP), poliamida (PA) e polietileno de tereftalato (PET). No caso das carnes, os sistemas mais comuns são: laminado e extrudido de polímeros PA/EVOH/PE. (Barbosa, 2014; McMillin, 2017).

Na Tabela 1.5, apresentam-se alguns exemplos de estudos realizados em embalagens de carnes, com diferentes misturas de gases, cujas conclusões levaram a definição de diferentes tempos de vida útil.

Tabela 1.5- Sistemas de embalagens para carnes usados em diferentes estudos

Referências	Tipo de atmosfera	Dias de armazenamento e temperatura
Yang <i>et al.</i> , 2016	Embalagem aeróbia	12 dias a 4 °C
	80% O ₂ -MAP (80% O ₂ + 20% CO ₂);	
	50% O ₂ -MAP (50% O ₂ + 30% de CO ₂ + 20% N ₂).	
Zakrys -Walinwander <i>et al.</i> , 2012	Embalagem anaeróbica:	14 dias a 4 °C
	CO-MAP (0,4% CO + 30% CO ₂ + 69,6% N ₂)	
	Vácuo	
Łopacka <i>et al.</i> , 2016	MAP - 80% de O ₂ / 20% de CO ₂ ;	12 dias a 2 °C
	Vácuo	
Moczkowska <i>et al.</i> , 2017	MAP e VSP-MAP (80% O ₂ e 20% CO ₂)	14 dias a 4 °C
	Vácuo	14 e 28 dias a 4 °C
Polkinghorne <i>et al.</i> , 2018	MAP - 80% de O ₂ e 20% de CO ₂ ;	9 dias a 5 °C
	Vácuo	12/40 dias a 4 °C
Zakrys- Waliwander <i>et al.</i> , 2010	MAP - 40%, 50%, 60%, 70% e 80% O ₂	4, 8, 12 dias 4 ± 1 °C
	com todas as embalagens contendo 20% de CO ₂ e o restante gás de N ₂	
Skandamis & Nychas, 2002	MAP - 40% CO ₂ /30% N ₂ / 30% O ₂ ,	0, 5, 10, 15 °C
	100% CO ₂ , 80% CO ₂ / 20% de ar,	
	embalagem a vácuo e ar) com ou sem óleo essencial de orégano;	
	Vácuo	

1.6. OBJETIVO DO TRABALHO

Para estudar o tempo de vida útil da carne da raça autóctone Minhota, foi estudado o comportamento da peça de bife ao longo do tempo de armazenamento comparando com peças de bife da raça Holstein Frísia. As duas espécies animais em estudo foram alimentadas na mesma exploração de forma semelhante. As amostras de carne foram embaladas a vácuo e em atmosfera modificada, mantendo-se refrigeradas, durante todo o tempo que decorreu o estudo. Este estudo foi direcionado para permitir aferir se o fator raça tem influência na performance da embalagem ao longo do tempo de vida do produto.

CAPÍTULO 2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1. ANIMAIS E MANEIO

A carne proveniente de animais de duas raças de bovinos, Minhota e Holstein Frísia, foi usada para estudar as diferenças na evolução da qualidade ao longo do tempo de armazenamento. As amostras foram conservadas em embalagem com atmosfera modificada e refrigerada e em vácuo também com refrigeração.

Os animais que deram origem às amostras em estudo eram provenientes de uma herdade agropecuária a 17 km de Ponte de Lima. Nesta herdade são criados animais da raça Holstein Frísia e raça Minhota, entre os 4 e 24 meses de idade do género masculino e feminino, consistindo a sua alimentação em feno (20%), silagem de erva e milho (60%), suplementação de ração (10%) e água *ad libitum*. O suplemento da ração (Lex Vitelão 312 - Carolo, Agrolex rações) contém: milho, cevada, s. arroz, sêmea de trigo, alfarroba, baga de girassol e de soja, polpa de citrinos, melaço de cana, gordura sabão cálcico, carbonato de cálcio, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio e pré mistura de vitaminas (Vitamina A, E e D3) e minerais (Manganês, Iodo, Cobalto, Zinco e Selénio).

Na alimentação dos bovinos em fase inicial de crescimento, até aproximadamente 6 a 8 meses, o suplemento facultado é de 1,5 kg/dia por animal, sendo na fase de acabamento entre os 14 a 16 meses de 3 kg/dia de suplemento de ração. Este suplemento é introduzido na mistura de ração produzida no equipamento de preparação e distribuição da alimentação (Figura 2.1).



Figura 2.1- Alimentação dos bovinos

2.2. AMOSTRAS DE CARNE

Os animais selecionados foram abatidos com um ano de idade, com um peso de carcaça após abate de 275 kg para a raça Holstein e 276 kg para a raça Minhota. As amostras de carne em estudo foram recolhidas de animais do sexo feminino, abatidos no mês junho, tendo os animais sido entregues no estabelecimento comercial de venda a retalho 48 horas após entrada no matadouro.

2.2.1. AMOSTRAS E EMBALAGEM

As amostras provenientes das carcaças, foram cortadas em bife da rabada no estabelecimento comercial, 72 horas após o abate, sendo transportadas para o laboratório em recipiente refrigerado. Após a receção das amostras no laboratório, estas foram imediatamente separadas, embaladas e mantidas em refrigeração.

Foram definidas dez amostragens ao longo do tempo de armazenamento, sendo a primeira amostragem definida como tempo zero (t_0), efetuada no dia em que as amostras foram embaladas, dia coincidente com o de receção das amostras no laboratório. As restantes amostragens foram realizadas nos dias quatro (t_4), seis (t_6), oito (t_8), onze (t_{11}), quatorze (t_{14}), dezoito (t_{18}), vinte e um (t_{21}), vinte cinco (t_{25}) e trinta e dois dias (t_{32}) de tempo de armazenamento. As amostras de cada raça foram divididas em dois grupos, tendo sido um grupo embalado a vácuo e outro em atmosfera modificada (MAP). Para cada amostragem foram preparadas duas embalagens a vácuo e duas em *cuvete* para atmosfera modificada com bifés de aproximadamente 250 g, para cada raça de bovino. Um dos bifés foi utilizado para as análises físico-químicas e microbiológicas e o segundo bife para a análise sensorial. No tempo zero (t_0), em que se analisou a carne fresca, apenas foi usado um bife de cada raça. Assim, no total, foram preparados trinta e sete bifés de raça Minhota e trinta e sete bifés de raça Holstein.

Embalagem em atmosfera modificada

As amostras foram introduzidas em *cuvetes* (Figura 2.2). No equipamento de embalagem, a termoseladora YANG TECHNOLOGY SISTEM, foi programada a injeção da mistura de gases para substituição da atmosfera normal. Esta mistura, designada de MAP, foi de 72 % de dióxido de carbono (CO_2), 20% de oxigénio (O_2) e 8

% de azoto (N₂). Após alteração da atmosfera, as embalagens (*cuvetes*) foram seladas com filme de alta barreira de O₂, OPEX 55 AB – com barreira de PA/EVOH/PE - Poliamida/Copolímero de etileno e álcool vinílico/ Polietileno (Anexo i), (Figura 2.3 a).



Figura 2.2 – Amostras nas respectivas *cuvetes*

As *cuvetes*/bandeja de barreira que foram utilizadas são compostas por três folhas: laminado externo em poliestireno expandido (EPS), folha central em HIPS e filme de barreira com camada de PE dentro. Estas *cuvete*/bandeja são modelo B22-80, de cor branca de tipologia aerpack, com comprimento exterior de 250 mm e largura 180 mm, sendo o comprimento útil interior de 175 mm, largura 105 mm e altura 80 mm e tendo um peso 20 g (Anexo ii).

Nas *cuvetes* com amostras embaladas a MAP foram colocados códigos que identificavam a raça, H – Holstein Frísia, M- Minhota, e posição das embalagens no equipamento de tremoselagem, CT- “*cuvete* de trás”, CF- “*cuvete* frente”. Esta distinção prende-se com o facto da termoseladora inserir gás com ligeiras diferenças dependendo da posição da *cuvete* no local mais atrás ou mais à frente do equipamento (Figura 2.3 a).

Embalagem a vácuo

No equipamento SAMMIC S.L. foram embaladas as amostras armazenadas em vácuo, seleccionando o programa de 99% vácuo. Neste caso, as amostras foram colocadas e seladas em sacos PA/PE com espessura de 90 µm, de três soldaduras de PA/PE (Poliamida/Polietileno), COEX (Anexo iii) (Figura 2.3 b).

Todas as amostras embaladas a vácuo e em atmosfera modificada com uma mistura de gases (MAP) foram armazenadas numa câmara de refrigeração (Iberna) à temperatura de 3°C durante o tempo do estudo.



Figura 2.3 – Embalamento de amostras: a – embalamento em atmosfera modificada (MAP); b – embalamento em vácuo.

Planeamento do estudo a desenvolver

A carne embalada a vácuo (controlo) e em MAP com gases foi avaliada ao longo de 32 dias de armazenamento refrigerado (3 °C), monitorizando-se diferentes parâmetros da qualidade, físico-química, microbiológica e sensorial. As amostras retiradas para análise foram codificadas, tendo em conta a raça do animal, a atmosfera e o número de dias de armazenamento, ou seja, com a inicial da raça, H – Holstein Frísia e M – Minhota, seguida do tipo de embalagem, V – vácuo e MAP, e por fim do dia de amostragem. Assim, por exemplo, para uma amostra de carne da raça Minhota armazenada a vácuo com 4 dias de armazenamento, o código gerado foi M-V(t₄).

Os parâmetros analisados para determinar a qualidade da carne foram a cor, pH, perdas por cozimento (*cooking loss*), perdas por gotejamento (*drip loss*), dureza (WBSF), humidade, cinza, proteína, gordura total, ácidos gordos (AGs), peróxidos, TBARs (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), microrganismos a 30 °C e análise sensorial. O plano analítico seguido é apresentado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1- Plano de amostragem definido e parâmetros estudados para o período de armazenamento de 32 dias.

Parâmetros	Dias de armazenamento									
	0	4	6	8	11	14	18	21	25	32
Cor	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Perdas por cozimento	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Perdas por gotejamento	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dureza (teste WBSF)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Humidade	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cinza	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Proteína	X							X	X	X
Gordura	X							X	X	X
AGs	X							X	X	X
Peróxidos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
TBARs	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Microrganismos a 30 °C	X	X	X	X	X					
Análise sensorial	X	X	X	X	X					

2.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A atmosfera de gás no interior das cuvets foi verificada em cada dia do plano de amostragem e imediatamente antes de abrir a embalagem com um analisador de gás PBI Dansensor PermMate, previamente calibrado. Esta determinação foi realizada com a ajuda de uma sonda (agulha) que se introduzia no interior da embalagem através da perfuração do filme, sendo registada a composição em oxigénio, dióxido de carbono e azoto, este último por diferença.

As determinações analíticas aos parâmetros físico-químicos, tais como, humidade, cinza, proteína, gordura total, ácidos gordos (AGs), peróxidos e TBARs, necessitaram de uma preparação prévia das amostras. Assim, antes do início das diferentes determinações, as amostras foram trituradas, sendo utilizada apenas a parte comestível. As amostras foram então homogeneizadas, divididas por parâmetro, seladas a vácuo e armazenadas a -18 °C, com exceção das amostras a usar na determinação do perfil de ácidos gordos, peróxidos e TBARs que foram armazenadas a -80 °C, e as dos parâmetros determinados no dia da amostragem – dureza (teste WBSF), perdas por cozimento (*cooking loss*), perdas por gotejamento (*drip loss*), cor, pH e humidade.

Todas as determinações foram realizadas com amostras em duplicado, exceto o perfil de ácidos gordos, índice de peróxidos, perda por cozimento “*cooking loss*” e perda por gotejamento “*drip loss*”.

Determinação da cor

A análise da cor foi realizada segundo (Yang *et al.*, 2016), com pequenas adaptações. Após a abertura da embalagem, a amostra foi retirada para um prato de superfície branca e deixada em repouso por 15 minutos para recuperação da cor.

A cor da superfície da amostra de bife foi medida de acordo com o sistema de cores CIE L* a* b* usando um colorímetro Lovibond RT100, com uma placa padrão x= 80,7, Y= 84,9, Z= 86,8, S/N: 2911619. A cor traduzida num espaço tridimensional, composto pelos parâmetros: L* que varia de 0, ausência de luminosidade (tendência para cor escura) e 100 em situações de elevada luminosidade (muito claro); a* representa a variação da componente de cor entre o verde (<0) e o vermelho (>0) e o b* cujo eixo varia entre valores correspondentes a azul (<0) e amarelo (>0).

Após calibrar o equipamento com uma placa padrão branca, procedeu-se à determinação da cor, sendo efetuadas em cada amostras dez medições em pontos distintos. Os parâmetros de cor L*, a* e b*, foram registados e calculados o ângulo de tonalidade (h°), segundo a Equação 1 e a intensidade ou saturação da cor (C*) pela Equação 2.

$$h^{\circ} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (\text{Equação 1})$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Equação 2})$$

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada por potenciometria, recorrendo ao equipamento Crison pH 25+, com eléctrodo para alimentos sólidos. Após calibração foi realizada a medição do pH inserindo a sonda na amostra. Foram realizadas cinco determinações no mesmo raio em cada uma das amostras.

Determinação da perda por cozimento – “*cooking loss*”

A perda de água por cozimento (*cooking loss*) foi determinada por pesagem da amostra antes e após o tratamento térmico, seguido de arrefecimento até temperatura ambiente, segundo a metodologia usado por Łopacka *et al.* (2016).

A determinação consistiu em cortar a amostra de carne em quadrados de 6 cm de lado, pesar os quadrados resultantes ($m_{(\text{carne crua})}$) e introduzi-los em sacos identificados com o código da amostra. As amostras nos sacos foram sujeitas a 80% de vácuo, e introduzidas num banho termostaticado (Nahita) a 71 ± 2 °C para cozedura. A temperatura foi controlada através de termopares (Testo 922) que foram inseridos no centro de cada amostra. Quando as amostras atingiram a temperatura pretendida (71 ± 2 °C), os sacos foram retirados do banho e procedeu-se à abertura dos mesmos, cortando-se a parte superior e inferior de cada saco. As amostras, ainda dentro dos sacos, foram colocadas sobre um tabuleiro com rede para escorrer e arrefecer. Após arrefecimento, as amostras foram retiradas dos sacos, a água em excesso removida com papel absorvente, e efetuada a pesagem da amostra cozida ($m_{(\text{carne cozida})}$).

A percentagem de perdas por cozimento (% m/m) foi calculada segundo a equação 3, sendo a unidade das massas o grama (g).

$$\% \text{ Perdas por cozimento (Cooking loss)} = \frac{m_{(\text{carne crua})} - m_{(\text{carne cozida})}}{m_{(\text{carne crua})}} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Determinação da perda por gotejamento – “*drip loss*”

A perda por gotejamento (*drip loss*) foi estimada de acordo com a metodologia reportada por Łopacka *et al.* (2016), ou seja, por diferença entre a toma de massa da amostra de carne retirada da embalagem no dia de amostragem e após 48 h.

Nesta determinação, as amostras de carne foram cortadas com dimensões de aproximadamente de $2 \times 4 \times 0,6$ cm. Os paralelepípedos foram pesados ($m_{(0)}$), colocados num tabuleiro com rede e tampa, e refrigerados a 4 °C durante 48 h. Após este período de 48h, foi efetuada a pesagem das amostras ($m_{(48h)}$), depois de terem sido retiradas as gotas visíveis de exsudados com papel absorvente.

A perda por gotejamento foi determinada usando a equação 4, sendo os resultados expressos em % (m/m), sendo a unidade das massas o grama (g).

$$\% \text{ Perdas por gotejamento (drip loss)} = \frac{m_{(0)} - m_{(48h)}}{m_{(0)}} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Análise da textura (teste de Warner Bratzler)

A avaliação da textura, dureza da carne, foi realizada segundo Łopacka *et al.* (2016), utilizando-se um texturômetro Stable Micro Systems, TA.XT.plus, equipado com uma sonda Warner Bratzler (de corte em forma de V) e uma célula de carga de 5 N. O teste foi realizado com as seguintes condições: velocidade de teste de 2,0 mm/s, trigger force 0,2 N, e distância 40,00 mm (Figura 2.4). Este teste avalia instrumentalmente a força de corte de Warner-Bratzler (WBSF).



Figura 2.4- Medição da textura através do teste Warner Bratzler

As amostras usadas nesta análise foram as utilizadas para determinar as perdas por cozimento - *cooking loss*, apenas houve necessidade de aparar os quadrados das amostras após pesagem e cortá-los paralelamente à direção da fibra muscular, com 10 mm de largura, 25 mm de comprimento e 10 mm de altura. Após esta preparação, a amostra foi colocada no texturômetro com uma orientação que permitisse à sonda Warner Bratzler, também denominada de lâmina Warner-Bratzler cortar o provete pelo centro e

perpendicularmente à direção das fibras. Determina-se assim a força máxima necessária para efetuar o corte das fibras. Esta força é considerada proporcional à dureza e os resultados expressos em N/cm².

$$\text{Dureza (N/cm}^2\text{)} = \frac{\text{força (N)}}{\text{área (cm}^2\text{)}} \quad (\text{Equação 5})$$

Em que a área foi calculada, pela equação:

$$\text{Área (cm}^2\text{)} = \frac{\text{altura (mm)} \times \text{largura (mm)}}{100} \quad (\text{Equação 6})$$

Determinação de humidade e cinza

A determinação da humidade e cinza total realizou-se segundo os métodos descritos na NP 1614 (1979) e NP 1615 (1979), respetivamente. Estes parâmetros foram efetuados sequencialmente, ou seja, determinou-se primeiro a humidade e com o resíduo seco resultante foi determinado o teor de cinza total.

Assim, foram condicionados cadinhos na mufla (Heraeus INSTRUMENTS M110), a 550 °C por 1 h, arrefecidos em exsiccador à temperatura ambiente e pesados numa balança analítica (METTLER AE 200) ($m_{\text{(cadinho)}}$). Para cada cadinho pesou-se 4 a 5 g de amostra com uma precisão de 0,0001 g ($m_{\text{(amostra)}}$), sendo os mesmos colocados numa estufa (Heraeus UT6) e efetuada uma rampa de temperatura até os 103±2 °C, com início em de 50 °C. Quando a temperatura final foi atingida foram efetuados ciclos de secagem e arrefecimento em exsiccador, seguidos de pesagem, até peso constante, ou seja, até a diferença entre duas pesagens consecutivas separadas por 1 hora de aquecimento, não exceder 0,1% da massa da amostra inicialmente pesada.

Para a determinação da cinza, os cadinhos com o resíduo seco das amostras foram colocados na mufla e efetuada uma rampa de temperatura, iniciada a 250 °C e com incrementos de temperatura de 100 °C até à temperatura final de 550±25 °C. Os cadinhos permaneceram em aquecimento por 4 h na temperatura máxima. O processo de combustão ou oxidação da amostra ficou completo quando a cinza apresentou cor branca acinzentada e massa constante. Os cadinhos com a cinza foram colocados a arrefecer no exsiccador até temperatura ambiente e pesados ($m_{\text{(cadinho+cinza)}}$ após combustão, 550 °C). A unidade

dos valores das pesagens apresentados nas equações de cálculo da humidade e da cinza foi o grama (g).

A humidade foi determinada pela equação:

$$\% \text{ Humidade} = \frac{m_{(\text{cadinho+amostra})} - m_{(\text{cadinho+amostra})\text{após secagem, }103\text{ }^{\circ}\text{C}}}{m_{(\text{amostra})}} \times 100 \quad (\text{Equação 7})$$

A cinza foi determinada utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinza} = \frac{m_{(\text{cadinho+cinza})\text{após combustão, }550\text{ }^{\circ}\text{C}} - m_{(\text{cadinho})}}{m_{(\text{amostra})}} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

Determinação da proteína

A proteína foi quantificada através do método descrito na Norma Portuguesa NP 1612 (1979), por determinação do azoto total presente nas amostras. Todos os reagentes usados foram fornecidos pela Fisher Chemical e pertenciam a gama para análise (p.a.).

Para esta determinação pesou-se 0,6 a 0,7 g de amostra com uma precisão de 0,0001 g e transferiu-se para um tubo de Kjeldahl, com a ajuda de 10,00 mL de água destilada (H₂O). A cada tubo adicionou-se 2 pastilhas “Kjeltabs”, 12,5 mL de H₂SO₄ e 3,00 mL de peróxido de hidrogénio. Os tubos foram colocados num digestor (Tecator 2006 Digestor), ligado a um sistema de vácuo, à temperatura de 420°C até digestão completa, ou seja, até as amostras se apresentarem incolores, ou quase incolores. Após arrefecimento à temperatura ambiente, foi adicionado a cada tubo 75 mL de H₂O.

O tubo com a amostra digerida foi adaptado a um sistema de destilação por arraste (Tecator KJELTEC SYSTEM 1002 Distilling Unit), sendo adicionados 50 mL da NaHO 40% e iniciada a destilação. A recolha de 300 mL de destilado foi efetuada num erlenmeyer com 25 mL de solução de ácido bórico (4%) com indicador combinado (vermelho de metilo e azul de metileno) incorporado, estando o tubo de saída do destilado inserido na solução.

O destilado foi titulado com ácido clorídrico (HCl: 37 %; $\mu = 1,18$ g/mL). Foram efetuados brancos, seguindo todo o procedimento, mas com ausência de amostra. A determinação de proteínas foi efetuada em duplicado para todas as amostras.

O teor de proteínas, expresso em g de proteínas por 100 g de amostra de carne (% m/m) foi calculado utilizando a equação 9 e a 10, sendo a $MA_{(N)}$ – a massa atómica do

azoto (14,0067 g/mol); a $N_{(HCl)}$ – a normalidade do HCl ($N_{(HCl)} = 0,0993$ N); e $FC_{(azoto\ em\ proteínas)}$ – o factor de conversão - de azoto em proteínas (6,25 para a carne e produtos cárneos).

$$\% \text{ Azoto} = \frac{(V_{(HCl, amostra; mL)} - V_{(HCl, branco; mL)}) \times N_{(HCl)} \times MA_{(N)}}{m_{(amostra; mg)}} \times 100 \quad (\text{Equação 9})$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Azoto} \times FC_{(azoto\ em\ proteina)} \quad (\text{Equação 10})$$

A normalidade exata do HCl (N_{HCl}) foi obtida por padronização com carbonato de sódio. Assim, titularam-se 25,00 mL de solução de carbonato de sódio 0,05 N (0,2500 g $Na_2CO_3/100mL$) com HCl aproximadamente 0,1 N, usando como indicador o alaranjado de metilo. No ponto final da titulação a cor da solução passou de amarelo a laranja/vermelho. Foi efetuado um ensaio branco por substituição da solução de carbonato de sódio por água desionizada. A expressão para calcular a normalidade de HCl é a que se apresenta seguidamente:

$$N_{(HCl)} = \frac{N_{(Na_2CO_3)} \times V_{(Na_2CO_3; mL)} \text{ usado na titulação}}{(V_{(HCl, titulação da amostra; mL)} - V_{(HCl, titulação do branco; mL)})} \times 100 \quad (\text{Equação 11})$$

Sendo a normalidade do carbonato de sódio:

$$N_{(Na_2CO_3)} = \frac{2 \times m_{(Na_2CO_3)} \text{ massa pesada para preparar a solução; g}}{MM_{(Na_2CO_3)} \times V_{(Na_2CO_3)} \text{ volume da solução preparada; L}} \quad (\text{Equação 12})$$

Em que:

$N_{(Na_2CO_3)}$ – normalidade do carbonato de sódio;

$N_{(HCl)}$ – normalidade do HCl.

$MM_{(Na_2CO_3)}$ - massa molecular do carbonato de sódio (105,9886 g/mol).

Determinação da gordura

A determinação da matéria gorda total realizou-se segundo o método de referência descrito na NP 1613 (1979) que consiste no tratamento da amostra com ácido clorídrico em ebulição para libertar as frações lipídicas, seguido de filtração, secagem do filtro e extração com éter de petróleo da matéria gorda retida no filtro num sistema de Soxhlet.

A determinação iniciou-se com a pesagem de 5 a 6 g de amostra com uma precisão de 0,0001 g ($m_{(amostra)}$), para um erlenmayer de 250 mL. Adicionou-se 50 mL de HCl 4 N (HCl: 37%; $\mu= 1,18$; p.a.- Fisher Chemical) e colocou-se numa manta de aquecimento com agitação (BIOBRAUN hot plate magnetic stirrer 34532). Após ser atingida a ebulição, esta foi mantida durante 1 hora com agitação suave, tendo o erlenmayer sido coberto com um vidro de relógio para evitar evaporação excessiva. No final deste período de aquecimento, adicionou-se 150 mL H₂O destilada quente. Procedeu-se à filtração com vácuo reduzido, lavando-se o filtro e o funil de Büchner com H₂O destilada quente até pH neutro. O filtro com o resíduo contendo a matéria gorda foi colocado numa estufa (Heraeus UT6) durante 1 hora a 103 ± 2 °C, arrefecido à temperatura ambiente em exsiccador e introduzido num cartucho de extração, sendo este colocado no aparelho de extração Soxhlet. No balão de extração de 250 mL, previamente condicionado a 103 ± 2 °C por 1 hora, arrefecido em exsiccador e pesado com uma precisão de 0,0001 g ($m_{(balão)}$), foi colocado o volume de 210-220 mL de éter de petróleo 40-60% (p.a. - Fisher Chemical). O balão foi adaptado ao sistema de extração, iniciando-se a extração da gordura por 6 horas. Após à extração, procedeu-se à evaporação do solvente em evaporador rotativo (BÜCHI Rotavapor R-114), seguida da secagem dos balões com gordura na estufa a 103 ± 2 °C por 1 hora, arrefecimento em exsiccador e pesagem dos mesmos. A matéria gorda total foi determinada aplicando a fórmula:

$$\% \text{ Matéria gorda} = \frac{m_{(balão+gordura)} \text{ após secagem, } 103 \text{ } ^\circ\text{C} - m_{(balão)}}{m_{(amostra)}} \times 100 \quad (\text{Equação 13})$$

Determinação do índice de ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs)

A oxidação da gordura intramuscular foi avaliada pelas substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs) usando o método de Vyncke (1975), tendo sido a determinação efetuada em triplicado.

Pesou-se 2,5 g de amostra, com uma precisão de 0,0001 g, para goblés de 50 mL e adicionou-se 10 mL de ácido tricloroacético a 5% (TCA; 99,5%; p.a. - Merck). As amostras foram homogeneizadas no Turrax (Ultra-Turrax IKA, Modelo T18 digital) por 2 minutos, transferidas para tubos Costar de 15 mL e colocadas em repouso a -18 °C por 10 minutos. Após este período, foram centrifugadas a 3500 rpm durante 10 minutos, sendo o sobrenadante filtrado por gravidade em funil de pregas. Em tubos de ensaio (18x180 mm) colocou-se 5 mL do extrato (sobrenadante filtrado) e 5 mL de ácido

tiobarbiturico 0,02 M (TBA; 98%; p.a.- Aldrich), sendo o conteúdo dos tubos homogeneizado suavemente em vortex. Os tubos foram colocados num banho-maria a 97 °C durante 40 minutos, de seguida arrefecidos num banho de água fria e agitados fortemente em vortex. Após repouso de 15 minutos para a temperatura ambiente ser atingida, foi efetuada uma medição de absorvância a 530 nm num espectrofotómetro UV-vis (Hitachi U-1100 Spectrophotometer). O branco e os padrões necessários para a curva de calibração seguiram o mesmo procedimento. De acrescentar, que o branco, a preparação dos padrões e as diluições das amostras foram efetuadas com a solução de TCA 5%.

Representou-se graficamente a absorvância obtida para os padrões em função da sua concentração para se obter a equação de reta da calibração. Da equação da reta foram obtidos os valores de concentração de 1,1,3,3,-tetraetoxipropano (TMP: $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$) em micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$ ou μM).

A concentração de malonaldeído na amostra, expressa em mg/kg de amostra, foi determinada pela equação 14, sendo a $MM_{(\text{MDA})}$ – a massa molecular do malonaldeído (72,0636 g/mol).

$$\text{mg MDA/kg amostra} = \frac{\mu\text{M}_{(\text{TMP})} \times 10^{-2} \times MM_{(\text{MDA})}}{m_{(\text{amostra})} \times \frac{1000}{10}} \times 1000 \quad (\text{Equação 14})$$

Determinação do índice de peróxidos (H_2O_2)

A determinação do índice de peróxidos foi realizada segundo o método descrito na ISO 3960 (2017).

Para esta análise as amostras utilizadas foram liofilizadas, e os balões de 250 mL de fundo plano previamente condicionados a 103 ± 2 °C por 1 hora, e pesados com uma precisão de 0,0001 g ($m_{(\text{balão})}$). Pesou-se 10 a 12 g de amostra liofilizada, com uma precisão de 0,0001 g, para cartuchos de extração que foram colocados no aparelho de extração Soxhlet. Nos balões de 250 mL, previamente condicionados colocou-se 210-220 mL de éter de petróleo, sendo de seguida adaptados ao sistema de extração, iniciando-se a extração da gordura por 6 horas. Após a extração, evaporou-se o solvente no evaporador rotativo, sendo os balões colocados na estufa à temperatura de 40 °C por 8 horas, arrefecidos em exsiccador e pesados ($m_{(\text{balão}+\text{gordura})}$). Os balões com a gordura extraída foram guardados no escuro a temperatura baixa.

Para a determinação de peróxidos por titulação, pesou-se 2,5 g de gordura para um erlenmeyer com precisão à decima da mg e adicionou-se 25,0 mL de uma mistura de ácido acético glacial (AA; 99,8%; p.a. - Fluka) e iso-octano (> 99 %; gradiente de espectrofotometria - Aldrich) na proporção de 60:40. Foi também adicionada a massa de 0,030 g de iodeto de potássio (KI; 99,5%; p.a.- Panreac) e 50 mL de H₂O destilada. A mistura foi agitada por 60 segundos, sendo de seguida adicionado o volume de 0,5 mL do indicador de amido e efetuada a titulação com tiosulfato de sódio padronizado (0,0070 M) (Na₂S₂O₃.H₂O; 99,5 -100,5 %; p.a. - Merck).

A padronização de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) aproximadamente 0,007 mol/L, foi efetuada com uma solução padrão de iodato de potássio (KIO₃; 99,7%; p.a. - Riedel), usando como indicador o amido. Num erlenmeyer colocou-se 5,00 mL da solução padrão de KIO₃, 20 mL de H₂O destilada, 5 mL de HCl 4,0 M, uma massa de 0,0250- 0,0500 g de KI, e por fim 0,5 mL de indicador de amido. Efetuou-se a titulação do conteúdo do erlenmeyer com a solução de Na₂S₂O₃ a padronizar, sendo adicionado volume da bureta até ausência de cor (incolor). Foram realizados ensaios em branco seguindo o mesmo procedimento.

Na preparação da solução padrão de KIO₃ 0,1 M pesaram-se 0,0305 g de KIO₃ (m_(KIO₃)), que foram transferidas para um balão volumétrico de 100,0 mL, sendo adicionada H₂O destilada até perfazer o volume do balão. A concentração molar de Na₂S₂O₃ foi determinada pela seguinte fórmula

$$M_{(Na_2S_2O_5)} = \frac{m_{(KIO_3)} \times w_{(KIO_3)} \times 6 \times 1000 \times V_{(KIO_3)titulação}}{MM_{(KIO_3)} \times V_{(KIO_3)solução,mL} \times V_{(Na_2S_2O_5)titulação} \times 100} \quad (\text{Equação 15})$$

Sendo a concentração molar de KIO₃ determinada pela equação 16

$$M_{(KIO_3)} = \frac{m_{(KIO_3)} \times w_{(KIO_3)} \times 1000}{MM_{(KIO_3)} \times V_{(KIO_3)solução,mL} \times 100} \quad (\text{Equação 16})$$

Em que:

m_(KIO₃) – massa de iodato de potássio pesada para a preparação da solução;

w_(KIO₃) – pureza do KIO₃, em g/100g;

MM_(KIO₃) – massa molecular do iodato de potássio (214,001 g/mol).

O teor de peróxidos, normalmente denominado na indústria como índice de peróxidos (IP), em miliequivalentes de oxigénio ativo por quilograma de amostra (meq O₂/kg (amostra)) foi determinado pela seguinte equação:

$$IP = \frac{(V_{(Na_2S_2O_5) amostra,L} - V_{(Na_2S_2O_5) branco,L}) \times \text{titulação} \times M_{(Na_2S_2O_5)}}{m_{(amostra),g}} \quad (\text{Equação 15})$$

Determinação do perfil de ácidos gordos

A extração da gordura e esterificação realizou-se segundo o método oficial AOAC 969.33/41.1.28. As amostras armazenadas a -80 °C foram liofilizadas por 48 h (Liofilizador, Christ alpha 1-2 LD plus) e trituradas num moinho (Taurus).

Para a extração, pesou-se 3 g de amostra com a precisão de 0,0001 g para um balão de 150 ml e adicionou-se solvente numa proporção de 1:20 (amostra:solvente), sendo usado como solvente a mistura clorofórmio + metanol (2+1). Os balões foram incubados a 25 °C por aproximadamente 18 h. Foi efetuada a filtração do conteúdo de cada balão por funil de Büchner, usando um filtro de fibra de vidro (Glass microfibre filters GF/C, 47 mm ϕ circles, Whatman®). O filtrado e o solvente usado na “lavagem” do balão e kitasato, foram colocados num funil de separação de 150 mL. Adicionou-se ao funil de separação solução saturada de NaCl (pureza > 99,5%; p.a. - Merck) numa proporção de 5:1 (filtrado: solução saturada), agitou-se a mistura e deixou-se em repouso por 6 h. Após este período, a camada inferior foi drenada para um balão de fundo plano de 250 mL, previamente condicionado (seco a 100±3 °C e pesado), e evaporada num evaporador rotativo. Posteriormente, os balões foram colocados na estufa a 40 °C durante cerca de 8h, arrefecidos em exsiccador e pesados.

Para a esterificação dos ácidos gordos, pesou-se 0,1500-0,2500 g da gordura extraída, adicionou-se 2,00 mL de solução de ácido nonadecanoico em metanol- como padrão interno (1,0615g C19:0/200mL metanol; C19:0 99,5%; padrão analítico – Fluka; Metanol: 99,99%; gradiente HPLC - Fisher Chemical), e 4,00 mL solução de NaHO 0,5 N em metanol (NaHO: 98,3%; p.a. - Fisher Chemical; Metanol: 99,99%; gradiente HPLC - Fisher Chemical). A mistura foi refluxada durante 15 minutos a 80 °C. Após arrefecimento ligeiro, foi adicionado o volume de 5,00mL de solução de trifluoreto de boro (BF₃) em metanol a 14 % (p.a. Aldrich), sendo a mistura refluxada por mais 15 minutos. No fim deste período foram adicionados 5,00 mL de heptano (99%, gradiente

HPLC - Fisher Chemical) e a mistura refluxada por 1 minuto. Após ligeiro arrefecimento, adicionou-se 20,00 mL de uma solução saturada de NaCl e transferiu-se a mistura para um funil de separação de 100 mL. A mistura foi agitada durante 15 segundos e deixada em repouso para a separação das duas fases. A fase aquosa foi rejeitada, sendo recolhida com uma pipeta de Pasteur uma amostra (1-2 mL) da fase orgânica, ou seja, de n-heptano com os ésteres metílicos dos ácidos gordos, e guardada num local escuro e com temperatura baixa.

Os ésteres metílicos dos ácidos gordos foram analisados por cromatografia em fase gasosa (GC - gas chromatography) usando um equipamento de GC-MS, (gas chromatography–mass spectrometry; equipamento: THERMO SCIENTIFIC, ITQ 900, Trace 1310, TriPlus RSH) equipado com um detetor de ionização de chama (FID). A separação foi realizada numa coluna capilar de sílica (Supelco SP- 2560, 100 m × 0,25 mm, 0,2 µm), usando o hélio como gás de arraste, em condições de injetor split (1:20). As temperaturas do injetor e detetor foram de 240 °C e 250 °C, respetivamente. A temperatura do forno do GC, para analisar os ácidos gordos totais, foi programada de acordo com o perfil de temperatura representado na figura 2.5. Resumidamente o programa (PRG-GC-1) pode ser descrito da seguinte forma: início do programa com a temperatura de 70 °C durante 4 minutos; período de aumento de temperatura de 8 °C/min até se atingir os 110 °C; novo período de aumento de temperatura de 5 °C/min até os 170 °C; manutenção da temperatura constante por 10 minutos nos 170 °C; novo aumento de temperatura de 3 °C/min até à temperatura de 230 °C; e patamar de temperatura constante por 15 minutos a 230 °C.

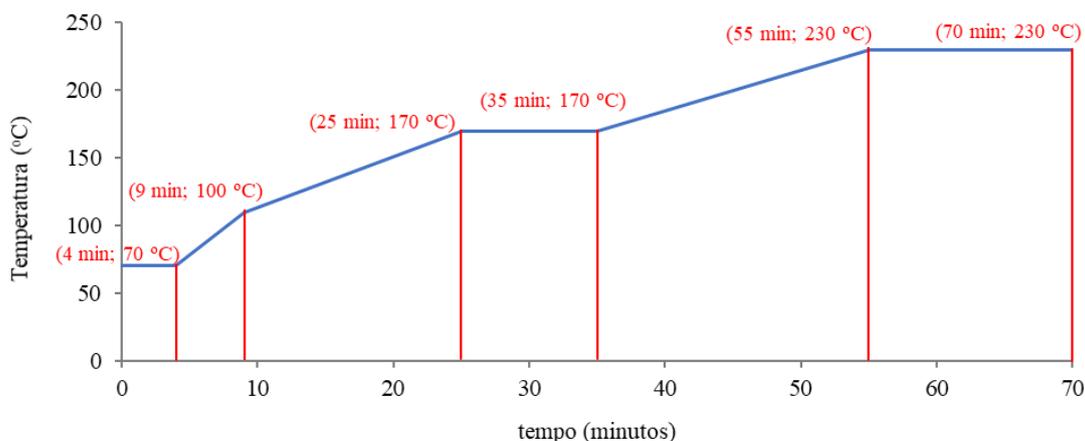


Figura 2.5- Perfil de temperatura do forno do GC para determinação de ácidos gordos

A identificação de cada ácido gordo foi efetuada com base no tempo de retenção, que foi definido de acordo com os tempos de retenção obtidos para cada ácido gordo numa mistura padrão (Supelco®37 - Fatty acid mix, Supelco 37 Component Fame Mix - Sigma-Aldrich), tendo sido a mistura também utilizada para a determinação dos coeficientes de resposta, necessários para quantificar os ácidos gordos. Os resultados foram expressos em percentagem de ácido gordo na gordura extraída e na amostra de carne.

2.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Contagem de microrganismos a 30 °C

O controlo microbiológico das amostras, neste estudo pretende ser apenas um indicador de segurança. Para tal, foi apenas determinada a contagem de microrganismos totais a 30 °C segundo o método descrito na ISO 6887-2 (2017) e a ISO 4833-1 (2013). Os limites de número de colónias aeróbias considerados satisfatório e aceitável foram definidos de acordo com o indicado na tabela de critérios de higiene dos processos do Regulamento (CE) 2073 (2005). Nesta análise, utilizou-se o método de contagem de colónias em meio de cultura sólido PCA (Plate Count Agar).

Nos dias de amostragem, para garantir a esterilidade do processo, foi desinfetada a superfície de trabalho com álcool etílico a 70%, estando sempre ligado o bico de Busen. A quantidade de amostra usada nesta análise foi de 10 g, sendo pesada num saco com filtro previamente tarado. Adicionou-se ao saco contendo a amostra solução 1/4 Ringer (Lab M), na proporção de 1:1 (amostra: solução 1/4 Ringer) e colocou-se no stomacker (Mayo international homogenius) para homogeneizar durante um minuto, sendo no fim fechado o saco com uma mola.

Com uma pipeta estéril mediu-se 1,0 mL da suspensão-mãe para um tubo com 9 mL de solução de Ringer e agitou-se no vórtex (VELP SCIENTIFICA Zx³), para realizar a 2ª diluição. Desta diluição transferiu-se 1,0 mL para outro tubo com solução de Ringer e agitou-se no vórtex, procedeu-se de igual modo para as outras diluições (até à diluição 10⁻⁵). Adicionou-se cuidadosamente 12 mL de PCA (Oxoid; CM325) a 47 °C a cada placa de *Petri*. Misturou-se cuidadosamente 1,0 mL de inóculo com o meio girando as placas de *Petri*. Deixou-se a mistura solidificar, numa superfície horizontal fria. Após solidificar inverteram-se as placas de *Petri*, que foram colocadas numa incubadora (Sanyo, Modelo MIR-262) durante 72±3 h a 30±1 °C (Norma ISO 4833-1). Após o período de incubação

realizou-se a contagem direta das colónias nas placas. Paralelamente, foi efetuado um controlo de esterilidade dos meios, colocando numa placa de *Petri* estéril 12 mL de meio PCA e noutra 12 mL de solução 1/4 Ringer.

Para todas as diluições inocularam-se duas placas com amostra, tendo sido também preparadas duas placas de controlo de esterilidade sem qualquer diluição dos meios PCA e 1/4 Ringer. Este controlo foi realizado em todos os dias de amostragem para os ensaios da amostra embalada em vácuo e em atmosfera modificada.

O resultado da contagem de microrganismos totais foi determinado pela equação 18, sendo os resultados expressos em unidades formadoras de colónias por grama de amostra (ufc/g).

$$\text{UFC/g amostra}_{(a\ 30^{\circ}\text{C})} = \frac{E_c}{v \times (n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1)d} \quad (\text{Equação 18})$$

Em que:

E_c – soma das colónias contadas nas placas consideradas;

v – volume inoculado;

n_1 – número de placas consideradas na primeira diluição;

n_2 – número de placas consideradas na segunda diluição;

d – fator de diluição da primeira diluição considerada.

2.5. ANÁLISE SENSORIAL

Ao longo do tempo de armazenamento foi realizado o controlo sensorial das amostras. Este foi adotado no intuito de tentar perceber se o consumidor poderia eventualmente identificar alterações nas características da carne ao longo do tempo, quando esta era conservada nestes sistemas de embalagem, assim como se conseguia distinguir entre carnes proveniente de animais de duas raças distintas em termos de apreciação sensorial. Esta análise foi efetuada por um painel de provadores muito familiarizado com o produto, constituído pelos responsáveis do controlo da qualidade dos produtos da exploração que forneceu as amostras de carne.

A análise sensorial realizou-se em cada dia de amostragem, segundo a tabela 2.1. O painel de provadores composto por quatro elementos treinados, realizou a análise descritiva quantitativa (ADQ). Os atributos previamente definidos pelo painel, cheiro,

dureza, suculência e mastigabilidade, foram avaliados numa escala de intensidades de 1 a 5 valores, equipada com as âncoras verbais definidas para cada atributo (Anexo i).

Em cada sessão de prova, o painel foi também questionado acerca da percepção dos defeitos relacionados com a aparência global e *off-flavours*.

As amostras de carne foram preparadas de forma a serem provadas como habitualmente se consomem. Os bifes foram grelhados (Grelhador plancha 482FL – FLAMA), por um período de tempo previamente testado, para garantir a semelhança das amostras ao longo do tempo de estudo, em termos de aspeto e grau de cozedura. Após o cozimento, os bifes foram “descansados”, de seguida cortados de igual modo e apresentados aos provadores do painel.

Em cada amostragem as quatro embalagens foram avaliadas pelo painel de provadores. Assim, após a atribuição de um código a cada amostra, estas foram ordenadas para avaliação numa ordem diferente para cada provador. Os códigos atribuídos às respetivas amostras de bife foram: M-MAP- Minhota atmosfera modificada; M-V – Minhota Vácuo; H-MAP- Holstein atmosfera modificada; H-V- Holstein vácuo.

2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste estudo os resultados foram analisados com o apoio do software Microsoft Excel 2013, para calcular média, desvio padrão, mínimo e máximo, análise de variância e *t-student* tendo em consideração o intervalo de confiança de 95%, sendo consideradas diferenças significativas $p < 0,05$. O software STATISTICA 7 foi usado na análise de componentes principais (PCA) para investigar existência de estruturas que permitam diferenciar ou não os diferentes sistemas de conservação considerados bem como o comportamento das raças ao longo do tempo de estudo.

CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo apresentam-se os resultados obtidos no estudo desenvolvido para comparar a qualidade da carne das raças autóctones, Minhota (M) e Holstein Frísia (H) armazenada em dois tipos de embalagem ao longo de um período de trinta e dois dias. Apesar dos estudos da literatura (tabela 1.1) em atmosfera modificada apresentarem tempos de prateleira inferiores a este período, decidiu-se prolongar para trinta e dois dias porque a embalagem a vácuo que serviu de controlo tem cerca de trinta dias de tempo de prateleira (tabela 1.1). Neste estudo foi efetuada a comparação das duas espécies de bovino da mesma exploração, alimentadas de forma semelhante com uma dieta enriquecida, analisando amostras de bife da rabadada, embaladas a vácuo (V) e com atmosfera modificada (MAP) e mantidas refrigeradas durante o tempo de armazenamento. Com este propósito, foram monitorizados parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais para avaliar a qualidade da carne.

3.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A monitorização das características da carne, foi efetuada pela avaliação dos parâmetros: cor, pH, perda de massa por cozimento - “*cooking loss*”, perda de massa por gotejamento - “*drip loss*”, dureza (teste *Warner Bratzler Shear Force*), humidade, cinzas, proteínas, gordura, ácidos gordos, índice de ácido 2- tiobarbitúrico (TBARs), peróxidos, microrganismos a 30 °C e análise sensorial. A composição da atmosfera no interior das embalagens, foi também avaliada, para se verificar o comportamento da embalagem (filmes barreira), e as possíveis alterações devido à evolução das características da carne nela contida.

3.1.1. EVOLUÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA ATMOSFERA AO LONGO DO TEMPO

A mistura de gases escolhida para embalar a carne tinha a composição de 20% O₂, 72% CO₂, 8 % N₂. A percentagem de N₂ na mistura gasosa não apresentou grande variação, exceto para a raça Holstein no t₁₁ e para a minhota no período final de armazenamento, os seja, t₂₅ e t₃₂ (Tabela 3.1). Se forem retirados os valores obtidos nestes tempos, a variação de N₂ ao longo do tempo para a Holstein foi de 10,2 a 12,5% e para a Minhota de 9,7 a 13,1%.

Tabela 3.1- Resultados da medição da composição da atmosfera nas embalagens longo do tempo em ambas as raças estudadas.

Dia	Raça	O₂ (%)	CO₂ (%)	N₂ (%)
4	Holstein	23,6	65,8	10,2
	Minhota	23,4	66,1	10,4
6	Holstein	23,1	66,1	10,9
	Minhota	22,6	64,5	13,1
8	Holstein	22,9	66,3	10,7
	Minhota	23,5	64,8	11,8
11	Holstein	20,6	63,7	15,3
	Minhota	20,7	67,3	12,0
14	Holstein	14,7	73,3	12,1
	Minhota	15,4	75,0	9,65
18	Holstein	15,6	72,1	12,5
	Minhota	15,2	74,3	10,6
21	Holstein	10,0	78,7	11,4
	Minhota	7,55	82,7	9,80
25	Holstein	0,267	88,2	11,6
	Minhota	8,87	75,2	16,0
32	Holstein	1,47	87,0	11,6
	Minhota	7,08	76,1	16,8

Os valores apresentados na tabela são a média dos valores obtidos na *cuvete* trás e na *cuvete* frente (Tabela A.1). Valores apresentados com 3 algarismos significativos.

Os valores da composição da atmosfera nas embalagens das duas raças bovinas ao longo do tempo mostraram uma tendência para aumento de CO₂ e diminuição de O₂, sendo o padrão semelhante nas duas espécies (Tabela 3.1 e Figura 3.1). Por outro lado, a soma destes dois gases ao longo do tempo tem um padrão semelhante para as duas raças e não sofreu grandes alterações, ou seja, os valores variaram de 83,3 a 89,4% para a Holstein e de 83,2 a 90,4% para a Minhota. Estes intervalos de valores tornam-se ainda menores se forem retirados os valores dos tempos de embalagem considerados como exceção na determinação do N₂, ou seja, os intervalos de valores passaram a ser, 87,6 a 89,4% para a Holstein e de 87,0 a 90,4% para a Minhota.

A variação apresentada ao longo do tempo por estes dois compostos, parece indicar a existências de reações na carne com consumo de O₂ e produção de CO₂ na mesma ordem de grandeza. O consumo de oxigénio pode ter resultado da necessidade deste composto para a realização de reações químicas e/ou bioquímicas – reações aeróbias, como por exemplo, algumas reações essenciais para o metabolismo de microrganismos, sendo um exemplo a respiração, com produção de CO₂.

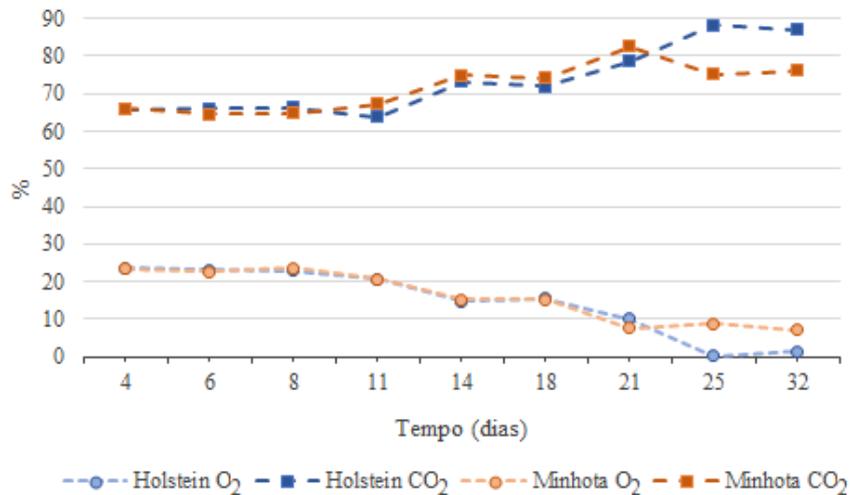


Figura 3.1- Evolução da composição da atmosfera nas *cuvetes* ao longo do tempo.

3.1.2. COR

Os valores obtidos na determinação de cor através do sistema CIE LAB ($L^*a^*b^*$) das amostras de carne são apresentados na Tabela A.2 e representados na Figura 3.2. Os valores obtidos para L^* e a^* são da ordem de grandeza dos que constam em estudos desenvolvidos por Yang *et al.* (2016) e Zhang *et al.* (2018), sendo, no entanto, os valores de b^* inferiores aos determinados por estes autores. Verificou-se que os valores de L^* aumentaram ao longo do tempo de armazenamento para todas as situações em estudo, ou seja, a luminosidade das amostras de carne aumentou no decorrer do tempo de armazenamento, com as amostras da raça Holstein e Minhota a apresentarem diferenças significativas ($p < 0,05$) quando embaladas a vácuo. Resultados semelhantes mostrando um ligeiro aumento de L^* durante o armazenamento em atmosfera modificada foram mostrados por Murphy, O'Grady & Kerry (2013). O aumento da luminosidade observada nas amostras com o decorrer do tempo de armazenamento, pode ter sido causado por mudanças na estrutura da carne como alterações conformacionais de proteínas, que podem ter resultado numa maior dispersão de luz e, assim, maiores valores de L^* (Łopacka *et al.* 2016).

Relativamente, aos valores de a^* a tendência foi de diminuição entre o t_0 e o t_{32} , com exceção das amostras da raça Holstein embaladas a vácuo. As amostras embaladas a vácuo e a raça Holstein foram as que apresentaram menor perda de intensidade da cor

vermelha. As amostras apresentaram diferenças significativas para este parâmetro, com exceção das amostras da raça Holstein embaladas nas duas atmosferas ($p>0,05$). As alterações verificadas na cor vermelha estão associadas à transformação das formas de mioglobina na superfície da carne durante o seu armazenamento. A possível razão para as amostras apresentarem um valor de a^* mais baixo no t_4 é a oxidação da oximioglobina (cor vermelha), transformando-se em metamioglobina (cor castanha) durante o armazenamento posterior. No entanto, a velocidade dessas reações foi lenta e permitiu que as amostras embaladas a vácuo permanecessem mais vermelhas do que as amostras embaladas a MAP, apesar da oxidação (Łopacka *et al.* 2016).

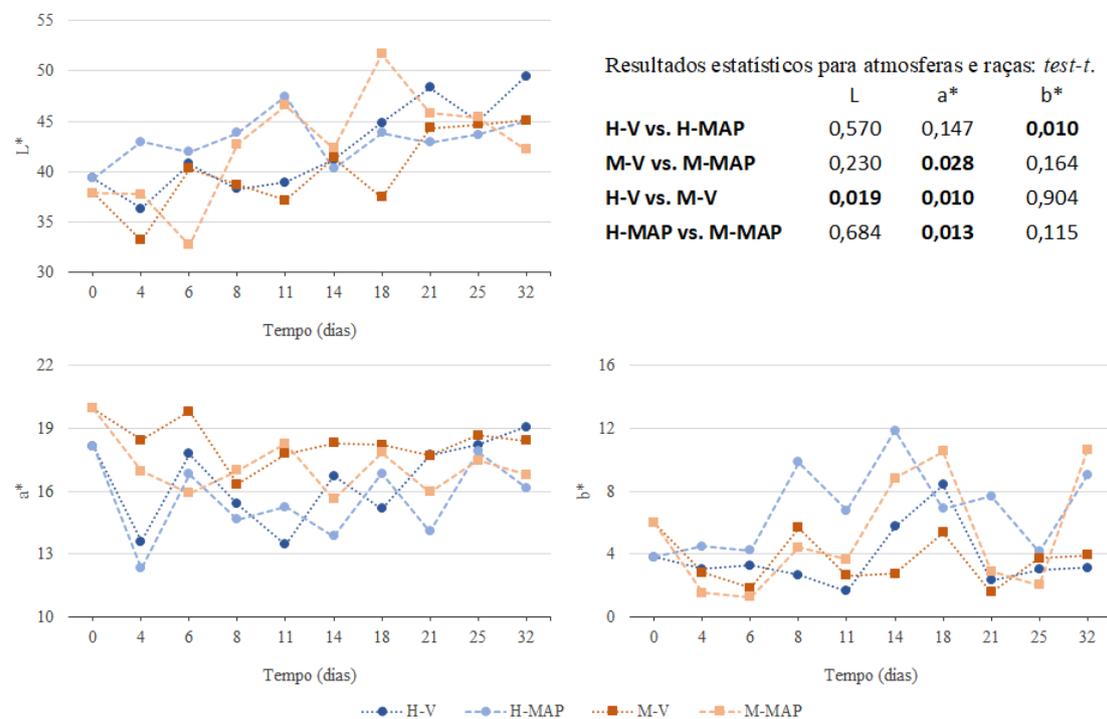


Figura 3.2- Evolução da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo, através do sistema CIELAB ($L^*a^*b^*$) e avaliação de diferenças estatisticamente significativas através do *post hoc test de t-student* ($p<0,05$).

O parâmetro b^* - intensidade de amarelo, mostrou uma tendência de aumento para as amostras embaladas a MAP e de diminuição para as embaladas a vácuo. A intensidade de amarelo (b^*) mostrou maiores diferenças durante o período de armazenamento entre os sistemas de embalagem, do que entre as raças, existindo mesmo diferenças significativas entre as amostras da raça Holstein embaladas a vácuo e a MAP. No final do tempo de armazenamento, registaram-se valores de b^* mais elevados nas amostras de

MAP em comparação com as embaladas a vácuo, o que poderá ter resultado da formação de metamioglobina (Łopacka *et al.* 2016). A diminuição do valor de b^* nas amostras embaladas a vácuo e em alguns períodos, com após o t_4 pode ter resultado da redução parcial da metamioglobina e a sua conversão em desoximioglobina (vermelho-púrpura) (AMSA, 2012). As amostragens com valores menores de b^* foram as que apresentaram menor ângulo de hue (h°), sendo o inverso também verdade, ou seja, o aumento do ângulo de matiz nessas amostras, também indica uma mudança na cor para menos vermelho e mais castanho (Figura 3.3 e Figura 3.4).

Relativamente, ao ângulo de hue, as amostras tiveram um comportamento inverso, conforme o sistema de embalagem adotado, assim nas amostras embaladas a vácuo, este parâmetro diminuiu de t_0 para t_{32} , e nas embaladas com MAP aumentou. Estas diferenças conduziram a diferenças significativas no ângulo hue entre as amostras das duas raças embaladas com MAP ($p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} = 0,037$) e entre as amostras da raça Holstein embaladas a vácuo e com MAP ($p_{(H-V \text{ vs. } H-MAP)} = 0,0310$) (Tabela A.3). Por outro lado, quando se comparou a cromacidade das amostras entre t_0 e t_{32} , verificou-se que as amostras da raça Minhota mostravam valores menores de C^* no fim do período de armazenamento, enquanto as amostras da raça Holstein mostravam valores mais elevados quando embaladas a vácuo e valores semelhantes quando embaladas com MAP. As amostras das raças Holstein e Minhota quando embaladas a vácuo apresentaram diferenças significativas (Tabela A.3).

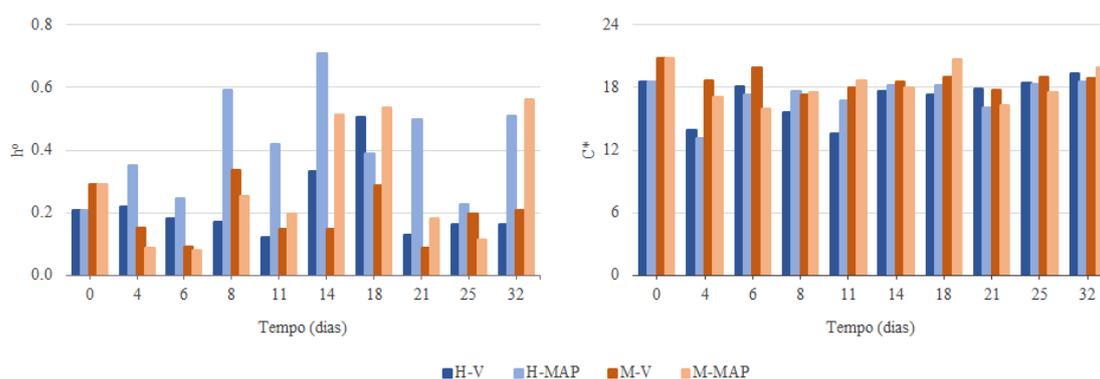


Figura 3.3- Evolução da tonalidade/ ângulo Hue (h°) e cromaticidade/saturação (C^*) da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo.

No final do período de armazenamento, verificou-se, que apesar das variações na cromacidade e no ângulo de hue observadas, as amostras embaladas quer a vácuo, quer com MAP, permanecem mais vermelhas, do que castanhas (Figura 3.4).

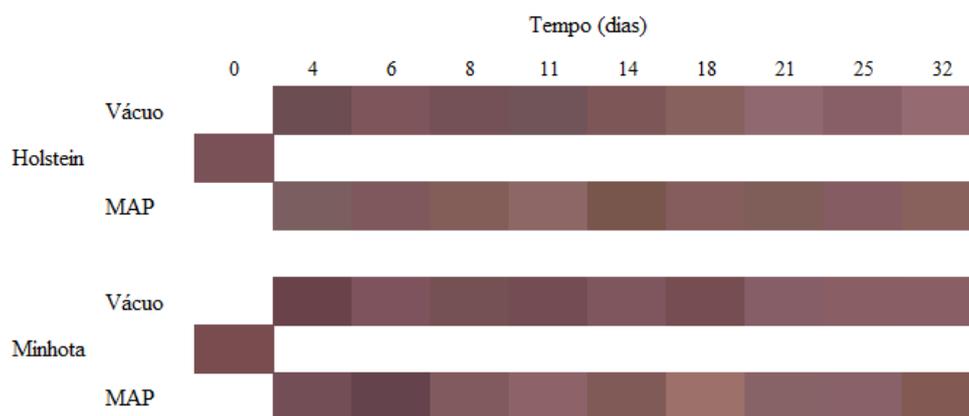


Figura 3.4- Evolução da cor ao longo do tempo das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo, por simulação dos valores obtidos do sistema CIELAB ($L^*a^*b^*$). Fonte: <https://www.nixsensor.com/free-color-converter/>

3.1.3. pH

A monitorização do pH nas amostras embaladas mostrou diminuição de valores nas duas raças em estudo e nos dois sistemas de embalagem, ao longo do tempo (Figura 3.5 e Tabela A.4). A tendência de diminuição dos valores de pH ao longo do tempo, para a carne embalada, foi também encontrada noutros estudos conduzidos por Zakrys-Waliwander *et al.* (2010), Yang *et al.* (2016) e Carrizosa *et al.* (2017). As amostras da raça Minhota foram as que apresentaram maior descida nos valores de pH ao longo do tempo, sendo esta ligeiramente maior nas amostras embaladas a atmosfera modificada. De referir que a atmosfera modificada escolhida para este estudo, tinha uma percentagem elevada de CO_2 (~70%), sendo este composto ácido. Zakrys-Waliwander *et al.* (2010) e Łopacka *et al.* (2016) referem que, o dióxido de carbono pode diminuir o pH da carne à medida que se dissolve na água produzindo ácido carbónico que se dissocia em iões hidrogenocarbonato (HCO_3^- (aq)) e hidrogénio (H^+ (aq)). Relativamente à raça Holstein, os valores apresentados ao longo do tempo para as amostras embaladas em atmosfera modificada apresentaram um decréscimo muito ligeiro, de 5,43 (t_0) para 5,40 (t_{32}), o que está de acordo com os valores apresentados por Zang *et al.* (2018), tanto em relação à grandeza dos valores, como nas alterações ligeiras ou inexistentes dos mesmos ao longo do tempo. Do ponto de vista estatístico, as amostras das duas raças não apresentaram diferenças significativas de pH ($(p_{\text{(H-V vs. M-V)}}=0,090; p_{\text{(H-MAP vs. M-MAP)}}=0,539)$, nem os dois sistemas de embalagem utilizados ($(p_{\text{(H-V vs. H-MAP)}}=0,189; p_{\text{(M-V vs. M-MAP)}}=0,358)$, (Tabela A.3).

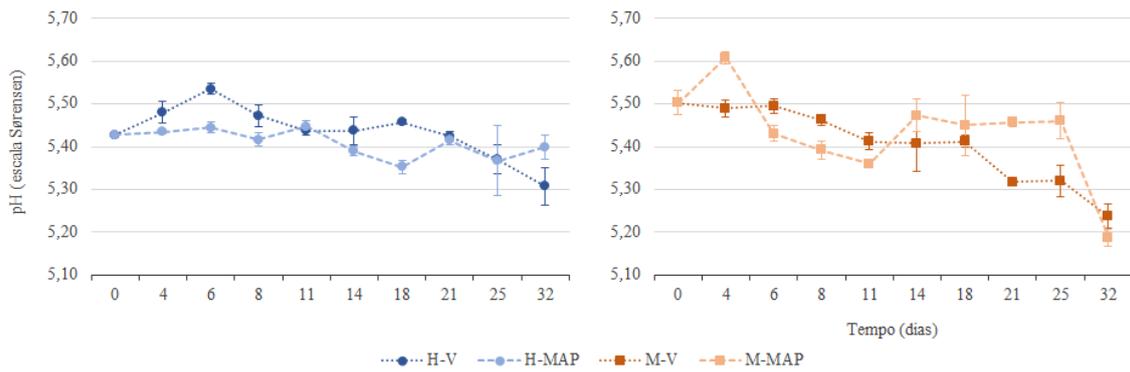


Figura 3.5- pH, ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo.

3.1.4. PERDAS POR COZIMENTO - “COOKING LOSS” E GOTEJAMENTO - “DRIP LOSS”

Os resultados obtidos na determinação das perdas por cozimento - “Cooking loss” e perdas por gotejamento - “Drip loss” não mostraram uma tendência clara e constante, ao longo do período de armazenamento da carne em nenhum dos sistemas de embalagem (Tabela A.5 e Figura 3.6).

Os valores de perdas por cozimento apresentaram diferenças pequenas, entre o dia da embalagem da carne (t_0) e o último dia do estudo (t_{32}), tanto para os sistemas de embalagem, como para as raças. No entanto, as amostras da raça Minhota apresentam um ligeiro aumento entre o t_0 e o t_{32} para os dois sistemas de embalagem em linha com o obtido por Łopacka *et al.*, 2016 e Moczowska *et al.* (2017). As amostras de raça Holstein apresentaram comportamento inverso, ou seja, uma pequena diminuição de perdas por cozedura entre o t_0 e o t_{32} . Apesar do comportamento distinto apresentado pelas raças em estudo, estatisticamente as amostras das duas raças não apresentaram diferenças significativas para este parâmetro em nenhuma atmosfera ($p_{(H-V \text{ vs. } M-V)} = 0,382$; $p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} = 0,790$). Para cada uma das raças em estudo, também se verificou que não existiram diferenças significativas entre os sistemas de embalagem das amostras (Tabela A.3).

Os valores de perdas por gotejamento mostraram uma diminuição entre as amostragens do t_0 e t_{32} , com exceção do armazenamento em embalagem a vácuo para a raça Holstein, que apresentou um ligeiro aumento. Aumento nas perdas por gotejamento (*drip loss*) durante o armazenamento de amostras embaladas a vácuo e embaladas a

atmosfera modificada foi também obtido em estudos realizados por Łopacka *et al.* (2016) e Zakrys-Waliwander *et al.* (2012). Na carne fresca as perdas por gotejamento, quando excessivas, significam perdas financeiras associadas a essas carnes e perdas de diversos compostos, tais como vitaminas, minerais, compostos de sabor e água (Morrissey & Kerry, 2004). De referir ainda, que a perda de água pode afetar a qualidade geral da carne para consumo, pela produção de carne que pode ser descrita como dura e com características de paladar insatisfatórias (Morrissey & Kerry, 2004). Do exposto, os resultados obtidos parecem sugerir que a perda por gotejamento nas carnes não foi afetada de modo diferente nos sistemas de embalagem adotados para este estudo, e que estes sistemas de embalagem podem ter tido influência na diminuição dessa perda ao longo do tempo. As diferenças de comportamento apresentadas ao longo do tempo, na comparação de raças e de sistema de embalagem, não se traduziram em diferenças estatisticamente significativas, ou seja, os valores apresentados para este parâmetro foram estatisticamente semelhantes para as duas raças bovinas, assim como para os dois sistemas de embalagem utilizados (Tabela A.3).

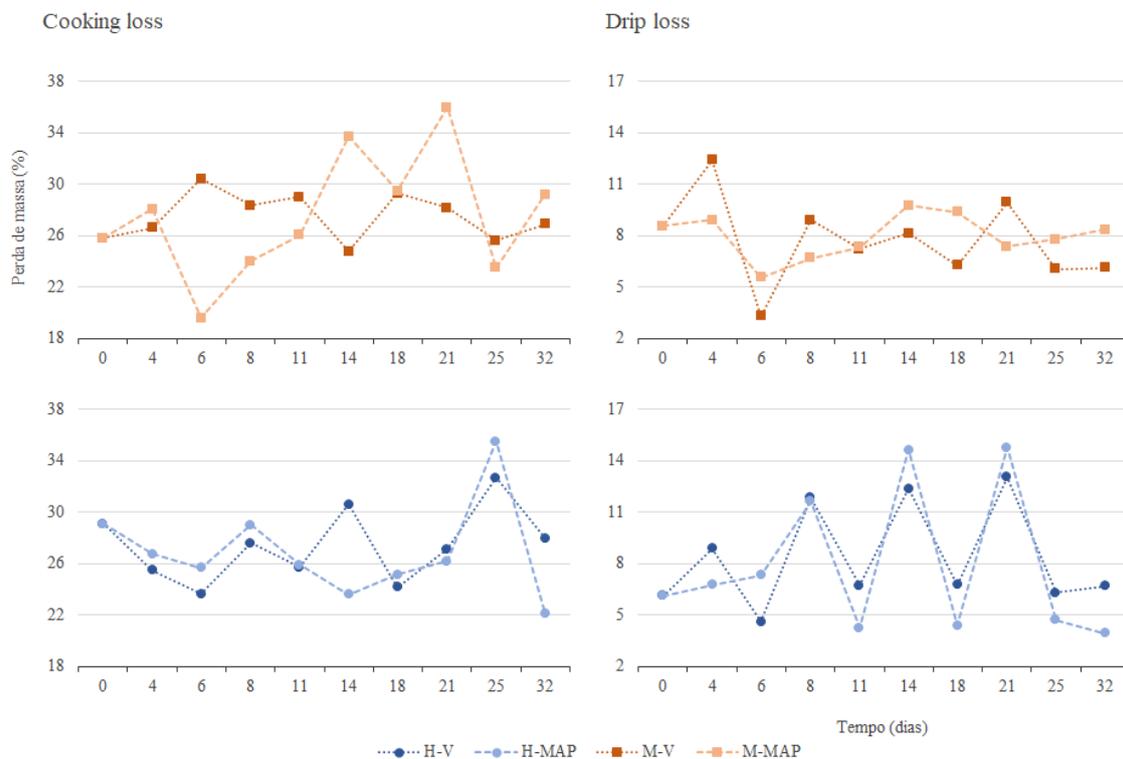


Figura 3.6- Perda por cozimento - "cooking loss" e perda por gotejamento - "drip loss", ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo.

3.1.5. DUREZA (WBSF - WARNER BRATZLER SHEAR FORCE)

Os valores da dureza de todas as amostras decresceram ao longo tempo de estudo (Figura 3.7, Tabela A.6). Conforme descrito noutros estudos as amostras armazenadas sob vácuo tornam-se mais tenras durante o armazenamento (Lagerstedt *et al.*, 2011) devido ao processo enzimático contínuo de “amaciamento” a carne. A tendência de diminuição dos valores de dureza WBSF ao longo do tempo, também foi verificada em estudos em que as amostras foram armazenadas em atmosferas com valores de O₂ inferiores a 80%, no entanto, para atmosferas modificadas com valores de 80% de O₂, os valores de WBSF foram constantes ou até mais altos (Zakrys-Waliwander *et al.*, 2010), devido possivelmente à oxidação de enzimas proteolíticas ou devido a proteínas miofibrilares (kim *et al.*, 2010). No presente estudo foram encontradas diferenças significativas entre as amostras da raça Minhota embaladas a vácuo e a MAP ($p_{(M-V \text{ vs. } M-MAP)} < 0,01$) e entre as raças Holstein e Minhota quando as amostras foram embaladas em MAP ($p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} < 0,001$) (Tabela A.3).

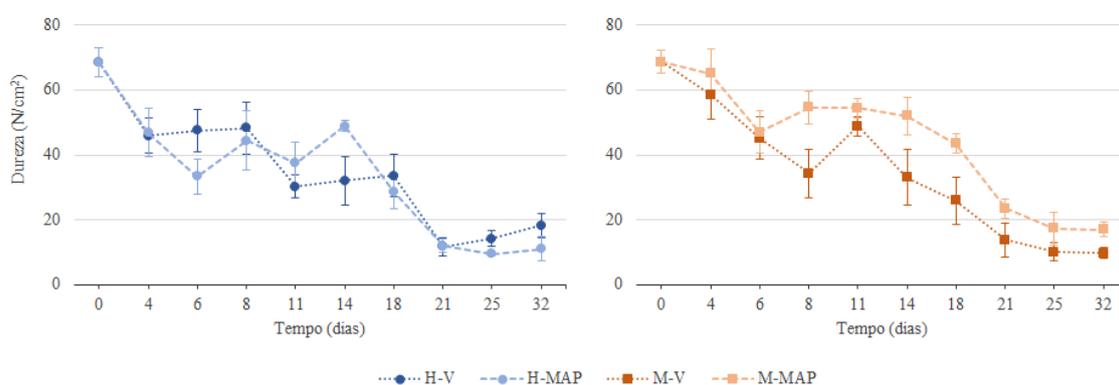


Figura 3.7- Resultados obtidos ao longo do tempo para o teste *Warner Bratzler Shear Force* (WBSF) das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas a MAP e vácuo

3.1.6. HUMIDADE, CINZAS, PROTEÍNA E GORDURA

O conteúdo de humidade na raça Minhota variou entre os valores 70,95 - 73,30% e 69,51 - 73,65% para as embaladas a vácuo e com MAP, respetivamente. O intervalo de valores apresentado na raça Holstein foi de 71,15 - 73,66% e de 70,57 - 74,95% nas amostras de vácuo e MAP, respetivamente (Tabela A.7 e Figura 3.8). O conteúdo de humidade ao longo do tempo de armazenamento não sofreu grandes variações em

nenhum dos casos em estudo. As amostras das duas raças e armazenadas em diferentes sistemas de embalagem não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) (Tabela A.3).

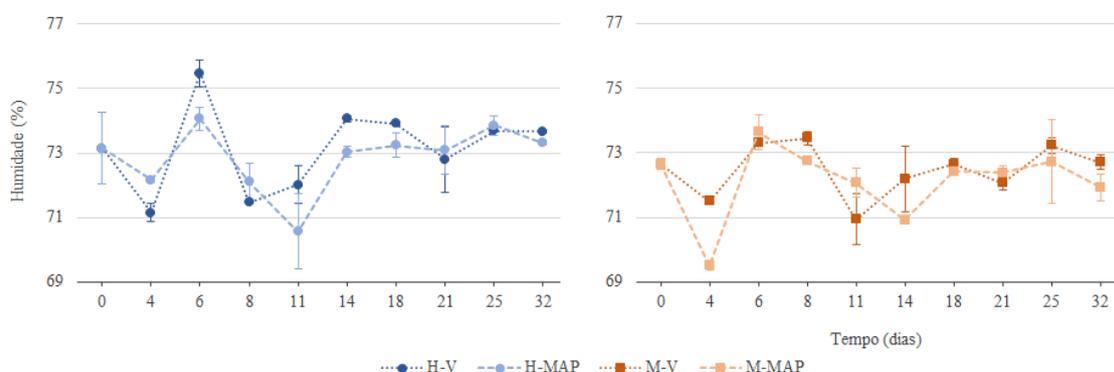


Figura 3.8- Conteúdo de humidade ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo.

Apesar dos resultados obtidos para a cinza nas raças em estudo embaladas a vácuo e com MAP terem sido semelhantes ao longo do tempo, com uma variação entre todas as amostras de 1,03 % (mínimo: M-MAP) a 1,22 % (máximo: H-MAP) (Tabela A.7 e Figura 3.9), as amostras da raça Holstein e Minhota quando embaladas a MAP apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$; $p = 0,039$).

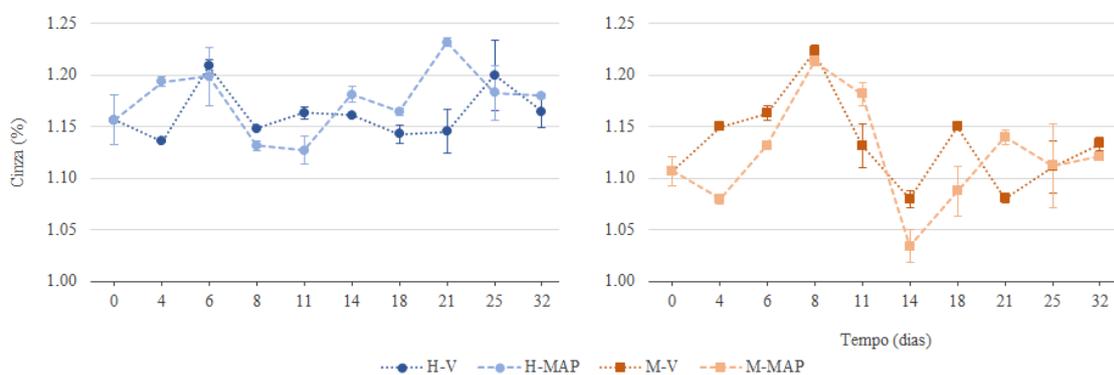


Figura 3.9- Conteúdo de cinza ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo.

O conteúdo proteico das duas raças em estudo apresentou valores semelhantes, quer na caracterização inicial das raças (22,95 % e 23,06 para a raça Minhota e Holstein, respetivamente), quer ao longo do tempo de armazenamento (Figura 3.10). No decurso do tempo de armazenamento o teor proteico aumentou, não sendo este aumento resultado

da perda de humidade das amostras, já que a tendência se manteve no resíduo seco (Tabela A.8). Apesar das variações observadas, as amostras estudadas não apresentaram diferenças significativas neste parâmetro, entre raças e sistemas de embalagem ($p > 0,05$) (Tabela A.3).

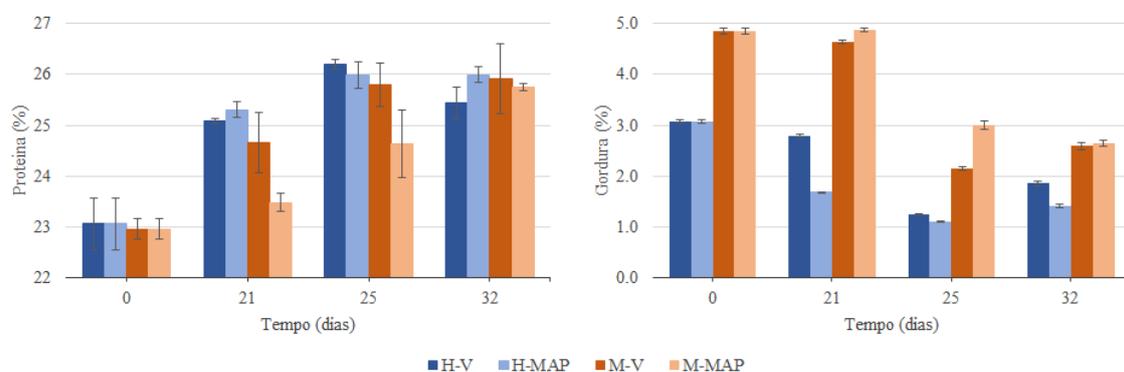


Figura 3.10- Teor proteico e Gordura total ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo.

O teor de gordura inicial na raça Minhota foi de 4,86 % e na Holstein de 3,07 %, diminuindo estes valores ao longo do tempo. As perdas observadas durante o período de armazenamento parecem sugerir a existência de degradação lipídica. De referir, que as amostras das duas raças mostraram diferenças significativas para os dois tipos de sistema de embalagem ($p_{(H-V \text{ vs. } M-V)} < 0,021$; $p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} < 0,016$). A observação da Figura 3.10, indica existir um padrão invertido do teor de gordura e de proteína durante o período de armazenamento das amostras.

3.1.7. ÍNDICE DE ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO (TBARS) E ÍNDICE DE PERÓXIDOS

As amostras que apresentaram maior concentração de TBARS, ao longo do tempo de armazenamento, foram das de raça Holstein embaladas em MAP (Tabela A.9, Figura 3.11). Mais ainda, as amostras embaladas em MAP registaram sempre valores de TBARS bastante mais elevados em comparação com as amostras embaladas a vácuo, sugerindo que ocorreu maior oxidação de lípidos em condições de maior concentração de oxigénio (MAP com ~20% de O_2). Esta observação está de acordo com estudos conduzidos por Kim *et al.* (2010) e Cruzen *et al.* (2015) que mostraram que atmosferas com concentrações elevadas de O_2 induziam oxidação lipídica severa durante armazenamento

prolongado de amostras de carne. Os valores deste parâmetro nas amostras embaladas a vácuo além de menores, variaram pouco ao longo do período de armazenamento, com as amostras das duas raças a não apresentar diferenças significativas entre elas ($(p_{(H-V \text{ vs. } M-V)} > 0,05)$). Existem estudos (Yang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018; Łopacka *et al.*, 2016) que conduziram a resultados semelhantes, ou seja, um aumento de TBARS ao longo do tempo, maior nas amostras embaladas em atmosfera modificada e um aumento pouco acentuado para amostras embaladas em vácuo. Os dados obtidos permitiram verificar a existência de diferenças significativas para as amostras embaladas a vácuo e MAP, para qualquer das duas raças ($p_{(H-V \text{ vs. } H-MAP)} = 0,001$; $p_{(M-V \text{ vs. } M-MAP)} = 0,001$), assim como para as amostras das duas raças quando embaladas a MAP ($p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} = 0,010$) (Tabela A.3). Estas diferenças entre raças podem ser consequência de um teor mais elevado de ácidos gordos polinsaturados na raça Holstein como verificado na Figura 3.12.

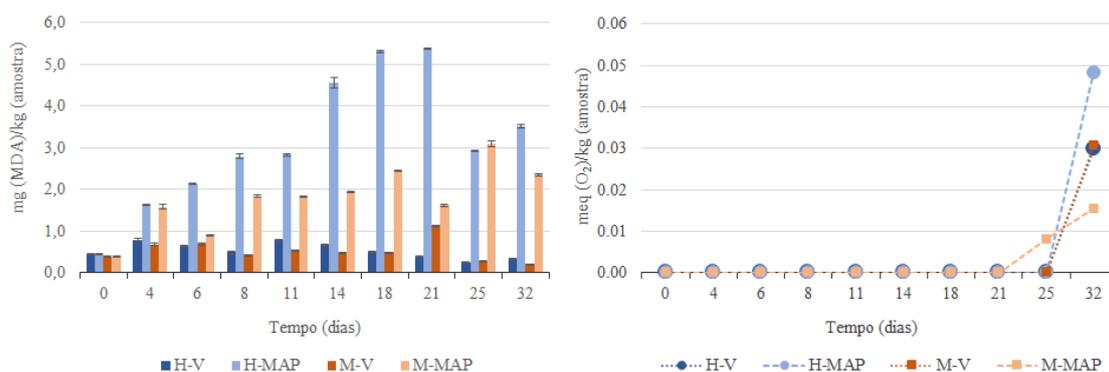


Figura 3.11- Concentração do TBARS e Índice de Peróxidos ao longo do tempo, das amostras de raça Minhota e Holstein, embaladas com MAP e a vácuo.

Yang *et al.* (2016) sugeriu como limiar de ranço na carne bovina o valor de 2,28 mg MDA/kg (amostra). Assim, as amostras deste estudo quando embaladas a vácuo nunca atingiram este limiar, enquanto as amostras embaladas a MAP ultrapassaram este limiar no t_8 para a raça Holstein Frísia e no t_{18} para a Minhota.

Relativamente ao teor de peróxidos as amostras embaladas a vácuo tiveram o mesmo comportamento e teores da mesma ordem de grandeza para as duas raças. As amostras embaladas a MAP tiveram comportamento diferente dependendo da raça (Figura 3.11). Apesar das diferenças verificadas, a concentração encontrada em todas as amostras foi muito baixa, não existindo diferenças significativas entre as raças e entre os

sistemas de embalagem das amostras ($p > 0,05$). A primeira amostra a detetar-se peróxidos pertencia à raça Minhota e tinha sido embalada a MAP ($t_{25} = 0,0080$ meq O_2/kg amostra).

3.1.8. PERFIL DE ÁCIDOS GORDOS

Os resultados obtidos para os ácidos gordos que entram na composição da gordura nos quatro grupos de estudo, ou seja, duas raças e dois sistemas de embalagem, são apresentados na Tabela A.10 e Figura 3.12-a. A concentração total de ácidos gordos saturados (saturated fatty acids - SFA) obtida na gordura das amostras de todos os grupos foi semelhante, não existindo diferenças significativas entre os diversos grupos ($p > 0,05$). Relativamente, aos ácidos gordos insaturados (unsaturated fatty acids - UFA) apesar das amostras da raça Minhota apresentarem maior concentração no t_0 , essa tendência não foi mantida até ao final do período de armazenamento. Apesar das diferenças apresentadas, a gordura dos diversos grupos não foi estatisticamente diferente na composição de UFA. Neste grupo de ácidos gordos, verificou-se que os ácidos gordos monoinsaturados (monounsaturated fatty acids - MUFA) apresentaram pequenas diferenças não significativas, com a maior diferença verificada entre as amostras da raça Holstein e Minhota embaladas a MAP ($p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} = 0,051$). Os ácidos gordos poliinsaturados (polyunsaturated fatty acids - PUFA) mostraram valores mais elevados na gordura da raça Holstein, sendo as maiores diferenças observadas entre as duas raças em ambos os sistemas de embalagem, mas apenas significativas nas amostras embaladas a MAP ($p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} = 0,044$) (Tabela A.3).

Neste estudo, os ácidos gordos saturados foram predominantes, seguidos dos MUFA e PUFA, tendo sido verificada uma ordenação semelhante para gado Nelore, 43,93% (SFA), 42,33% (MUFA) e 12,8% (PUFA) por Prado *et al.* (2009). A ordem de grandeza dos valores obtidos neste estudo para a raça Holstein foi semelhante à determinada por Wood *et al.* (2008) e Liu *et al.* (2020) para a carne bovina, ou seja, aproximadamente, 50% de SFA, 40% de MUFA e 10% PUFA, sendo os valores obtidos para a raça Minhota mais elevados para os MUFA e menores para os PUFA.

Os ácidos gordos em maior quantidade na gordura foram o ácido palmítico (C16:0) e o ácido esteárico (C18:0) para os SFA, o ácido oleico (C18:1c9) e o palmitoleico (C16:1) para os MUFA, e o ácido linoleico (C18:2c9,12) para os PUFA (Tabela A.11). Esses resultados estão em linha com os reportados por outros autores, como Prado *et al.* (2003), Kelly *et al.* (2013) e Cesar *et al.* (2014), que observaram níveis altos dos ácidos

gordos palmítico, esteárico e oleico. Acrescenta-se que alguns autores, Lawrie (2005) e Rossato *et al.* (2009), também relataram que o ácido gordo palmítico foi o predominante na gordura da carne bovina. No entanto, em Nelore para animais em que o crescimento foi terminado em confinamento, Cesar *et al.* (2014) verificou que o ácido oleico (37,46%) apresentou a maior concentração na gordura intramuscular, em concordância com os valores apresentados pelo presente estudo (Tabela A.11). De referir ainda que, os PUFA presentes na gordura bovina, como o ácido linoléico (C18:2n-6) e linolénico (C18:3n-3) e os MUFA, como ácido oleico (C18:1n-9), podem oferecer proteção ao sistema cardiovascular, uma vez que o seu consumo equilibrado está associado à redução dos níveis de colesterol no soro e ao aumento da lipoproteína de alta densidade (High-density lipoprotein - HDL) (Pensel, 1997).

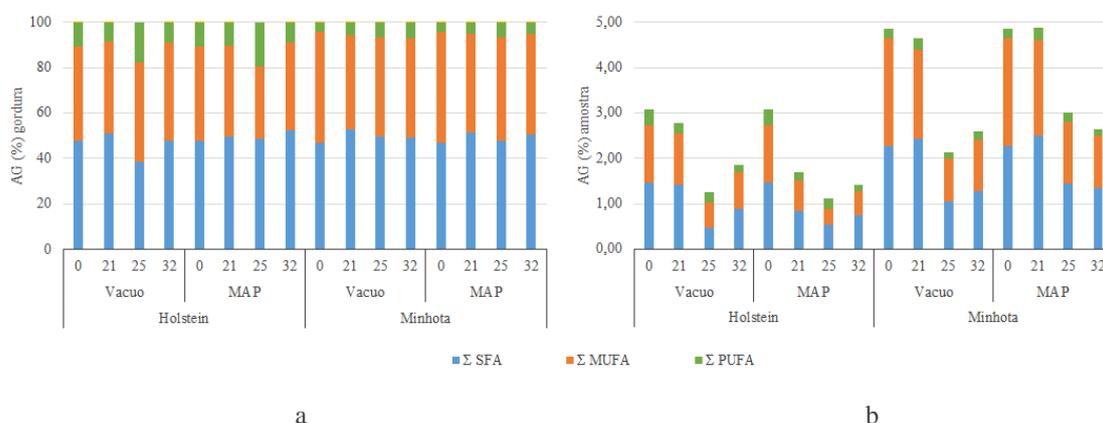


Figura 3.12- Concentração de ácidos gordos das raças para os grupos em estudo, raças - Holstein e Minhota e sistemas de embalagem – vácuo e MAP, ao longo do tempo. (a) composição da gordura em ácidos gordos; (b) composição das amostras de carne em ácidos gordos.

Existem evidências a indicar que suplementos na dieta com folhagem de várias árvores leguminosas e não leguminosas altera a composição dos ácidos gordos da carne de ruminantes diminuindo os SFA em direção ao perfil de UFA (MUFA e PUFA), aumentando assim potencialmente o estado de saúde dos consumidores (Qwele *et al.*, 2013). Este facto levou à determinação do teor de SFA total, MUFA total, PUFA total, bem como das relações MUFA/SFA, PUFA/SFA e PUFA/MUFA de carne bovina e outras carnes de ruminantes, como índices do *status* dos ácidos gordos da carne relacionados à saúde (Marume *et al.*, 2012). A relação PUFA/SFA é frequentemente usada para avaliar o valor nutricional e a saúde do consumidor. No entanto, o índice PUFA/SFA deve ser usado com cuidado, pois pode não ser um indicador adequado para

avaliar o valor nutricional da gordura, já que alguns SFA não elevam o colesterol plasmático e mascaram os efeitos dos MUFA (Santos-Silva *et al.*, 2002). Os valores para a proporção PUFA/SFA obtidos neste estudo para a raça Minhota (0,10 - 0,14) foram de encontro aos normalmente encontrados para a carne bovina, que se encontram em torno de 0,1 (Scollan, 2003), sendo os obtidos para a raça Holstein mais elevados (0,17 - 0,46). Apesar de mais elevados, relativamente à saúde humana, geralmente, os valores ficaram abaixo dos valores recomendados pela Organização Mundial de Saúde de PUFA/SFA > 0,45 (OMS, 2003). Os valores da relação MUFA/SFA foram semelhantes para todos os casos em estudo, não apresentando uma tendência constante ao longo do tempo de estudo, mas inferiores aos reportados por Nejad *et al.* (2016). A razão PUFA/MUFA mostrou valores mais elevados para a raça Holstein, sendo estes mais elevados nas amostras embaladas em MAP.

Quando se analisou o teor de ácidos gordos nas amostras de carne, verificou-se um aumento nas diferenças apresentadas, principalmente no que respeita às raças em estudo (Tabela A.10 e Figura 3.12-b). As diferenças foram potenciadas nas amostras de carne devido às diferenças significativas existentes nos teores de gordura da carne das duas raças para os dois sistemas de embalagem (Tabela A.3). Assim, quando se comparou o conteúdo de ácidos gordos nas amostras de carne, verificou-se a existência de diferenças significativas na carne das duas raças em qualquer dos sistemas de embalagem ($p_{(H-V \text{ vs. } M-V)} < 0,05$; $p_{(H-MAP \text{ vs. } M-MAP)} < 0,05$) para os vários grupos de ácidos gordos (SFA, UFA, MUFA), com exceção dos PUFA.

3.2. CONTROLO MICROBIOLÓGICO

Um dos parâmetros da qualidade que se impõe estudar é a evolução da carga microbiana nas amostras de carne embalada e armazenada. Não sendo, a caracterização microbiológica associada à degradação das amostras ao longo do tempo, o objetivo principal deste estudo, apenas foi realizada o controlo de crescimento de microrganismos totais a 30 °C. Os valores de referência para o número de unidades formadoras de colónias (ufc), na avaliação da carne embalada e armazenada, foram os estipulados pelo Regulamento (CE) 2073 (2005), na tabela de critérios de higiene de processos do ponto 2.1.7., ou seja, para carne separada mecanicamente o limite para a carne ser considerada satisfatória é de 5×10^5 ufc/g e aceitável de 5×10^6 ufc/g.

A carne Minhota fresca (t_0), apresentou uma contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C de $2,57 \times 10^5$ ufc/g e a Holstein de $2,37 \times 10^5$ ufc/g (Tabela 3.2), estando estes valores dentro do limite para uma carne satisfatória pelo Regulamento (CE) 2073 (2005). As análises microbiológicas foram efetuadas nos tempos definidos para as amostragens, até se verificar que as amostras ultrapassavam o limite de aceitabilidade da carne para consumo (5×10^6 ufc/g). As determinações foram dadas por concluídas no t_{11} , quando só restava um grupo em que as amostras continuavam dentro do limite de aceitabilidade, ou seja, as amostras da raça Holstein em MAP ($1,88 \times 10^6$ ufc/g). Assim, a partir desta data as amostras, com exceção das Holstein embaladas em MAP, já se encontravam fora dos limites definidos como aceitáveis de higiene de processos, ou seja, já não se encontravam aptas para consumo humano.

Tabela 3.2- Resultados da determinação de microrganismos aeróbios a 30 °C (ufc/g) nas amostras das raças em estudo, ao longo do período de armazenamento.

Dia	Holstein		Minhota	
	V	MAP	V	MAP
0		$2,37 \times 10^5$		$2,57 \times 10^5$
4	$2,95 \times 10^6$	$1,56 \times 10^5$	$7,45 \times 10^5$	$1,10 \times 10^5$
6	$8,90 \times 10^5$	$8,35 \times 10^4$	$7,30 \times 10^5$	$6,05 \times 10^5$
8	$3,18 \times 10^6$	$2,54 \times 10^5$	$2,88 \times 10^6$	$7,75 \times 10^6$
11	$1,20 \times 10^7$	$1,88 \times 10^6$	$7,55 \times 10^6$	$8,85 \times 10^6$

Valores a negrito – valores acima do limite de aceitabilidade.
Resultados apresentados com 3 algarismos significativos

Todos os grupos de amostras apresentaram crescimento ao longo do tempo de armazenamento, com as amostras da raça Minhota em MAP a serem as primeiras com valores acima do limite de aceitabilidade no t_8 . As amostras embaladas a vácuo apresentaram um comportamento semelhante nas duas raças em estudo, com valores de microrganismos a ultrapassar o limite de aceitabilidade no t_{11} . As amostras em MAP apresentaram valores de contagem de microrganismos dentro do limite de aceitabilidade por um período de armazenamento mais longo na raça Holstein, tendo-se verificado o inverso para a raça Minhota. De referir, que as diferenças observadas entre as amostras das duas raças e dos dois sistemas de embalagem nunca foram significativas ($p > 0,05$).

O sistema de embalagem escolhido, a composição de gases adotada na atmosfera modificada e o tempo de armazenamento interagiram aumentando a proliferação bacteriana, como reportado noutros estudos (Zakrys-Waliwander *et al.*, 2011; Lopacka *et*

al., 2016). De acordo com Doulgeraki, *et al.* (2010) o principal grupo de microrganismos associados à deterioração da carne bovina *in natura* armazenada em MAP com elevado nível de CO₂ e 30% de O₂ é a bactéria do ácido láctico (lactic acid bactéria - LAB). Estas causam a deterioração da carne, quer ela esteja armazenada sob vácuo quer em atmosfera modificada (Lopacka *et al.*, 2016).

3.3. ANÁLISE SENSORIAL

A monitorização das amostras em termos de análise sensorial foi realizada até aos onze dias de armazenamento (t₁₁), momento a partir do qual os resultados microbiológicos indicaram que a maioria das amostras já apresentavam uma carga microbiana elevada, sendo desaconselhado o seu consumo e inviabilizado as provas do painel. Os resultados obtidos dos provadores encontram-se resumidos na Tabela A.12.

No início do tempo de armazenamento, o aspeto e o cheiro das amostras foram os característicos da carne fresca, sendo o último parâmetro de intensidade forte. Os resultados obtidos mostraram que o painel de provadores considerou a intensidade do parâmetro cheiro característico sempre elevada (pontuação máxima) nas amostras embaladas a vácuo das duas raças até ao final da análise sensorial (t₁₁). O painel reportou que as amostras em MAP no t₁₁, visualmente apresentavam uma cor ligeiramente mais acastanhada e cheiro a ranço intenso. Os *off-falvours*, ou seja, odor a ranço detetados pelo painel de provadores no t₁₁ nas amostras em MAP, especialmente nas da raça Holstein, podem estar relacionados com a quantidade de monaldeído presente na amostra, já que o valor de 2,28 mg MDA/kg é sugerido como o limiar de deteção a ranço por Yang *et al.* (2016).

A suculência das amostras foi maior quando embaladas a vácuo, exceto no t₄ para as de raça Minhota e t₁₁ para as Holstein. No t₁₁ (amostragem final da análise sensorial), as amostras de bife de raça Holstein Frísia embaladas a vácuo apresentaram maior suculência do que as de Minhota. Quanto à dureza inicialmente as amostras de raça Minhota apresentaram maior dureza do que as de raça Holstein. Neste estudo a maior intensidade de dureza foi verificada nas amostras embaladas em MAP, sendo a mais elevada observada na amostra de raça Minhota da última amostragem (t₁₁). A dureza e a suculência tiveram uma escala de intensidade inversa, ou seja, os valores mais elevados da dureza foram geralmente, os das amostragens finais e os da suculência os das iniciais.

Esta observação parece ser reforçada pela análise de componentes principais (PCA), realizada apenas para investigar a existência de estruturas numa projeção bidimensional dos resultados (Figura 3.13). Esta análise de componentes principais resume cerca de 80% da informação mais relevante mostrando as variáveis correlacionadas com as CP1 (componente principal 1) e CP2 (componente principal 2) e as amostras projetadas para os quadrantes onde as variáveis em estudo assumem valores mais elevados. A intensidade de masticabilidade teve comportamento semelhante ao da dureza, ou seja, normalmente valores mais elevados para as amostras embaladas em MAP e nas de raça Minhota. Estes parâmetros tiveram uma escala de intensidade inversa relativamente à suculência, ou seja, os valores mais elevados destes parâmetros foram geralmente, os das amostragens finais e os da suculência os das iniciais.

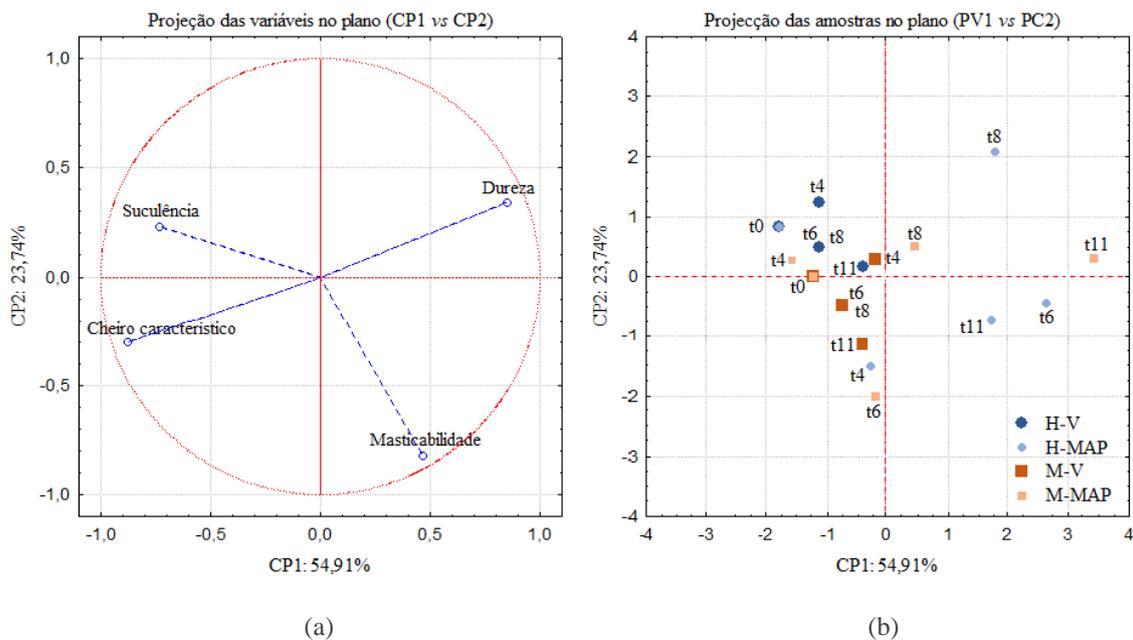


Figura 3.13- Análise de componentes principais aplicada aos dados da análise sensorial realizada ao longo de 11 dias de armazenamento. (a) representação da importância dos parâmetros da análise sensorial na discriminação das amostras; e (b) projeção das amostras.

A análise de componentes principais (PCA) não revela estruturas que permitam de forma inequívoca discriminar grupos de amostras, no entanto, as amostras da raça Holstein embaladas a vácuo posicionam-se todas no quadrante (superior esquerdo) da maior intensidade de suculência. Já as amostras em MAP surgem projetadas no quadrante superior direito, onde assumem valores mais elevados de dureza. Neste *output* pode observar-se ainda que a amostra de carne Minhota com 11 dias de armazenamento em

MAP (M-MAP, t_{11}) revelou níveis de dureza mais elevados do que as restantes com tempos de amostragem inferiores. No entanto, no que respeita a dureza, pode dizer-se que a carne minhota (M-V e M-MAP) manteve-se relativamente estável ao longo do tempo. Já relativamente a masticabilidade, este parâmetro de textura alterou-se ao longo do tempo tendo-se verificado um aumento na dificuldade de masticabilidade a partir do 6º dia de armazenamento (t_6). Este aspeto é indicado pela projeção das amostras ao longo da componente principal 2 (CP2). Quanto às restantes amostras e aos parâmetros suculência e cheiro característico, cujos valores mais elevados se verificaram nas amostras projetadas no lado negativo da componente principal 1 (CP1), são apesar de tudo também maioritariamente relativamente estáveis até ao 8º dia de armazenamento (t_8), com a exceção das amostras de raça Holstein embalada em MAP no período de 6 a 11 dias de armazenamento (H-MAP, t_6 a H-MAP, t_{11}) e de raça Minhota embalada a MAP no dia 11 de armazenamento (M-MAP, t_{11}).

3.4. AVALIAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS EM ESTUDO

Depois de detalhada a análise dos parâmetros em estudo ao longo do tempo, foi realizada uma análise de componentes principais, na tentativa de perceber quais as variáveis que melhor explicam as diferenças de comportamentamento ao longo do tempo.

A análise de componentes principais (PCA) mostra que as variáveis se correlacionam com as primeiras cinco das componentes principais (*eigenvalues* > 1) explicando cerca de 73,4% da informação resultante deste estudo (Tabela A.13). Se forem analisadas as correlações nas duas primeiras componentes, é possível dispensar alguma informação acessória considerando no entanto cerca de 45% da informação obtida ao longo deste estudo. No gráfico CP1 vs CP2 (Figura 3.14) as variáveis que mais contribuíram para a discriminação das amostras foram: humidade, cinza e proteínas, o parâmetro de cor - luminosidade (L), TBARs e o índice de peróxidos para os quais as amostras com mais tempo de armazenamento (t_{21} a t_{32}) apresentaram valores mais elevados, sobressaindo ligeiramente as amostras de Holstein de ambos os sistemas de embalagem. Neste gráfico, podem observar-se essas amostras, projetadas no lado positivo da CP1. No sentido oposto do mesmo *output*, para os parâmetros pH, intensidade da cor vermelha (a^*), textura (dureza – teste *Warner Bratzler Shear Force*) e ácidos gordos (SFA, MUFA, PUFA), as amostras de carne fresca (M e H) e a carne minhota embalada até t_{25} dias, apresentam valores mais elevados. Estas variáveis parecem indicar a

importância dos macroconstituintes, assim como, a influência dominante da degradação lipídica em diversos parâmetros, ou seja, o padrão de distribuição parece refletir variáveis da composição da carne e variáveis associadas à degradação lipídica da carne. Na CP2, a humidade, os TBARs, as perdas por gotejamento (*drip loss*) e os parâmetro de cor - intensidade da cor vermelha (a^*) e intensidade da cor amarela (b^*) são os que melhor separam as amostras. Nesta componente as amostras de carne Holstein, em vácuo e com tempos mais elevados de armazenamento, são projetadas no lado superior da componente em oposição às amostras da mesma raça em MAP, que por sua vez apresentam valores mais elevados nos parâmetros, perdas por gotejamento (*drip loss*) e a intensidade de amarelo (b^*). Nesta PCA, o parâmetro as perdas por cozimento (*cooking loss*) parece pouco relevante na discriminação de amostras. É ainda possível observar uma relação entre a evolução do pH das amostras e os TBARs e a intensidade de cor vermelha (a^*). Tal como já referido anteriormente, os resultados revelam que para valores de pH mais baixos, sobretudo a partir do 21º e 25º dias de armazenamento, os valores de TBARs foram mais elevados e a intensidade de cor vermelha (a^*) menor. No final do período de armazenamento, o teor de TBARs foi maior devido à degradação lipídica, que contribuiu para amostras de cor menos vermelha e pH mais ácido. Ainda, nesta análise, pode observar-se que o índice de peróxidos e o acastanhamento das amostras, acompanham a tendência de degradação lipídica.

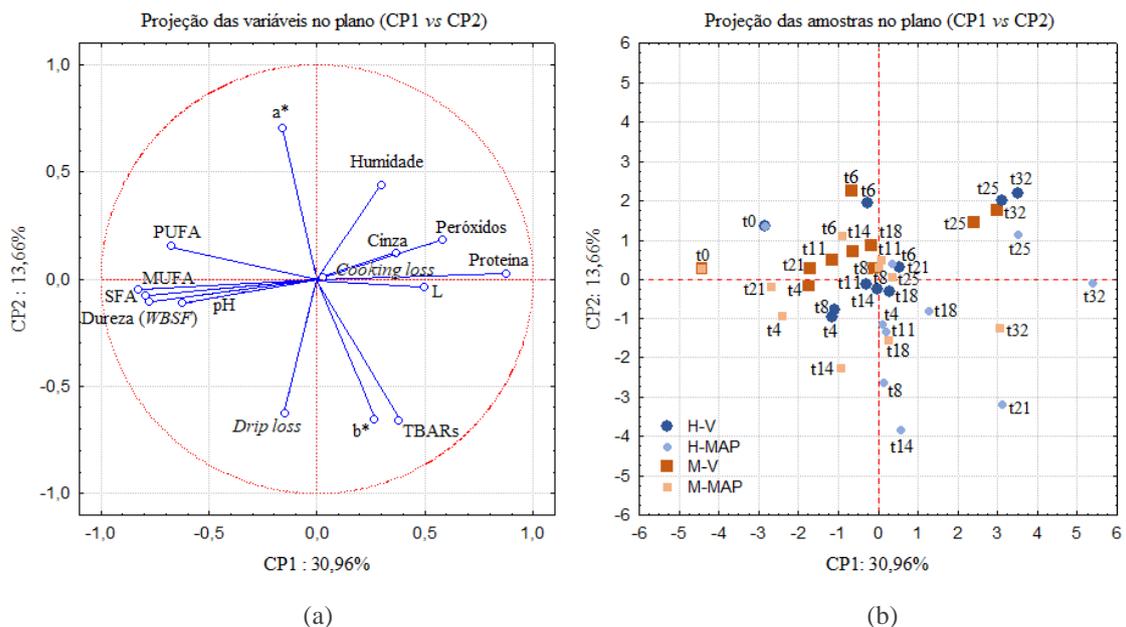


Figura 3.14- Análise de componentes principais com a projeção dos parâmetros físico-químicos estudados (a) e a projeção das amostras (b).

Genericamente, a ACP mostrou que as amostras se distribuía(m) maioritariamente ao longo do eixo da CP1 (Figura 3.14 b). As amostras da raça Minhota foram projetadas maioritariamente no lado negativo da CP1 apresentando valores mais elevados dos SFA e MUFA. No que diz respeito às amostras de raça Holstein no t_0 foram projetadas no quadrante associado a valores mais elevados de PUFA, de acordo com os valores obtidos e discutidos anteriormente acerca da determinação do perfil de ácidos gordos. De referir ainda que a projeção de amostras em MAP correspondentes aos últimos tempos de amostragem, no quadrante inferior esquerdo, onde os valores de TBARs são mais elevados bem como o índice de peróxidos e intensidade de cor amarela (b^*), sugere a existência nessas amostras de uma maior extensão da oxidação lipídica.

Relativamente à qualidade das amostras para consumo humano, apesar das amostras embaladas a vácuo não terem atingido o valor do limiar de ranço na carne bovina de 2,28 mg MDA/kg (amostra), estas já se encontravam acima do limite de aceitabilidade para consumo a nível microbiológico no t_{11} . Nesta amostragem os parâmetros da análise sensorial também já apresentavam um decréscimo de intensidade.

CAPÍTULO 4- CONCLUSÃO

Este estudo teve como objetivo estudar a influencia da raça na performance do sistema de embalagem ao longo do tempo de prateleira do produto.

O sistema da embalagem, vácuo e MAP, teve influência na carne das duas raças, nomeadamente nos parâmetros da luminosidade, intensidade de cor vermelha e amarela, gordura total, composição em ácidos gordos (SFA, MUFA e UFA), minerais e dureza. Nas amostras de raça Holstein, a embalagem MAP surgiu associada a uma carne mais acastanhada - valores mais altos de b^* (cor amarela) e a maior oxidação dos lipídios - valores mais elevados de TBARs, em relação à embalagem a vácuo. Relativamente à raça Minhota, este sistema de embalagem (MAP) parece ter influenciado a cor da carne, resultando uma carne menos vermelha, ou seja, valores de a^* (cor vermelha) mais baixos, assim como a dureza e a oxidação dos lipídios, obtendo-se uma carne mais dura e com maior oxidação lipídica, quando comparada com a embalada a vácuo.

A embalagem a vácuo contribuiu para uma carne mais vermelha e mais escura na raça Minhota. Apesar da composição da gordura em ácidos gordos das duas raças não diferir muito, quando se comparou na amostra de carne verificou-se que as amostras de raça Minhota apresentavam maior percentagem de ácidos gordos saturados, insaturados e MUFA, para além do teor de gordura total.

Relativamente às raças, para amostras embaladas nas mesmas condições de atmosfera, ou seja, a vácuo ou em MAP, a raça Holstein apresentou uma carne com teor de minerais mais elevado, mais tenra e mais magra, ou seja, com menor percentagem de gordura. Apesar do maior teor de gordura apresentado pela carne de raça Minhota, a oxidação dos lipídios foi menor nesta raça, e a sua cor mais avermelhada do que a da raça Holstein. Assim, a embalagem MAP parece ter influenciado a oxidação dos lipídios e a cor em ambas as raças e contribuído para uma carne mais dura e mais avermelhada na raça Minhota, e uma carne mais tenra e mais acastanhada na raça Holstein.

As amostras de carne das duas raças em estudo quando embaladas em MAP registaram maior degradação lipídica, com valores de TBARs acima do limiar para o aparecimento do sabor a ranço, no t_8 para a raça Holstein e no t_{18} para a Minhota. As amostras embaladas a vácuo – amostras controlo, apresentaram sempre valores menores de TBARs, o que parece sugerir que a atmosfera escolhida para este estudo não foi a mais adequada para prolongar o tempo de prateleira das amostras. No entanto, esta atmosfera rica em dióxido de carbono parece auxiliar a manutenção de um pH estável na carne.

Relativamente aos microrganismos a 30°C, verificou-se que o comportamento da carne das duas raças embaladas a vácuo foi idêntico, no entanto, quando as amostras

foram embaladas em MAP, as referentes à raça Holstein apresentaram um tempo de prateleira maior, sendo mesmo superior ao tempo de prateleira verificado para as amostras embaladas a vácuo – amostras controle.

Com o intuito de perceber a degradação lipídica e proteica nestas carnes e a sua evolução ao longo do tempo de prateleira, seria interessante proceder à identificação e quantificação dos ácidos gordos em todas as amostragens, assim como de aminos biogénicas ao longo do tempo. Outro estudo pertinente a realizar, seria conduzir um estudo semelhante, mas utilizando diferentes MAP para embalar amostras de carne das mesmas raças deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldai, N., Dugan, M. E. R., Kramer, J. K. G., Martínez, A., Lopez-Campos, O., Mantecon, A. R., Osoro, K. (2011). Length of concentrate finishing affects the fatty acid composition of grass-fed and genetically lean beef: An emphasis on trans-18:1 and conjugated linoleic acid profiles. *Animal*, 5(10), 1643-1652. <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731111000607>
- Alfaia, C. P. M., Alves, S. P., Martins, S. I. V., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., Lemos, J. P. C., Prates, J. A. M., (2009). Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry*, 114(3), 939-946. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.041>
- AOAC Official Method 969.33-1969 (1997). Fatty acids in oils and fats. Preparation of methyl esters boron trifluoride method.
- APCRF - Associação Portuguesa de Criadores de Raça Frísia. (2008). A Raça Holstein Frísia. Retrieved from <http://www.apcrf.pt/gca/?id=147>
- Arantes, S. M. P. (2014). *Importância do pH na carne de bovino embalada*. (Mestrado), Universidade do Minho, Biblioteca da Universidade do Minho.
- Araujo, J. P. (2005). *Caracterización etnológica, genética y productiva de la raza bovina Minhota*. (Doutoramento), Universidade de Santiago de Compostela.
- Barbosa, C. D. A. C. B. (2014). *Legumes minimamente processados e pré-cozidos mantidos em atmosfera modificada*. (Doutoramento), Universidade do Porto.
- Barbosa, E., e Vaz, P. S. (2014). Contributo para a Caracterização do Potencial Leiteiro da Raça Minhota. *Zootecnia*, 90-91. net/publication/276062778
- Barradas, M. I. G. (2015). *Estudo das características físico-químicas e nutricionais da carne de raça brava de lide*. (Mestrado), Universidade de Lisboa.
- Beriain, M. J., & Lizaso, G. (1998). Calidad-calidad de la carne de vacuno. EN: *Vacuno de carne: aspectos clave*, 2ª edición. Madrid: Ediciones Mundi Prensa.
- Cañeque, V., Velasco, S., Diaz, M. T., Huidobro, F. R., Pérez, C., Lauzurica, S. (2003). Use of whole barley with a protein supplement to fatten lambs under different management systems and its effect on meat and carcass quality. *Animal Research*, 52, 271-285. DOI: 10.1051/animres:2003020
- Carolino, M. I. A. C. M. (2015). *Influências Genéticas nas características da carcaça e carne em bovinos* (Doutoramento), Universidade de Lisboa

- Carrizosa, E., Benito, M. J., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Villalobos, M. D. C., Martín, A., & Córdoba, M. G. (2017). Bacterial communities of fresh goat meat packaged in modified atmosphere. *Food Microbiology*, 65, 57-63. doi:10.1016/j.fm.2017.01.023
- Cesar, A. S. M., Regitano, L. C. A., Mourão, G. B., Tullio, R. R., Lanna, D. P. D., Nassu, R. T., Mudado, M. A., Oliveira, P. S., do Nascimento, M. L., Chaves, A. S., Alencar, M. M., Sonstegard, T. S., Garrick, D. J., Reecy, J. M., Coutinho, L. L. (2014). Genome-wide association study for intramuscular fat deposition and composition in Nellore cattle. *BMC Genet*, 15, 39. doi:10.1186/1471-2156-15-39
- Cheng, J. H. (2016). Lipid Oxidation in Meat. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 06. doi:10.4172/2155-9600.1000494
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, 70(1-2), 31-48. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00196-8](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00196-8).
- Cruzen, S. M., Kim, Y. H. B., Lonergan, S. M., Grubbs, J. K., Fritchen, A. N., & Huff-Lonergan, E. (2015). Effect of early postmortem enhancement of calcium lactate/phosphate on quality attributes of beef round muscles under different packaging systems. *Meat Science*, 101, 63-72. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.11.004>
- Curi, R., Pompéia, C., Miyasaka, C.K., Procopio, J., (2002). *Entendendo a Gordura - Os ácidos graxos*, São Paulo: Editora Manole, 580p.
- Daley, C., Abbott, A., Doyle, S., Nader, G., & Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition journal*, 9, 10. doi:10.1186/1475-2891-9-10
- Dave, D. & Ghaly, A.E. (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6 (4), 486-510. doi:<https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.486.510>
- Doulgeraki, A. I., Paramithiotis, S., Kagkli, D. M., & Nychas, G.-J. E. (2010). Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *Food Microbiol*, 27(8), 1028-1034. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.004>
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F. Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130–141. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020.

- Dutra, W., & Silva, A. M. A. D. (2013). *Processamento de Carnes e Derivados* (CODAI, 2013 ed.). Recife: Rede e-Tec Brasil.
- Faria, M. M. (2007). *Os Cornos do Auroque – Raças de Bovinos no Entre Douro e Minho* (DRAP-N Ed. On-line ed.). Barcelos: Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Norte
- Fernandes, P. A. R. (2014). *Armazenamento hiperbárico de produtos cárneos à temperatura ambiente*. (Mestrado), Universidade de Aveiro.
- Ferreira, F.A., (1983). *Nutrição Humana*. Fundação Calouste Gulbenkian, 69-157p.
- Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I., Vlaeminck, B. (2012). Milk odd – and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function – An update. *Animal Feed Science Technology*, 173, 51-65. doi: 10.1016/j.anifeeds.2011.12.008.
- Garrido, M. D., Bañón, S. (2000). *Medida del pH*. IN: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en ruminantes (Cañeque, V., Sañudo, C., Eds.). Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, 145-155p.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J. F., & Culioli, J. (2001). Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reproduction Nutrition Development*, 41(1), 1-26. doi:10.1051/rnd:2001108
- Hedrick, H. B., Paterson, J. A., Matches, A. G., Thomas, J. D., Morrow, R. E., Stringer, W. G., Lipsey, R. J. (1983). Carcass and palatability characteristics of beef produced on pasture, corn silage and corn grain. *Journal of Animal Science*, 57, 791-801.
<https://doi.org/10.2527/jas1983.574791x>
- Heinz, G. & Hautzinger, P. (2007). *Meat processing technology for small-to medium-scale producers*. Bangkok: Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific.
- Humada, M. J., Serrano, E., Sañudo, C., Rolland, D. C., Dugan, M. E. R. (2012). Production system and slaughter age effects on intramuscular fatty acids from young Tucanda bulls. *Meat Science*, 90 (3), 678-685. doi: 10.1016/j.meatsci.2011.10.013. Epub 2011 Oct 31.
- Hunt, M. C., & King, D. (2012). Meat Color Measurement Guidelines. *American Meat Science Association*, Champaign, Illinois USA, 1-135.
- ISO 3960:2017. Animal and vegetable fats and oils — Determination of peroxide value — Iodometric (visual) endpoint determination.

- ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique.
- ISO 6887-2:2017. Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5-13.
doi:[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00053-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00053-5)
- Kelly, M., Tume, R., Newman, S., & Thompson, J. (2013). Genetic variation in fatty acid composition of subcutaneous fat in cattle. *Animal Production Science*, 53, 129.
doi:10.1071/AN12154
- Kim, Y. H., Huff-Lonergan, E., Sebranek, J. G., & Lonergan, S. M. (2010). High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat Science*, 85(4), 759-767.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.001>
- Kondjuyan, A., Oillic, S., Portanguen, S., & Gros, J.-B. (2013). Combined heat transfer and kinetic models to predict cooking loss during heat treatment of beef meat. *Meat Science*, 95(2), 336-344. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.061>
- Lagerstedt, Å., Lundström, K., & Lindahl, G. (2011). Influence of vacuum or high-oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef M. longissimus dorsi steaks after different ageing times. *Meat Science*, 87(2), 101-106.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.08.010>
- Lawrie, R. A. (2005). *Ciência da carne*, 6th ed., Porto Alegre: Artmed, 384p.
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B., Bugeon, J. (2016). How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *The Scientific World Journal*, 2016, Article ID 3182746, 14p.
<https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
- Liu, T., Wu, J.-P., Lei, Z.-M., Zhang, M., Gong, X.-Y., Cheng, S.-R., Liang, Y., Wang, J.-F. (2020). Fatty acid profile and meat quality of muscles from crossbred Angus-Simmental, Wagyu-Simmental, and Chinese Simmental cattles. *Food Science of Animal Resources*, 40(4), 563-577. doi: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e33>

- Łopacka, J., Póltorak, A., & Wierzbicka, A. (2016). Effect of MAP, vacuum skin-pack and combined packaging methods on physicochemical properties of beef steaks stored up to 12days. *Meat Science*, 119, 147-153. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.034>
- Machado, M. H. (2000). *Galega/Minhota*. EN: Catálogo de Raças Autóctones de Castela y Leão (Espanha) - Região Norte de Portugal - I. Espécies bovina e equina (Garcia, J. E. Y., Ed.), Fundação Afonso Henriques, 117-129pp.
- Mancini, R. A., Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121. doi: 10.1016/j.meatsci.2005.03.003. PMID: 22064056.
- Mantilla, S., Borges, S., Vital, H., Franco, R. (2010). Atmosfera modificada na conservação de alimentos. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 8(4), 437-448. doi: <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v8i4.11000>
- Martins, C. A. (2017). *Efeito do ph final sobre a qualidade da carne de bovinos da raça Nelore*. (Mestrado), ISA, Lisboa.
- Marume, U., Hugo, A., Y, C., Muchenje, V., & Dzama, K. (2012). Effect of dietary supplementation with Acacia karroo leaves on fatty acid profiles and consumer sensory attributes of Xhosa lop-eared goats under artificial haemonchosis. *Animal Production Science*, 52, 1099-1106. doi:10.1071/AN12097
- McMillin, K. W. (2017). Advancements in meat packaging. *Meat Science*, 132, 153-162. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.015>
- Milharadas, N. R. D. (2015). *Efeito da maturação e da suplementação da dieta com vitamina E sobre a tenrura e a estabilidade colorimétrica da carne de bovino*. (Mestrado), Universidade de Lisboa.
- Miller, M. (2007). Dark, Firm and Dry Beef. *Beef Facts - Product Enhancement*. National Cattlemen's Beef Association
- Moczkowska, M., Póltorak, A., Montowska, M., Pospiech, E., & Wierzbicka, A. (2017). The effect of the packaging system and storage time on myofibrillar protein degradation and oxidation process in relation to beef tenderness. *Meat Science*, 130, 7-15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.008>
- Modzelewska-Kapituła, M., Dąbrowska, E., Jankowska, B., Kwiatkowska, A., & Cierach, M. (2012). The effect of muscle, cooking method and final internal temperature on quality parameters of beef roast. *Meat Science*, 91(2), 195-202. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.021>

- Momot, M., Nogalski, Z., Pogorzelska-Przybyłek, P., Sobczuk-Szul, M. (2020). Influence of Genotype and Slaughter Age on the Content of Selected Minerals and Fatty Acids in the Longissimus Thoracis Muscle of Crossbred Bulls. *Animals*, 10(11), 2004.
doi: <https://doi.org/10.3390/ani10112004>
- Morrison, R., Boyd, R. (1993). *Química Orgânica*, 10ª edição, Fundação Calouste Gulbenkian, 1233-1361pp.
- Morrissey, P. A., & Kerry, J. (2004). Lipid oxidation and the shelf-life of muscle foods. IN: *Understanding and measuring the shelf-life of food* (Steele, R., Ed), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, pp. 357-395pp.
doi:<https://doi.org/10.1533/9781855739024.2.357>
- Mottin, C., Eiras, C. E., Chefer, D. M., Barcelos, V. C., Ramos, T. R., Prado, I. N. (2019). Influencing factors of consumer willingness to buy cattle meat: An analysis of survey data from three Brazilian cities. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41, 43871.
<https://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v41i1.43871>
- Murphy, K. M., O'Grady, M. N., & Kerry, J. P. (2013). Effect of varying the gas headspace to meat ratio on the quality and shelf-life of beef steaks packaged in high oxygen modified atmosphere packs. *Meat Science*, 94(4), 447-454.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.032>
- Nejad, J. G., Lee, B.-H., Kim, B.-W., Ohh, S.-J., & Sung, K. I. (2016). Effects of Chromium Methionine Supplementation on Blood Metabolites and Fatty Acid Profile of Beef during Late Fattening Period in Holstein Steers. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(3), 378-383. doi:10.5713/ajas.15.0421
- Norma Portuguesa 1612 (1979). Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da matéria gorda total.
- Norma Portuguesa 1613 (1979). Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da matéria gorda total.
- Norma Portuguesa 1614 (1979) Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da humidade.
- Norma Portuguesa 1615 (1979). Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da cinza total.
- Novaković, S., & Tomasevic, I. (2017). A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: a review. *IOP*

Conference Series: Earth and Environmental Science, 85, 012063. doi:10.1088/1755-1315/85/1/012063

- Nuernberg, K., Nuernberg, G., Ender, K., Lorenz, S., Winkler, K., Rickert, R., Steinhart, H. (2002). N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimus muscle in beef cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(8), 463 – 471. doi: [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200208\)104:8<463::AID-EJLT463>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200208)104:8<463::AID-EJLT463>3.0.CO;2-U)
- OMS – Organização Mundial da Saúde. (2003)- Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation, WHO technical report series no. 916, Geneva, Switzerland.
- Ordoñez, J.A.P. (2005). *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre: Artimed Editora, 279p.
- O'Sullivan, M. G., Le Floch, S., & Kerry, J. P. (2015). Resting of MAP (modified atmosphere packed) beef steaks prior to cooking and effects on consumer quality. *Meat Science*, 101, 13-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.10.030>
- Paulos, F. L. P. J. (2015). *Estudo da interrupção da refrigeração no prazo de validade de carne embalada em atmosfera protetora*. (Mestrado), Universidade de Lisboa.
- Pearson, M. e Young, R. B., (1989). *Muscle and meat biochemistry*. Food Science and Technology. A series monographs Edit. Academic Press, Inc.
- Pensel, N. (1997). The Future for Red Meat in Human Diets. *Outlook on Agriculture*, 26(3), 159-164. doi: <https://doi.org/10.1177/003072709702600305>
- Pereira, A. L. F. & Abreu, V. K. G. (2018). Peroxidação lipídica em carnes e produtos à base de carne. *IntechOpen*.
- Pereira, C. S. d. R. (2016). *Análise dos fatores que influenciam o valor do pH em vitela e vitelão*. (Mestrado), Instituto Politécnico de Santarém.
- Polkinghorne, R. J., Philpott, J., Perovic, J., Lau, J., Davies, L., Mudannayake, W., Watson, R., Tarr, G., Thompson, J. M. (2018). The effect of packaging on consumer eating quality of beef. *Meat Science*, 142, 59-64. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.002>
- Ponnampalam, E. N., David L. Hopkins, D. L., Bruce, H., Li, D., Baldi, G. Bekhit, A. El-d. (2017). Causes and Contributing Factors to “Dark Cutting” Meat: Current Trends and Future Directions: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 400-430. doi:<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12258>

- Prado, I. N., Moreira, F. B., Matsushita, M., & Souza, N. E. (2003). Longissimus dorsi fatty acids composition of *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred steers finished in pasture. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(4), 601-608. <https://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132003000400015>
- Prado, J. M., Prado, I. N., Visentainer, J. V., Rotta, P. P., Perotto, D., Moletta, J. L., Prado, I. M., Ducatti, T. (2009). The effect of breed on the chemical composition and fatty acid profile of the *Longissimus dorsi* muscle of Brazilian beef cattle. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 18(2), 231-240. doi:10.22358/jafs/66387/2009
- Priolo, A., Micol, D., Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat color and flavor - a review. *Animal Research*, 50, 185-200. <https://doi.org/10.1051/animres:2001125>
- Purslow, P. P., Oiseth, S., Hughes, J., & Warner, R. D. (2016). The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. *Food Research International*, 89, 739-748. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.010>
- Qwele, K., Hugo, A., Oyedemi, S. O., Moyo, B., Masika, P. J., & Muchenje, V. (2013). Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat Science*, 93(3), 455-462. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.009>
- Regulamento (CE) n. o 2073/2005 da Comissão Europeia de 15 de novembro de 2005. Jornal Oficial da União Europeia - L 338.
- Rodrigues, V. C., Andrade, I. F., (2004). Características físico-químicas da carne de bubalinos e de bovinos castrados e inteiros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(6), 1839-1849.
- Rossato, L. V., Bressan, M. C., Rodrigues, É. C., Carolino, M. I. A. C. M., Bessa, R. J. B., Alves, S. P. P. (2009). Composição lipídica de carne bovina de grupos genéticos taurinos e zebuínos terminados em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(9), 1841-1846. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000900029>
- Rossato, L. V., Bressan, M. C., Rodrigues, E. C., Gama, L. T., Bessa, R. J. B.; Alves, S. P. A. (2010). Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 1127-1134. DOI: 10.1590/ S1516 35982010000500025
- Sakai, T., Munasinghe, D. M. S., Kashimura, M., Sugamoto, K., & Kawahara, S. (2004). Effect of NaCl on lipid peroxidation-derived aldehyde, 4-hydroxy-2-nonenal formation in

- minced pork and beef. *Meat Science*, 66(4), 789-792. doi:[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00138-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00138-4)
- Santos-Silva, J., Mendes, I. A., & Bessa, R. (2002). The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livestock Production Science*, 76, 17-25. doi:[10.1016/S0301-6226\(01\)00334-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00334-7)
- Sañudo, C., Enser, M. E., Campo, M. M., Nute, G. R., Naria, G., Sierra, I., Wood, J. D. (2000). Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain. *Meat science*, 54 (4), .339-346.
doi:[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00108-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00108-4)
- Schumann, B. & Schmid, M. (2018). Packaging concepts for fresh and processed meat – Recent progresses. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 88-100. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.005>
- Scollan, N. (2003). Strategies for Optimising the Fatty Acid Composition of Beef. *Iger Innovations*. 42-45.
- Scollan, N., Hocquette, J. F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., Moloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat science*, 74 (1), 17-33.
doi: [10.1016/j.meatsci.2006.05.002](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.002).
- Scussat, S., Vaultot, C., Ott, F., Cayot, P., Delmotte, L., & Loupiac, C. (2017). The impact of cooking on meat microstructure studied by low field NMR and Neutron Tomography. *Food Structure*, 14, 36-45. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foostr.2017.06.002>
- Skandamis, P. N., & Nychas, G.-J. E. (2002). Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1), 35-45. doi:[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00177-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00177-0)
- Soria, L. A. & Corva, P. M., (2004). Factores genéticos ambientales que determinam la terneza de la carne bovina. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal*, 12 (2), 73-88.
- Srikantia, S. G. (1981). The Use of Biological Value of a Protein in Evaluating its Quality for Human Requirements. *WHO*: <http://www.fao.org/3/M2835E/M2835E00.htm>
- Tørngren, M. A., Darré, M., Gunvig, A., Bardenshtein, A. (2018). Case studies of packaging and processing solutions to improve meat quality and safety. *Meat Science*, 144, 149-158. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.018>

- Van Rooyen, L. A., Allena, P., O'Connor, D. I. (2018). Effect of muscle type and CO-pretreatment combinations on the colour stability, protein oxidation and shelf-life of vacuum packaged beef steaks. *Meat Science*, 145, 407-414.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.021>
- Vieira, C., Fernández, A. M., Posado, R., Bartolomé, D. J., Garcia, J. J. (2012). El vacuno de lidia como productor de carne de calidad. *Eurocarne*, 204, 106-116.
- Vyncke, W. (1975). Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 77(6), 239-240. doi:<https://doi.org/10.1002/lipi.19750770610>
- Warren, H.E., Scollan, N.D., Enser, M., Hughes, S.I., Richardson, R.I., Wood, J.D., (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science*, 78, 256-269. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.008>.
- Warriss, P. D. (2010). *Meat science: an introductory text*, 2nd ed. Wallingford, UK: Cambridge, Oxford: CABI
- Williams, P. (2007). Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics*, 64 (Suppl. 4), S113–S119. doi:[10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x)
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hugues, S.I., Whittington, F.M., (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78(4), 343-358. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019>
- Yang, X., Zhang, Y., Zhu, L., Han, M., Gao, S., & Luo, X. (2016). Effect of packaging atmospheres on storage quality characteristics of heavily marbled beef longissimus steaks. *Meat Science*, 117, 50-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.030>
- Yves, G., Dominique, B., Jean-François, H., & Joseph, C. (2001). Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reproduction, Nutrition, Development*, 41(1), 1-26. <https://doi.org/10.1051/rnd:2001108>
- Zakrys-Waliwander, P. I., O'Sullivan, M. G., Walsh, H., Allen, P., & Kerry, J. P. (2011). Sensory comparison of commercial low and high oxygen modified atmosphere packed sirloin beef steaks. *Meat Science*, 88(1), 198-202. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.027>
- Zakrys-Waliwander, P. I., O'Sullivan, M. G., Allen, P., O'Neill, E. E., & Kerry, J. P. (2010). Investigation of the effects of commercial carcass suspension (24 and 48h) on meat

quality in high oxygen modified atmosphere packed beef steaks during chill storage. *Food Research International*, 43(1), 277-284.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.10.005>

Zakrys-Waliwander, P. I., O'Sullivan, M. G., O'Neill, E. E., & Kerry, J. P. (2012). The effects of high oxygen modified atmosphere packaging on protein oxidation of bovine M. longissimus dorsi muscle during chilled storage. *Food Chemistry*, 131(2), 527-532.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.017>

Zhang, Y., Qin, L., Mao, Y., Hopkins, D. L., Han, G., Zhu, L., & Luo, X. (2018). Carbon monoxide packaging shows the same color improvement for dark cutting beef as high oxygen packaging. *Meat Science*, 137, 153-159.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.016>

Zubay, G.L., Parson, W.W., Vance, D.E. (1995). *Principles of Biochemistry*. WCB, USA, 379-484pp.

APÊNDICES

Tabela A.1 - Resultados da monitorização da composição de gases na atmosfera dentro da embalagem ao longo do tempo em ambas as raças estudadas.

Dia	Raça	O ₂ (%)		CO ₂ (%)		N ₂ (%)	
		CT ^a	CF ^b	CT	CF	CT	CF
4	Holstein	23,8	23,4	65,1	66,4	10,2	10,2
	Minhota	23,2	23,6	66,1	66,1	10,4	10,4
6	Holstein	22,7	23,4	67,1	65,1	10,3	11,4
	Minhota	22,4	22,7	63,1	65,8	14,5	11,6
8	Holstein	22,8	23,0	66,4	66,2	10,6	10,8
	Minhota	24,2	22,8	62,5	67,1	13,4	10,2
11	Holstein	21,1	20,1	62,4	65,0	16,5	14,1
	Minhota	22,9	18,5	63,9	70,7	13,2	10,8
14	Holstein	9,24	20,1	79,1	67,4	11,6	12,5
	Minhota	12,1	18,6	78,3	71,7	9,60	9,70
18	Holstein	17,8	13,3	70,3	73,8	11,9	13,0
	Minhota	15,7	14,7	73,0	75,5	11,3	9,80
21	Holstein	11,0	9,05	77,6	79,7	11,4	11,3
	Minhota	0,300	14,8	90,8	74,5	8,90	10,7
25	Holstein	0,349	0,184	87,7	88,6	11,9	11,3
	Minhota	10,8	6,94	72,0	78,3	17,2	14,8
32	Holstein	2,72	0,219	84,6	89,3	12,7	10,5
	Minhota	4,56	9,60	74,8	77,4	20,6	13,0

^a CT - *cuvete* trás

^b CF- *cuvete* frente

Resultados apresentados com 3 algarismos significativos.

Tabela A.2- Resultados obtidos na avaliação dos parâmetros de cor, L*, a*, b* e cromaticidade e tonalidade (C* e h°, respectivamente), ao longo do tempo para ambas as raças embaladas em MAP e vácuo. Valores médios e desvio padrão de n=10.

Dia	Raça	Atmosfera	L	a*	b*	h°	C*
0	Holstein	V	39,4 ± 1,9	18,2 ± 1,2	3,8 ± 3,5	0,21	18,5
		MAP					
	Minhota	V	37,9 ± 1,5	19,9 ± 1,3	6,0 ± 6,0	0,29	20,8
		MAP					
4	Holstein	V	36,3 ± 2,0	13,6 ± 2,0	3,1 ± 2,3	0,22	13,9
		MAP	43,0 ± 1,9	12,3 ± 2,7	4,5 ± 1,4	0,35	13,1
	Minhota	V	33,2 ± 2,5	18,5 ± 1,8	2,8 ± 6,6	0,15	18,7
		MAP	37,7 ± 4,5	17,0 ± 1,2	1,5 ± 3,3	0,090	17,0
6	Holstein	V	40,7 ± 2,9	17,8 ± 1,9	3,27 ± 0,74	0,18	18,1
		MAP	41,9 ± 2,3	16,82 ± 0,95	4,2 ± 4,2	0,25	17,3
	Minhota	V	40,3 ± 1,6	19,82 ± 0,94	1,8 ± 1,9	0,092	19,9
		MAP	32,7 ± 2,5	15,9 ± 1,9	1,28 ± 0,82	0,080	16,0
8	Holstein	V	38,3 ± 6,7	15,4 ± 4,7	2,7 ± 4,6	0,17	15,6
		MAP	43,8 ± 2,2	14,7 ± 3,1	9,8 ± 7,6	0,59	17,7
	Minhota	V	38,7 ± 2,7	16,3 ± 2,6	5,7 ± 4,0	0,33	17,3
		MAP	42,7 ± 3,7	17,0 ± 1,5	4,4 ± 1,8	0,25	17,5
11	Holstein	V	38,9 ± 4,1	13,5 ± 3,1	1,7 ± 2,2	0,12	13,6
		MAP	47,5 ± 2,6	15,3 ± 1,6	6,8 ± 6,7	0,42	16,7
	Minhota	V	37,1 ± 2,7	17,8 ± 2,2	2,6 ± 1,9	0,15	18,0
		MAP	46,6 ± 2,3	18,26 ± 0,52	3,7 ± 3,6	0,20	18,6
14	Holstein	V	41,2 ± 3,2	16,7 ± 1,2	5,8 ± 6,0	0,33	17,7
		MAP	40,3 ± 1,8	13,86 ± 0,42	11,9 ± 6,9	0,71	18,2
	Minhota	V	41,3 ± 1,7	18,3 ± 1,5	2,7 ± 2,0	0,15	18,5
		MAP	42,3 ± 5,5	15,6 ± 2,6	8,8 ± 5,0	0,51	18,0
18	Holstein	V	44,9 ± 3,6	15,2 ± 1,9	8,4 ± 1,5	0,51	17,3
		MAP	43,9 ± 5,1	16,8 ± 1,5	6,9 ± 6,6	0,39	18,2
	Minhota	V	37,4 ± 2,1	18,2 ± 1,8	5,4 ± 1,7	0,29	19,0
		MAP	51,7 ± 2,1	17,9 ± 1,4	10,5 ± 5,4	0,53	20,7
21	Holstein	V	48,4 ± 3,0	17,73 ± 0,82	2,3 ± 2,9	0,13	17,9
		MAP	42,9 ± 1,9	14,09 ± 0,55	7,7 ± 2,2	0,50	16,1
	Minhota	V	44,3 ± 1,4	17,7 ± 1,3	1,6 ± 2,9	0,090	17,8
		MAP	45,8 ± 3,1	15,97 ± 0,50	2,9 ± 3,6	0,18	16,2
25	Holstein	V	45,0 ± 4,2	18,21 ± 0,71	3,0 ± 2,0	0,16	18,5
		MAP	43,7 ± 2,0	17,9 ± 1,5	4,1 ± 3,9	0,23	18,4
	Minhota	V	44,7 ± 2,5	18,7 ± 2,0	3,7 ± 2,9	0,20	19,0
		MAP	45,4 ± 3,5	17,5 ± 1,0	2,0 ± 1,7	0,12	17,6
32	Holstein	V	49,5 ± 3,2	19,06 ± 0,68	3,1 ± 3,6	0,16	19,3
		MAP	45,0 ± 2,2	16,2 ± 1,7	9,0 ± 4,8	0,51	18,5
	Minhota	V	45,1 ± 1,7	18,4 ± 1,2	3,9 ± 4,3	0,21	18,8
		MAP	42,2 ± 2,6	16,8 ± 1,2	10,6 ± 2,7	0,56	19,9

Tabela A.3- Resultados da análise estatística, valor *p* do *post hoc test-t* student, aplicada aos dados de todas as amostras em estudo: raças bovinas - Holstein vs Minhota e dos sistemas de embalagem -Vácuo vs MAP.

Parâmetros	<i>test-t</i>				
	H-V vs. H-MAP	M-V vs. M-MAP	H-V vs. M-V	H-MAP vs. M-MAP	
<i>Cooking loss</i>	0,639	0,408	0,382	0,790	
<i>Drip loss</i>	0,488	0,724	0,424	0,944	
pH	0,189	0,358	0,090	0,539	
Cor	L	0,570	0,230	0,019	0,684
	a*	0,147	0,028	0,010	0,013
	b*	0,010	0,164	0,904	0,115
	h°	0,010	0,147	0,523	0,037
	C*	0,641	0,325	0,011	0,107
Humidade	0,319	0,218	0,108	0,081	
Cinza	0,330	0,399	0,090	0,039	
Proteína	0,449	0,143	0,624	0,127	
Gordura	0,184	0,245	0,021	0,016	
Ácidos gordos	SFA ^a	0,277	0,718	0,300	0,572
	MUFA ^a	0,225	0,213	0,241	0,051
	PUFA ^a	0,165	0,393	0,067	0,044
	Insaturados ^a	0,277	0,718	0,300	0,572
	SFA ^b	0,329	0,234	0,015	0,023
	MUFA ^b	0,094	0,222	0,035	0,008
	PUFA ^b	0,186	0,704	0,287	0,895
	Insaturados ^b	0,101	0,264	0,034	0,011
TBARs	0,001	0,001	0,978	0,010	
Peróxidos	0,343	0,703	0,343	0,493	
Textura	0,723	0,002	0,936	0,0004	
Microrganismos aeróbios a 30 °C	0,136	0,340	0,172	0,160	

^a Resultados expressos em % de AG na gordura

^b Resultados expressos em % de AG na amostra

Tabela A.4- Resultados obtidos nas determinações de pH ao longo do tempo, das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo. Valores médios e desvio padrão de n=4.

Dia	Holstein		Minhota	
	V	MAP	V	MAP
0	5,43 ± 0,01	5,43 ± 0,01	5,50 ± 0,03	5,50 ± 0,03
4	5,48 ± 0,02	5,44 ± 0,01	5,49 ± 0,02	5,61 ± 0,02
6	5,54 ± 0,01	5,45 ± 0,01	5,50 ± 0,02	5,43 ± 0,02
8	5,47 ± 0,02	5,42 ± 0,02	5,46 ± 0,01	5,39 ± 0,02
11	5,44 ± 0,01	5,45 ± 0,01	5,41 ± 0,02	5,36 ± 0,01
14	5,44 ± 0,03	5,39 ± 0,01	5,41 ± 0,07	5,47 ± 0,04
18	5,46 ± 0,00	5,35 ± 0,02	5,41 ± 0,02	5,45 ± 0,07
21	5,43 ± 0,01	5,42 ± 0,01	5,32 ± 0,01	5,46 ± 0,01
25	5,37 ± 0,03	5,37 ± 0,08	5,32 ± 0,04	5,46 ± 0,04
32	5,31 ± 0,04	5,40 ± 0,03	5,24 ± 0,03	5,19 ± 0,02

Resultados apresentados com 2 casas decimais.

Tabela A.5 - Valores de “cooking loss” e “drip loss” (%) das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo.

Dia	Cooking Loss (%)				Drip loss (%)			
	Minhota		Holstein		Minhota		Holstein	
	Vácuo	MAP	Vácuo	MAP	Vácuo	MAP	Vácuo	MAP
0	25,8	25,8	29,1	29,1	8,6	8,57	6,14	6,14
4	26,6	28,1	25,5	26,8	12,4	8,91	8,90	6,78
6	30,4	19,6	23,6	25,7	3,31	5,59	4,64	7,34
8	28,4	24,0	27,6	29,0	8,94	6,69	11,9	11,6
11	29,0	26,0	25,7	25,9	7,23	7,33	6,73	4,27
14	24,8	33,7	30,6	23,6	8,15	9,75	12,4	14,6
18	29,3	29,5	24,2	25,2	6,27	9,38	6,76	4,41
21	28,2	36,0	27,1	26,2	9,94	7,36	13,0	14,8
25	25,6	23,5	32,7	35,5	6,07	7,78	6,32	4,73
32	26,9	29,2	28,0	22,2	6,13	8,34	6,69	3,94

Tabela A.6- Resultados da análise da dureza (teste WBSF, em N/cm²) das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo (teste WBSF). Valores médios e desvio padrão de n=4.

Dia	Holstein		Minhota	
	V	MAP	V	MAP
0	68,5 ± 4,4		68,4 ± 3,6	
4	45,9 ± 5,4	46,8 ± 7,5	58,6 ± 7,7	65,1 ± 7,6
6	47,6 ± 6,5	33,4 ± 5,5	45,2 ± 6,6	47,0 ± 6,5
8	48,3 ± 8,1	44,4 ± 9,2	34,3 ± 7,3	54,7 ± 5,0
11	30,3 ± 3,5	37,5 ± 6,5	48,8 ± 2,9	54,5 ± 3,0
14	32,1 ± 7,5	48,9 ± 1,7	33,0 ± 8,6	52,0 ± 5,7
18	33,6 ± 6,5	28,7 ± 5,4	26,0 ± 7,3	43,6 ± 3,0
21	11,8 ± 2,8	12,0 ± 2,1	13,8 ± 5,1	23,5 ± 2,9
25	14,3 ± 2,4	9,56 ± 0,48	10,1 ± 2,8	17,4 ± 5,0
32	18,3 ± 3,8	11,1 ± 3,8	9,8 ± 1,7	17,1 ± 2,2

Tabela A.7- Teor de humidade, cinza, proteína e gordura das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo, expressos em percentagem média (%; n=2).

Dia	Amostra		Humidade	Cinza	Proteína	Gordura
0	Holstein	V	73,1 ± 1,1	1,157 ± 0,024	23,06 ± 0,52	3,072 ± 0,042
		MAP	73,1 ± 1,1	1,157 ± 0,024	23,06 ± 0,52	3,072 ± 0,042
	Minhota	V	72,66 ± 0,19	1,107 ± 0,014	22,95 ± 0,20	4,857 ± 0,061
		MAP	72,66 ± 0,19	1,107 ± 0,014	22,95 ± 0,20	4,857 ± 0,061
4	Holstein	V	71,15 ± 0,28	1,1361 ± 0,0015		
		MAP	72,159 ± 0,093	1,1934 ± 0,0048		
	Minhota	V	71,508 ± 0,027	1,15001 ± 0,00054		
		MAP	69,51 ± 0,12	1,0799 ± 0,0046		
6	Holstein	V	75,48 ± 0,42	1,2087 ± 0,0066		
		MAP	74,06 ± 0,35	1,199 ± 0,028		
	Minhota	V	73,316 ± 0,0054	1,1627 ± 0,0070		
		MAP	73,65 ± 0,54	1,1319 ± 0,0011		
8	Holstein	V	71,470 ± 0,011	1,14850 ± ,00011		
		MAP	72,10 ± 0,58	1,1318 ± 0,0044		
	Minhota	V	73,46 ± 0,20	1,2228 ± 0,0061		
		MAP	72,745 ± 0,019	1,2134 ± 0,0049		
11	Holstein	V	72,01 ± 0,58	1,1635 ± 0,0056		
		MAP	70,6 ± 1,2	1,127 ± 0,013		
	Minhota	V	70,95 ± 0,80	1,132 ± 0,021		
		MAP	72,07 ± 0,46	1,182 ± 0,011		
14	Holstein	V	74,063 ± 0,092	1,16117 ± 0,00080		
		MAP	73,03 ± 0,17	1,181 ± 0,007		
	Minhota	V	72,2 ± 1,0	1,0799 ± 0,0082		
		MAP	70,914 ± 0,056	1,034 ± 0,016		
18	Holstein	V	73,913 ± 0,064	1,1429 ± 0,0089		
		MAP	73,24 ± 0,38	1,1646 ± 0,0039		
	Minhota	V	72,66 ± 0,17	1,150 ± 0,0026		
		MAP	72,4211 ± 0,0022	1,088 ± 0,024		
21	Holstein	V	72,8 ± 1,0	1,145 ± 0,021	25,082 ± 0,052	2,785 ± 0,041
		MAP	73,08 ± 0,75	1,2317 ± 0,0043	25,31 ± 0,25	1,6916 ± 0,0033
	Minhota	V	72,07 ± 0,21	1,0806 ± 0,0044	24,66 ± ,59	4,639 ± 0,043
		MAP	72,39 ± 0,23	1,1400 ± 0,0069	23,48 ± 0,19	4,866 ± 0,037
25	Holstein	V	73,686 ± 0,043	1,200 ± 0,034	26,201 ± 0,092	1,25044 ± 0,00077
		MAP	73,85 ± 0,29	1,183 ± 0,026	25,99 ± 0,25	1,1122 ± 0,0089
	Minhota	V	73,23 ± 0,26	1,111 ± 0,025	25,80 ± 0,42	2,141 ± 0,036
		MAP	72,7 ± 1,3	1,112 ± 0,040	24,63 ± 0,67	3,008 ± 0,087
32	Holstein	V	73,660 ± 0,025	1,165 ± 0,016	25,44 ± 0,31	1,860 ± 0,047
		MAP	73,320 ± 0,066	1,1799 ± 0,0026	26,0 ± 0,15	1,418 ± 0,033
	Minhota	V	72,71 ± 0,24	1,1334 ± 0,0062	25,92 ± 0,68	3,008 ± 0,087
		MAP	71,93 ± 0,40	1,12101 ± 0,00091	25,758 ± 0,070	2,649 ± 0,054

Tabela A.8- Valores médios (n=2) do teor de cinza, proteína, gordura no resíduo seco das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo.

Dia	Amostra		Cinza (%)	Proteína (%)	Gordura (%)
0	Holstein	V	4,307 ± 0,089	85,9 ± 1,9	11,04 ± 0,16
		MAP	4,307 ± 0,089	85,9 ± 1,9	11,04 ± 0,16
	Minhota	V	4,049 ± 0,051	83,95 ± 0,74	17,76 ± 0,2
		MAP	4,049 ± 0,051	83,95 ± 0,74	17,76 ± 0,2
4	Holstein	V	3,9382 ± 0,0053		
		MAP	4,286 ± 0,017		
	Minhota	V	4,0362 ± 0,0019		
		MAP	3,541 ± 0,015		
6	Holstein	V	4,929 ± 0,027		
		MAP	4,62 ± 0,11		
	Minhota	V	4,357 ± 0,026		
		MAP	4,2952 ± 0,0041		
8	Holstein	V	4,02558 ± 0,00038		
		MAP	4,057 ± 0,016		
	Minhota	V	4,607 ± 0,023		
		MAP	4,2951 ± 0,0041		
11	Holstein	V	4,157 ± 0,020		
		MAP	3,830 ± 0,0044		
	Minhota	V	3,895 ± 0,073		
		MAP	4,452 ± 0,018		
14	Holstein	V	4,477 ± 0,003		
		MAP	4,381 ± 0,027		
	Minhota	V	3,884 ± 0,030		
		MAP	3,557 ± 0,055		
18	Holstein	V	4,381 ± 0,034		
		MAP	4,352 ± 0,014		
	Minhota	V	4,207 ± 0,010		
		MAP	3,944 ± 0,088		
21	Holstein	V	4,211 ± 0,079	92,20 ± 0,19	10,24 ± 0,15
		MAP	4,576 ± 0,016	94,02 ± 0,55	6,284 ± 0,012
	Minhota	V	3,868 ± 0,016	88,3 ± 2,1	16,61 ± 0,15
		MAP	4,129 ± 0,025	85,05 ± 0,67	17,63 ± 0,13
25	Holstein	V	4,56 ± 0,13	99,57 ± 0,35	4,7521 ± 0,0029
		MAP	4,52 ± 0,10	99,38 ± 0,96	4,253 ± 0,034
	Minhota	V	4,150 ± 0,095	96,4 ± 1,6	8,00 ± 0,13
		MAP	4,08 ± 0,15	90,3 ± 2,4	11,03 ± 0,32
32	Holstein	V	4,422 ± 0,061	96,6 ± 1,2	7,06 ± 0,18
		MAP	4,423 ± 0,010	97,45 ± 0,54	5,31 ± 0,12
	Minhota	V	4,154 ± 0,023	95,0 ± 2,5	9,51 ± 0,26
		MAP	3,9937 ± 0,0033	91,77 ± 0,25	9,44 ± 0,19

Tabela A.9- Resultados obtidos do índice de ácido 2-tiobarbitúrico (n=2) e para o índice de peróxidos (n=1) ao longo do tempo.

Dia	Raça	Atmosfera	TBARs (mg (MDA)/kg (amostra))	Peróxidos (meq/kg (amostra))
0	Holstein	V	0,459 ± 0,011	n.d.
		MAP		
	Minhota	V	0,387 ± 0,012	n.d.
		MAP		
4	Holstein	V	0,795 ± 0,039	n.d.
		MAP	1,629 ± 0,016	n.d.
	Minhota	V	0,682 ± 0,018	n.d.
		MAP	1,583 ± 0,059	n.d.
6	Holstein	V	0,653 ± 0,010	n.d.
		MAP	2,128 ± 0,012	n.d.
	Minhota	V	0,685 ± 0,017	n.d.
		MAP	0,91291 ± 0,00056	n.d.
8	Holstein	V	0,489 ± 0,023	n.d.
		MAP	2,797 ± 0,049	n.d.
	Minhota	V	0,4343 ± 0,0082	n.d.
		MAP	1,828 ± 0,029	n.d.
11	Holstein	V	0,780 ± 0,026	n.d.
		MAP	2,825 ± 0,026	n.d.
	Minhota	V	0,5442 ± 0,0010	n.d.
		MAP	1,8339 ± 0,0014	n.d.
14	Holstein	V	0,658 ± 0,022	n.d.
		MAP	4,55 ± 0,13	n.d.
	Minhota	V	0,4689 ± 0,0121	n.d.
		MAP	1,933 ± 0,021	n.d.
18	Holstein	V	0,497 ± 0,012	n.d.
		MAP	5,306 ± 0,029	n.d.
	Minhota	V	0,4978 ± 0,0028	n.d.
		MAP	2,4481 ± 0,0059	n.d.
21	Holstein	V	0,3849 ± 0,0066	n.d.
		MAP	5,367 ± 0,011	n.d.
	Minhota	V	1,1363 ± 0,0049	n.d.
		MAP	1,616 ± 0,023	n.d.
25	Holstein	V	0,2598 ± 0,0022	n.d.
		MAP	2,922 ± 0,018	n.d.
	Minhota	V	0,2765 ± 0,0014	n.d.
		MAP	3,095 ± 0,069	0,0080
32	Holstein	V	0,322 ± 0,013	0,0297
		MAP	3,519 ± 0,049	0,0482
	Minhota	V	0,2090 ± 0,0031	0,0306
		MAP	2,346 ± 0,019	0,0155

Resultados apresentados com 2 algarismos significativos no mínimo.
n.d. - não detetável.

Tabela A.10- Resultados obtidos para os ácidos gordos (AG) na gordura e nas amostras de carne ao longo do tempo(n=1), expressos em percentagem (%).

Matriz	Dia	Raça	Atmosfera	Ácidos gordos – AG (%)				$\frac{PUFA}{MUFA}$	$\frac{PUFA}{SFA}$	$\frac{MUFA}{SFA}$
				SFA ^a	MUFA ^b	PUFA ^c	UFA ^d			
Gordura^e	0	Holstein		47,8	41,3	10,9	52,2	0,265	0,229	0,863
		Minhota		46,9	48,6	4,52	53,1	0,0930	0,0964	1,04
	21	Holstein	V	50,8	40,5	8,65	49,2	0,213	0,170	0,797
			MAP	49,8	40,1	10,1	50,2	0,253	0,203	0,804
		Minhota	V	52,7	41,9	5,46	47,3	0,130	0,104	0,795
			MAP	51,4	43,2	5,43	48,6	0,126	0,106	0,839
	25	Holstein	V	38,7	43,7	17,6	61,3	0,403	0,456	1,13
			MAP	48,8	31,7	19,5	51,2	0,613	0,398	0,649
		Minhota	V	49,4	43,9	6,65	50,6	0,151	0,134	0,888
			MAP	47,9	45,4	6,68	52,1	0,147	0,140	0,949
	32	Holstein	V	47,8	43,3	8,86	52,2	0,204	0,185	0,906
			MAP	52,2	38,9	8,96	47,8	0,231	0,172	0,745
		Minhota	V	49,1	44,1	6,86	50,9	0,156	0,140	0,897
			MAP	50,7	43,9	5,33	49,3	0,121	0,105	0,866
Amostra^f	0	Holstein		1,47	1,27	0,336	1,60	0,265	0,229	0,863
		Minhota		2,28	2,36	0,220	2,58	0,0930	0,0964	1,04
	21	Holstein	V	1,42	1,13	0,241	1,37	0,213	0,170	0,797
			MAP	0,843	0,678	0,171	0,849	0,253	0,203	0,804
		Minhota	V	2,44	1,94	0,253	2,20	0,130	0,104	0,795
			MAP	2,50	2,10	0,264	2,36	0,126	0,106	0,839
	25	Holstein	V	0,483	0,547	0,220	0,767	0,403	0,456	1,13
			MAP	0,543	0,353	0,216	0,569	0,613	0,398	0,649
		Minhota	V	1,06	0,940	0,142	1,08	0,151	0,134	0,888
			MAP	1,44	1,37	0,201	1,57	0,147	0,140	0,949
	32	Holstein	V	0,890	0,806	0,165	0,97	0,204	0,185	0,906
			MAP	0,740	0,551	0,127	0,678	0,231	0,172	0,745
		Minhota	V	1,27	1,14	0,178	1,32	0,156	0,140	0,897
			MAP	1,34	1,16	0,141	1,31	0,121	0,105	0,866

^a Ácidos gordos saturados (Saturated Fatty Acids – SFA) identificados: SFA.

Σ SFA = C4:0 + C6:0 + C8:0 + C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0.

^b Ácidos gordos monoinsaturados (Monounsaturated Fatty Acids – MUFA) identificados: MUFA.

Σ MUFA = C14:1 + C15:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1t9 + C18:1c9 + C20:1 + C22:1.

^c Ácidos gordos polinsaturados (Polyunsaturated Fatty Acids – PUFA) identificados: PUFA.

Σ PUFA = C18:2c9,12 + C18:3t9,12,15 + C18:3 + C20:2c11,14 + C20:3c8,11,14 + C20:3c11,14,17 + C20:4 + C22:2.

^d Ácidos gordos insaturados (Unsaturated Fatty Acids – UFA): Σ UFA = MUFA + PUFA.

^e Percentagem de ácidos gordos na gordura total.

^f Percentagem de ácidos gordos na amostra de carne.

Resultados apresentados com 3 algarismos significativos.

Tabela A.11- Resultados obtidos na determinação de ácidos gordos na gordura das amostras de carne no tempo inicial, expressos em percentagem (%).

Ácido gordo (AG)	% (AG/gordura)		% (AG/amostra carne)	
	Holstein	Minhota	Holstein	Minhota
C4:0	0,0088	0,0067	0,00027	0,00034
C6:0	0,0746	0,0264	0,00229	0,00128
C8:0	0,0109	0,0079	0,00033	0,00038
C10:0	0,0506	0,0443	0,0016	0,00215
C12:0	0,0826	0,0837	0,0025	0,0041
C14:0	3,48	4,56	0,107	0,222
C14:1	0,861	1,66	0,0265	0,0806
C15:0	0,555	0,537	0,0170	0,0261
C15:1	0,0275	0,0156	0,00084	0,00076
C16:0	28,22	29,17	0,867	1,417
C16:1	3,62	6,70	0,111	0,326
C17:0	1,06	1,05	0,0325	0,0509
C17:1	0,530	0,797	0,0163	0,0387
C18:0	13,85	10,68	0,426	0,519
C18:1t9	0,0298	0,0202	0,00091	0,00098
C18:1c9	36,01	39,21	1,11	1,90
C18:2t9,12(C19)	-	-	-	-
C18:2c9,12	8,96	3,67	0,275	0,178
C20:0	0,0836	0,0643	0,00257	0,00312
C18:3t9,12,15	0,0282	0,0201	0,00087	0,00098
C20:1	0,163	0,190	0,00501	0,00923
C18:3	0,283	0,226	0,00871	0,0110
C21:0	0,288	0,602	0,00886	0,0292
C20:2c11,14	0,0740	0,0294	0,00227	0,00143
C22:0	0,0503	0,0405	0,00154	0,00197
C20:3c8,11,14	0,375	0,206	0,0115	0,0100
C22:1	0,0105	0,00707	0,00032	0,00034
C20:3c11,14,17	0,0397	0,0290	0,00122	0,00141
C20:4	1,17	0,327	0,0358	0,0159
C22:2	0,0686	0,00992	0,00021	0,00048

Resultados apresentados no mínimo com 2 algarismos significativos.

Tabela A.12- Resultados obtidos na avaliação sensorial das amostras de carne Holstein Frísia e Minhota, em MAP e vácuo, ao longo do tempo. Pontuações médias (\pm desvio padrão) atribuídas pelo painel de provadores treinado.

Dia	Raça	Atmosfera	Cheiro característico	Dureza	Suculência	Masticabilidade
0	Holstein		5 \pm 0	1 \pm 0	5 \pm 0	1 \pm 0
	Minhota		5 \pm 0	1,3 \pm 0,5	5 \pm 0	1,5 \pm 0,6
4	Holstein	V	5 \pm 0	2 \pm 0	5 \pm 0	1 \pm 0
		MAP	5 \pm 0	1 \pm 0	3,8 \pm 0,5	2 \pm 0
	Minhota	V	5 \pm 0	1,3 \pm 0,5	3 \pm 0	1 \pm 0
		MAP	5 \pm 0	1 \pm 0	5 \pm 0	1,3 \pm 0,5
6	Holstein	V	5 \pm 0	1 \pm 0	4 \pm 0	1 \pm 0
		MAP	3 \pm 0	2,8 \pm 0,5	3 \pm 0	2 \pm 0
	Minhota	V	5 \pm 0	1 \pm 0	4 \pm 0	1,5 \pm 0,6
		MAP	5 \pm 0	1 \pm 0	4 \pm 0	2,3 \pm 0,5
8	Holstein	V	5 \pm 0	1 \pm 0	4 \pm 0	1 \pm 0
		MAP	2,5 \pm 0,6	3 \pm 0	4 \pm 0	1 \pm 0
	Minhota	V	5 \pm 0	1 \pm 0	4 \pm 0	1,5 \pm 0,6
		MAP	3 \pm 0	1 \pm 0	3,8 \pm 0,5	1,3 \pm 0,5
11	Holstein	V	5 \pm 0	1 \pm 0	3,0 \pm 0,8	1 \pm 0
		MAP	3,3 \pm 0,5	2 \pm 0	3,3 \pm 1,3	2 \pm 0
	Minhota	V	5 \pm 0	1 \pm 0	3,8 \pm 0,5	1,8 \pm 0,5
		MAP	3 \pm 0	4 \pm 0	2,8 \pm 0,5	1,8 \pm 1,0

Resultados apresentados no mínimo com 1 algarismo significativo e máximo 2 algarismos significativos.

Tabela A.13- Valores das correlações dos parâmetros físico-químicos estudados com as componentes principais e respectivos valores próprios (*eigenvalues*) da matriz de correlação.

	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5
<i>Cooking loss</i>	0.036	0.001	-0.189	0.677	-0.528
<i>Drip loss</i>	-0.146	-0.632	0.008	0.034	-0.232
pH	-0.614	-0.119	0.403	-0.080	-0.100
L	0.511	-0.041	-0.456	0.450	-0.059
a*	-0.153	0.689	-0.355	0.067	0.099
b*	0.278	-0.660	-0.170	0.257	0.371
Humidade	0.314	0.432	0.300	0.531	0.395
Cinza	0.373	0.117	0.712	0.293	0.255
Proteína	0.892	0.019	0.006	-0.248	-0.260
Peróxidos	0.590	0.176	-0.344	-0.214	0.332
TBARs	0.391	-0.668	0.071	0.191	0.239
SFA	-0.788	-0.087	-0.410	0.124	0.213
MUFA	-0.816	-0.061	-0.389	0.082	0.276
PUFA	-0.678	0.147	0.215	0.426	-0.167
Textura	-0.775	-0.112	0.262	-0.116	0.168
<i>Eigenvalue</i>	4.644	2.050	1.716	1.467	1.126
% variância total	30.96	13.66	11.44	9.779	7.509
<i>Eigenvalue cumulativo</i>	4.644	6.694	8.410	9.877	11.00
% cumulativa	30.96	44.63	56.07	65.85	73.35

ANEXOS

i- Ficha técnica do filme de alta barreira de Oxigénio

Technical data sheet

Product : OPEX 55 AB - PA/EVOH(Barrier)/PE
High barrier covering film

Mechanical properties

	Test method	Test conditions	Results	Units
Total thickness	na		55	μ
Breaking load	ISO 527	longitudinal cross machine	>12 >10	N/15mm
Tensile at break				
Longitudinal direction	na			N/mm ²
Cross machine direction	na			N/mm ²
Elongation at break				
Longitudinal direction	na			%
Cross machine direction	na			%
Coefficient of friction	na			μ k
Shrinkage	na			%
Brilliance	na			%
Opacity	na			%
Sealing temperature range			130 to 140	°C
Forming temperature range			na	°C
Thermal treatment resistance			0 to 85	°C

Barrier properties

	Test method	Test conditions	Résultats	Units
Gas permeability				
O ₂	DIN 53380	At 23°C and with 75% of relative air humidity	2	cm ³ /m ² .24h.bar
N ₂	DIN 53380		< 0.2	cm ³ /m ² .24h.bar
CO ₂	DIN 53380		5.4	cm ³ /m ² .24h.bar
Water vapour perméability	DIN 53122	At 23°C and with 85% of relative air humidity	2.00	g/m ² .24h atm

Further information :

Thermal treatment resistance : subject to real use test conditions

Antifog treatment, transparent

These data are confidential and consequently can't be copied or brought to a third's notice.

COMPLEXES :

- > Films haute barrière
- > Transparents ou aluminisés
- > Imprimés ou neutres
- > En bobines ou en sacs

MACHINES À VIDE :

- > Simple et double cloche automatique à tapis
- > Operculeuse - thermoformeuse
- > Pompe à vide
- > Bac de rétraction

MACHINES DE PRÉPARATION :

- > A éplucher : viande et poisson
- > A découper
- > Scie à os

OPEX 55 AB
 PA/EVOH(Barrier)/PE
 130 to 140 °C
 0 to 85 °C
 2 cm³/m².24h.bar
 < 0.2 cm³/m².24h.bar
 5.4 cm³/m².24h.bar
 2.00 g/m².24h atm

ii- Ficha técnica da *cuvete*/bandeja

COOPBOX HISPANIA S.L.U.	FICHA TECNICA COMERCIAL	Revisión N°: 4
		Fecha: 03-11-06
REGISTRO GC10VE0407		
Bandeja barrera constituida en tres laminas: lamina exterior en Poliestireno expandido (EPS), lamina central en HIPS, y film barrera con capa en PE en el interior.		

Código Artículo	Descripción Artículo			Confección	Código
	Modelo	Color	Tipología	Uds/Paq	EAN-13
CX2280B	B22-80	Blanco	Aerpack	250	8435163450973

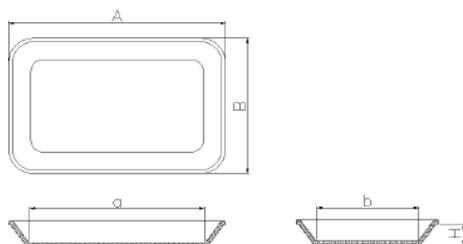
Datos Bandeja				Toler.
A - Largo Exterior	250	mm		+ _ 2mm
B - Ancho Exterior	180	mm		
a - Largo Util Interior	175	mm		
b - Ancho Util Interior	105	mm		+ _ 1 mm
H - Altura	80	mm		
Peso Mínimo	20	Peso Máximo	22,1	gr

Datos Paquete					
N° Filas/Paquete				6	filas
N° Bandejas/Fila				42	uds
N° Real Bandejas/Paquete				252	uds
Dimensiones Paquete	Alto	Ancho	Largo	---	
	36,0	76,0	96,0	cm	
Volumen Paquete				0,263	m³

El producto aquí especificado ha sido fabricado por COOPBOX HISPANIA S.L.U., y esta identificado con la marca cxi

NUMERO DE REGISTRO SANITARIO 39/02275/MU

cxi



COOPBOX HISPANIA S.L.U.

Certificada por AENOR según Norma UNE-EN ISO 9001:2000
Para: El diseño y la producción de envases y embalajes de poliestireno expandido destinados al envasado de alimentos.
Numero de registro: ER-0058/1999



Cada saco es identificado con una etiqueta para la identificación del producto y lote de fabricación.
(Esta etiqueta será imprescindible para cualquier reclamación).

Nuestros productos cumplen la legislación nacional y comunitaria sobre plásticos en contacto con alimentos, en todos sus apartados.
Están empaquetados y envasados atendiendo a las especificaciones de la reglamentación técnico sanitaria.



Bandejas aptas para entrar en contacto con alimentos.
Las sustancias empleadas en su fabricación están incluidas en la lista positiva de sustancias de partida autorizadas para utilizarse en la fabricación de materiales y objetos plásticos.



Bandejas fabricadas con: Poliestireno cristal.
Sin recuperado procedente del exterior de nuestras instalaciones y sin CFC o HCFC.
Reciclaje: Nuestros productos son fácilmente reciclables.

*Esta información técnica se ofrece como guía para el usuario, pero sin que sirva de garantía.
El usuario deberá comprobar si el producto es adecuado para su proceso y aplicación.*

COOPBOX HISPANIA S.L.U. - POLIG. IND. S.APRELORCA - BUZON N°81 - AVDA. RIO GUADALENTIN - PARCELAS C13 A C17 - 30817 - LORCA (MURCIA)
TLF: 968 478 000 FAX: 968 478 001 CIF: B-73412405



iii- Ficha técnica do saco de vácuo



FICHA TÉCNICA

SACOS DE VÁCUO COM TRÊS SOLDADURAS PA/PE – 90

Composição	COEX. PA/PE – 20/70
Nº de camadas	3

Propriedades	Unidade	Método de Teste		Valores
Espessura	µm	DIN 53 370		90 +/- 10%
Peso por área	g/m ²	DIN ISO 536		82.2 +/- 10%
Resistência á ruptura (Média)	N/15mm	DIN EN ISO 527 -1 até -5	Long.	>40
			Transv.	>30
Alongamento (Média)	%	DIN EN ISO 527 -1 até -5	Long.	>200
			Transv.	>250
Resistência de Soldadura	N/15mm		150°C / 1,0seg / 5bar	>25
Permeabilidade O2	cm ³ /m ² dbar	DIN 53380	23°C / 0% HR	50
Permeabilidade CO2	cm ³ /m ² dbar	DIN 53380	23°C / 0% HR	150
Permeabilidade N2	cm ³ /m ² dbar	DIN 53380	23°C / 0% HR	10
Transmissão vapor de Água	g/m ² d	DIN 53122	23°C / 85% HR	2,8

Condições de soldadura: 150°C / 1,0 seg. / 5bar

Temperatura de consistência: -50 / +90

Teste de soldadura: KOPP SGPE 20 with Cold-and Hot-tack

Condições de ensaio: 23 °C / 50% HR (DIN 50014). Todos os valores indicados correspondem ao estado em função do uso e dos métodos de fabricação que se implantem, por isso não se pode dar uma garantia definitiva.

Recomendamos a efectuar testes práticos.

ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS E COMPATIBILIDADE ALIMENTAR



TERMOFILM materiais barreira cumprem com a norma 2002/72 EEC, 92/39 CEE e os regulamentos FDA, BGA e com o regulamento complementar de 13/02/03 EEC, Anexo III de 95/3 CEE. Cumprem também com os seguintes regulamentos EDDA da FDA: Polietileno 21 CRF 177.1520,21 CRF 1771350 para Etileno-vinil-acetato copolímeros e 21 CRF 177.1500 para resinas de nylon.

Os aditivos e monómeros estão alistados nos anexos II e III de 95/3 CEE. Os aditivos cumprem completamente com as seguintes recomendações (Bundesgesundheitsamt) da BGA:

Recomendação III., Polietileno, emitido em 01 de Fevereiro de 1995.

19287 Mitteilung: B Gesundh. BI.

Decreto Ministerial 21/3/73 e seguintes correcções

Decreto Legislativo 25/1/92 num. 108

Decreto Ministerial 26/4/93 num. 220

Recomendação X., Poliamida, emitido em 1 de Fevereiro de 1995.

192 Mitteilung: B Gesundh. BI.

Decreto Ministerial de 21/03/1973 e seguintes correcções; Decreto Ministerial num. 220 de 26/04/93; Suplemento ordinário na "Gazzetta Ufficiale" num. 162 de 13/07/93; Decreto Ministerial num. 735 de 28/10/94; "Gaceta Ufficiale" num. 1 de 02/01/95.

Migração: Graças á experiência e aos dados que temos, informamos que os nossos filmes passam nos testes de migração global para todo o tipo de alimentos e demais aplicações.

Como a migração depende das condições de uso, podemos mencionar que a responsabilidade também depende do usuário do material a embalar para assegurar o cumprimento migratório da embalagem final.

TERMOFILM – EMBALAGENS TÉCNICAS, LDA. Confidencial

RUA DO CARDAL, Nº 46 – 4770-060 BENTE – V. N. FAMILICÃO – PORTUGAL

TELEFONE +351 252 933 769 – FAX +351 252 938 418

E-mail: comercial@termofilm.pt – www.termofilm.pt

Página: 1/1

iv- Ficha de prova de análise sensorial

Ficha de prova

Provador: _____

Data: ____/____/____

Sr. provador, à sua frente estão apresentadas 4 amostras de bifes para as provar. Analise e identifique qual a intensidade de cada atributo preenchendo com um X no respetivo valor.

Nº amostra: _____

Cheiro característico:

Pouco intenso

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

 Muito intenso

Dureza:

Mole

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

 Duro

Suculência:

Pouco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

 Muito

Masticabilidade:

Pouco

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

 Muito

Observações:

Obrigada!