

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Marinação do *Biceps femoris* com proteína hidrolisada de soja e seu efeito  
sobre qualidade de carne e estrutura muscular**

**Alessandra Aparecida Silva**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e  
Tecnologia de Alimentos**

**PIRACICABA  
2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Alessandra Aparecida Silva**  
**Zootecnista**

**Marinação do *Biceps femoris* com proteína hidrolisada de soja e seu efeito sobre qualidade de carne e estrutura muscular**

Orientadora:  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO

**Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Piracicaba**  
**2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Silva, Alessandra Aparecida

Marinação do *Biceps femoris* com proteína hidrolisada de soja e seu efeito sobre qualidade de carne e estrutura muscular / Alessandra Aparecida Silva. - - Piracicaba, 2009.  
97 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.  
Bibliografia.

1. Bovinos 2. Carne e derivados - Qualidade 3. Hidrólise 4. Proteínas vegetais 5. Salmoura  
6. Soja I. Título

CDD 664.92  
S586m

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

Aos meus pais e heróis, Maria de Lourdes e Nelson, por toda educação, apoio e amor.  
Ao meu grande esposo e maravilhosos filhos, pela cumplicidade e carinho.  
Ao meu Senhor e Deus da minha vida, JESUS.

***DEDICO***

**O Senhor é meu pastor, nada me faltarás.  
Em verdes prados ele me faz repousar.  
Conduz-me junto às águas refrescantes,  
restaura as forças de minha alma.  
Pelos caminhos retos ele me leva,  
por amor do seu nome...  
A vossa bondade e misericórdia não de seguir-me  
por todos os dias da minha vida.  
E habitarei na casa do Senhor  
por longos dias.**

**Salmos, 22.**



## AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Carmen Josefina Contreras Castillo pela orientação, oportunidade e dedicação.

Ao professor Dr. Eduardo Francisquine Delgado pela confiança, apoio e conhecimento transmitido.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, por toda a acolhida e suplemento a minha formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo auxílio financeiro dado a esta pesquisa e bolsa de estudo.

Aos professores Dr. Kitagima e Dr. Francisco (NAP/MEPA) pela colaboração na realização da análise de microscopia eletrônica.

Ao professor Gerson Barreto Mourão, pela paciência e ajuda com as análises estatísticas.

Ao professor Dr. Cláudio Rosa Gallo e sua equipe, Rosalina, Cecília e Cleomar, pela amizade e auxílio nas análises de microbiologia.

A todos os funcionários do LAN, em especial a Gislaine, Beatriz, Midiam, Regina, Amabile, Luiz e Rubens pela amizade e auxílios prestados.

Ao CTC/ITAL, em especial as pesquisadoras Márcia M. H. Haguiwara e Luciana Miyagusku e ao técnico Rodrigo, por toda a colaboração na realização das análises de Mensuração da penetração da salmoura e determinação de colágeno.

Ao frigorífico Independência pela doação de músculos e ao açougue São João, Débora e seus funcionários, pela contribuição no corte das peças.

À empresa Solae do Brasil, pela doação da proteína hidrolisada de soja.

À equipe e amigos: Priscila, Troppo, Miriam, Sabrina, Juliana, Marcio, Roberta, Massafra, Damasco, Anna, Lucy, Antonio “Equador”, Fernanda “Argentina” e aos mais novos Thais e Alan, por toda ajuda e amizade.

A todos os que direta ou indiretamente contribuíram com esta pesquisa e finalmente a DEUS, pois ser ele o responsável por mais esta vitória em minha vida.





## SÚMARIO

|   |    |
|---|----|
| RESUMO.....   | 09 |
| ABSTRACT.....   | 11 |
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 13 |
| 1.1 Revisão bibliográfica.....  | 14 |
| 1.1.1 Marinação.....  | 14 |
| 1.1.2 Proteína Hidrolisada de Soja.....   | 16 |
| 1.1.3 <i>Biceps femoris</i> .....   | 17 |
| Referências.....  | 18 |
| 2 PENETRAÇÃO DA SALMOURA COM PROTEÍNA HIDROLISADA DE<br>SOJA E SEU EFEITO NO RENDIMENTO E pH EM BIFES DO MÚSCULO<br><i>BICEPS FEMORIS</i>   | 24 |
| Resumo.....   | 24 |
| Abstract.....   | 25 |
| 2.1 Introdução.....   | 26 |
| 2.2 Material e Métodos.....   | 27 |
| 2.3 Resultados e Discussão.....   | 32 |
| 2.4 Conclusão.....  | 40 |
| Referências.....  | 41 |
| 3 MASSAGEAMENTO DE DIFERENTES PORÇÕES DO MÚSCULO BOVINO<br><i>BICEPS FEMORIS</i> COM DIFERENTES TIPOS DE SALMOURAS: EFEITO<br>SOBRE O TEOR DE COLÁGENO TOTAL E ATRIBUTOS SENSORIAIS | 45 |
| Resumo.....   | 45 |
| Abstract.....   | 46 |
| 3.1 Introdução.....   | 47 |
| 3.2 Material e Métodos.....   | 48 |
| 3.3 Resultados e Discussão.....   | 55 |
| 3.4 Conclusão.....  | 62 |
| Referências.....  | 62 |
| 4 ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE<br>QUALIDADE DE BIFES DO MÚSCULO <i>BICEPS FEMORIS</i><br>MASSAGEADOS E MATURADOS  | 67 |
| Resumo.....   | 67 |
| Abstract.....   | 68 |
| 4.1 Introdução.....   | 69 |
| 4.2 Material e Métodos.....   | 70 |
| 4.3 Resultados e Discussão.....   | 76 |
| 4.4 Conclusão.....  | 85 |
| Referências.....  | 86 |
| ANEXOS.....   | 93 |



## RESUMO

### **Marinação do *Biceps femoris* com proteína hidrolisada de soja e seu efeito sobre qualidade de carne e estrutura muscular**

Embora a indústria da carne utilize a marinação em larga escala, o comportamento da penetração da salmoura em bifes massageados de carne bovina é pouco conhecido. O músculo *Biceps femoris* tem sido considerado pouco macio e suculento e apresentado grande variação de maciez intermuscular. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da marinação com adição de proteína hidrolisada de soja sobre a estrutura muscular de porções distintas do *Biceps femoris* e suas implicações sobre a qualidade de carne. No Capítulo 2, 3 e 4, seis músculos bovinos foram submetidos aos tratamentos: CONTROLE (bifes não massageados), CS (bifes massageados com salmoura) e SPHS (bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja). No capítulo 2, os músculos foram divididos em duas porções: Origem (PO) e Inserção (PI), e os tempos de massageamento foram 30 e 60 min. No capítulo 3 e 4, os músculos foram divididos em três porções: Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2), e os bifes destas porções foram armazenados por 1 e 12 dias após equalização da salmoura, exceto os bifes CONTROLE que foram armazenados somente por 1 dia. As análises realizadas foram: mensuração da penetração da salmoura, determinação do melhor tempo de massageamento, pH, rendimento (REND), colágeno total (CT), composição centesimal, perdas por gotejamento (PPG), perdas por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análises microbiológicas e sensoriais. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo representou um bloco. A análise de mensuração da penetração da salmoura demonstrou que os bifes SPHS, massageados por maior tempo (60 min), obtiveram maior absorção e retenção de salmoura ao longo da profundidade dos bifes. A PI2 apresentou menor quantidade de CT em comparação às demais, para o CONTROLE. Já os bifes CS e SPHS da PO e PI1 obtiveram menores quantidades de CT em comparação aos bifes destes mesmos tratamentos da PI2. Os bifes massageados não sofreram efeito de tempo de armazenamento e foram mais macios, suculentos e melhor pontuados para impressão global em comparação ao CONTROLE. O pH dos bifes se elevou com os tratamentos CS e SPHS e pareceu influenciar sobre o REND das porções de forma que, a PO obteve menor pH e maior REND, enquanto a PI resultou em maior pH e menor REND. Menores PPG, PPC e FC foram observados para os bifes CS e SPHS e o período de 12 dias de armazenamento permitiu que as PPC e FC diminuíssem. Respostas similares entre a maciez sensorial e objetiva foram observadas nas porções do músculo de forma que, as PIs foram mais macias do que a PO. A análise MEV demonstrou inchaço das fibras e diminuição dos espaços interfibrilares nos bifes massageados CS e SPHS.

Palavras-Chave: Carne bovina; Marinação; Salmoura; Qualidade de carne; Proteína hidrolisada de soja



## ABSTRACT

### **Marination of *Biceps femoris* with hydrolyzed soy protein and its effect on beef quality and muscular structure**

Although meat industry uses marination in large-scale, the brine penetration behavior in tumbled steaks from bovines is little known. The *Biceps femoris* muscle has been considered little tender and juicy, and presented large range of intramuscular tenderness. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of marination added of hydrolyzed soy protein on the muscular structure of different portions from the *Biceps femoris* and its implication on beef quality. In Chapter 2, 3 and 4, steaks from six bovine muscles were submitted to the treatments: CONTROL (no tumbling or addition of brine), WTB (with tumbling and addition of brine), and WTB/HSP (with tumbling and addition of brine plus hydrolyzed soy protein). In Chapter 2, the muscles were divided in two portions: Origin (OP) and Insertion (IP), and the tumbling times were 30 and 60 min. In Chapter 3 and 4, the muscles were divided in three portions: Origin (OP), Insertion 1 (IP1) and Insertion 2 (IP2), and their steaks were stored for 1 and 12 days after equalization of brine, except to the CONTROL steaks that were only stored for 1 day. The analyses performed were: monitoring of brine penetration, pH, yield (YIE), total collagen (TC), proximate composition, drip loss (DL), cooking loss (CL), shear force (SF), scanning electron microscopy (SEM), microbiologic and sensory. The experimental design was completely randomized blocks, where each muscle represented one block. The analysis of monitoring of the brine penetration showed that the WTB/HSP steaks, tumbled for largest time (60 min), had higher absorption and retention of brine along the depth of the steaks. The IP2 presented lower TC amount in relation to other portions, in CONTROL steaks. However, the WTB and WTB/HSP steaks from OP and IP1 had lower TC amount when compared to IP2, in these same treatments. The tumbled steaks were not affected by storing time and were tender, juicier and better scored for overall satisfaction with regard to CONTROL steaks. The pH of the steaks was elevated with the WTB and WTB/HSP treatments and appeared to influence the YIE of the portions, where OP had lower pH and higher YIE, while IP resulted in higher pH and lower YIE. Lower DL, CL and SF were observed for WTB and WTB/HSP steaks and the storing time of 12 days allowed that the CL and SF declined. Similar responses between sensory tenderness and SF were observed in the muscle portions, which IPs were tender than OP. The SEM analysis showed swelling of fibers and decrease of spaces between fibrils in tumbled WTB and WTB/HSP steaks.

Keywords: Beef; Brine, Hydrolyzed soy protein; Marination; Meat quality



## 1 INTRODUÇÃO

No contexto atual, as indústrias da carne têm aumentado intensamente a produção de carnes suínas, bovinas e de aves marinadas. Tal processamento da carne está gradualmente substituindo as carnes tradicionais *in natura* no varejo (XIONG, 2005; PASTORE, 2006).

Uma forma para manter retida a água pela carne seria a adição de compostos ligantes desta como o sal, fosfatos e alguns outros ingredientes funcionais ou de sabor, por meio da salmoura ao músculo, processo este conhecido como marinação. As cargas elétricas são geradas a partir destes compostos ligantes, causando uma retenção de água eficiente, e conseqüentemente, uma melhora na umidade, rendimento de cozimento, suculência, sabor e maciez da carne (BABJI; FRONING; NGOKA, 1982; HAMM, 1986; ROBBINS et al., 2002; DAVIES et al., 2004; XIONG, 2005).

Á proteína hidrolisada de soja, a qual possui uma alta solubilidade em água, é também incorporada na carne para os mesmos fins mencionados anteriormente. A contribuição para a capacidade de retenção de água pelas proteínas hidrolisadas é atribuída à propriedade hidrófila forte dos peptídeos de soja (ADLER-NILSEN; OLSEN, 1979) e, possivelmente, as suas interações sinérgicas com as proteínas musculares, formando uma matriz gelatinosa capaz de imobilizar a água externa (FENG; XIONG, 2002, 2003).

Apesar dos avanços tecnológicos alcançados pela indústria da carne, o modo como ocorre a penetração da salmoura dentro de diferentes partes do músculo marinado, com ou sem adição de proteína hidrolisada de soja, é pouco conhecido (XIONG, 2005), sendo essa prática muito importante para a certificação da eficiência do processamento como um todo. Outros aspectos pouco estudados, e que podem influenciar nas respostas dadas pelas carnes ou produtos cárneos a este processamento, têm sido os diferentes tipos de fibras, concentrações de enzimas proteolíticas e proteínas, teor de colágeno, pH, resistência iônica, potencial redox e tempo e temperatura de cozimento dos músculos (XIONG, 1997; WANG; XIONG, 1998; XIONG et al., 2000).

Considerado um músculo pouco macio, o *Biceps femoris* (coxão-duro), apresenta valores relativamente altos para força de cisalhamento, variando de 3,74 a 5,82kgf e baixos para maciez e suculência sensorial (SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1995; BROOKS et al., 2000; RHEE et al., 2004; NELSON et al., 2004; BAUBLITS et al., 2005b; BAUBLITS et al., 2006). A aplicação de amaciamento mecânico e marinação melhoram a maciez sensorial, mas não a suculência sensorial (ELAM et al., 2002). Além disso, esse músculo apresenta outra

característica importante, merecedora de maior atenção e de mais estudos, que é a variação de maciez intramuscular (REUTER; WULF; MADDOCK, 2002).

Com base nestes conhecimentos, a hipótese seria que a proteína hidrolisada de soja atue de forma aditiva junto à salmoura produzindo um resultado melhor, quanto à maciez e capacidade de retenção de água para o músculo *Biceps femoris* do que a salmoura atuando isoladamente, investigando o comportamento da absorção e imobilização de água em carnes incorporadas com salmoura. Outra proposta seria verificar as respostas dadas a esse processamento em diferentes porções do músculo *Biceps femoris*, quanto a alterações estruturais e parâmetros de qualidade.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da marinação com adição de proteína hidrolisada de soja sobre a estrutura muscular de porções distintas do *Biceps femoris* e suas implicações sobre a qualidade de carne.

## **1.1 Revisão bibliográfica**

### **1.1.1 Marinação**

Tecnologias que melhorem os fatores associados com a intenção de compra e a palatabilidade, visando uma maior consistência em seus produtos, têm sido alvos da indústria da carne (XARGAYÓ et al., 2004). Assim, os marinados surgiram como alternativa de produto semi-preparado com tempo de conservação prolongado, ampliando as opções de consumo para carnes (PORTO et al., 2000).

A marinação pode ser definida como um processo de difusão ou osmose, onde a carne é mergulhada em uma solução de salmoura concentrada, ou através de um processo de injeção, no qual uma solução, preparada com água, sal, aditivos e substâncias aromáticas, é incorporada em diferentes camadas da carne, facilitando a sua distribuição e absorção. Para melhorar o resultado, tem-se utilizado o processo de massageamento, que consiste em colocar a carne marinada em um equipamento que contém um recipiente cilíndrico, chamado de *tambler*, incrementando, desta forma, a distribuição da salmoura, melhorando o sabor, suculência e retenção de água da carne durante o cozimento, com conseqüente aumento na suculência e relaxamento das fibras musculares (BENDALL, 1954; HAMM, 1986; XARGAYÓ et al., 2004; XIONG, 2005).

O mecanismo de retenção de água pela carne na marinação é bastante complexo, porém, essencial para o entendimento do processo. Quando se coloca um músculo inteiro em uma salmoura, a difusão do líquido dependerá da concentração de sólidos dissolvidos e do tempo de



imersão e contato do músculo com a salmoura, permitindo migração da água e dos solutos para o interior do músculo. As diferentes camadas de tecido conjuntivo (epimísio, perimísio e endomísio) se constituem em uma barreira para a migração dos solutos uma vez que as moléculas de alto peso molecular não atravessam estes tecidos com facilidade. Além disso, o fluxo de água que penetra no músculo avança perpendicularmente ao eixo das fibras musculares e é necessário que atravesse as três camadas de tecido conjuntivo antes de atingir o sarcolema, efeito este, auxiliado pela injeção. Uma vez que ocorre a penetração da salmoura, a mesma se difunde no tecido por osmose (LEMOS, 2000).

O massageamento gera uma pressão sobre o líquido presente no tecido, capaz de levar este, a ultrapassar as estruturas do tecido conjuntivo e causar danos às membranas celulares. O efeito da alta concentração de solutos da salmoura em combinação com o vácuo e o trabalho mecânico exercido pelo massageamento provocam a solubilização de algumas porções do tecido, principalmente das membranas celulares e das proteínas miofibrilares (LEMOS, 2000). Após o massageamento, no processo de cozimento do músculo, ocorre a fixação da água através da solidificação do gel protéico onde está retida a água.

A interação química proteína-água, que ocorre no processo de marinação, deve-se à atração das cargas que são afetadas pelas condições do meio, como o pH. Com a diminuição do pH do meio, o valor obtido pode aproximar-se do ponto isoelétrico das proteínas, restringindo as cargas disponíveis, diminuindo sensivelmente as interações proteína-água e aumentando as interações proteína-proteína (AKTAS; AKSU; KAYA, 2003; XIONG, 2004).

A adição de sal e fosfatos tem contribuído para o aumento da retenção da salmoura em produtos e cortes carneos marinados, basicamente por elevarem o pH (OFFER; TRINICK 1983). Ambos os ingredientes, tem sido utilizados como realçadores de sabor, agentes antimicrobianos e higroscópicos, e eficiência no aumento do rendimento, capacidade de retenção de água, maciez e na diminuição das perdas por cocção e gotejamento de cortes carneos, têm sido observada (GUAJARDO; JARAMILLO, 1995; DETIENNE; WICKER, 1999; KETTON, 2001; SMITH; YOUNG, 2007; SULTANA et al, 2008).

A marinação tem afetado a maciez da carne de três maneiras: 1 - Ação do pH na indução do inchaço das fibras musculares e/ou tecido conectivo; 2 - Aceleração adicional da proteólise, favorecendo o enfraquecimento da estrutura muscular, e 3 - Aumento da solubilização do colágeno no cozimento (OFFER; TRINICK 1983; OFFER; KNIGHT 1988; ERTBJERG et al,

1999). Xiong e Kupisk (1999) ainda neste âmbito relatam que o massageamento de músculos promove melhora na maciez da carne por realizar a ruptura de parte das fibrilas musculares devido à ação mecânica aplicada no massageamento.

Aktas, Aksu e Kaya (2003) marinando o músculo bovino *Longissimus dorsi* com soluções ácidas observaram que o aumento do pH do músculo se apresentou relacionado a baixos valores de força de cisalhamento. Os autores sugerem com seus resultados que variações substanciais em maciez de carne podem ser obtidas por alteração do pH da carne. O mecanismo de amaciamento é provavelmente envolvido pela indução ao inchaço da estrutura muscular, alterações estas observadas através de microscopia ótica e de varredura (OFFER; TRINICK 1983; VAUDAGNA et al., 2008; BERTRAM et al., 2008; XU et al., 2009).

### **1.1.2 Proteína Hidrolisada de Soja**

A soja é a maior fonte de proteínas vegetais (CASTRO, 1981). Aproximadamente 90% de suas proteínas encontram-se na forma armazenada (globulinas), a qual a maioria consiste de Conglicinina e Glicinina. Estes dois componentes protéicos têm como coeficientes de sedimentação (CS) o 7S e 11S, respectivamente (KINSELLA, 1979; FUKUSHIMA, 2004). As propriedades funcionais destes CS estão diretamente relacionadas ao pH do meio e com a estrutura molecular destes, sendo que o 11S é mais solúvel e tem melhor potencial na absorção de água enquanto o 7S possui maior poder geleificante (ZAYAS, 1997).

O aumento da utilização das proteínas da soja é devido a fatores como a abundancia, baixo custo, boas propriedades funcionais incluindo a retenção de água e por sua qualidade nutricional (ZAYAS, 1997), e esta tem sido largamente utilizada na indústria da carne, na forma de Proteína Isolada de Soja (PIS) e Proteína Hidrolisada de Soja (PHS). A PIS é obtida do farelo de soja após a extração do óleo, e conferem no mínimo 88% de proteína, enquanto que a PHS, por sua vez, pode ser obtida pela hidrólise da PIS. A hidrólise enzimática da PIS tem sido eficiente em potencializar as propriedades funcionais dos CSs 7S e 11S, sendo este efeito dependente do tipo de enzima utilizada e do grau de hidrolise empregada (FENG; XIONG, 2003).

Dentre as enzimas utilizadas no processo de hidrolise da PIS, estão a alcalase e a flavoenzima, sendo a primeira mais efetiva na dissociação de todos os CSs, permitindo assim uma maior interação com a proteína miofibrilar (FENG; XIONG; MIKEL, 2003; XIONG, 2005).

Analisando as propriedades de textura em hambúrgers de carne suína, Feng, Xiong e Mikel (2003) observaram que a PHS pela alcalase resultou em maior dureza, coesividade, resistência de gel e de força de quebra e menor estrutura danificada comparada à PHS pela flavoenzima.

De forma geral as propriedades físicoquímicas desempenhadas pelas proteínas da soja em produtos carneos são: solubilidade, absorção e ligação de água, viscosidade, geleificação, adesão e coesão, elasticidade, emulsificação, absorção de gordura, suculência, rendimento no cozimento, sabor e controle de cor (LIN; MEI, 2000; FUKUSHIMA, 2004; XIONG, 2005).

### 1.1.3 *Biceps femoris*

O *Biceps femoris* é um músculo originado do lado externo da coxa, que oferece grande potencial em agregar-se valor (BAUBLITS et al., 2005a), principalmente por conferir tamanho e peso bem representativos, dentro da carcaça bovina. Por outro lado, este músculo tem gerado insatisfação por parte de alguns consumidores com relação à maciez (RHEE et al., 2004), provavelmente devido sua força de cisalhamento estar entre o limiar de ligeiramente macio e ligeiramente duro (McKEITH et al., 1985; JHONSON et al., 1990) e pela alta variação de maciez intramuscular.

É importante ressaltar que a literatura nacional é escassa em trabalhos que informem dados sobre maciez no músculo *Biceps femoris* em bovinos. Harada (2004), trabalhando com bovinos *Bos indicus* relatou uma média de 5,4 kgf para força de cisalhamento neste músculo, valor este superior aos demonstrados em trabalhos citados anteriormente (SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1995; BROOKS et al., 2000; NELSON et al., 2004; RHEE et al., 2004), onde foram utilizados animais *Bos taurus*, bastante jovens com idade entre 14 e 16 meses.

Análise sensorial revelam que o *Biceps femoris* esta entre os quatro músculos de maior intensidade de sabor e ocupa o décimo lugar quanto à maciez e suculência sensorial em um grupo de vinte músculos (CARMACK et al., 1995).

Diferenças de maciez objetiva para diferentes porções do músculo *Biceps femoris* tem sido relatada a partir da década de 40 (RAMSBOTTOM; STRANDINE; KOONZ, 1945; GINGER; WEIR, 1958). Trabalhos mais recentes têm confirmado tal comportamento, onde pesquisadores avaliando a variação entre características palatáveis e bioquímicas para onze diferentes músculos, entre eles o *Biceps femoris*, observaram em mensuração de força de cisalhamento das porções Proximal. Media e Distal do músculo, variações de maciez onde os

valores encontrados foram: 3,70; 4,04 e 3,87 kgf (RHEE et al., 2004). Os mesmos autores encontraram altos valores para teor de colágeno, sendo eles, respectivamente: 9,56; 9,16 e 7,46 mg/g.

Outros autores (REUTER; WULF; MADDOCK, 2002), também analisando três porções distintas do *Biceps femoris*, verificaram valores menores de força de cisalhamento para a porção da origem do músculo (3,01kgf), intermediários (4,24kgf) para a porção da inserção (fim do músculo) e maiores (4,76kgf) para a porção mediana (7 a 10 cm posterior ao ponto de separação entre alcatra e coxão). Quando o *Biceps femoris* foi analisado com relação aos músculos *Semitendinosus* e *Vastus lateralis*, a porção próxima ao primeiro apresentou mais macia comparada à porção próxima ao segundo.

Esse comportamento intramuscular no *Biceps femoris* é pouco conhecido e vem despertando a atenção dos pesquisadores na área da ciência de carne quanto à variabilidade dentro do próprio músculo, já que muitos estudos direcionaram a variação entre cada animal e entre os músculos. Reuter, Wulf e Maddock (2002) registraram que a variação na força de cisalhamento intramuscular (desvio padrão, dp = 0,56 kgf) é quase duas vezes maior que a variação na força de cisalhamento entre animais (dp = 0,29 kgf) e 2,8 vezes maior à variação entre músculos (dp = 0,20 kgf). Esses mesmos autores observaram médias e variações (dp) na força de cisalhamento para os músculos *Biceps femoris*, *Semimebranosus*, *Semitendinosus* e *Adductor* de 4,05±1,09; 4,55±0,72; 4,04±0,29 e 4,16±0,15 kgf, respectivamente.

O uso da marinação tem reduzido à força de cisalhamento, perdas por cocção e gotejamento e elevado a capacidade de retenção de água do músculo *Biceps femoris* (BAUBLITS et al., 2006; SULTANA et al., 2008). Sendo esta técnica bastante interessante de ser aplicada neste músculo, que apresenta baixa maciez, grande variação desta ao longo do seu eixo, baixo a médio custo, tamanho bastante representativo na carcaça e sabor acentuado, e assim grande potencial de aumento da qualidade geral e de agregação de valor.

## Referências

ADLER-NISSEN, J.; OLSEN, H.S. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In: Pour-El, A. (Ed.). **Functionality and protein structure**. Washington: American Chemical Society, 1979. p. 125-147.

AKTAS, N.; AKSU, M.I.; KAYA, M. The effect of organic acid marination on tenderness, cooking loss and bound water content of beef. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 14, p. 181-194, 2003.

BABJI, A.S.; FRONING, G.W.; NGOKA, D.A. The effect of short-term tumbling and salting on the quality of turkey breast muscle. **Poultry Science**, Ithaca, v. 61, p.300-303, 1982.

BAUBLITS, R.T.; POHLMAN, F.W.; BROWN-JR., A.H.; JOHNSON, Z.B. Effects of sodium chloride, phosphate type and concentration, and pump rate on beef *biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking v. 70, p. 205-214, 2005a.

\_\_\_\_\_. Effects of enhancement with varying phosphate types and concentrations, at two different pump rates on beef *Biceps femoris* instrumental color characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 264-276, 2005b.

\_\_\_\_\_. Enhancement with varying phosphate types, concentrations, and pump rates, without sodium chloride on beef *Biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 404-414, 2006.

BENDALL, J. R. The swelling effect of polyphosphates on lean meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 5, p. 468-475, 1954.

BERTRAM, H.C.; MEYER, R.L.; WU, Z.; ZHOU, X.; ANDERSEN, H.J. Water distribution and microstructure in enhanced pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 7201-7207, 2008.

BROOKS, J.C.; BELEW, J.B.; GRIFFIN, D.B.; GWARTNEY, B.L.; HALE, D.S.; HENNING, W.R.; JOHNSON, D.D.; MORGAN, J.B.; PARRISH-JR., F.C.; REAGAN, J.O.; SAVELL, J.W. National beef tenderness survey-1998. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1852-1860, 2000.

CARMACK, C.F.; KASTNER, C.L.; DIKEMAN, M.E.; SCHWENKE, J.R.; GARCIA ZEPEDA, C.M. Sensory evaluation of beef-flavor-intensity, tenderness, and juiciness among major muscles. **Meat Science**, Barking, v. 39, p. 143-147, 1995.

CASTRO, L.A.B. Utilização e aspectos tecnológicos. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Eds.). **A soja no Brasil**. São Paulo: Banespa, 1981. cap. 14, p.813-890.

DAVIES, K.J.; SEBRANEK, J.G.; HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S.M. The effects of aging on moisture-enhanced pork loins. **Meat Science**, Barking, v. 66, p. 519-524, 2004.

DETIENNE, N.A.; WICKER, L. Sodium chloride and tripolyphosphate effects on physical and quality characteristics of injected pork loins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 6, p. 1042-1047, 1999.

ELAM, A.T.; BROOKS, J.C.; MORGAN, J.B.; RAY, F.K. Trained sensory evaluation of value added beef from chuck and round. **Oklahoma Agriculture Experiment station Report No. P-993**. Disponivel em <<http://www.ansi.okstate.edu/research/2002rr/07/index.htm>>. Acesso em: 20 june. 2009.

ERTBJERG, P.; MIELCHE, M.M.; LARSEN, L.M.; MOLLER, A.J. Relationship between proteolytic changes and tenderness in prerigor lactic acid marinated beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.79, p.970-978, 1999.

FENG, J.; XIONG, Y.L. Interaction of myofibrillar and preheated soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 2851-2856, 2002.

\_\_\_\_\_. Interaction and functionality of mixed myofibrillar and enzyme-hydrolyzed soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 803-809, 2003.

FENG, J.; XIONG, Y.L.; MIKEL, W.B. Textural properties of pork frankfurters containing thermally/enzymatically modified soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 1220-1224, 2003.

FUKUSHIMA, D. Soy proteins. In: YADA, R.Y. **Proteins in food processing**, Boca Raton: CRC Press, 2004. chap. 6, p.123-142.

GINGER, B.; WEIR, C.E. Variations in tenderness within three muscle from beef round. **Food Research**, London, v. 23, p. 662-669, 1958.

GUAJARDO, E.R.; JARAMILLO, H.G. El marinado: una opción rentable en la carne de bovino. **Carnetec**, Sanford, v. 2, n.5, p.2024, 1995.

HAMM, R. Function properties of the myofibrillar system and their measurements. In: BECHTEL, P.J. (Ed.). **Muscle as food**. San Diego: Academic Press , 1986. p. 135-199.

HARADA, M.M. **Efeito da desossa e da marinação sobre as características de processamento, físico-químicas e sensoriais do músculo *biceps femoris***. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado e Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

JOHNSON, D.D.; HUFFMAN, R.D.; WILLIAMS, S.E.; HARGROVE, D.D. Effect of percentage Brahman and Angus breeding age-season of feeding and slaughter and point on meat palatability and muscles characteristics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 1980-1986, 1990.

KEETON, J.T. Formed and emulsion products. In: SAMS, A. (Ed.). **Poultry Meat Processing**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001 chap. 12, p. 195–226.

KINSELLA, J.E. Functional Properties of Soy Proteins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Chicago, v. 56, p. 242-257, 1979.

LEMOS, A.L.S.C. Entendendo a retenção de água pela carne no processo de marinação. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 277, p. 88, 2000.

LIN, K.W.; MEI, M.Y. Influences of gums, soy protein isolate, and heating temperatures on reduced-fat meat batters in a model system. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, p. 48-52, 2000.

McKEITH, F.K.; DEVOL, D.L.; MILES, R.S.; BECHTEL, P.J.; CARR, T.R. Chemical and sensory properties of thirteen major beef muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, p. 869-872, 1985.

NELSON, J.L.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K.; MORGAN, J.B. Characterization of Certified Angus Beef steaks from the round, loin, and chuck. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1437-1444, 2004.

OFFER, G.; KNIGHT, P. The structural basis of water holding in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In: LAWRIE, R. (Ed.) **Developments in meat science-4**. London: Elsevier Applied Science, 1988. chap. 3, p. 63-171.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Barking, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

PASTORE, G.M. O crescimento da indústria de carnes a partir de produtos com valor agregado. **Jornal da UNICAMP**, Campinas, v. 317, p. 2, 27 mar. 2006.

PORTO, A.C.S.; TÔRRES, R.C.O.; ILHA, E.C.; LUIZ, M.T.B.; SANT'ANNA, E.S. Influência da composição da salmoura sobre os parâmetros físico-sensoriais e microbiológicos de filés de peito de frango marinados por imersão. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.18, p.141-150, 2000.

RAMSBOTTOM, J.M.; STRANDINE, E.J.; KOONZ, C.H. Comparative tenderness of representative beef muscle. **Food Research**, London, v. 10, p. 497-509, 1945.

REUTER, B.J.; WULF, D.M.; MADDOCK, R.J. Mapping intramuscular tenderness variation in four major muscles of the beef round. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2594-2599, 2002.

RHEE, M.S.; WHEELER, T.L.; SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 534-550, 2004.

ROBBINS, K.; JENSEN, J.; RYAN, K.J.; BREWER, M.S. Enhancement effects on sensory and retail display characteristics of bee rounds. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 13, p. 279-188, 2002.

SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3333-3340, 1995.

SMITH, D.P.; YOUNG, L.L. Marination pressure and phosphate effects on broiler breast fillet yield, tenderness, and color. **Poultry Science**, Ithaca, v. 86, p. 2666-2670, 2007.

SULTANA, A.; NAKANISHI, A.; ROY, B.C.; MIZUNOYA, W.; TATSUMI, R.; ITO, T.; TABATA, S.; RASHID, H.; KATAYAMA, S.; IKEUCHI, Y. Quality improvement of frozen and chilled beef *biceps femoris* with the applications of salt-bicarbonate solution. **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 21, n. 6, p. 903-911, 2008.

VAUDAGNA, S.R.; PAZOS, A.A.; GUIDI, S.M.; SANCHEZ, G.; CARP, D.J.; GONZALEZ, C.B. Effect of salt addition on *sous vide* cooked whole beef muscles from Argentina. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 470-482, 2008.



WANG, B.; XIONG, Y.L. Evidence of proteolytic activity and its effect on gelation of myofibrillar protein concentrate from bovine cardiac muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 3054–3059, 1998.

XARGAYÓ, M.; LAGARES, J.; FERNÁNDEZ, E.; BORRELL, D.; JUNCÁ, G. Solution for improving meat texture. Influence of spray injection on the organoleptica and sensory characteristics. **Fleischwirtschaft International**, Frankfurt, v. 2, p. 68-74, 2004.

XIONG, Y.L. Structure-function relationships of muscle proteins. In: DAMODARAN, S.; PARAF, A. (Ed.). **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 341-392.

\_\_\_\_\_. Muscle proteins. In: YADA, R.Y. **Proteins in food processing**, Boca Raton: CRC Press, 2004. chap. 5, p.100-122.

\_\_\_\_\_. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 281-287, 2005.

XIONG, Y.L.; KUPSKI, D.R. Time-dependent marinade absorption and retention, cooking yield, and palatability of chicken filets marinated in various phosphate solutions. **Poultry Science**, Ithaca, v. 78, p. 1053-1059, 1999b.

XIONG, Y.X.; LOU, X.; WANG, C.; MOODY, W.G.; HARMON, R.J. Protein extraction from chicken myofibrils irrigated with various polyphosphate and NaCl solutions. **Journal of Food Science**, Cidade, v. 65, p. 96-100, 2000.

XU, S.Q.; ZHOU, G.H.; PENG, Z.Q.; ZHAO, L.Y.; YAO, R. The influence of polyphosphate marination on simmental beef shear value and ultrastructure. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 20, p. 101-116, 2009.

ZAYAS, J. F. Water Holding Capacity of Proteins. In: \_\_\_\_\_. **Functionality of protein in food**, Berlin: Springer 1997. chap. 2, p. 76-127.

## 2 PENETRAÇÃO DA SALMOURA COM PROTEÍNA HIDROLISADA DE SOJA E SEU EFEITO NO RENDIMENTO E pH EM BIFES DO MÚSCULO *BICEPS FEMORIS*

### Resumo

Este trabalho avaliou o comportamento da penetração de diferentes salmouras em bifés massageados do músculo *Biceps femoris* e as relações deste parâmetro com o pH e rendimento do corte. Para isso foram utilizados seis músculos bovinos, os quais foram divididos em duas porções: Origem (PO) e Inserção (PI) e fatiados em bifés de 2,5 cm. Os tempos de massageamento testados foram de 30 e 60 min e os tratamentos para os bifés foram: CONTROLE (bifés não massageados), CS (bifés massageados com salmoura) e SPHS (bifés massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja). O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo representou um bloco. As análises realizadas foram: mensuração da penetração da salmoura, determinação de tempo ideal de massageamento, pH e rendimento. Através da mensuração da penetração da salmoura observou-se que os bifés tratados com SPHS apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) penetração e retenção de salmoura quando massageados por 60 min comparados aos massageados por 30 min. Análise de regressão demonstrou que o tempo de 45 min de massageamento foi suficiente para a melhor penetração da salmoura a uma profundidade de 8 mm em bifés do músculo *Biceps femoris*. Os valores de pH pareceram influenciar sobre o rendimento dos bifés nas diferentes porções do músculo, de forma que a PO obteve menor ( $P < 0,05$ ) pH e maior ( $P < 0,05$ ) rendimento, enquanto a PI resultou em maior ( $P < 0,05$ ) pH e menor ( $P < 0,05$ ) rendimento. De acordo com o esperado, ambas as salmouras CS e SPHS elevaram o pH dos bifés quando estes foram comparados aos bifés CONTROLE.

Palavras-chave: Marinação; Massageamento; Absorção de água

## 2 PENETRATION OF BRINE WITH HYDROLYZED SOY PROTEIN AND ITS EFFECT ON THE YIELD AND pH IN STEAKS FROM THE *BICEPS FEMORIS* MUSCLE

### Abstract

This work evaluated the penetration behavior of different brines in tumbled steaks from the *Biceps femoris* muscle and their relation with pH and yield of cut. For this, it was used six bovine muscles, which were divided in two portions: Origin (OP) and Insertion (IP) and sliced in steaks of 2.5 cm of thickness. The tumbling times tested were 30 and 60 min and the treatments for the steaks were: CONTROL (no tumbling or addition of brine), WTB (with tumbling and addition of brine), and WTB/HSP (with tumbling and addition of brine plus hydrolyzed soy protein). The experimental design was completely randomized blocks, where each muscle represented one block. The analyses performed were: monitoring of brine penetration, determination of ideal tumbling time, pH and yield. Through the monitoring of the brine penetration was observed that the WTB/HSP steaks presented higher ( $P<0.05$ ) brine penetration and retention when tumbled for 60 min than tumbled for 30 min. Analysis of regression demonstrated that the tumbling time of 45 min was enough to better penetration of brine in a depth of 8 mm for steaks from *Biceps femoris* muscle. The pH values appears to influence yield of the steaks in the different muscle portions, where OP had lower ( $P<0.05$ ) pH and higher ( $P<0.05$ ) yield, while IP resulted in higher ( $P<0.05$ ) pH and lower ( $P<0.05$ ) yield. According to expected, both the WTB and WTB/HSP brines elevated the pH of the steaks when compared to CONTROL steaks.

Keywords: Marination; Tumbling; Water absorption

## 2.1 Introdução

A técnica de marinação é uma prática centenária e seu uso tem sido associado a uma grande diversidade de composições de salmouras, a fim de melhorar a maciez, suculência e rendimento de cortes cárneos (CHRISTENSEN et al., 2007; SZERMAN et al., 2007).

O rendimento é uma característica de muito interesse para a indústria da carne por promover o aumento na margem de lucros à base de adição de água e aditivos (XIONG, 2005; SMITH; YOUNG, 2007). O principal fator que dita a efetividade do processo de marinação quanto ao rendimento é a quantidade de salmoura penetrada, sendo esta, altamente relacionada às propriedades funcionais dos aditivos adicionados.

Um dos tipos de marinação muito utilizado na indústria de produtos cárneos é o massageamento, método que tem apresentado bons resultados, sobretudo quanto ao rendimento em carne de aves como o peito de frango e perus. Nestas carnes predominam fibras tipo branca, que possuem estruturas mais frábil, de maior extratibilidade de proteínas em solução salina, fatos estes associados a maior penetração da salmoura (RICHARDSON; JONES, 1987; LAWRIE, 2005). Em carne bovina caracterizada pela maior presença de fibra do tipo vermelho, o uso do massageamento tem tornado uniforme a distribuição da salmoura pós-injeção (CHENG et al., 2007).

Métodos para investigar a penetração da salmoura em cortes massageados de frango foram relatados pelos autores Sanders (1969), Xiong e Kupski (1999ab) e Alvarado e Sams (2004) e o uso do corante FD&C Blue tem-se demonstrado um bom indicador para mensurar o grau de penetração da salmoura em carnes (UTTARO; AALHUS, 2007).

Quanto aos aditivos, os fosfatos alcalinos e o cloreto de sódio têm sido muito eficientes no aumento do rendimento de cortes cárneos massageados. Os fosfatos por atuarem na elevação do pH da carne resultando na imobilização da água adicionada (XIONG, 2004). O cloreto de sódio, no entanto, corrobora com este efeito por solubilizar a miosina do músculo formando uma matriz onde ocorre à ligação de água (OFFER; TRINICK, 1983; HAMM, 1960). Todavia os efeitos da adição de proteína hidrolisada de soja na salmoura em cortes *in natura* são pouco conhecidos, embora esta proteína seja comumente utilizada em produtos como lingüiças e hambúrgueres nos Estados Unidos. Suas propriedades funcionais têm sido relacionadas ao aumento da disponibilidade e solubilidade dos componentes protéicos 11S e 7S, sendo estes, importantes no

aumento da capacidade de retenção de água (CRA) em produtos cárneos (XIONG, 2005; KINSELLA, 1979).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento da penetração de diferentes salmouras em bifes massageados do músculo *Biceps femoris* e as relações deste parâmetro com o pH e rendimento do corte.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Matéria-prima**

#### **2.2.1.1 *Biceps femoris***

Para realização deste experimento foram utilizados seis músculos *Biceps femoris* bovinos, com peso aproximado de 5,8 kg. Os músculos foram obtidos do lado direito da carcaça de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*), com idade inferior a três anos (31 a 35 meses), baseado na dentição dos animais segundo Camargo e Chieffi (1971) e espessura de gordura intermediária (3 a 6 mm).

Os músculos *Biceps femoris* foram subdivididos em duas porções (PO - porção origem do músculo e PI - porção inserção do músculo). A região localizada na porção inserção, próxima ao músculo *Semitendinosus* e separada por uma fásia, foi excluída do músculo (Figura 1). Cada porção (PO e PI) foi fracionada em cinco bifes de aproximadamente 2,5 cm de espessura, onde dois bifes foram destinados para cada tratamento e um bife CONTROLE (Figura 2). Os locais onde foram obtidos os bifes ao longo do músculo e para cada porção, foram determinadas ao acaso, através de sorteio, de forma que ocorresse uma maior aleatoriedade das amostras para cada músculo e porção destes.



Figura 1 - Ilustração demonstrando a separação de uma menor porção (à esquerda da ilustração), sendo esta não utilizada neste experimento, de uma maior porção (à direita da ilustração) a qual posteriormente foi dividida em duas sub-porções (PO e PI) no músculo *Biceps femoris*

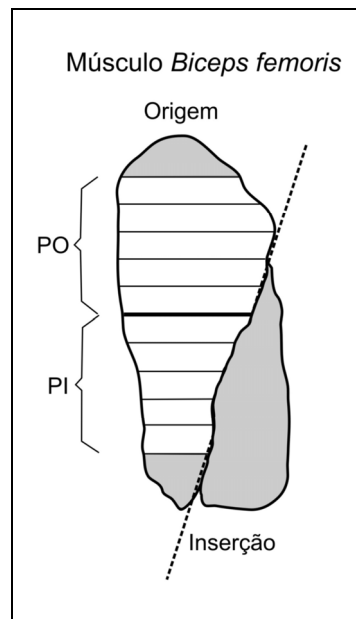


Figura 2 - Esquema do plano de amostragem do *Biceps femoris* PO = Porção Origem do músculo; PI = Porção Inserção do músculo. As regiões de coloração cinza da figura foram desprezadas

### 2.2.1.2 Proteína Hidrolisada de Soja (PHS)

A proteína de soja foi hidrolisada a partir da enzima Alcalase em um grau de hidrólise máximo de 4%, de acordo com Feng e Xiong (2003). Este produto é comercializado pela Solae do Brasil, empresa fornecedora das amostras para a realização deste trabalho.

### 2.2.2 Processamento da marinação

O processo de massagem foi realizado na planta piloto do laboratório de carnes da ESALQ/USP, com temperatura regulada de  $13\pm 2^{\circ}\text{C}$ , através do uso de um climatizador de ambiente. Os bifes do músculo *Biceps femoris* (aproximadamente 2,5 cm de espessura) foram inicialmente pesados e massageados por 30 e 60 min com o uso de um massagador (Frigomaq-modelo TF 30VE), em rotação intermitente (15 min ON, 1 min OFF) com velocidade de 30 RPM e uso de vácuo.

A quantidade de cada salmoura (litros) preparada correspondeu a 20% do peso total dos bifes de cada tratamento. Foram preparados dois tipos de salmouras de forma que se obteve 16,67% de salmoura e 83,33% de carne nas amostras massageadas. As composições das salmouras utilizadas nos tratamentos CS e SPHS estão apresentadas na Tabela 1. No tratamento CONTROLE não houve massagem e nem adição de salmoura. Medições de pH das salmouras dos tratamentos CS e SPHS foram realizadas antes do massagem dos bifes e os valores encontrados foram respectivamente de 7,77 e 7,58.

Logo após o massagem, os bifes foram pesados e individualmente embalados a vácuo em sacos plásticos impermeáveis tipo barreira de gases com auxílio de uma seladora (Selovac-300B). Após a embalagem, os bifes foram colocados em caixas adequadas onde permaneceram em câmara de resfriamento por 36 h à temperatura de  $0\pm 2^{\circ}\text{C}$ , para que ocorresse a equalização da salmoura no músculo. Após a equalização, os bifes foram retirados das embalagens, pesados e submetidos às análises de mensuração da penetração das salmouras e pH.

Tabela 1 - Porcentagens dos aditivos no produto final e na salmoura para tratamentos CS e SPHS

| Ingredientes                       | Salmoura tratamento CS |            | Salmoura tratamento SPHS |            |
|------------------------------------|------------------------|------------|--------------------------|------------|
|                                    | %Produto Final         | % Salmoura | %Produto Final           | % Salmoura |
| Sal                                | 1,800                  | 10,800     | 1,800                    | 10,800     |
| Glutamato monossódico              | 0,150                  | 0,900      | 0,150                    | 0,900      |
| Açúcar                             | 0,100                  | 0,600      | 0,100                    | 0,600      |
| Proteína hidrolisada de soja (PHS) | -                      | -          | 0,333                    | 2,000      |
| Tripolifosfato                     | 0,300                  | 1,800      | 0,300                    | 1,800      |
| Nitrito de Sódio                   | 0,015                  | 0,090      | 0,015                    | 0,090      |
| Eritorbato de Sódio                | 0,050                  | 0,300      | 0,050                    | 0,300      |
| Água gelada                        | 14,250                 | 85,510     | 13,920                   | 83,510     |
|                                    | 16,670                 | 100,000    | 16,670                   | 100,000    |

### 2.2.3 Monitoramento da penetração da salmoura no músculo

A penetração da salmoura foi mensurada conforme procedimento descrito por Xiong e Kupski (1999a), com algumas modificações. Bifes do músculo *Biceps femoris* foram massageados em solução de salmoura com os aditivos já mencionados anteriormente (Tabela 1), com adição de 0,15% do corante FD&C Blue No.1 no total de salmoura utilizada.

A penetração da solução dentro do bife foi monitorada através dos rastros deixados pelo corante adicionado à salmoura. Para isto, quatro camadas de 2 mm de espessura foram obtidas da superfície de cada um dos bifes amostrados e refrigerados (Figura 3) com o uso de um fatiador de carnes HOBART- GP30V.

Para extrair o corante, as camadas C0 (0-2 mm), C1 (2-4 mm), C2 (4-6 mm) e C3 (6-8 mm) foram homogeneizadas individualmente em um moinho analítico (IKA<sup>®</sup> 298A21) por aproximadamente 12 s. Os homogenatos foram condicionados em sacos plásticos previamente identificados e submetidos à câmara fria com temperatura de  $1\pm 2^{\circ}\text{C}$ , por aproximadamente 24 h. A seguir, foi coletado 2,5 g de cada homogenato e adicionou-se um volume 1/10 de água destilada e estes conteúdos foram submetidos a uma nova homogeneização com uso do liquidificador de alta rotação (Waring - HGBTWTS3). O homogenato final foi transferido para tubos identificados e posteriormente centrifugados por 10 min a uma rotação de 10.000 x g com auxílio de uma centrífuga refrigerada (Sorvall<sup>®</sup> RC5B plus). O sobrenadante foi utilizado e o precipitado descartado. A mensuração foi obtida através de leitura de alíquota do sobrenadante em espectrofotômetro a uma absorvância de 627 nm. Para ajustar os valores de absorvância em relação aos pesos dos bifes, a fórmula descrita abaixo foi utilizada.

$$\frac{\text{Absorvância (627 nm)} \times 2}{\text{Peso da fatia (g)}}$$



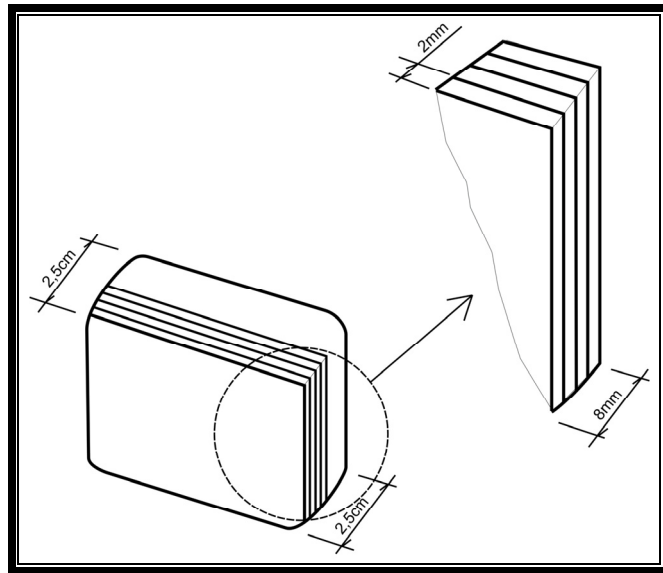


Figura 3 - Demonstração da amostragem das camadas do bife do músculo *Biceps femoris*, as camadas foram coletadas da porção externa para a interna do bife

#### 2.2.4 Rendimento

Os bifes foram submetidos à pesagem antes do processo de massageamento, logo após o massageamento e após o tempo de 36 h de equalização da salmoura. Para realização das pesagens foi utilizada uma balança semi-analítica (GEHAKA<sup>®</sup> BG-2000). Os respectivos pesos foram utilizados para obtenção do Rendimento Imediatamente Pós-Massageamento e Rendimento 36 horas Pós-Massageamento, conforme descrito nas fórmulas abaixo.

##### - Rendimento Imediatamente Pós-Massageamento:

$$\frac{[\text{Peso do bife após massageamento (g)} - \text{Peso do bife "in natura" (g)}] \times 100}{\text{Peso do bife "in natura" (g)}}$$

##### - Rendimento 36 horas Pós-Massageamento:

$$\frac{[\text{Peso do bife após equalização (g)} - \text{Peso do bife "in natura" (g)}] \times 100}{\text{Peso do bife "in natura" (g)}}$$

A relação entre o peso dos bifes dos tratamentos CS e SPHS obtidos imediatamente pós-massageamento e 36 horas Pós-Massageamento foi realizada a partir da seguinte fórmula:

$$\frac{[\text{Peso do bife após equalização (g)} - \text{Peso após massageamento (g)}] \times 100}{\text{Peso do bife após massageamento (g)}}$$

### 2.2.5 pH

As leituras de pH foram coletadas nos bifes “*in natura*” e 36 horas Pós-massageamento, para todos os bifes tratados e também para as soluções de salmoura. Para isso, foi utilizado um medidor de pH portátil Marca Cole-Parmer, modelo PH 300 à prova de água com calibração de 4 pontos e compensação automática de temperatura, com sensor de temperatura e eletrodo de pH de corpo de vidro.

### 2.2.6 Delineamento experimental e análise estatística

Foram utilizados seis músculos *Biceps femoris*, totalizando sessenta bifes, provenientes das porções PO e PI. As variáveis dependentes foram: valor de absorbância encontrado para penetração da salmoura, valor de pH e rendimento.

O peso inicial dos bifes foi utilizado como covariável e o delineamento foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo foi utilizado como um bloco. As análises foram realizadas por meio do software SAS utilizando o procedimento MIXED. Para avaliação de diferença significativa das médias ( $P < 0,05$ ) aplicou-se o teste de *Tukey*.

## 2.3 Resultados e Discussão

### 2.3.1 Monitoramento da penetração da salmoura

Bifes tratados CS e SPHS apresentaram valores de absorbância superiores ( $P < 0,05$ ) comparados ao CONTROLE (Tabela 2), demonstrando que houve penetração e retenção das salmouras nos bifes massageados. Os fortes impactos dos bifes com as paredes do massageador associados à presença de fosfato e cloreto de sódio na salmoura, possivelmente foram responsáveis pela penetração e retenção da mesma, nos bifes. Rupturas de tecidos conjuntivos periféricos do músculo no massageamento facilitam a penetração da salmoura e a extração de proteínas (AKTAS; KAYA, 2001). Enquanto que, o fosfato e o cloreto de sódio aumentam a

CRA de duas formas: expandindo as redes de ligações cruzadas dos filamentos finos e grossos com o aumento de cargas carregadas negativamente, que se repelem entre si; e rompendo as forças que determinam o arranjo regular dos filamentos das linhas Z e M, e as forças entre as cabeças de miosina e os filamentos de actina adjacentes (OFFER; TRINICK, 1983; HAMM, 1960).

Tabela 2 - Penetração de diferentes salmouras em *Biceps femoris* bovino para diferentes tempos de massagem e profundidade no bife (camadas), por leitura de absorbância

| Camada | Tratamento                |                           |                            |                            |                           |
|--------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|        | CONTROLE                  | CS                        |                            | SPHS                       |                           |
|        | Tempo 0                   | Tempo 30                  | Tempo 60                   | Tempo 30                   | Tempo 60                  |
| C0     | 0,17 (0,17) <sup>bA</sup> | 0,98 (0,06) <sup>aA</sup> | 1,07 (0,06) <sup>aA</sup>  | 0,93 (0,06) <sup>aA</sup>  | 0,99 (0,06) <sup>aA</sup> |
| C1     | 0,16 (0,05) <sup>cA</sup> | 0,46 (0,05) <sup>bB</sup> | 0,47 (0,05) <sup>bB</sup>  | 0,38 (0,05) <sup>bBC</sup> | 0,60 (0,05) <sup>aB</sup> |
| C2     | 0,15 (0,03) <sup>dA</sup> | 0,27 (0,03) <sup>cC</sup> | 0,31 (0,03) <sup>cbC</sup> | 0,37 (0,03) <sup>bB</sup>  | 0,46 (0,03) <sup>aC</sup> |
| C3     | 0,15 (0,02) <sup>cA</sup> | 0,24 (0,02) <sup>bC</sup> | 0,30 (0,02) <sup>aC</sup>  | 0,31 (0,02) <sup>aC</sup>  | 0,34 (0,02) <sup>aD</sup> |

Valores encontrados entre parênteses ( ), correspondem ao erro padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente  $P < 0,05$

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente  $P < 0,05$

Tempos de massagem em tábler expressados em minutos

CONTROLE - Bifes não submetidos ao massagem

CS - Bifes massagados com salmoura

SPHS - Bifes massagados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

Camadas (profundidade do bife) - C0 (0-2 mm), C1 (2-4 mm), C2 (4-6 mm), C3 (6-8 mm)

A camada mais superficial dos bifes (C0) apresentou maior ( $P < 0,05$ ) penetração das salmouras comparada às camadas mais profundas (C1, C2 e C3), independente ( $P > 0,05$ ) da composição da salmoura (CS ou SPHS) ou tempo de massagem (30 ou 60 min; ver Figura 4). Este resultado sugere que a penetração da salmoura por massagem é mais efetiva nas superfícies do bife (C0) por esta camada ser mais exposta aos impactos mecânicos das paredes do massagador, o que as torna mais susceptíveis aos rompimentos estruturais e facilita a entrada da salmoura. Por outro lado, camadas mais internas têm tecido conjuntivo (epimísio) mais preservado durante massagem, absorvendo e retendo menor quantidade de salmoura, como já observado em filés de peito de frango (ALVARADO; SAMS, 2004).

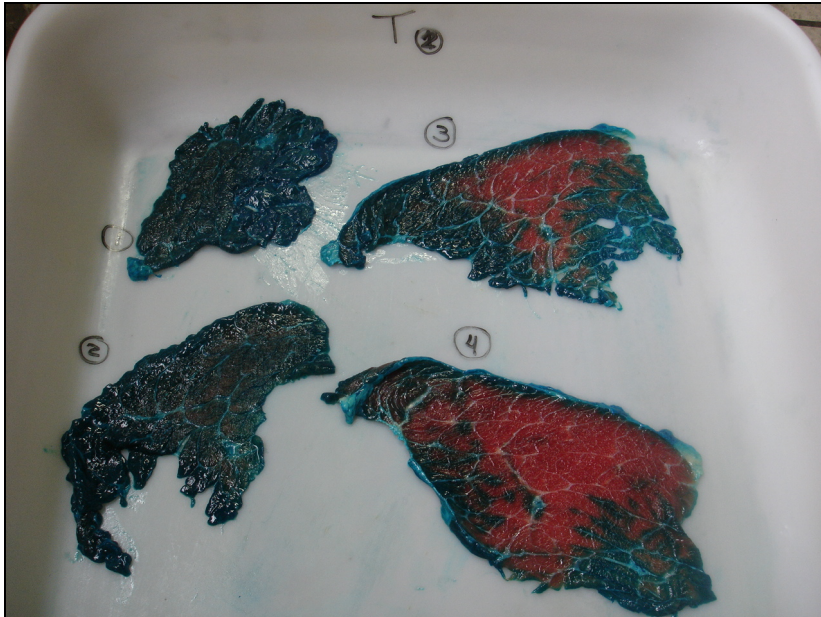


Figura 4 - Foto das quatro camadas C0 (esquerda superior), C1 (esquerda inferior), C2 (direita superior) e C3 (direita inferior) coletadas de bife do músculo *Biceps femoris* pós massagem de 60 minutos com adição do corante FD&C Blue à salmoura

Penetração decrescente da salmoura ao longo da profundidade (0 a 6 mm) do bife foi verificada na maioria dos tratamentos ( $P < 0,05$ ), possivelmente em razão de fatores como a baixa permeabilidade das membranas da célula muscular. Comportamento similar a estes resultados foi observado a profundidade de 5 mm em filés de peito de frango massageados com salmouras adicionadas de diferentes tipos de fosfatos (XIONG, 2005). Uma particularidade foi encontrada para o tratamento SPHS-30 min, o qual não apresentou comportamento totalmente decrescente ( $C1 = C2$  e  $C3$ ). Este resultado sugere que o tempo de 30 min de massagem foi insuficiente para uma penetração gradual no SPHS, possivelmente porque a PHS dificultou o ingresso da salmoura em camadas mais profundas.

A camada mais interna (C3) dos bifés massageados do músculo *Biceps femoris* exibiu penetração das salmouras, embora limitada, o que é evidenciado pela diferença com o CONTROLE ( $P < 0,05$ ). Neste trabalho, a salmoura foi rastreada até a profundidade de 8 mm do bife, não atingindo o ponto médio de sua espessura, que estaria a aproximadamente 12,5 mm de profundidade. Em função disto não foi possível uma avaliação completa do comportamento da penetração da salmoura ao longo do bife. Futuras pesquisas poderiam concentrar-se em analisar o efeito de salmouras em camadas mais profundas do bife.

Continuando a analisar a camada C3, os tratamentos CS-60 min, SPHS-30 min e SPHS-60 min não diferiram ( $P>0,05$ ) entre si quanto à penetração da salmoura, sendo melhores ( $P<0,05$ ) do que o tratamento CS-30 min. Considerando o tempo de massageamento, quesito este importante dentro de uma cadeia industrial por relacionar-se a custos, o tratamento que levaria maior vantagem entre os três que obtiveram maior absorção e retenção de salmoura seria o SPHS-30 min, por dispor de menor tempo de massageamento dos bifes. A partir deste resultado, observa-se que o tratamento SPHS foi mais efetivo em comparação ao CS, sendo que em um mesmo tempo de massageamento (30 min), o primeiro obteve maior absorção e retenção de salmoura. Provavelmente, propriedades de alta solubilidade e CRA atribuídas a proteína hidrolisada de soja (PHS) fizeram do tratamento SPHS mais eficiente no tempo de 30 min (KINSELLA, 1979; ZAYAS, 1997).

De forma geral, a salmoura com proteína hidrolisada de soja (SPHS) demonstrou ser mais efetiva quanto à penetração e retenção para os bifes de bovinos de 2,5 cm de espessura massageados por 60 min, com maior leitura ( $P<0,05$ ) de absorbância nas camadas C1 e C2 (Tabela 2). A alta solubilidade da PHS possibilita aumento na relação proteína/ água, efeito este potencializado pelo cloreto de sódio e fosfato, que além de elevarem o pH, aumentam também a força iônica do meio (KINSELLA, 1979; BAUBLITS et al., 2005). Desta forma, são formados complexos pela associação das proteínas da soja e da carne, elevando a CRA, e conseqüentemente, dificultando a saída da salmoura (XIONG, 2005). E, por fim, o tempo maior de massageamento (60 min) somaria à estas propriedades da PHS, por permitir um maior rompimento das estruturas e solubilização das proteínas, em especial da miosina (HUANG et al., 2007).

Tempos de massageamento em massagedores tem sido relatado em filés de frango (XIONG; KUPSKI, 1999ab; ALVARADO; SAMS, 2004; SMITH; YOUNG, 2007), no entanto, são escassos para cortes cárneos bovino. Na tentativa de se obter o tempo ideal para uma eficiente penetração e retenção da salmoura em bifes do músculo *Biceps femoris* foi realizada análise de regressão no intervalo de 0 a 60 min de massageamento (Figura 5).

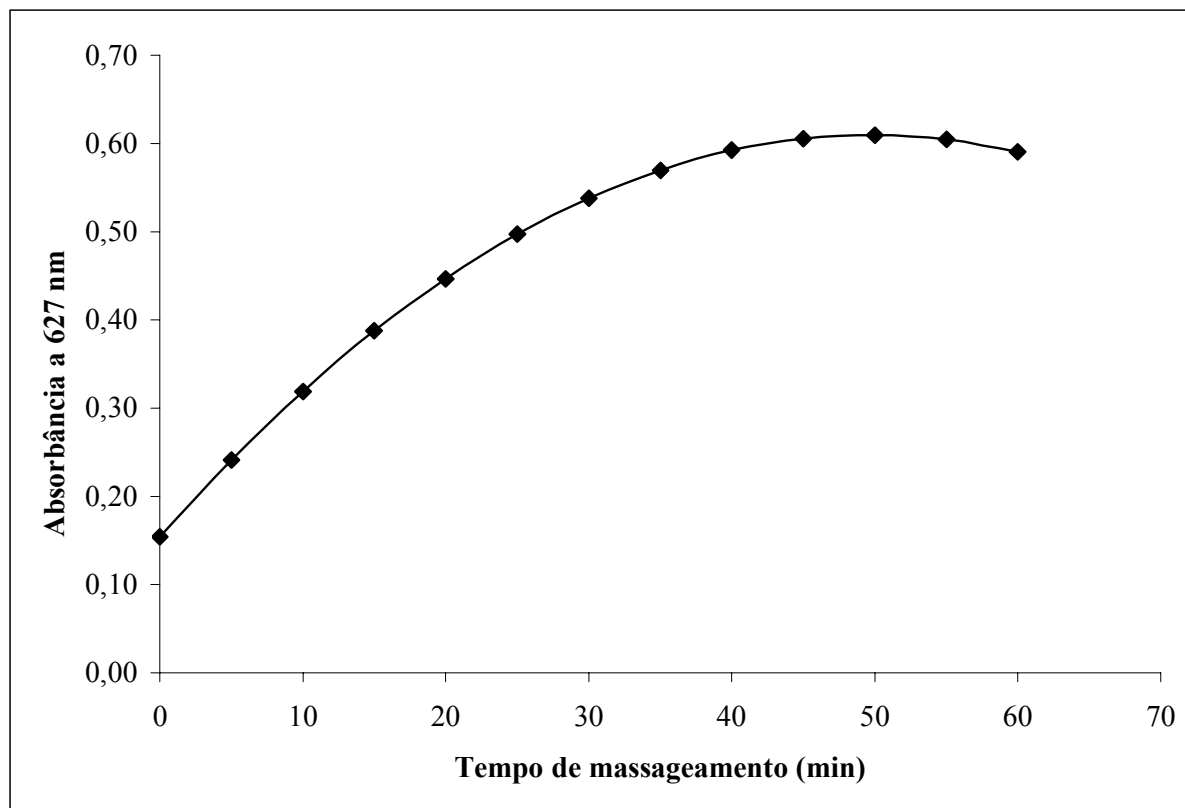


Figura 5 - Penetração da salmoura para diferentes tempos de massagem em massagador de bifes de 2,5 cm de espessura do músculo *Biceps femoris* de bovinos. A fórmula calculada para este gráfico foi:  $Y=0,15405 + 0,018332.T - 0,000184343.T^2$ , onde Y foi os valores encontrados para leituras de absorbância e T, o tempo de massagem dos bifes

Penetração da salmoura nos bifes estabilizou-se entre o tempo de 40 e 50 min de massagem. Embora o ponto máximo de penetração ocorresse no tempo de 50 minutos, os valores de penetração para o tempo de 45 min não diferiu ( $P>0,05$ ) deste. Assim, o tempo de 45 minutos (15 min ON, 1 min OFF) foi atribuído como o melhor tempo de massagem com vácuo para bifes de 2,5 cm de espessura do músculo *Biceps femoris* de bovinos.

### 2.3.2 Avaliação do Rendimento e pH

O rendimento imediatamente pós massagem (RIPM) dos bifes tratados com salmoura foi influenciado pelo tempo de massagem ( $P=0,0002$ ) e região do músculo ( $P=0,0009$ ) (Tabela 3). Maior RIPM foi verificado ( $P<0,05$ ) nos bifes massagados por 60 min em comparação aos bifes massagados por 30 min. O maior tempo de batimento no massagador possivelmente causou maior ruptura nas fibras e suas membranas, tornando estes tecidos frágeis e vulneráveis à absorção da salmoura e a solubilização de proteínas, o que resultou em uma maior

penetração da salmoura e conseqüentemente maior RIPM em bifes massageados por 60 min (BARBUT, 2002). Efeitos positivos para absorção de salmoura também têm sido observados em filés de frango com maiores tempos de massageamento (XIONG; KUPSKI, 1999b).

Tabela 3 – Rendimento (%) dos bifes imediatamente pós massageamento e à 36 horas pós massageamento e as relações entre ambos e para tempo de massageamento em tambler, porções do músculo e tratamentos

| <b>Rendimento imediatamente pós-massageamento (RIPM)<sup>1</sup></b> |                           |                           |
|--|---------------------------|---------------------------|
| <b>Tempo</b>   | <i>30 min</i>             | <i>60 min</i>             |
|  | 9,08 (0,89) <sup>b</sup>  | 12,01 (0,89) <sup>a</sup> |
| <b>Porção</b>  | <i>PO</i>                 | <i>PI</i>                 |
|  | 11,96 (0,98) <sup>a</sup> | 9,16 (0,85) <sup>b</sup>  |
| <b>Rendimento 36 h pós-massageamento (R36PM)<sup>1</sup></b>         |                           |                           |
| <b>Tratamento</b>  | <i>CS</i>                 | <i>SPHS</i>               |
| <i>CONTROLE</i>  | 7,11 (0,72) <sup>a</sup>  | 7,38 (0,72) <sup>a</sup>  |
| -2,16 (0,79) <sup>b</sup>  |                           |                           |
| <b>Tempo</b>   | <i>30 min</i>             | <i>60 min</i>             |
|  | 6,30 (0,72) <sup>b</sup>  | 8,19 (0,72) <sup>a</sup>  |
| <b>Porção</b>  | <i>CONTROLE</i>           | <i>CS e SPHS</i>          |
| <i>PO</i>  | -1,39 (1,00) <sup>A</sup> | 8,34 (0,75) <sup>A</sup>  |
| <i>PI</i>  | -2,93 (0,99) <sup>B</sup> | 6,15 (0,75) <sup>B</sup>  |
| <b>RIPM x R36PM</b>  |                           |                           |
| <b>Tratamento</b>  | <i>CS</i>                 | <i>SPHS</i>               |
|  | -3,09 (0,08) <sup>b</sup> | -2,75 (0,08) <sup>a</sup> |

Valores encontrados entre parênteses ( ), correspondem ao erro padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente P<0,05

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente P<0,05

<sup>1</sup>n= 60 bifes do músculo *Biceps femoris*

CONTROLE - Bifes não submetidos ao massageamento

CS - Bifes massageados com salmoura

SPHS - Bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

PO - Porção Origem do músculo; PI - Porção Inserção do músculo

Quanto às porções do músculo, observou-se que a origem (PO) (11,96%) obteve maior (P<0,05) RIPM em comparação a inserção (PI) (9,16%). Diferenças na composição dos tipos de fibra destas duas porções, as quais podem possuir proteínas miofibrilares de diferentes solubilidades em solução salina, poderiam explicar estes resultados (XIONG, 2004). Distribuição anormal do diâmetro das fibras ao longo do músculo *Biceps femoris* verificado em camundongos

(GOLDSPINK, 1962) seria também mais um fator que possivelmente influenciou as respostas de RIPM nas regiões após tratamentos com salmouras.

Observa-se ainda na Tabela 3 que houve efeito principal de tratamento ( $P < 0,05$ ), tempo de massageamento dos bifes ( $P = 0,0005$ ) e região do músculo ( $P = 0,0040$ ) para o parâmetro de R36PM. O tratamento CONTROLE perdeu peso (-2,16%) e apresentou menor ( $P < 0,05$ ) R36PM comparado aos tratados CS (7,11%) e SPHS (7,38%). A inferioridade dos bifes CONTROLE deve-se ao fato destes não terem sido massageados e o valor negativo de rendimento, às perdas sob refrigeração no período de 36 h, que são consideradas normais para cortes de carne. Já, a similaridade ( $P > 0,05$ ) entre CS e SPHS para R36PM, obtido através do peso de bifes crus, provavelmente ocorreu porque a formação dos complexos de matriz gelatinosa pela PHS, que poderiam conferir maior CRA e rendimento para o tratamento SPHS, talvez, possa ser formada somente mediante o cozimento dos bifes (FENG; XIONG, 2002; FENG; XIONG; MIKEL, 2003; XIONG, 2005).

O R36PM demonstrou comportamento semelhante ao RIPM nos tempos de massageamento e porções do músculo, mas com valores inferiores (Tabela 3). O massageamento dos bifes por 60 min (8,19%) obteve maior ( $P < 0,05$ ) R36PM do que por 30 min (6,30%). As mesmas explicações usadas para variação no RIPM entre tempos de massageamento poderiam ser usadas para a variação no R36PM. Bifes tratados (CS e SPHS) da PO (8,34%) apresentaram maior ( $P < 0,05$ ) R36PM comparado aos bifes tratados (CS e SPHS) da PI (6,15%). Também, bifes CONTROLE da PO (-1,39%) perderam ( $P < 0,05$ ) menos peso em relação aos bifes CONTROLE da PI (-2,93%). Pelo fato do músculo *Biceps femoris* ser bastante extenso, existe grande possibilidade da porção Origem do músculo (próxima à picanha) e da porção Inserção (próxima ao músculo traseiro) possuírem características distintas, que resultem em comportamentos bioquímicos diferentes (REUTER; WULF; MADDOCK, 2002; LAWRIE, 2005; KIM et al., 2007). Alguns pesquisadores observaram que em PO existe predominância de fibras tipo 1, sendo este, somado a hipótese de haver maior quantidade de fibras solúveis em sal, esta porção poder ter absorvido mais água e assim resultado em maior rendimento. (XIONG, 1994; GOTOH, 2003).

Dados obtidos a partir da relação de RIPM e R36PM, para os bifes tratados CS e SPHS, demonstraram efeito principal para tratamentos ( $P = 0,007$ ). Observou-se que o tratamento SPHS (-2,75%) perdeu menos ( $P < 0,05$ ) peso comparado à CS (-3,09%) durante o processo de equalização, mostrando a eficiência da PHS na retenção de água no músculo. Este efeito



possivelmente ocorreu em função da expressiva capacidade da PHS em absorver água, aumentando a quantidade de água ligada e interação entre proteínas do músculo e proteínas da soja, através de repulsões eletrostáticas, o que resultaria em uma menor perda de peso dos bifes para SPHS durante a estocagem (KINSELLA, 1979; ZAYAS, 1997; FENG; XIONG, 2003).

Através de comparações indiretas de médias ainda observou-se que o RIPM foi maior do que R36PM. O menor R36PM poderia ser explicado por alterações do balanço hídrico no músculo. O aumento da concentração de soluto no músculo, em especial o cloreto de sódio, através da adição da salmoura tornaria o meio hipertônico permitindo a saída de água da célula muscular (SMITH, 1999). Este mecanismo de perda de água tende a estabilizar-se após equalização. Desta forma, os resultados de RIPM, obtidos através do peso dos bifes nos primeiros minutos pós massageamento, seriam apenas um indicativo da percentagem de salmoura absorvida inicialmente e não necessariamente retida no músculo (XIONG; KUPSK, 1999b).

Resultados obtidos para pHs verificam que houve efeito principal de porção do músculo ( $P=0,0104$ ) para pH inicial e interação entre tratamento e tempo de massageamento ( $P=0,001$ ) para pH final (Tabela 4).

Tabela 4 – Média do pH inicial e final para os bifes do *Biceps femoris* dos diferentes tratamentos

| <b>pH inicial</b>                     |                           |                           |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <b>Porção</b>                         | <i>PO</i>                 | <i>PI</i>                 |
|                                       | 5,59 (0,03) <sup>b</sup>  | 5,62 (0,03) <sup>a</sup>  |
| <b>pH final</b>                       |                           |                           |
| <b>Tratamento x Tempo<sup>1</sup></b> | <i>30 min</i>             | <i>60 min</i>             |
| <i>CONTROLE</i>                       | 5,52 (0,02) <sup>aC</sup> | 5,52 (0,02) <sup>aC</sup> |
| <i>CS</i>                             | 5,71 (0,02) <sup>aA</sup> | 5,66 (0,02) <sup>aB</sup> |
| <i>SPHS</i>                           | 5,64 (0,02) <sup>bB</sup> | 5,74 (0,02) <sup>aA</sup> |

Valores encontrados entre parênteses ( ), correspondem ao erro padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente  $P<0,05$

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente  $P<0,05$

<sup>1</sup>Tempo de massageamento em tumbler expressos em minutos

CONTROLE - Bifes não submetidos ao massageamento

CS – Bifes massageados com salmoura

SPHS - Bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

PO - Porção Origem do músculo; PI - Porção Inserção do músculo

As porções do músculo PO e PI se diferiram ( $P=0,05$ ) para pH inicial, sendo que a primeira porção apresentou pH mais baixo (5,59) em relação à segunda (5,62). Estes resultados indicam que possivelmente existam diferenças no comportamento metabólico dentre ambas as

regiões do músculo, que resultariam em pHs iniciais diferentes. Queda acentuada do pH é característica em musculaturas onde há o predomínio de fibras rápidas e glicolíticas, para as quais tem sido relatada maior atividade de calpains e velocidade de maturação (GANN; MERKEL, 1978; OUALI et al., 1983). Embora tenha sido verificada diferença de pHs entre regiões do músculo *in natura*, após o tratamento destes com salmouras CS e SPHS, observou-se que as porções já não mais diferiram ( $P>0,05$ ) e seus pHs foram de 5,68 para PO e 5,70 para PI. Estes resultados indicam que o massageamento e as salmouras promoveram maior homogeneidade de pH para o músculo como um todo.

Interação entre tratamento e tempo de massageamento ( $P=0,002$ ), foi verificada para pH final. Semelhança de pH ( $P<0,05$ ) foi observada, nos dois tempos de massageamento para CS, indicando que este tratamento não sofreu efeito de tempo de massageamento. Já, SPHS diferiu ( $P<0,05$ ) entre os tempos de massageamento, sendo o pH de 60 min mais alto (5,74) comparado ao pH de 30 min (5,64). Maiores valores de pH final nos bifes SPHS massageados por 60 min poderia ser atribuído à solubilização total da PHS e maior extração de proteínas. Valores de pH final elevado e aumento da capacidade de retenção de água (CRA) permitiriam maiores rendimentos para os bifes SPHS massageados por 60 min, como observado na Tabela 3.

De forma geral, foi observado que os bifes submetidos ao massageamento com adição de ambas as salmouras CS e SPHS, obtiveram seus pHs mais elevados ( $P<0,05$ ) quando comparados aos bifes *in natura* (CONTROLE). Tal fato provavelmente ocorreu pela adição de fosfatos alcalinos nas salmouras, que resulta na elevação do pH da carne para 5,7 a 6,0, pHs estes onde a maioria das proteínas do músculo se ligam a água mais fortemente devido ao aumento das cargas, permitindo um aumento de água ligada e diminuição de água livre implicando em maior CRA (XIONG, 2004; SMITH, 2001). Corroborando com nossos resultados, observou-se elevação do pH do músculo *Biceps femoris* pós-injeção com uso de fosfatos e cloreto de sódio comparando com os cortes *in natura* (HARADA, 2004; BAUBLITS et al., 2006), como também, aumento na porcentagem de água ligada (de 14,5 para 40,6%) em músculos marinados com 18% de tripolifosfato na salmoura (BAUBLITS et al., 2006).

## 2.4 Conclusões

O tempo de 45 min de massageamento no massagedor foi suficiente para a melhor penetração da salmoura a uma profundidade de 8 mm em bifes do músculo *Biceps femoris*.

Massageamento por 60 min em bifés da PO do músculo resultaram em maior rendimento dos bifés, tanto antes como após período de equalização da salmoura.

Bifés tratados com SPHS apresentaram maior penetração de salmoura e maior pH final quando massageados por 60 min comparados aos massageados por 30 min.

De forma geral, valores de pH final em bifés tratados com CS e SPHS, após equalização da salmoura, foram maiores do que bifés não tratados.

## Referências

AKTAS, N.; KAYA, M. The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and properties of beef. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 213, p. 88-94, 2001.

ALVARADO, C.Z.; SAMS, A.R. Early postmortem injection and tumble marination effects on broiler breast meat tenderness. **Poultry Science**, Ithaca, v. 83, p. 1035-1038, 2004.

BARBUT, S. Meat Processing- Equipment. In: \_\_\_\_\_. **Poultry products processing: An Industry Guide**, New York: CRC Press, 2002. chap 8, p. 233-235.

BAUBLITS, R.T.; POHLMAN, F.W., BROWN-JR, A.H.; JOHSON, Z.B. Effects of enhancement with varying phosphate types and concentrations, at two different pump rates on beef *Biceps femoris* instrumental color characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 264-276, 2005.

\_\_\_\_\_. Enhancement with varying phosphate types, concentrations, and pump rates, without sodium chloride on beef *Biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 404-414, 2006.

CAMARGO, M.X.; CHIEFFI, A. **Ezoognósia**. Água Branca: Instituto de Zootecnia, 1971. 320 p.

CHENG, Q.F.; KENNY, T.; WARD, P.; O'NEIL, E.O.; KERRY, J.P.; WALSH, H; MARTINS, S. Effects of blade tenderization and tumbling on the distribution of injected ingredients in beef muscle. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007. Beijing. **Proceedings...** Beijing, 2007. p.633-634.

CHRISTENSEN, M.; TORNGREN, M.A.; KARLSSON, A.H.; ERTBJERG, P. Injection of brine containing kiwi fruit powder increases tenderness of pork m. *Biceps femoris*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007. Beijing. **Proceedings...** Beijing, 2007. p.295-296.

FENG, J.; XIONG, Y.L. Interaction of myofibrillar and preheated soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 2851-2856, 2002.

FENG, J.; XIONG, Y.L.; MIKEL, W.B. Textural properties of pork frankfurters containing thermally/enzymatically modified soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 1220-1224, 2003.

GANN, G.L.; MERKEL, R.A. Ultrastructural changes in bovine *longissimus dorsi* muscle during postmortem aging. **Meat Science**, Kidlington, v. 2, p. 129, 1978.

GOLDSPINK, G. Studies on postmitotic growth and development of skeletal muscle. **Proceedings of the Royal Irish Academy**, Dublin, v. 62B, p. 135-150, 1962.

GOTOH, T. Histochemical properties of skeletal muscles in Japanese cattle and their meat production ability. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 74, p. 339-354, 2003.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. In: CHICHESTER, C.O.; MRAK, E.M.; STEWART, G.F. **Advances in Food Research**, New York: Academic Press, 1960. p. 355-392.

HARADA, M. M. **Efeito da desossa e da marinação sobre as características de processamento, físico-químicas e sensoriais do músculo *biceps femoris***. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado e Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

HUANG, S.L.; CHOU, C.K.; CHEN, S.L.; TSENG, T.F.; LIN, K.J. The effect of brine injecting, tumbling, and curing treatment on the quality of the dried shredded pork. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007. Beijing. **Proceedings...** Beijing, 2007. p.475-476.

KIM, Y.K.; SEONG, S.H.; CHO, S.H.; YOO, Y.M.; PARK, B.Y.; KIM, J.H.; CHOI, H.S.; AHN, C.N.; BAEK, B.H. Meat quality and sensory properties of 8 bovine *longissimus* and *femoris* of hanwoo beef. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 53., 2007. Beijing. **Proceeding...** Beijing, 2007. p.311-312.

KINSELLA, J.E. Functional Properties of Soy Proteins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Chicago, v. 56, p. 242-257, 1979.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384p.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Barking, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

OUALI, A.; OBLED, A.; COTTIN, P.; MERDADI, N.; DUCASTAING, A.; VALIN, C. Comparative effects of postmortem storage and low-calcium-requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, n. 5, p. 476, 1983.

REUTER, B.J.; WULF, D.M.; MADDOCK, R.J. Mapping intramuscular tenderness variation in four major muscles of the beef round. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2594-2599, 2002.

RICHARDSON, R.I.; JONES, J.M. The effects of salt concentration and pH upon water-binding, water- holding and protein extractability of turkey meat. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, p. 683, 1987.

SANDERS, D.H. Fluorescent dye tracing of water entry and retention in chilling of broiler chicken carcasses. **Poultry Science**, Ithaca, v. 48, p. 2032-2037, 1969.

SMITH, D. Marination: tender to the bottom line. **Broiler Industry**, Mount Morris, v. 62, p. 22, 1999.

SMITH, D.M. Functional Properties of Muscle Protein in Processed Poultry Products. In: SAMS, A.R. **Poultry Meat Processing**, Boca Raton: CRC Press, 2001. chap. 11, p. 181-194.

SMITH, D.P.; YOUNG, L.L. Marination pressure and phosphate effects on broiler breast fillet yield, tenderness, and color. **Poultry Science**, Ithaca, v. 86, p. 2666-2670, 2007.

SZERMAN, N.; GONZALEZ, C.B.; SANCHO, A.M.; GRIGIONI, G.; CARDUZA, F.; VAUDAGNA, S.R. Effect of whey protein and sodium chloride addition plus tumbling procedures on technological parameters, physical properties and visual appearance of *sous vide* cooked beef. **Meat Science**, Barking, v. 76, p. 463-473, 2007.

UTTARO, B.; AALHUS, J.L. Effect of thawing rate on distribution of an injected salt and phosphate brine in beef. **Meat Science**, Barking, v. 75, p. 480-486, 2007.

XIONG, Y.L. Myofibrillar from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functiona properties in meat processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 3, p. 293-320, 1994.

\_\_\_\_\_. Muscle proteins. In: YADA, R.Y. **Proteins in food processing**, Boca Raton: CRC Press, 2004. chap. 5, p.100-122.

\_\_\_\_\_. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 281-287, 2005.

XIONG, Y.L.; KUPSKI, D.R. Monitoring phosphate marinade penetration in tumbled chicken filets using a Thin-Slicing, Dye-Tracing Method. **Poultry Science**, Ithaca, v. 78, p. 1048-1052, 1999a.

\_\_\_\_\_. Time-dependent marinade absorption and retention, cooking yield, and palatability of chicken filets marinated in various phosphate solutions. **Poultry Science**, Ithaca, v. 78, p. 1053-1059, 1999b.

ZAYAS, J. F. Water Holding Capacity of Proteins. In: \_\_\_\_\_. **Functionality of protein in food**, Berlin: Springer, 1997. chap. 2, p. 76-127.

### 3 MASSAGEAMENTO DE DIFERENTES PORÇÕES DO MÚSCULO BOVINO *BICEPS FEMORIS* COM DIFERENTES TIPOS DE SALMOURAS: EFEITO SOBRE O TEOR DE COLÁGENO TOTAL E ATRIBUTOS SENSORIAIS

#### Resumo

Este trabalho avaliou o efeito do massageamento com diferentes tipos de salmouras nos bifes de diferentes porções do músculo *Biceps femoris* sobre o teor de colágeno total e atributos sensoriais. Para isto, dois experimentos foram conduzidos. No Experimento 1, cada um dos seis músculos bovinos Nelore foi dividido em três porções: Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2). Os tratamentos utilizados foram: CONTROLE (bifes não massageados), CS (bifes massageados com salmoura) e SPHS (bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja). Após a equalização das salmouras, os bifes foram armazenados por 1 e 12 dias, exceto os bifes CONTROLE que foram armazenados somente por 1 dia. Posteriormente, as análises de colágeno total e composição centesimal foram realizadas. No Experimento 2, os músculos foram obtidos de outros animais com os mesmos padrões descritos no Experimento 1 e as análises realizadas foram microbiológicas e sensoriais para as PO + PI1 (em conjunto) e PI2. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo representava um bloco. Como resultado, uma interação ( $P=0,02$ ) entre tratamento e porção do músculo para colágeno total foi observada nos bifes armazenados por 1 dia, onde os bifes CONTROLE da PO e PI1 não diferiram ( $P>0,05$ ) e ambos foram superiores ( $P<0,05$ ) à PI2. Na PO e PI1, os bifes massageados CS e SPHS demonstraram menores ( $P<0,05$ ) teores de colágeno comparados ao CONTROLE. O armazenamento dos bifes por 12 dias permitiu que as porções e tratamentos não demonstrassem nenhum efeito ( $P>0,05$ ) para colágeno total. Os valores obtidos na composição centesimal para os bifes massageados e CONTROLE foram similares aos encontrados na literatura. As análises microbiológicas demonstraram que os bifes estavam em boas condições de consumo. Na avaliação sensorial observou-se que os bifes CS e SPHS da PI2 foram mais ( $P<0,05$ ) macios comparados à PO + PI1. Interação ( $P=0,001$ ) entre tratamento e dia de armazenamento em PO + PI1 foi encontrada para maciez, suculência e impressão global, onde os bifes CONTROLE foram inferiores ( $P<0,05$ ) aos bifes CS e SPHS, que não diferiram entre si ( $P>0,05$ ), tanto no dia 1 como no dia 12. Os bifes CS e SPHS, não foram afetados ( $P>0,05$ ) pelos dias de armazenamento, para nenhum dos atributos avaliados. Bifes armazenados por 1 dia demonstraram interação ( $P=0,0219$ ) entre tratamento e porção do músculo para suculência, onde os bifes CONTROLE de todas as porções foram menos suculentos ( $P<0,05$ ) em comparação aos CS e SPHS, que foram semelhantes ( $P>0,05$ ). Já, os bifes CONTROLE da PI2 tiveram menor ( $P<0,05$ ) suculência quando comparado aos bifes CONTROLE da PO + PI1. Os resultados indicam que as porções do músculo, massageamento com salmouras e períodos de armazenamento influenciaram no teor de colágeno total e nos parâmetros sensoriais de bifes do músculo *Biceps femoris*.

Palavras-chave: Marinação; Carne bovina; Maciez sensorial; Proteína hidrolisada de soja

### 3 TUMBLING OF DIFFERENT PORTIONS FROM THE *BICEPS FEMORIS* BOVINE MUSCLE WITH DIFFERENT BRINE TYPES: EFFECT ON THE TOTAL COLLAGEN CONTENT AND SENSORY ATTRIBUTES

#### Abstract

This work evaluated the effect of tumbling with different brine types in the steaks from different portions of the *Biceps femoris* muscle on the total collagen content and sensory attributes. For this, two experiments were carried out. In Experiment 1, one each of six Nellore bovine muscles was divided in three portions: Origin (OP), Insertion 1 (IP1) and Insertion 2 (IP2). The treatments used for the steaks were: CONTROL (no tumbling or addition of brine), WTB (with tumbling and addition of brine), and WTB/HSP (with tumbling and addition of brine plus hydrolyzed soy protein). After equalization of brines, the steaks were stored for 1 and 12 days, except to the CONTROL steaks that were only stored for 1 day. Following, the total collagen and proximate composition analyses were performed. In Experiment 2, the muscles were obtained from other animals with similar patterns described in Experiment 1, and the analyses performed were microbiologic and sensory for the OP + IP1 (pooled) and IP2. The experimental design was completely randomized blocks, where each muscle represented one block. As result, an interaction ( $P=0.02$ ) between treatment and muscle portion for total collagen was observed in steaks stored for 1 day, where the CONTROL steaks from OP and IP1 did not differ ( $P>0.05$ ) and both were higher ( $P<0.05$ ) than IP2. In OP and IP1, the WTB and WTB/HSP steaks demonstrated lower ( $P<0.05$ ) total collagen content when compared to CONTROL steaks. The steaks stored for 12 days allowed that the portions and treatments presented no effect ( $P>0.05$ ) for total collagen. The values obtained from the proximate composition for the tumbled and CONTROL steaks were similar to those found in the literature. The microbiologic analysis showed that the steaks were in good conditions for consumption. In sensory analysis, it was observed that the WTB and WTB/HSP steaks from IP2 were tender ( $P<0.05$ ) than OP + IP1. Interaction ( $P=0.001$ ) between treatment and storing time in OP + IP1 was found for tenderness, juiciness and overall satisfaction, where the CONTROL steaks were lower ( $P<0.05$ ) than WTB and WTB/HSP steaks, which did not differ ( $P>0.05$ ), at day 1 and 12 of storing. The storing time affect ( $P>0.05$ ) no sensory attributes in the WTB and WTB/HSP steaks. Steaks stored for 1 day showed interaction ( $P=0.0219$ ) between treatment and muscle portion for juiciness, where the CONTROL steaks from all the portions were less juicy when compared to WTB and WTB/HSP steaks, which were similar ( $P>0.05$ ). CONTROL steaks from IP2 had lower ( $P<0.05$ ) juiciness in relation to CONTROL steaks from OP + IP1. The results indicate that the muscle portions, tumbling with brines and storing times influence on the total collagen content and sensory attributes of steaks from the *Biceps femoris* muscle.

Keywords: Beef; Hydrolyzed soy protein, Marination; Tenderness



### 3.1 Introdução

O *Biceps femoris* é um músculo originado do lado externo da coxa que oferece um grande potencial para agregar-se valor (BAUBLITS et al., 2005a), devido ao seu tamanho representativo e o seu peso na carcaça bovina. Por outro lado, este músculo tem gerado insatisfação com relação à maciez por alguns consumidores (RHEE et al., 2004), provavelmente devido a sua força de cisalhamento encontrar-se no limiar de ligeiramente macio e ligeiramente duro (McKEITH et al., 1985; JHONSON et al., 1990). Baixas pontuações para maciez e suculência sensorial também tem sido relatadas (SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1995; BROOKS et al., 2000; RHEE et al., 2004; NELSON et al., 2004; BAUBLITS et al., 2005b; BAUBLITS et al., 2006).

Variação entre características palatáveis e bioquímicas para o músculo *Biceps femoris* são observadas dentre as porções Origem, Média e Inserção deste. Valores de força de cisalhamento para estas porções tem sido de 3,70; 4,04 e 3,87 kgf (RHEE et al., 2004). Os mesmos autores relataram também altos e diferentes teores de colágeno total 9,56; 9,16 e 7,46 mg/g ainda para estas porções do músculo *Biceps femoris*.

Reuter, Wulf e Maddock (2002), analisando três porções distintas do *Biceps femoris* verificaram valores menores de força de cisalhamento para a porção da origem do músculo (3,01 kgf), intermediários (4,24 kgf) para a porção da inserção e maiores (4,76 kgf) para a porção mediana (7 a 10 cm posterior ao ponto de separação entre alcatra e coxão). Quando o *Biceps femoris* foi analisado com relação aos músculos *Semitendinosus* e *Vastus lateralis*, a região próxima ao primeiro foi mais macia comparada à região próxima ao segundo (REUTER; WULF; MADDOCK, 2002).

Esse comportamento intramuscular no *Biceps femoris* é pouco conhecido e vem despertando a atenção dos pesquisadores na área da ciência de carne quanto à variabilidade dentro do próprio músculo, já que muitos estudos direcionaram a variação entre cada animal e entre os músculos. Reuter, Wulf e Maddock (2002) registraram que a variação na força de cisalhamento intramuscular (desvio padrão,  $dv = 0,56\text{kgf}$ ) é quase duas vezes maior que a variação na força de cisalhamento entre animais ( $dv = 0,29\text{kgf}$ ) e 2,8 vezes maior à variação entre músculos ( $dv = 0,20\text{kgf}$ ).

Frente a todas as variações de maciez, colágeno total (RHEE et al., 2004), e falta de suculência observadas no *Biceps femoris*, o massageamento é uma tecnologia, que tem elevado os

atributos sensoriais (LEMOS, 2001; ELAM et al., 2002) e trazendo uniformidade para os produtos. Normalmente as salmouras utilizadas nesta técnica possuem em sua composição cloreto de sódio e fosfatos, sendo eles os principais responsáveis pelo aumento da capacidade de retenção de água. No entanto, outros aditivos também tem parecido interessantes.

Á proteína hidrolisada de soja, a qual possui uma alta solubilidade em água, é também incorporada na carne para os mesmos fins mencionados anteriormente. A contribuição para a capacidade de retenção de água pelas proteínas hidrolisadas é atribuída à propriedade hidrófila forte dos peptídeos de soja (ADLER-NILSEN; OLSEN, 1979) e, possivelmente, as suas interações sinérgicas com as proteínas musculares, formando uma matriz gelatinosa capaz de imobilizar a água externa (FENG; XIONG, 2002, 2003).

Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do massageamento de porções distintas do músculo bovino *Biceps femoris* sobre o teor de colágeno total e atributos sensoriais.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Experimento 1**

Para realização deste experimento foram utilizados 6 músculos *Biceps femoris* (~5,8 kg cada) de bovinos Nelore (*Bos indicus*) com idade de 31 a 35 meses, baseado na dentição dos animais (CAMARGO; CHIEFFI, 1971). Os músculos com espessura de gordura intermediário variando de 3 a 6 mm e obtidos do lado direito da carcaça, foram mantidos sob refrigeração por 12 dias após o abate até serem cortados e tratados.

Os músculos *Biceps femoris* foram divididos em três porções: PO - Porção Origem, PI1 - Porção Inserção 1 e PI2 - Porção Inserção 2 (Figura 1). Todas as porções foram fatiadas no sentido horizontal ao eixo do músculo e para cada uma delas foram obtidos 5 bifés de 2,5cm de espessura, totalizando 15 bifés por músculo.

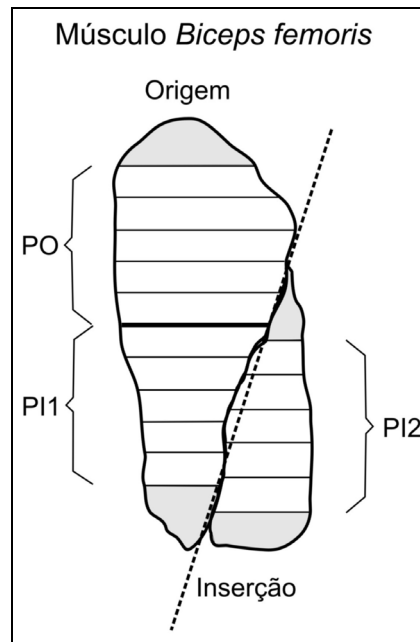


Figura 1 - Esquema ilustrativo da amostragem realizada no músculo *Biceps femoris*, demonstrando as porções Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2). As regiões de coloração cinza da figura foram desprezadas do músculo

Os três tratamentos, CONTROLE (bifes não massageados), CS (bifes massageados com salmoura) e SPHS (bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja), foram distribuídos ao acaso dentro de cada uma das porções do músculo (PO, PI1 e PI2). Dos cinco bifes de cada porção, dois bifes foram submetidos ao tratamento CS, outros dois ao SPHS e um apenas ao CONTROLE.

### 3.2.1.1 Preparação das salmouras

A quantidade (litros) de cada salmoura preparada correspondeu a 20% do peso total dos bifes de cada tratamento (CS e SPHS) e ao final obteve-se 16,67% de salmoura e 83,33% de carne nas amostras massageadas. As composições das salmouras utilizadas nos tratamentos CS e SPHS estão apresentadas na Tabela 1. A proteína de soja hidrolisada (PHS) acrescida na salmoura SPHS, foi obtida através da hidrólise a 4% da proteína isolada de soja (PIS) pela enzima alcalase e fornecida pela Solae Brasil para a realização deste trabalho.

No tratamento CONTROLE não houve massageamento e nem adição de salmoura nos bifes.

Tabela 1 - Porcentagens dos aditivos no produto final e na salmoura para tratamentos CS e SPHS

| Ingredientes                       | Salmoura tratamento CS |            | Salmoura tratamento SPHS |            |
|------------------------------------|------------------------|------------|--------------------------|------------|
|                                    | %Produto Final         | % Salmoura | %Produto Final           | % Salmoura |
| Sal                                | 1,800                  | 10,800     | 1,800                    | 10,800     |
| Glutamato monossódico              | 0,150                  | 0,900      | 0,150                    | 0,900      |
| Açúcar                             | 0,100                  | 0,600      | 0,100                    | 0,600      |
| Proteína hidrolisada de soja (PHS) | -                      | -          | 0,333                    | 2,000      |
| Tripolifosfato                     | 0,300                  | 1,800      | 0,300                    | 1,800      |
| Nitrito de Sódio                   | 0,015                  | 0,090      | 0,015                    | 0,090      |
| Eritorbato de Sódio                | 0,050                  | 0,300      | 0,050                    | 0,300      |
| Água gelada                        | 14,250                 | 85,510     | 13,920                   | 83,510     |
|                                    | 16,670                 | 100,000    | 16,670                   | 100,000    |

### 3.2.1.2 Massageamento dos bifes

O processo de massageamento dos bifes destinados aos tratamentos CS e SPHS foi realizado na planta piloto do laboratório de carnes da ESALQ/USP, com temperatura regulada de  $13 \pm 2$  °C, através do uso de um climatizador de ambiente. Os bifes do músculo *Biceps femoris* (aproximadamente 2,5 cm de espessura) foram massageados com suas respectivas salmouras por 45 min com o uso de um massagador (Frigomaq-modelo TF 30VE), em rotação intermitente (15 min ON, 1 min OFF) com velocidade de 30 RPM e uso de vácuo.

Os bifes massageados e os bifes CONTROLE foram embalados a vácuo individualmente em sacos plásticos impermeáveis tipo barreira de gases com auxílio de uma seladora (Selovac-300B). A seguir todos os bifes foram colocados em caixas adequadas onde permaneceram em câmara de resfriamento por 48 h à temperatura de  $0 \pm 2$  °C, para que ocorresse a equalização da salmoura nos bifes massageados. Após a equalização, bifes de todos os tratamentos foram mantidos em câmara de resfriamento à temperatura de  $0 \pm 2$  °C por tempo de 1 e 12 dias. Após estes períodos de armazenamento, os bifes CONTROLE, CS e SPHS foram congelados em freezer sob temperatura de  $-18 \pm 4$  °C, e posteriormente foram submetidos às análises de colágeno total e composição centesimal.

### 3.2.1.3 Análises realizadas

#### 3.2.1.3.1 Determinação de colágeno total

O teor de hidroxiprolina foi quantitativamente determinado como medida da proteína colágeno de bifes do músculo *Biceps femoris* massageados e não massageados. Amostras

descongeladas e cruas de 4g do músculo, armazenadas por 1 e 12 dias após a equalização das salmouras, foram digeridas com solução de ácido clorídrico em constante ebulição sob refluxo, a solução foi filtrada e diluída. A hidroxiprolina foi oxidada pela adição de cloromina T. Nesta solução foi incorporado o 4-dimetilamino-benzaldeído, que resultou em uma coloração vermelho púrpura, a qual foi medida espectrofotometricamente a 558 nm. Os resultados para Hidroxiprolina foram multiplicados por 8 e a quantidade de colágeno final foi expressa em g/100g, de acordo com Association of Official Agricultural Chemists - AOAC (1995).

#### **3.2.1.3.2 Composição centesimal**

A análise de composição centesimal foi realizada a partir de amostras cruas dos tratamentos CONTROLE, CS e SPHS, obtidas no dia 1 após equalização da salmoura. Os ensaios foram feitos em triplicata para cada determinação (umidade, proteína, lipídios e cinzas). Os teores de umidade, proteínas e cinzas foram determinados segundo Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (1995). A umidade foi determinada por gravimetria em estufa 105°C, até o peso constante. O teor de proteína foi quantificado mediante a determinação do nitrogênio total, pelo método de micro-Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para a conversão do valor de nitrogênio em proteína. As cinzas foram determinadas por incineração da matéria orgânica em mufla a 550°C e o teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando o hexano como solvente. Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g.100 g<sup>-1</sup>.

#### **3.2.1.4 Delineamento experimental**

Foram utilizados seis músculos *Biceps femoris*, totalizando noventa bifos, provenientes das porções PO, PI1 e PI2. As variáveis dependentes foram os teores de colágeno, umidade, proteína e lipídios e cinzas.

O delineamento foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo foi utilizado como um bloco. As análises foram realizadas por meio do software SAS utilizando o procedimento MIXED. Para avaliação de diferença significativa das médias (P<0,05) aplicou-se o teste de *Tukey*.

### 3.2.2 Experimento 2

O segundo experimento foi realizado a partir de 6 músculos *Biceps femoris* bovinos, onde a raça, condições corpóreas e idade dos animais, tratamentos, divisões e sub divisões do músculo e tempo de massageamento, de equalização das salmouras e de armazenamento refrigerado dos bifes pós equalização, foram semelhantes aos descritos no Experimento 1 deste capítulo. As únicas diferenças que houve entre os experimentos foram que no Experimento 2 os músculos foram massageados 72 h após abate dos animais e as análises realizadas nos bifes CONTROLE, CS e SPHS foram microbiológicas e sensoriais para as porções PO + PI1 (em conjunto) e PI2.

#### 3.2.2.1 Análises microbiológicas

Com a finalidade de atestar a segurança dos provadores participantes da análise sensorial, amostras de bifes cozidos a temperatura interna (~71°C), CONTROLE, CS e SPHS, foram submetidas as seguintes análises:

Contagem de *psicrotróficos* - A contagem de *psicrotróficos* aeróbicos foi realizada por meio de plaqueamento em profundidade, inoculando-se 1mL das diluições em meio *Plate Count Agar* (PCA) segundo recomendações de Downes e Ito (2001).

Contagem de *enterobactérias* - Foi utilizado o método de plaqueamento em profundidade em VRBG-A (com sobrecapa) com incubação a 35°C por 48 horas, conforme descrito pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods – ICMSF (1978) (VANDERZANT; SPLITTOESSER, 1992).

*Staphylococcus* coagulase positiva - Para a contagem presuntiva de *Staphylococcus* coagulase positiva foi utilizado o método de contagem direta em placas, descrito por Downes e Ito (2001).

*Salmonella spp* - Para a análise de presença/ausência de *Salmonella spp*, em 25g, foi utilizado o kit rápido “1-2 test”, da Bio Control, conforme descrito por Silva, Junqueira e Silveira (2001).

#### 3.2.2.2 Análise sensorial

##### 3.2.2.2.1 Treinamento e seleção dos provadores

Através do preenchimento de um questionário distribuído aos prováveis provadores (Anexo 1) foram convocados dezoito destes que não possuíam problemas de saúde, idade entre

dezoito e quarenta e cinco anos, nível de escolaridade superior e pós-graduação e consumidores frequentes de carne bovina. Nove dos provadores já haviam participado anteriormente de um treinamento para avaliação sensorial em carnes.

O treinamento foi realizado em três dias. No primeiro dia os provadores foram informados sobre o objetivo do trabalho, como ocorreria o treinamento e seleção final dos provadores. Neste dia todos receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2) e o atributo “maciez” foi detalhado para eles. Nesta fase, foi estabelecida a intensidade de maciez através da degustação de cortes cárneos muito macio (filé mignon), intermediário (coxão mole) e duro (peito bovino) cozidos até atingir temperatura interna de  $71 \pm 5$  °C. Todas as notas atribuídas pelos provadores foram colocadas em escala linear não estruturada de 10 pontos. Amostras foram oferecidas aos provadores até que houvesse um consenso entre a equipe.

No segundo dia, os provadores foram treinados para a percepção do atributo suculência. Para isto, foram oferecidos cortes cárneos suculentos (contra filé) e pouco suculentos (coxão duro), cozidos a temperaturas interna de 60 e 80 °C (LISTRAT et al., 1999) para obtenção de variação da suculência também de acordo com a temperatura de cocção. A seguir os provadores novamente atribuíram notas dentro da escala utilizada até haver consenso na definição deste parâmetro.

Ao final do treinamento, terceiro dia, os provadores foram submetidos à uma avaliação para a eleição dos provadores treinados. Assim, amostras de carnes foram oferecidas em cabines individuais e iluminadas com luz vermelha para impedir a percepção da coloração das amostras, o que poderia interferir na pontuação dada pelos provadores. Fichas de avaliações (Anexo 3) foram utilizadas para a avaliação dos provadores quanto aos atributos maciez e suculência. Ao final da avaliação, foram recrutados através de análise de diferenças de médias e gráfico de dispersão, nove provadores que apresentaram melhor poder discriminatório, boa reprodutividade nos julgamentos e consenso com os demais membros do grupo.

#### **4.2.2.2 Avaliação sensorial**

Bifes CONTROLE e massagados CS e SPHS, escolhidos ao acaso, foram cozidos a temperatura interna de  $71 \pm 5$  °C, cortados em cubos de aproximadamente  $1,5 \text{ cm}^3$ , envolvidos em papel manteiga e imediatamente servidos, enquanto mornos, para a equipe de provadores recrutados de acordo com a guia de avaliação sensorial (AMSA, 1995). Os provadores

degustaram amostras de cada tratamento, porção do músculo e tempo de armazenamento sob refrigeração, por três vezes. Os quatro atributos avaliados foram: maciez, suculência, sabor estranho e impressão global (10 = muito macio, muito suculento, extremamente forte e ótima; 0 = pouca maciez, pouco suculenta, nenhum sabor estranho e péssima – Figura 2) respectivamente.

**AVALIAÇÃO DE CARNE BOVINA MARINADA**

NOME: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Por favor, prove as amostras de carne bovina e avalie quanto à maciez, suculência, sabor estranho e impressão global de acordo com as escalas abaixo:

**MACIEZ**

0  10

Pouco maciez Muito macia

**SUCULÊNCIA**

0  10

Pouco suculenta Muito suculenta

**SABOR ESTRANHO**

0  10

Nenhum Extremamente forte

**IMPRESSÃO GLOBAL**

0  10

Péssima Ótima

Comentários: \_\_\_\_\_

Figura 2 - Ficha utilizada para avaliação sensorial

### 3.2.2.3 Delineamento experimental

Foram utilizados seis músculos *Biceps femoris*, totalizando noventa bifés, provenientes das porções PO, PI1 e PI2. As variáveis dependentes foram as pontuações dadas pelos provadores para os atributos maciez, suculência, sabor estranho e impressão global.

O delineamento foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo foi utilizado como um bloco. As análises foram realizadas por meio do software SAS utilizando o procedimento MIXED. Para avaliação de diferença significativa das médias ( $P < 0,05$ ) aplicou-se o teste de *Tukey*.



### 3.3 Resultados e Discussão

#### 3.3.1 Experimento 1

##### 3.3.1.1 Colágeno Total

No primeiro dia após equalização das salmouras (Dia 1) foi observado interação ( $P=0,02$ ) entre as porções do músculo e tratamentos para teor de colágeno total (Tabela 2). Bifes CONTROLE, das porções PO (19,1 mg/g) e PI1 (16,9 mg/g) não diferiram ( $P>0,05$ ) quanto ao teor de colágeno total, mas ambas apresentaram valores superiores ( $P<0,05$ ) à PI2 (8,8 mg/g). Menores valores de colágeno total para PI2 em relação às outras porções do músculo poderiam ser atribuídos à localização anatômica desta. Maior quantidade de colágeno tem sido relacionada a regiões do músculo que demandam maior tensão, no entanto, alguns estudos têm revelado que a maior organização de fibras de colágeno (sentido paralelo às fibras) e menor quantidade de colágeno, também poderiam favorecer maior tensão (JASPERS et al, 2002). Desta forma, as fibras de colágeno poderiam ser mais organizadas e se apresentarem em menor concentração na PI2, porção esta que parece demandar maior tensão no músculo *Biceps femoris*. Menor teor de colágeno total para a região distal do músculo *Biceps femoris*, que seria equivalente neste trabalho à PI2 e final da porção PI1, tem sido observado por outros autores (RHEE et al., 2004).

Bifes massageados (CS e SPHS) das porções PO e PI1, demonstraram menores ( $P<0,05$ ) teores de colágeno total comparados ao CONTROLE destas mesmas regiões, sugerindo que a adição das salmouras CS e SPHS, possibilitou uma diluição do teor de colágeno total nestes bifes. Redução nos teores de colágeno total devido a adição de salmouras no músculo *Biceps femoris* já foi observada anteriormente (Harada, 2004). Por outro lado, o teor de colágeno dos bifes massageados (CS e SPHS) da PI2 não diferiu ( $P>0,05$ ) dos não massageados (CONTROLE) indicando que nesta porção possivelmente ocorreu uma menor absorção das salmouras, de forma que o efeito de diluição das fibrilas de colágeno não foi observado nos bifes massageados.

Tabela 2 – Efeito do tratamento e/ou porção do músculo *Biceps femoris* sobre teor de colágeno total (mg /g de músculo) nos diferentes dias de armazenamento após equalização das salmouras

| <b>Dia 1 (P=0,02)</b>    |                          |                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>Porção*Tratamento</b> | <i>CONTROLE</i>          | <i>CS</i>                | <i>SPHS</i>              |
| <i>PO</i>                | 19,1 (1,8) <sup>aA</sup> | 10,7 (1,3) <sup>bA</sup> | 11,4 (1,3) <sup>bA</sup> |
| <i>PI1</i>               | 16,9 (1,8) <sup>aA</sup> | 8,0 (1,3) <sup>bA</sup>  | 10,2 (1,3) <sup>bA</sup> |
| <i>PI2</i>               | 8,8 (1,8) <sup>aB</sup>  | 9,6 (1,3) <sup>aA</sup>  | 8,2 (1,3) <sup>aA</sup>  |
| <b>Dia 12 (P=0,06)</b>   |                          |                          |                          |
| <b>Tratamento</b>        | <i>CONTROLE</i>          | <i>CS</i>                | <i>SPHS</i>              |
|                          | 13,0 (0,8) <sup>a</sup>  | 10,1 (0,7) <sup>a</sup>  | 11,4 (1,3) <sup>a</sup>  |
| <b>Porção</b>            | <i>PO</i>                | <i>PI1</i>               | <i>PI2</i>               |
|                          | 11,6 (0,7) <sup>a</sup>  | 12,4 (0,7) <sup>a</sup>  | 10,6 (0,8) <sup>a</sup>  |

Valores encontrados entre parênteses ( ), correspondem ao erro padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente  $P < 0,05$

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente  $P < 0,05$

Dia = dias de armazenamento dos bifes após equalização da salmoura

CONTROLE - Bifes não massageados

CS - Bifes massageados com salmoura

SPHS - Bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

PO - Porção próxima a Origem do músculo

PI1 - Porção Inserção 1 do músculo

PI2 - Porção a Inserção 2 do músculo

O armazenamento dos bifes por 12 dias após a equalização das salmouras resultou em uma uniformidade ( $P > 0,05$ ) dos teores de colágeno total entre os tratamentos e porções do músculo (Tabela 2). Enfraquecimento do tecido conjuntivo e solubilização do colágeno durante o armazenamento poderiam contribuir para a uniformidade de colágeno total, como tem sido observado em peixes frescos armazenados (SATO et al, 1997).

De forma geral, os valores de colágeno total encontrados nos bifes do músculo *Biceps femoris in natura* neste experimento estão bem próximos dos valores relatados na literatura (RHEE et al., 2004; VON SEGGERN et al., 2005; STOLOWSKI et al., 2006). Pequenas diferenças podem ser encontradas devido ao uso de animais de diferentes raças, idades e conformação, como também, a regiões do músculo onde o colágeno total foi mensurado. Na maioria destes trabalhos, não existe informação sobre a região do músculo onde a amostragem foi realizada.

### 3.3.1.2 Composição centesimal

Análise de umidade, proteína, lipídios e cinza foram realizadas para caracterização dos bifés massageados e CONTROLE (Tabela 3) demonstraram resultados similares aos relatados para produtos marinados comerciais. Segundo Taco (2006) os valores da composição do coxão duro (*Biceps femoris*), sem gordura e cru são: 69,8% de umidade, 21,5% de proteína, 6,2% de lipídeos e 1,1% de cinzas.

Tabela 3 - Médias da composição centesimal (umidade, proteína, lipídeos e cinzas) para bifés CONTROLE, CS e SPHS de diferentes porções do músculo *Biceps femoris*

| Porção | Tratamento | Umidade (%)               | Proteína (%)               | Lipídeo (%)              | Cinza (%)                |
|--------|------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| PO     | CONTROLE   | 72,96 (0,71) <sup>A</sup> | 20,43 (0,23) <sup>A</sup>  | 7,26 (1,45) <sup>A</sup> | 0,98 (0,02) <sup>D</sup> |
|        | SPHS       | 71,07 (0,25) <sup>A</sup> | 19,49 (0,31) <sup>AB</sup> | 5,93 (0,53) <sup>A</sup> | 2,39(0,11) <sup>BC</sup> |
|        | CS         | 70,36 (0,59) <sup>A</sup> | 20,25 (0,75) <sup>A</sup>  | 7,27 (0,13) <sup>A</sup> | 2,18 (0,08) <sup>C</sup> |
| PI1    | CONTROLE   | 69,74 (1,05) <sup>A</sup> | 19,99 (0,24) <sup>AB</sup> | 7,70 (0,97) <sup>A</sup> | 0,94 (0,01) <sup>D</sup> |
|        | SPHS       | 69,20 (2,26) <sup>A</sup> | 19,58 (0,89) <sup>AB</sup> | 8,60 (2,71) <sup>A</sup> | 2,55(0,21) <sup>BC</sup> |
|        | CS         | 68,93 (0,38) <sup>A</sup> | 17,03 (0,41) <sup>B</sup>  | 9,23 (0,49) <sup>A</sup> | 2,12 (0,19) <sup>C</sup> |
| PI2    | CONTROLE   | 68,25 (1,16) <sup>A</sup> | 20,72 (0,58) <sup>A</sup>  | 9,72 (1,41) <sup>A</sup> | 0,93 (0,01) <sup>D</sup> |
|        | SPHS       | 71,40 (2,04) <sup>A</sup> | 20,31 (1,55) <sup>A</sup>  | 4,82 (0,38) <sup>A</sup> | 3,65 (0,48) <sup>A</sup> |
|        | CS         | 72,96 (0,61) <sup>A</sup> | 21,29 (0,36) <sup>A</sup>  | 5,47 (0,88) <sup>A</sup> | 3,18(0,21) <sup>AB</sup> |

Valores entre parênteses ( ) correspondem ao erro padrão

Médias seguidas de letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

O teor de umidade não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre as porções e tratamentos, sugerindo que a adição das salmouras nos bifés por massageamento não possibilitou elevação significativa da quantidade de água nestes. Estes resultados diferem dos encontrados por Harada (2004), que observou elevação da umidade em cortes do músculo *Biceps femoris* injetados com salmouras.

Para a proteína, observou-se diferença ( $P < 0,05$ ) entre porções e tratamentos, embora o comportamento de diminuição de proteína para os bifés CS e SPHS foi diferente entre as porções PO e PI1 e não ocorreu em PI2. Os tratamentos e porções do músculo pareceram não influenciar ( $P > 0,05$ ) para o teor de lipídio. No entanto, os teores de cinza foram elevados com a adição das salmouras CS e SPHS ( $P < 0,05$ ) em comparação ao CONTROLE, em todas as porções avaliadas do músculo. Corroborando com estes resultados, outra autora também observou elevação do teor de cinza em porções do *Biceps femoris* injetadas (HARADA, 2004).

### 3.3.2 Experimento 2

#### 3.3.2.1 Análises microbiológicas

No 12º dia após a equalização das salmouras, caracterização microbiológica de bifes cozidos do músculo *Biceps femoris* foi realizada para os bifes massageados (CS e SPHS) e CONTROLE (Tabela 4). Os resultados demonstraram que os bifes estavam em boas condições para o consumo humano, por estarem de acordo com a legislação (Resolução nº12 de 12 de janeiro de 2001), ausência de *Salmonella* e contagens não foram detectados em Enterobactérias e *Staphylococcus* coagulase positiva, assim como contagens de psicotróficos relativamente baixos.

Tabela 4 – Caracterização microbiológica das amostras de bifes cozidos do músculo *Biceps femoris* nos diferentes tratamentos, armazenados por 12 dias pós a equalização das salmouras

| Tratamento | Microrganismo                     |   |   |                               |
|------------|-----------------------------------|---|---|-------------------------------|
|            | <i>Enterobactérias</i><br>(UFC/g) | <i>Staphylococcus</i><br><i>coagulase positiva</i><br>(UFC/g) | <i>Psicotróficos</i><br><i>aeróbios</i> (UFC/g) | <i>Salmonella</i><br>(em 25g) |
| CONTROLE   | < 10                              | < 10  | 2,8 x 10  | Ausência                      |
| CS         | < 10                              | < 10  | 4,5 x 10  | Ausência                      |
| SPHS       | < 10                              | < 10  | 4,0 x 10  | Ausência                      |

UFC – Unidades formadoras de colônias.

CONTROLE: Bifes não massageados

CS: Bifes massageados com salmoura

SPHS: Bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

#### 3.3.2.2 Análise sensorial

Pontuações para o atributo maciez de bifes do músculo *Biceps femoris* submetidos ao massageamento (CS e SPHS) proveniente das porções (PO + PI1) e PI2 se apresentam na Figura 3.

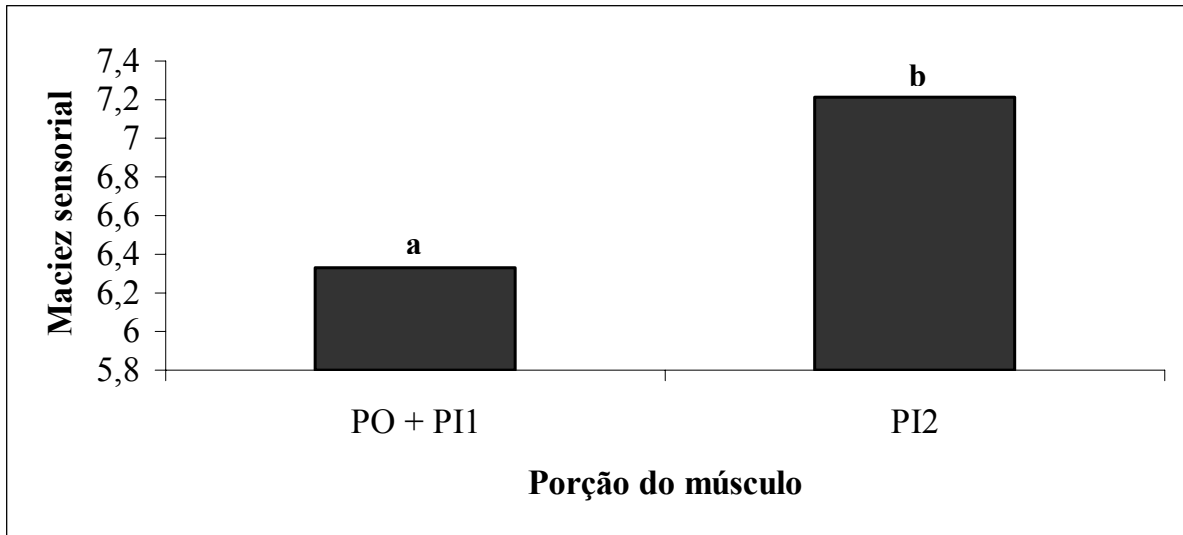


Figura 3 – Maciez sensorial nas diferentes porções (PO + PI1) e PI2 do músculo *Biceps femoris* para bifés massageados (SEM = 0,39)

Foi observado efeito principal para porção do músculo ( $P=0,0034$ ), onde PI2 apresentou maior ( $P<0,05$ ) maciez comparada às porções (PO + PI1). Dois fatores poderiam explicar tal resultado. Primeiramente, menor maciez para (PO + PI1) poderia estar relacionada ao seu maior teor de colágeno total (Tabela 2, Experimento 1), já que existe uma correlação positiva entre colágeno total e força de cisalhamento (metodologia que mensura maciez objetiva) (MacKINTOSH; HALL; VAIL, 1936; RAMSBOTTOM; STRANDINE; KOONZ, 1945). Também, menor comprimento e diâmetro de fibras e maior proporção de fibras de contração rápida glicolíticas (Tipo IIB), encontradas na região Distal (região a qual inclui-se a porção PI2 neste trabalho) do músculo bovino *Biceps femoris* (GOTH, 2003), tem sido também relacionada à maior maciez (LARZUL et al., 1997; HARPER, 1999; TAYLOR, 2004; LEPETIT, 2007). Na literatura, apenas um trabalho observou maciez sensorial para regiões do músculo *Biceps femoris*, e neste verificou-se que a região equivalente a PI2, também foi mais macia do que a região equivalente a PO (GINGER; WEIR, 1958).

As porções (PO + PI1) demonstraram interação ( $P=0001$ ) para os atributos maciez, suculência e impressão global entre dias de armazenamento e tratamentos (Tabela 5), onde os bifés CONTROLE foram inferiores ( $P<0,05$ ) aos bifés massageados (CS e SPHS), que não diferiram entre si ( $P>0,05$ ), para todos os atributos descritos acima. Maior maciez e suculência para os bifés massageados em relação aos bifés CONTROLE devem-se ao próprio massageamento. Esta técnica tem provocado aumento da CRA através da elevação do pH,

possibilitando inchaço e fragmentação das fibras dos músculos (OFFER; TRINICK, 1983; AKTAS; AKSU; KAYA, 2003a). Vários autores observaram maior maciez e suculência em músculos marinados (AKTAS; AKSU; KAYA, 2003b; McGEE et al, 2003; BAUBLITS et al, 2006a; HOFFMAN; MULLER; VERMAAK, 2008).

Nos tratamentos CS e SPHS, nenhum efeito ( $P>0,05$ ) para maciez, suculência, sabor estranho e impressão global foram observados entre os bifes armazenados por 1 e 12 após equalização. Estes resultados sugerem que os aditivos empregados nas salmouras foram efetivos para manter a qualidade dos bifes massageados por 12 dias de armazenamento. Entretanto, bifes do CONTROLE obtiveram maiores pontuações ( $P<0,05$ ) quando armazenados por 1 dia do que por 12 dias, nos atributos maciez, suculência, e impressão global. Perdas de água durante o armazenamento por maior tempo, nos bifes CONTROLE, possivelmente tornou a carne mais seca e dura, afetando a satisfação dos provadores.

Tabela 5 – Análise sensorial nos diferentes tratamentos e dias de armazenamento após equalização das salmouras para bifes das porções (PO + PI1) do músculo *Biceps femoris*

| Dia                     | Tratamento                |                           |                           |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                         | CONTROLE                  | CS                        | SPHS                      |
| <b>Maciez</b>           |                           |                           |                           |
| 1                       | 4,41 (0,53) <sup>bA</sup> | 6,43 (0,52) <sup>aA</sup> | 6,52 (0,52) <sup>aA</sup> |
| 12                      | 1,68 (0,54) <sup>bB</sup> | 6,41 (0,58) <sup>aA</sup> | 5,68 (0,54) <sup>aA</sup> |
| <b>Suculência</b>       |                           |                           |                           |
| 1                       | 3,66 (0,58) <sup>bA</sup> | 5,60 (0,58) <sup>aA</sup> | 6,29 (0,58) <sup>aA</sup> |
| 12                      | 1,74 (0,62) <sup>bB</sup> | 6,44 (0,61) <sup>aA</sup> | 6,25 (0,62) <sup>aA</sup> |
| <b>Sabor Estranho</b>   |                           |                           |                           |
| 1                       | 0,81 (0,82) <sup>aA</sup> | 1,02 (0,35) <sup>aA</sup> | 0,76 (0,35) <sup>aA</sup> |
| 12                      | 0,80 (0,37) <sup>aA</sup> | 0,92 (0,37) <sup>aA</sup> | 0,91 (0,37) <sup>aA</sup> |
| <b>Impressão Global</b> |                           |                           |                           |
| 1                       | 4,94 (0,49) <sup>bA</sup> | 6,51 (0,49) <sup>aA</sup> | 6,76 (0,49) <sup>aA</sup> |
| 12                      | 2,91 (0,51) <sup>bB</sup> | 6,72 (0,51) <sup>aA</sup> | 6,27 (0,52) <sup>aA</sup> |

Valores encontrados entre parênteses ( ), correspondem ao erro padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente  $P<0,05$

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente  $P<0,05$

Escala: 10 = muito macio muito suculento, extremamente forte e ótima; 0 = pouca maciez, pouco suculenta, nenhum sabor estranho e péssima 0 (para os atributos maciez, suculência, sabor estranho e impressão global)

Dia = dias de armazenamento dos bifes após equalização da salmoura

CONTROLE - Bifes não massageados

CS - Bifes massageados com salmoura

SPHS - Bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja

Ainda na Tabela 5, observa-se que o atributo sabor estranho não diferiu ( $P>0,05$ ) entre os dias de armazenagem e dentre os tratamentos. O músculo *Biceps femoris* tem apresentado grande intensidade de sabor de carne, sendo esta, não afetada pelo massageamento dos bifés CS e SPHS (CARMACK et al, 1995; HOFFMAN; MULLER; VERMAAK, 2008). Baixas pontuações para sabor estranho (0,76 a 1,02) seria também outro fator positivo para o uso das salmouras (CS e SPHS) e que vem confirmar a eficácia da hidrólise limitada da proteína isolada de soja pela enzima alcalase na eliminação de sabor estranho (XIONG, 2005).

Amostras dos bifés armazenadas por 1 dia sob refrigeração demonstraram interação ( $P=0,0219$ ) entre porção do músculo e tratamentos para suculência (Figura 4). Bifés CONTROLE de todas as porções avaliadas demonstraram menor suculência ( $P<0,05$ ) em comparação aos bifés massageados CS e SPHS, que foram semelhantes ( $P>0,05$ ). Já, os bifés CONTROLE da porção PI2 foram menos ( $P<0,05$ ) suculentos quando comparado aos obtidos das porções (PO + PI1) do músculo. Possivelmente, a diferença de suculência entre as duas porções do músculo, para o CONTROLE, esteja envolvida com o tipo de fibras. Fibras brancas do tipo IIB, que parece predominar na PI2 do músculo *Biceps femoris* (GOTH, 2003), tem sido relacionadas a maiores perdas por gotejamento (TAYLOR, 2004), o que tornaria a PI2 menos suculenta.

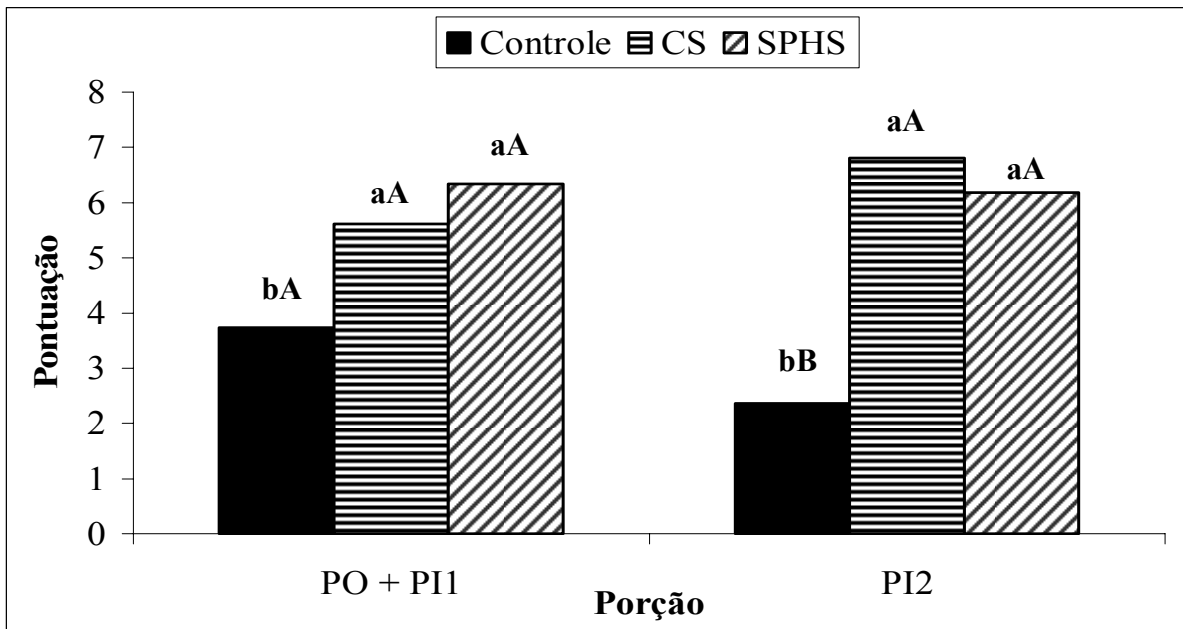


Figura 4 – Efeito de tratamento e porção do músculo *Biceps femoris* sobre suculência sensorial para bifés armazenados por 1 dia após a equalização da salmoura. *Legenda:* Letras minúsculas diferentes na mesma porção diferem estatisticamente ( $P<0,05$ ); Letras maiúsculas diferentes no mesmo tratamento diferem estatisticamente ( $P<0,05$ )

### 3.4 Conclusões

As porções do músculo e tratamentos influenciaram sobre teores de colágeno total e suculência sensorial. Bifes tratados com CS e SPHS diluíram teores de colágeno total com a adição das salmouras nas porções PO e PI1, mas não na PI2. Os tratamentos com as salmouras também tornaram os bifes de todas as porções mais suculentos, enquanto na ausência do massageamento (CONTROLE), os bifes da PI2 foram menos suculentos do que os bifes das outras porções do músculo *Biceps femoris*.

Porções do músculo isoladamente foram capazes de afetar a maciez sensorial de bifes massageados (CS e SPHS), indicando que bifes da PI2 são mais macios do que os das PO e PI1.

E, finalmente, os tratamentos com as salmouras melhoraram maciez, suculência e impressão global dos bifes das porções PO e PI1 tanto 1 como 12 dias de armazenamento após equalização das salmouras.

### Referências

ADLER-NISSEN, J.; OLSEN, H.S. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In: Pour-El, A. (Ed.). **Functionality and protein structure**. Washington: American Chemical Society, 1979, p. 125-147.

AKTAS, N.; AKSU, M.I.; KAYA, M. The influence of marination with different salt concentration on tenderness, water holding capacity and bound water content of beef. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 27, p. 1207-121, 2003a.

AKTAS, N.; AKSU, M.I.; KAYA, M. The effect of organic acid marination on tenderness, cooking loss and bound water content of beef. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 14, p. 181-194, 2003b.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION- AMSA. **Research Guidelines for Cookery, Sensory and Instrumental Tenderness Measurements of Fresh Meat**. Chicago, 1995, 48p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Washington, 1995. 2v.

BARBUT, S. Meat Processing- Equipment. In: \_\_\_\_\_. **Poultry products processing: An Industry Guide**, New York: CRC Press, 2002. chap. 8, p. 233-235.



BAUBLITS, R.T.; POHLMAN, F.W., BROWN-JR, A.H.; JOHSON, Z.B. Effects of enhancement with varying phosphate types and concentrations, at two different pump rates on beef *Biceps femoris* instrumental color characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 264-276, 2005.

\_\_\_\_\_. Enhancement with varying phosphate types, concentrations, and pump rates, without sodium chloride on beef *Biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 404-414, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brazilian National Health Surveillance Agency. **Resolução RDC n.12**. Brasília. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 10 abr. 2009.

BROOKS, J.C.; BELEW, J.B.; GRIFFIN, D.B.; GWARTNEY, B.L.; HALE, D.S.; HENNING, W.R.; JOHNSON, D.D.; MORGAN, J.B.; PARRISH-JR., F.C.; REAGAN, J.O.; SAVELL, J.W. National beef tenderness survey-1998. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1852-1860, 2000.

CAMARGO, M.X.; CHIEFFI, A. **Ezoognósia**. Água Branca: Instituto de Zootecnia, 1971. 320 p.

CARMACK, C.F.; KASTNER, C.L.; DIKEMAN, M.E.; SCHWENKE, J.R.; GARCIA ZEPEDA, C.M. Sensory evaluation of beef-flavor-intensity, tenderness, and juiciness among major muscles. **Meat Science**, Barking, v. 39, p. 143-147, 1995.

DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

ELAM, A.T.; BROOKS, J.C.; MORGAN, J.B.; RAY, F.K. Trained sensory evaluation of value added beef from chuck and round. **Oklahoma Agriculture Experiment station Report No. P-993**. Disponível em: <<http://www.ansi.okstate.edu/research/2002rr/07/index.htm>>. Acesso em: 20 june. 2009.

FENG, J.; XIONG, Y.L.; Interaction of myofibrillar and preheated soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 2851-2856, 2002.

FENG, J.; XIONG, Y.L.; MIKEL, W.B. Textural properties of pork frankfurters containing thermally/enzymatically modified soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 1220-1224, 2003.

GINGER, B.; WEIR, C.E. Variations in tenderness within three muscle from beef round. **Food Research**, London, v. 23, p. 662-669, 1958.

GOTOH, T. Histochemical properties of skeletal muscles in Japanese cattle and their meat production ability. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 74, p. 339-354, 2003.

HARADA, M. M. **Efeito da desossa e da marinação sobre as características de processamento, físico-químicas e sensoriais do músculo *biceps femoris***. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado e Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

HARPER, G.S. Trends in skeletal muscle biology and the understanding of toughness in beef. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 50, p. 1105-1129, 1999.

HOFFMAN, L.C.; MULLER, M.; VERMAAK, A. Sensory and preference testing of selected beef muscles infused with a phosphate and lactate blend. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 1055-1060, 2008.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Their significance and methods of enumeration**. 2th ed. Toronto: University of Toronto press, 1978. 434 p.

JASPERS, R.T.; BRUNNER, R.; BAAN, G.C.; HUIJING<sup>1</sup>, P.A. Acute effects of intramuscular aponeurotomy and tenotomy on multitendoned rat EDL: Indications for local adaptation of intramuscular connective tissue. **The Anatomical Record**, Hoboken, v. 266, p.123–135, 2002.

JOHNSON, D.D.; HUFFMAN, R.D.; WILLIAMS, S.E.; HARGROVE, D.D. Effect of percentage Brahman and Angus breeding age-season of feeding and slaughter and point on meat palatability and muscles characteristics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 1980-1986, 1990.

LARZUL, C.; LEFAUCHEUR, L.; ECOLAN, P.; GOGUE, J.; TALMANT, A.; SELIER, P.; ROY, P.; MONIN, G.; LE ROY, P. Phenotypic and genetic parameters for *longissimus* muscle fibre characteristics in relation to growth, carcass and meat quality in Large White pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 3126- 3137, 1997.

LEMOS, A.L.S.C.; BARBOSA, A.C.L.; HARADA, M.M.; BRUM, M. Influência da composição da salmoura nas características físicas e químicas de cortes bovinos injetados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2001, São Pedro. **Anais...** Campinas: CTC/ITAL, 2001. p. 281-282.

LEPETIT, J. A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 76, p. 147-159, 2007.

LISTRAT, A.; RAKADJIYSKI, N.; JURIE, C.; PICARD, B.; TOURAILLE, C.; GEAY, Y.A. Effect of the type of diet on muscle characteristics and meat palatability of growing Salers bulls. **Meat Science**, Barking, vol. 53 p. 115-124, 1999.

MacKINTOSH, D.L.; HALL, J.L.; VAIL, G.E. Some observations pertaining to tenderness of meat. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 29, 285-289, 1936.

McGEE, M.R. ; HENRY, K.L.; BROOKS, J.C. ; RAY, F.K. ; MORGAN, J.B. Injection of sodium chloride, sodium tripoliphosphate and sodium lactate improves Warner Bratzler shear and sensory characteristics of pre cooked inside round roasts. **Meat Science**, Barking, v. 64, p. 273-277, 2003.

McKEITH, F.K.; DEVOL, D.L.; MILES, R.S.; BECHTEL, P.J.; CARR, T.R. Chemical and sensory properties of thirteen major beef muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, p. 869-872, 1985.

NELSON, J.L.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K.; MORGAN, J.B. Characterization of Certified Angus Beef steaks from the round, loin, and chuck. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1437-1444, 2004.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Barking, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

RAMSBOTTOM, J.M.; STRANDINE, E.J.; KOONZ, C.H. Comparative tenderness of representative beef muscle. **Food Research**, London, v. 10, p. 497-509, 1945.

REUTER, B.J.; WULF, D.M.; MADDOCK, R.J. Mapping intramuscular tenderness variation in four major muscles of the beef round. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2594-2599, 2002.

RHEE, M.S.; WHEELER, T.L.; SCHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 534-550, 2004.

SATO, K.; ANDO, M.; KUBOTA, S.; ORIGASA, K.; KAWASE, H.; TOYOHARA, H.; SAKAGUCHI, M.; NAKAGAWA, T.; MAKINODAN, Y.; OHTSUKI, K.; KAWABATA, M. Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, p. 343-348, 1997.

SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3333-3340, 1995.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317 p.

STOLOWSKI, G.D.; BAIRD, B.E.; MILLER, R.K.; SAVEL, J.W.; SAMS, A.R.; TAYLOR, J.F.; SANDERS, J.O.; SMITH, S.B. Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscle from three Angus and Brahman breed crosses. **Meat Science**, Barking, v. 73, p. 475-483, 2006.

TAYLOR, R.G. Muscle fibre types and meat quality. In: Jensen W.K.; Devine, C; Dikeman, M. **Encyclopedia of Meat Sciences**. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 876-882.

UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimento - TACO**. Campinas, 2006. 113p.

VANDERZANT, C.; SPLITTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3th ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.

VON SEGGERN, D.D.; CALKINS, C.R.; JOHNSON, D.D.; BRICKLER, J.E.; GWARTNEY, B.L. Muscle profiling: Characterizing the muscle of the beef chuck and round. **Meat Science**, Barking, v. 71, p. 39-51, 2005.

XIONG, Y.L. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 281-287, 2005.

#### 4 ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE BIFES DO MÚSCULO *BICEPS FEMORIS* MASSAGEADOS E MATURADOS

##### Resumo

Este trabalho verificou as possíveis alterações estruturais, através de microscopia eletrônica e avaliou parâmetros de qualidade em bifos massageados e maturados, oriundos de diferentes porções do músculo *Biceps femoris*. Para isto seis músculos bovinos foram divididos em três porções: Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2). Os tratamentos utilizados foram: CONTROLE (bifos não massageados), CS (bifos massageados com salmoura) e SPHS (bifos massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja). Após a equalização da salmoura, os bifos foram armazenados por 1 e 12 dias, exceto os bifos CONTROLE que foram armazenados somente por 1 dia. Análises de rendimento (REND), pH, perdas por gotejamento (PPG), perdas por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo representava um bloco. Para o pH, foi observado que independente do tratamento e dia de armazenamento, a PO apresentou valores superiores ( $P < 0,05$ ) aos encontrados em PI2 que foram semelhantes à PI1 ( $P > 0,05$ ), com exceção ao tratamento CS da PI2 que apresentou pH similar ( $P > 0,05$ ) ao CS da PI1. A adição de salmouras e armazenamento dos bifos por 1 dia, resultou na elevação ( $P < 0,05$ ) do pH destes, comparados ao CONTROLE. Diminuição de pH ( $P < 0,05$ ) nos bifos CS e SPHS foi observada entre o dia 1 e 12 dias de armazenamento, exceto para os bifos CS da PI2. Quanto ao REND verificou-se que a PO obteve maior ( $P < 0,05$ ) REND em comparação à PI1, sendo ambas similares ( $P > 0,05$ ) à PI2. De forma geral, o massageamento permitiu um ganho de peso aos bifos de 11,66 a 15,68%, de acordo com a porção avaliada. Em PPG, os bifos CS e SPHS, perderam menos ( $P < 0,05$ ) água em comparação aos bifos CONTROLE. Para PPC ( $P = 0,0013$ ) e FC ( $P < 0,0001$ ), houve interação entre os bifos CONTROLE e massageados (CS e SPHS) com dia de armazenamento. No dia 1, os bifos CS e SPHS apresentaram menor ( $P < 0,05$ ) PPC e FC em comparação aos bifos CONTROLE. O armazenamento dos bifos CS e SPHS por 12 dias resultou em menor ( $P < 0,05$ ) PPC e FC em comparação aos armazenados por 1 dia. As porções do músculo ainda afetaram sobre a FC, onde a PO foi menos ( $P < 0,05$ ) macia do que à PI1, que por sua vez foi semelhante ( $P > 0,05$ ) à PI2. Através da análise MEV verificou-se que os bifos CS e SPHS apresentaram aumento no diâmetro das fibras com diminuição dos espaços interfibrilares. Assim, pode-se concluir que existem diferenças de maciez entre as porções do músculo *Biceps femoris*, e que estas diferenças não foram afetadas pelo massageamento com salmouras, embora este tenha aumentado a maciez dos bifos. A diminuição das PPG, PPC e elevação do pH dos bifos CS e SPHS estão relacionadas com o aumento da absorção e imobilização de água, resultantes da elevação da repulsão eletrostática entre os filamentos pela adição das salmouras no músculo. Os dias de armazenagem dos bifos massageados influenciaram sobre a diminuição de pH e PPC e no aumento da maciez dos bifos.

Palavras-chave: Salmoura; Maturação; Maciez; Estrutura muscular

#### 4 STRUCTURAL ALTERATIONS AND EVALUATION OF QUALITY PARAMETERS IN STEAKS FROM THE *BICEPS FEMORIS* MUSCLE TUMBLED AND AGED

##### Abstract

This work verified the possible structural alterations, through the electronic microscopy, and evaluated quality parameters in tumbled and aged steaks from different portions of the *Biceps femoris* muscle. For this, six bovine muscles were divided in three portions: Origin (OP), Insertion 1 (IP1) and Insertion 2 (IP2). The treatments used for the steaks were: CONTROL (no tumbling or addition of brine), WTB (with tumbling and addition of brine), and WTB/HSP (with tumbling and addition of brine plus hydrolyzed soy protein). After equalization of brines, the steaks were stored for 1 and 12 days, except to the CONTROL steaks that were only stored for 1 day. Analyses of yield (YIE), pH, drip loss (DL), cooking loss (CL), shear force (SF) and scanning electron microscopy (SEM) were performed. The experimental design was completely randomized blocks, where each muscle represented one block. For pH, it was observed, regardless the treatment and storing time, that OP presented higher values ( $P < 0.05$ ) than those ones found for IP2, whose were similar ( $P > 0.05$ ) to IP1, except to the WTB/HSP treatment from IP2, which presented pH similar ( $P > 0.05$ ) to WTB treatment from IP1. The addition of brines and the storing of steaks for 1 day resulted in the elevation ( $P < 0.05$ ) of pH when compared to CONTROL. Decrease ( $P < 0.05$ ) of pH in WTB and WTB/HSP steaks was observed between 1 and 12 days of storing, except to the WTB steaks from IP2. As for YIE, it was verified that OP had higher ( $P < 0.05$ ) YIE in relation to IP1, being both similar ( $P > 0.05$ ) to IP2. In general, the tumbling allowed a weight gain for the steaks from 11.66 to 15.68%, according to evaluated portion. In DL, the WTB and WTB/HSP steaks lost less ( $P < 0.05$ ) water in relation to CONTROL steaks. For CL ( $P = 0.0013$ ) and SF ( $P < 0.0001$ ), there was an interaction between CONTROL and tumbled (WTB and WTB/HSP) steaks with storing time. At the day 1, the WTB and WTB/HSP steaks presented lower ( $P < 0.05$ ) CL and SF when compared to the CONTROL steaks. The storing of the steaks for 12 days resulted in lower ( $P < 0.05$ ) CL and SF when compared to storing for 1 day. The muscle portions still affected SF, where OP was less ( $P < 0.05$ ) tender than IP1, which in turn was similar ( $P > 0.05$ ) to IP2. Through the SEM, it was verified that the WTB and WTB/HSP steaks presented increased fiber diameter with disappearance and decrease of spaces between fibrils. Thus, it can conclude that there are differences of tenderness among the *Biceps femoris* muscle portions, and that these differences were not affected by the tumbling with brines, whereas this factor had increased the steaks tenderness. The addition of WTB and WTB/HSP brines still resulted in swelling of fibers, fact this that is related to decreased DL and CL, and elevated pH. The storing time for the tumbled steaks caused decreased pH and DL and improved steaks tenderness.

Keywords: Aging; Brine; Muscular Structure; Tenderness

#### 4.1 Introdução

O músculo *Biceps femoris*, localizado no membro anterior dos animais, é bastante extenso longitudinalmente e considerado no Brasil um corte pouco valorizado pelo comércio. Seu menor custo pode estar relacionado à sua baixa maciez, observada pela medida de força de cisalhamento e também pela avaliação sensorial (BROOKS et al, 2000; RHEE et al, 2004). No entanto, este músculo tem demonstrado ser mais saboroso quando comparado a outros músculos como, *Longissimus lumborum*, *Rectus femoris* e *Semitendinosus* (MONTEBELLO, 2006; HOFFMAN; MULLER; VERMAAK, 2008).

Estudos revelam que o *Biceps femoris* possui uma grande variação de maciez intramuscular (desvio padrão,  $dv = 0,56\text{kgf}$ ), sendo esta quase duas vezes maior do que a variação de maciez entre animais ( $dv = 0,29\text{kgf}$ ) e 2,8 vezes maior do que a variação entre músculos ( $dv = 0,20\text{kgf}$ ) (REUTER; WULF; MADDOCK, 2002). Pesquisas direcionadas a maior compreensão das diferenças de maciez intramuscular dentro do *Biceps femoris*, foram realizadas e todos os autores observaram diferenças significativas de maciez entre as regiões Origem, Media e Inserção do músculo (RAMSBOTTOM; STRANDINE; KOONZ, 1945; REUTER; WULF; MADDOCK, 2002; RHEE et al, 2004).

Frente a todas estas características e problemáticas encontradas no *Biceps femoris*, aumenta-se a necessidade de buscar recursos tecnológicos que possam minimizar a falta de padronização de maciez e tão logo elevá-la, uma vez que este músculo oferece alto potencial para agregar-se valor (PAZOS et al, 2002; BAUBLITS et al, 2005b). Dentre as tecnologias que poderiam ser utilizadas encontra-se a marinação através do massageamento em *tambler*. De acordo com Xiong e Kupski (1999) o massageamento de músculos promove melhoras na maciez da carne por realizar a ruptura de parte das fibrilas musculares devido à ação mecânica do massagador.

A adição de aditivos (cloreto de sódio e fosfatos) e extensores (proteínas de soja) em salmouras utilizadas no processo de marinação tem aumentado a qualidade de diferentes cortes cárneos, elevando o pH, aumentando a capacidade de retenção de água, o rendimento, diminuindo as perdas por gotejamento e por cocção, melhorando a cor e elevando a maciez (DETIENNE; WICKER, 1999; SHEARD et al, 1999; XIONG; KUPSKI, 1999; ZHENG et al, 2000; AKTAS; AKSU; KAYA, 2003a,b; MCGEE et al, 2003; XIONG, 2005; BAUBLITS et al., 2005a e 2006; SMITH; YOUNG, 2007; SULTANA et al, 2008). No entanto, pouco se conhece

sobre a eficiência destes aditivos e extensores em músculos massageados e submetidos à maturação.

A ação das salmouras contendo em especial o sal e fosfatos, ainda tem sido responsável por alterar o espaço interfilamentar em músculos, sendo este fato o principal determinante no aumento da capacidade de retenção de água. Estes espaços são aumentados em razão da elevação de cargas negativas dos filamentos de proteínas, o que permite a maior retenção de água, resultando em intumescimento das miofibrilas musculares (OFFER; TRINICK, 1983).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar as possíveis alterações estruturais, através de microscopia eletrônica e avaliar parâmetros de qualidade em bifes massageados e maturados, oriundos de diferentes porções do músculo *Biceps femoris*.

## 4.2 Material e Métodos

### 4.2.1 *Biceps femoris*

Para realização deste experimento foram utilizados 6 músculos *Biceps femoris* (~5,4 kg cada) de bovinos Nelore (*Bos indicus*) com idade de 31 a 35 meses, baseado na dentição dos animais (CAMARGO; CHIEFFI, 1971). Os músculos com espessura de gordura intermediário variando de 3 a 6 mm e obtidos do lado direito da carcaça, foram mantidos sob refrigeração por 3 dias após o abate até serem cortados e tratados.

Os músculos *Biceps femoris* foram divididos em três porções: PO - Porção Origem, PI1 - Porção Inserção 1 e PI2 - Porção Inserção 2 (Figura 1). Todas as porções foram fatiadas no sentido horizontal ao eixo do músculo e para cada uma delas foram obtidos 5 bifes de 2,5cm de espessura, totalizando 15 bifes por músculo.



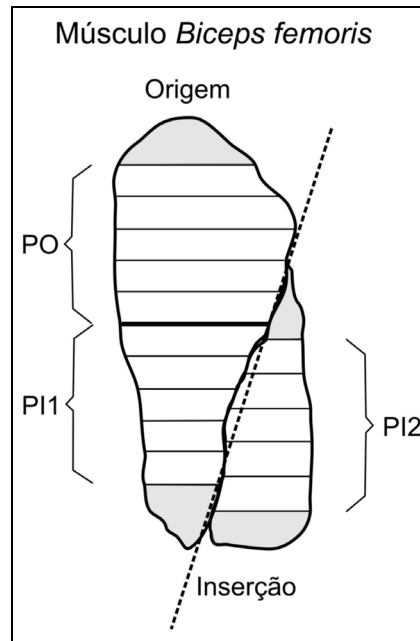


Figura 1 - Esquema ilustrativo da amostragem realizada no músculo *Biceps femoris*, demonstrando as porções Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2). As regiões de coloração cinza da figura foram desprezadas do músculo

Os três tratamentos, CONTROLE (bifes *in natura* não massageados), CS (bifes massageados com salmoura) e SPHS (bifes massageados com salmoura adicionada de proteína hidrolisada de soja), foram distribuídos ao acaso dentro de cada uma das porções do músculo (PO, PI1 e PI2). Dos cinco bifés de cada porção, dois bifés foram submetidos ao tratamento CS, outros dois ao SPHS e um apenas ao CONTROLE.

#### 4.2.2 Preparação das salmouras

A quantidade (litros) de cada salmoura preparada correspondeu a 20% do peso total dos bifés de cada tratamento (CS e SPHS) e ao final obteve-se 16,67% de salmoura e 83,33% de carne nas amostras massageadas. As composições das salmouras utilizadas nos tratamentos CS e SPHS estão apresentadas na Tabela 1. A proteína de soja hidrolisada (PHS) acrescida na salmoura SPHS, foi obtida através da hidrólise a 4% da proteína isolada de soja (PIS) pela enzima alcalase e fornecida pela Solae Brasil para a realização deste trabalho.

No tratamento CONTROLE não houve massageamento e nem adição de salmoura nos bifés.

Tabela 1 - Porcentagens dos aditivos no produto final e na salmoura para tratamentos CS e SPHS

| Ingredientes                       | Salmoura tratamento CS |            | Salmoura tratamento SPHS |            |
|------------------------------------|------------------------|------------|--------------------------|------------|
|                                    | %Produto Final         | % Salmoura | %Produto Final           | % Salmoura |
| Sal                                | 1,800                  | 10,800     | 1,800                    | 10,800     |
| Glutamato monossódico              | 0,150                  | 0,900      | 0,150                    | 0,900      |
| Açúcar                             | 0,100                  | 0,600      | 0,100                    | 0,600      |
| Proteína hidrolisada de soja (PHS) | -                      | -          | 0,333                    | 2,000      |
| Tripolifosfato                     | 0,300                  | 1,800      | 0,300                    | 1,800      |
| Nitrito de Sódio                   | 0,015                  | 0,090      | 0,015                    | 0,090      |
| Eritorbato de Sódio                | 0,050                  | 0,300      | 0,050                    | 0,300      |
| Água gelada                        | 14,250                 | 85,510     | 13,920                   | 83,510     |
|                                    | 16,670                 | 100,000    | 16,670                   | 100,000    |

#### 4.2.3 Massageamento dos bifes

O processo de massageamento dos bifes oriundos das diferentes porções do músculo *Biceps femoris* e destinados aos tratamentos CS e SPHS foi realizado na planta piloto do laboratório de carnes da ESALQ/USP, sob temperatura regulada de  $13 \pm 2$  °C, através do uso de um climatizador de ambiente. Os bifes de aproximadamente 2,5 cm de espessura foram pesados, previamente identificados com marcadores plásticos e massageados com suas respectivas salmouras por 45 min com o uso de um massageador (Frigomaq-modelo TF 30VE), em rotação intermitente (15 min ON, 1 min OFF) com velocidade de 30 RPM e uso de vácuo.

Após o massageamento, os bifes CS e SPHS e também os CONTROLE foram embalados a vácuo individualmente em sacos plásticos impermeáveis do tipo barreira de gases com auxílio de uma seladora (Selovac-300B). A seguir todos os bifes foram colocados em caixas adequadas onde permaneceram em câmara de resfriamento por 48 h à temperatura de  $0 \pm 2$  °C, para que ocorresse a equalização da salmoura nos bifes massageados. Após a equalização, bifes CS e SPHS foram mantidos em câmara de resfriamento à temperatura de  $0 \pm 2$  °C por tempo de 1 e 12 dias. Já os bifes CONTROLE, foram mantidos apenas por 1 dia sob refrigeração em razão da limitação quanto ao tamanho do músculo, impossibilitando obter bifes CONTROLE para o armazenamento por 12 dias. Imediatamente após estes períodos de 1 e 12 dias de armazenamento os bifes foram pesados e submetidos às análises de pH, perdas por gotejamento, perdas por cocção, força de cisalhamento e microscopia eletrônica de varredura. Amostras obtidas em ambos os períodos de armazenagem também foram congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido e

posteriormente submetidas à análise de eletroforese. Os locais específicos onde cada análise foi realizada nos bifes tratados e CONTROLE são representados na Figura 2.

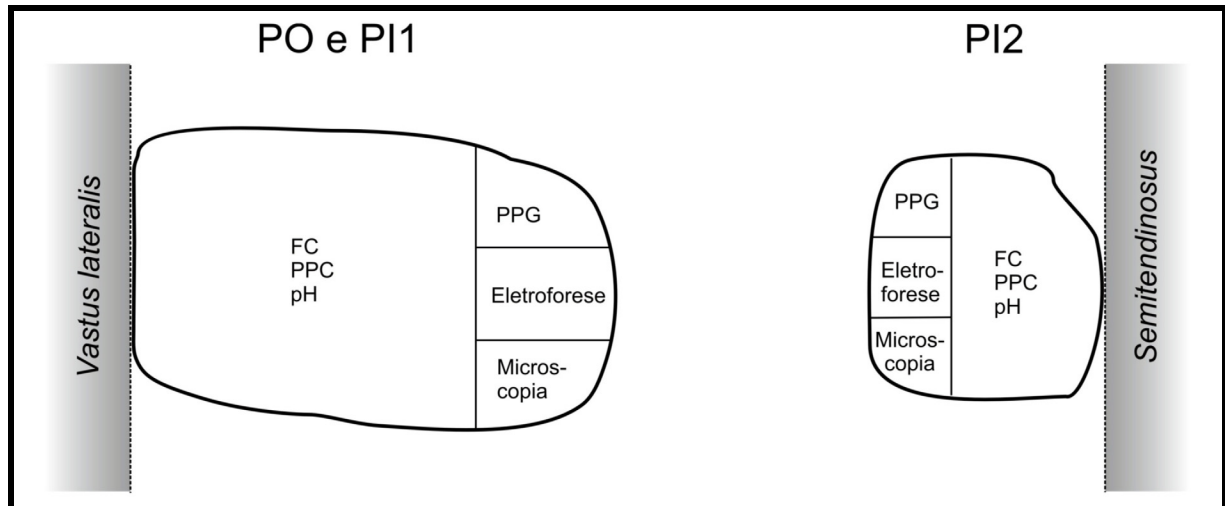


Figura 2 - Demonstração das regiões dos bifes das porções: Origem (PO), Inserção 1 (PI1) e Inserção 2 (PI2) do músculo *Biceps femoris*, utilizadas para a realização das análises: FC - Força de cisalhamento; PPC - Perda de peso por cocção; pH; PPG - Perda de peso por gotejamento; Eletroforese; Microscopia eletrônica de varredura

#### 4.2.4 Análises realizadas

##### 4.2.4.1 Rendimento

Os bifes foram submetidos à pesagem em balança semi-analítica (GEHAKA® BG-2000) antes do processo de massageamento (PI) e no período de 1 (PF1) e 12 (PF12) dias de armazenamento após a equalização da salmoura. Os respectivos pesos dos bifes foram utilizados para calcular os rendimentos 1 (R1) e 12 (R12) dias de armazenamento, conforme descrito nas fórmulas abaixo.

##### - Rendimento 1 dia após equalização da salmoura (R1):

$$\frac{[PF1 (g) - PI (g)] \times 100}{PI (g)}$$

##### - Rendimento 12 dias após equalização da salmoura (R12):

$$\frac{[PF12 (g) - PI (g)] \times 100}{PI (g)}$$

#### 4.2.4.2 pH

As leituras de pH foram coletadas nos bifes 1 e 12 dias de armazenamento após a equalização da salmoura. Para isso, foi utilizado um medidor de pH portátil modelo PH 300 à prova de água com calibração de 4 pontos e compensação automática de temperatura, com sensor de temperatura e eletrodo de pH de corpo de vidro, Marca Cole-Parmer.

#### 4.2.4.3 Perda de peso por gotejamento

A determinação de perda de peso por gotejamento foi realizada em amostras de todos os tratamentos, obtidas no 1º e 12º dia após a equalização da salmoura, de acordo com Muchenje et al. (2008), com algumas modificações. Amostras dos bifes CS, SPHS e CONTROLE de diferentes porções do músculo *Biceps femoris*, medindo 15 mm de comprimento, 15 mm de largura e 25 mm de espessura e desprovidas de tecido adiposo e conjuntivo superficial foram pesadas em balança semi – analítica, inseridas individualmente em sacos tipo rede e envoltas por sacos plásticos de baixa permeabilidade. Este conjunto foi suspenso em um varal de forma que a amostra não ficasse em contato com o saco plástico e em seguida armazenado em câmara fria ( $2 \pm 2$  °C) por 72h. Após este período as amostras foram retiradas cuidadosamente dos sacos, parcialmente secas com papel toalha e novamente pesadas. A porcentagem de perda de peso por gotejamento foi obtida através da seguinte equação:

$$\frac{(\text{Peso inicial da amostra} - \text{Peso final da amostra}) \times 100}{\text{Peso inicial da amostra}}$$

#### 4.2.4.4 Perda de peso por cocção

As perdas de peso por cocção dos bifes CS, SPHS e CONTROLE, 1 e 12 dias após a equalização da salmoura, foram obtidas a partir do peso dos bifes antes (PI) e após (PF) a cocção de acordo com AMSA (1978). Os resultados foram expressos em porcentagem e o calculo utilizado foi:  $((PI - PF) \div PI) \times 100$ .

#### 4.2.4.5 Força de cisalhamento

A análise de força de cisalhamento foi realizada nos bifes CS, SPHS e CONTROLE obtidos 1 e 12 dias de armazenamento após a equalização da salmoura, de diferentes porções do músculo *Biceps femoris*, de acordo com as recomendações do American Meat Science

Association-AMSA (1995). Para isto os bifes foram cozidos em uma grelha elétrica da marca EDANCA com aquecimento na parte inferior e superior das chapas, até atingir a temperatura interna de aproximadamente 71°C. A seguir os bifes foram condicionados em câmara fria por 24 h a  $3 \pm 2$  °C. Após este período, foram removidos cilindros de 1,27 cm de diâmetro em direção a fibra muscular dos bifes. As amostras cilíndricas foram analisadas através de um texturometro (CARLSON – GR-200D) para medição de maciez de carne, equipado com lamina do tipo Warner-Bratzler e os resultados foram expressos em kgf.

#### **4.2.4.6 Microscopia eletrônica de varredura**

Amostras cruas de aproximadamente 8 mm x 3 mm x 3 mm dos bifes CS, SPHS e CONTROLE, 1 e 12 após a equalização da salmoura, foram fixadas por 24h com solução contendo glutareldeído 2,5%, formaldeído 2,5% e tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl<sub>2</sub> 0,001M. Em seguida as amostras foram lavadas 3x em tampão cacodilato 0,05M, imersas por glicerol 30% por 1,5h, congeladas em nitrogênio líquido e rapidamente cortadas. Sob estas amostras de aproximadamente 2 mm<sup>3</sup> foram adicionados volumes iguais de tetróxido de ósmio 2% e tampão cacodilato 0,1M, para que se completasse a fixação das amostras. Após fixação, as amostras foram lavadas, desidratadas com soluções de cetona, secas ao ponto crítico com uso de um secador Balzers CDP030, revestidas de ouro por um metalizador Sputter Balzers SCD 050 e finalmente examinadas por um microscópio eletrônico de varredura ZEISS DSM 940A, após o qual foram fotografadas.

#### **4.2.4.7 Delineamento experimental**

Foram utilizados seis músculos *Biceps femoris*, totalizando noventa bifes, provenientes das porções PO, PI1 e PI2. As variáveis dependentes foram os rendimentos, valores de pH, perdas por gotejamento e cocção e força de cisalhamento. Os pesos iniciais dos bifes antes do massageamento foram utilizados como covariáveis.

O delineamento foi em blocos inteiramente casualizados, onde cada músculo foi utilizado como um bloco. Os fatores considerados no modelo foram: tratamentos (CONTROLE, CS e SPHS), porções do músculo (PO, PI1 e PI2), dias de armazenamento (1 e 12). O tratamento CONTROLE foi comparado somente dentro do dia 1 de armazenamento. As análises foram

realizadas por meio do software SAS utilizando o procedimento MIXED Para avaliação de diferença significativa das médias ( $P < 0,05$ ) aplicou-se o teste de *Tukey*.

### 4.3 Resultados e Discussão

#### 4.3.1 pH

Interação entre tratamentos, porções do músculo e dias de armazenamento dos bifés após equalização da salmoura foi observada ( $P < 0,0001$ ) na variável pH (Tabela 2). Independente do tratamento e dias de armazenagem, a porção PO apresentou valores de pH superiores ( $P < 0,005$ ) aos encontrados em PII que foram semelhantes à PI2 ( $P > 0,05$ ). Houve exceção para os bifés CONTROLE e CS (Dia 1) das porções PO e PI1, que foram semelhantes ( $P > 0,05$ ) entre si. Baixos valores de pH para PI2 provavelmente estejam associados ao tipo de fibra predominante nesta porção (Tipo IIB). Queda acentuada do pH é característica em musculaturas onde há o predomínio de fibras rápidas e glicolíticas, para as quais tem sido relatada maior atividade de calpains e velocidade de maturação (GANN; MERKEL, 1978; OUALI et al., 1983). Por outro lado, a similaridade entre os pHs da PI1 e PI2 poderia ser explicada pela semelhança de tipo de fibras nestas duas porções (fibras brancas), já que tem sido observada que em PI1 existe o predomínio de fibras do tipo IIA (GOTH, 2003). A similaridade entre os pHs da porção PI1 e PI2, para todos os tratamentos e dias, também pode estar envolvida com o tipo de fibra, onde muito provável que parte das fibras de PI1 sejam também do tipo IIB. Nenhum dado na literatura foi encontrado para o tipo de fibra da porção PII, sabe-se apenas que ela se localiza entre uma região onde há o predomínio de fibras do tipo IIA e outra, um tanto mais representativa dentro do músculo, com predomínio de fibras IIB (GOTH, 2003).

Tabela 2 – Valores de pH nos diferentes tratamentos, porções do músculo *Biceps femoris* e dias de armazenamento

| Porção | Dia 1          |                            |                            | Dia 12                     |                            |
|--------|----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|        | CONTROLE       | CS                         | SPHS                       | CS                         | SPHS                       |
| PO     | 5,57 (0,03)aA  | 5,80 (0,02)ba <sup>x</sup> | 6,04 (0,02)ca <sup>x</sup> | 5,75 (0,02)dA <sup>y</sup> | 5,77 (0,02)dA <sup>y</sup> |
| PII    | 5,54 (0,03)aAB | 5,76 (0,03)ba <sup>x</sup> | 5,93 (0,03)cb <sup>x</sup> | 5,69 (0,02)dB <sup>y</sup> | 5,72 (0,02)dB <sup>y</sup> |
| PI2    | 5,45 (0,04)aB  | 5,69 (0,04)bb <sup>x</sup> | 5,86 (0,04)cb <sup>x</sup> | 5,63 (0,02)dB <sup>x</sup> | 5,66 (0,02)dB <sup>y</sup> |

<sup>a,b,c</sup>Letras minúsculas diferentes (horizontal) no dia 1 de armazenamento são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

<sup>d</sup>Letras minúsculas diferentes (horizontal) no dia 12 após armazenamento são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

<sup>A,B</sup>Letras maiúsculas diferentes (vertical) dentro dos tratamentos (dia 1 e 12) são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

<sup>x,y</sup>Letras minúsculas sobrescritas diferentes (horizontal) dentro do mesmo tratamento (dia 1 e 12) e porção são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

Bifes tratados com salmouras CS e SPHS, oriundos das três regiões do músculo *Biceps femoris* e armazenados por 1 dia, obtiveram pHs elevados ( $P < 0,05$ ) quando comparados aos pHs dos bifes CONTROLE. Ou seja, estes tratamentos foram capazes de elevar o pH deste músculo. Muito provável que tal efeito tenha ocorrido em função da presença do tripolifosfato e sal em ambas as salmouras, que tem esta capacidade de elevar o pH em carnes e produtos cárneos (KEETON, 2001). Alguns autores trabalhando com adição de salmouras contendo fosfatos alcalinos e sal, também observaram elevação do pH em músculos *Biceps femoris* (HARADA, 2004; BAUBLITS et al., 2006). Comparando os bifes tratados nas três porções do músculo neste mesmo período de armazenamento, observa-se que o tratamento SPHS resultou em pHs superiores ( $P < 0,005$ ) comparados a CS. Este resultado sugere que existiu um sinergismo entre a proteína hidrolisada de soja (PHS) e o tripolifosfato em SPHS, que potencializou a elevação do pH dos bifes deste tratamento. A PHS tem demonstrado efeito positivo quanto a elevação da capacidade de absorção de água em carnes e como tamponante (KINSELLA, 1979).

Ao 12º dia de armazenagem dos bifes CS e SPHS foi observado diminuição ( $P < 0,05$ ) do pH destes, quando comparados aos pHs de CS e SPHS armazenados por 1 dia, dentro de todas as porções avaliadas. Houve exceção apenas aos bifes CS do dia 12 e porção PI2 que demonstraram pHs semelhantes ( $P > 0,05$ ) aos encontrados nos bifes deste mesmo tratamento e porção, armazenados por 1 dia. Pouca relação tem sido observada entre diminuição de pH e tempo de maturação de carnes, é provável que a explicação para tal efeito não esteja relacionada à proteólise muscular e sim a uma possível diminuição do efeito do tripolifosfato na elevação do pH pelo tempo de 12 dias de armazenagem dos bifes. A porção PI2, a qual apresentou junto a PI1 baixo pH, pode ter possibilitado um maior efeito tampão pelo tripolifosfato em CS, e assim contribuído para que o pH deste tratamento nesta porção não se alterasse significativamente com o tempo de armazenamento.

#### **4.3.2 Rendimento**

O rendimento dos bifes massageados (CS e SPHS) apresentou interação ( $P = 0,0182$ ) com as porções do músculo *Biceps femoris* (Tabela 3). A porção PO obteve maior ( $P < 0,05$ ) rendimento (13,19%) em comparação a PI1 (11,66%) e ambas foram similares ( $P > 0,05$ ) a PI2 (15,68%). O maior rendimento de PO em relação a PI1 pode estar relacionado à possível maior frequência de fibras solúveis em sal na PO, que poderia resultar em maior extração de proteínas e

conseqüentemente, aumentar a captação de água nesta porção. Já os resultados para PI2, podem ter sido recorrente a heterogeneidade de variância na estatística e vale-se relatar que a probabilidade (P) para PI1 ser igual a PI2 foi de 0,06. No entanto este efeito não foi considerado em razão das diferenças dentro das análises deste trabalho serem significativas somente para  $P < 0,05$ .

Tabela 3 - Rendimento (%) de bifes massageados e não massageados provenientes de três diferentes porções do músculo *Biceps femoris*

| Porção | Tratamento     |                 |
|--------|----------------|-----------------|
|        | CONTROLE       | CS e SPHS       |
| PO     | 0,30 (1,41)aA  | 13,19 (1,00)bA  |
| PI1    | 0,07 (0,84)aA  | 11,66 (0,71)bB  |
| PI2    | -2,29 (2,27)aA | 15,68 (1,59)bAB |

<sup>a,b</sup>Letras minúsculas diferentes dentro de linha são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

<sup>A,B</sup>Letras maiúsculas diferentes dentro de coluna são diferentes significativamente ( $P < 0,05$ )

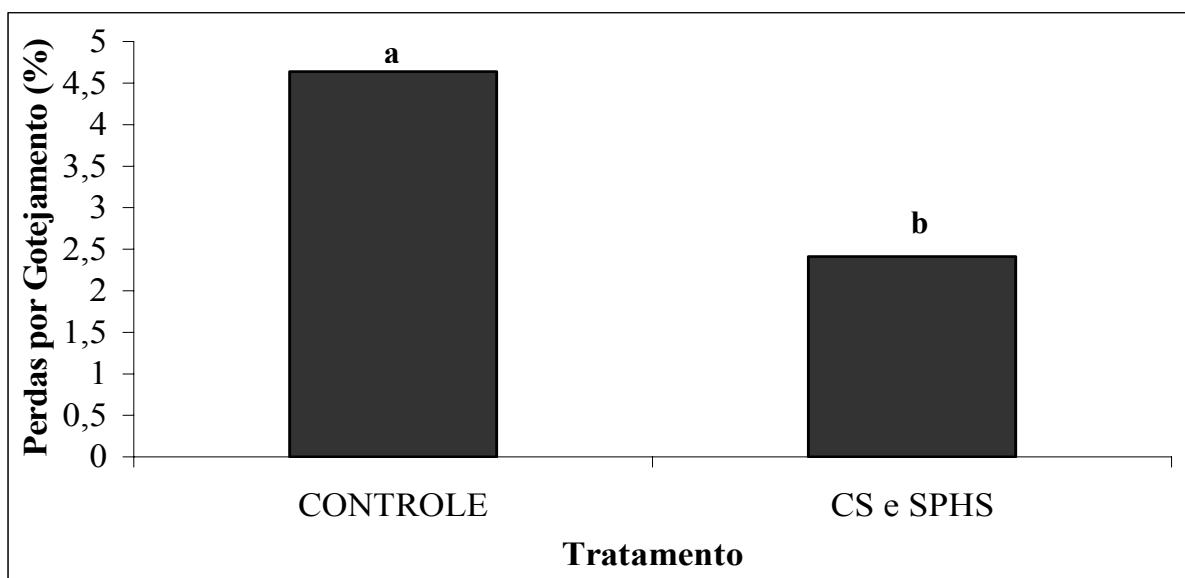
Bifes CONTROLE não obtiveram rendimento devido ao fato de não terem sido massageados, ou seja, não houve adição de salmoura nestes. Desta forma não diferiram ( $P > 0,05$ ) dentre as três porções avaliadas do músculo e demonstraram valores para rendimento inferiores ( $P < 0,05$ ) aos bifes CS e SPHS. A adição de salmouras em processo de massageamento tem aumentado o peso de diferentes cortes cárneos crus e cozidos (XIONG; KUPSKI, 1999; ZHENG et al., 2000; AKTAS; AKSU; KAYA, 2003ab; HARADA, 2004; SMITH; YOUNG, 2007) primeiramente pelo rompimento das estruturas e tecidos do músculo, o que facilita a entrada da salmoura no músculo. Posteriormente, pela ação do tripolisfosfato na salmoura, que é capaz de formar complexos com  $Ca^{++}$  e  $Mg^{++}$  que se encontram ligados às proteínas miofibrilares, e assim rompe ligações e afrouxa a rede protéica resultando no aumento da CRA da carne (HAMM, 1960). Outra ação do tripolisfosfato, que se potencializa na presença de sal, seria a elevação da força iônica do meio, promovendo a dissociação do complexo actomiosínico que resulta no intumescimento das fibras (OFFER; TRINICK, 1983).

#### 4.3.3 Perda de peso por gotejamento (PPG)

Efeito de tratamento ( $P < 0,0001$ ) foi observado sobre a variável perda de peso por gotejamento (Figura 3). Bifes massageados CS (2,52%) e SPHS (2,31%) não diferiram ( $P < 0,05$ ) entre si e juntos (CS e SPHS) (2,41%) perderam menos ( $P < 0,05$ ) água e solutos em comparação



aos bifes CONTROLE (4,64%). Provavelmente, tal resultado seja decorrente da funcionalidade do sal e do fosfato adicionados nas salmouras CS e SPHS, que permitiram reduzir em 2,23% a PPG. O sal causa um aumento na solubilidade das proteínas da carne e o tripolifosfato promove uma expansão da fibra muscular (inchaço) através de repulsões eletrostáticas e quando juntos, potencializam a retenção de água nas miofibrilas (OFFER; TRINICK, 1983; OFFER; KNIGHT, 1988). Concordando com os nossos resultados, alguns autores também observaram diminuição de PPG quando marinaram o *Biceps femoris* com sal e/ou fosfatos (SULTANA et al, 2008).



Fig

ura 3 - Efeito do massageamento de bifes do músculo *Biceps femoris* sobre as perdas por gotejamento

#### 4.3.4 Perda de peso por cozimento (PPC)

Para a variável perda de peso por cozimento houve efeito ( $P=0,0013$ ) de tratamento e dias de armazenamento para os bifes massageados CS e SPHS ( $P=0,0013$ ) (Tabela 4). Ao analisar 1 dia após o armazenamento, os bifes tratados (CS e SPHS) apresentaram menor ( $P<0,05$ ) PPC em comparação aos bifes CONTROLE. A presença do sal e do tripolifosfato na salmoura utilizada para massagear os bifes CS e SPHS podem ter sido os responsáveis pelas menores PPC, que indicam o aumento da habilidade de aumentar e reter água do produto durante a cocção (GIESE, 1992). PPC relatadas na literatura para o músculo *Biceps femoris* “*in natura*” variam de 20,07% a 33,9% (WHEELER; KOOHMARAIE; CROUSE, 1991; OBUZ; DIKEMAN, 2003; HARADA et al., 2004; BAUBLITS et al., 2005a e 2006; SULTANA et al., 2008). Dentre estes trabalhos,

apenas o último não observou diminuição das perdas por cocção, quando a marinação com sal e fosfatos foi empregada nos músculos.

Os valores de PPC dentre as diferentes porções do músculo *Biceps femoris* não diferiram ( $P>0,05$ ) neste trabalho. Provavelmente tal resultado esteja relacionado à presença de agrupamentos diferenciados de tipos de fibras (maior ou menor CRA) nas porções em função do tamanho destas, permitindo que a perda de água durante o cozimento tornasse homogênea. De acordo com nossos resultados, Rhee et al, (2004) dividindo o *Biceps femoris* em três diferentes e menores porções, observaram que a PPC da porção Proximal (20,2%), origem do músculo, não diferiu ( $P>0,05$ ) da porção Distal (19,6%), inserção do músculo. No entanto, verificou-se que a porção Média (17,2%) localizada exatamente na região mediana a extensão do músculo, obteve menor ( $P<0,05$ ) PPC em comparação às outras.

#### **4.3.5 Força de cisalhamento (FC)**

Em força de cisalhamento, também houve efeito ( $P<0,0001$ ) de tratamento e dias de armazenamento, para os bifés massageados CS e SPHS (Tabela 4). Nos bifés armazenados por 1 dia, maiores ( $P<0,05$ ) valores de FC foram encontrados para os bifés CONTROLE (6,67kgf) em comparação aos bifés CS e SPHS (5,36kgf). O uso de marinação com sal e fosfatos tem sido associado com aumento da maciez de cortes cárneos (BABJI; FRONING; NGOKA, 1982; SMITH; FLETCHER; PAPA, 1991; YOUNG; LYON, 1997; DETIENNE; WICKER, 1999; ZHENG et al, 2000) basicamente por elevar a CRA. Alguns autores relatam que a marinação afeta a maciez da carne de três maneiras: 1- Ação do pH na indução do inchaço das fibras musculares e/ou tecido conectivo; 2- Aceleração adicional da proteólise, favorecendo o enfraquecimento da estrutura muscular; 3- Aumento da solubilização do colágeno no cozimento (OFFER; TRINICK 1983; OFFER; KNIGHT 1988; ERTBJERG et al., 1999). Desta forma, a presença do sal e fosfatos em CS e SPHS, associado à ação física do massageamento devem ter sido responsáveis pela maior maciez para estes bifés (XIONG; KUPSKI, 1999; SMITH; ACTION, 2001).

Tabela 4 - Efeito do massageamento de bifos do músculo *Biceps femoris* sob tempo de armazenamento para as variáveis perdas de peso por cocção (PPC) e força de cisalhamento (FC)

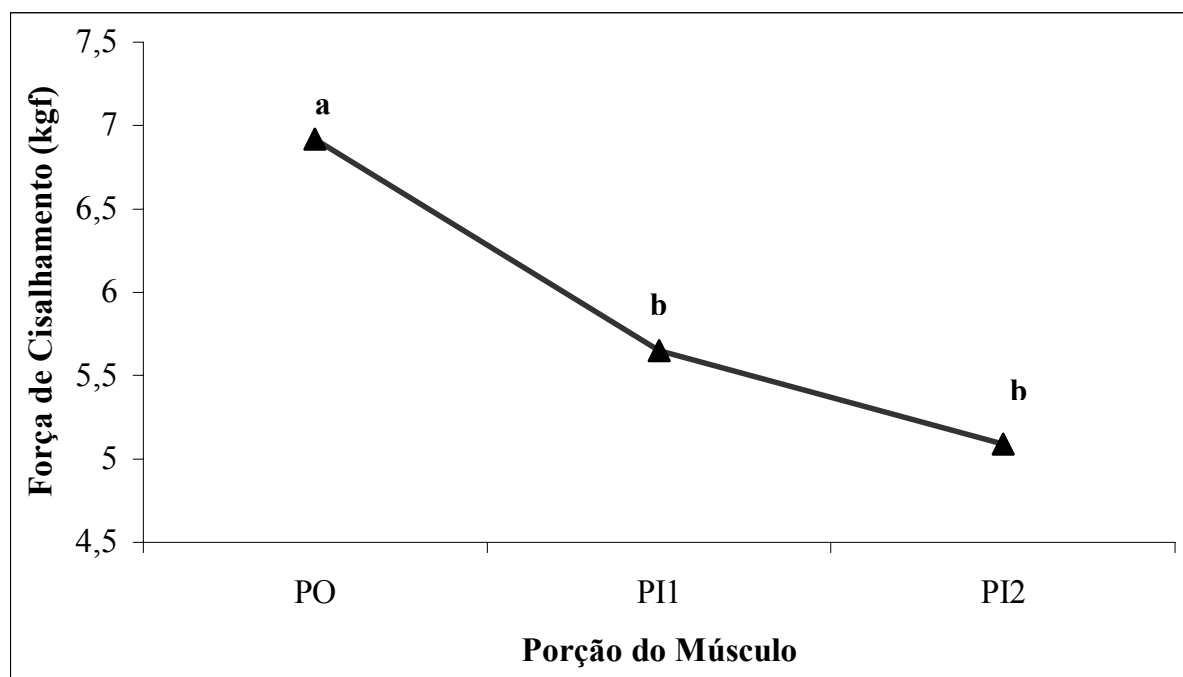
|          | Dia 1         |                            | Dia 12                    |
|----------|---------------|----------------------------|---------------------------|
|          | CONTROLE      | CS e SPHS                  | CS e SPHS                 |
| PPC (%)  | 32,55 (0,60)a | 26,54 (0,43)b <sup>x</sup> | 24,14 (0,56) <sup>y</sup> |
| FC (kgf) | 6,67 (0,23)a  | 5,36 (0,16)b <sup>x</sup>  | 4,85 (0,16) <sup>y</sup>  |

<sup>a,b</sup>Letras minúsculas diferentes dentro da variável no dia 1 de armazenamento são diferentes significativamente (P<0,05)

<sup>x,y</sup>Letras minúsculas sobrescritas diferentes dentro da variável nos bifos massageados (CS e SPHS) são diferentes significativamente (P<0,05)

O armazenamento por 12 dias dos bifos (CS e SPHS - 4,85 kgf) permitiu que estes se tornassem ainda mais macios (P<0,05) do que os bifos dos mesmos tratamentos, armazenados por 1 dia (5,36kgf) . Muito provável que a maior maciez dos bifos massageados e armazenados por 12 dias esteja relacionada ao processo natural de proteólise das principais proteínas miofibrilares, o que permite o aumento da fragilidade das miofibrilas durante o armazenamento *post mortem* (KOOHMARAIE, 1994).

Ainda quanto à FC, verificou-se efeito principal (P=0,001) para porção do músculo (Figura 4). Observou-se uma variação de maciez ao longo do músculo *Biceps femoris*, de forma que a porção PO (6,92kgf) apresentou valores de FC superiores (P<0,05) a PI1 (5,65kgf), que foi semelhante (P>0,05) a PI2 (5,09kgf). A maior maciez das porções PI1 e PI2 possivelmente esta relacionada ao menor pH destas porções (Tabela 2). Baixo pH final de músculos tem sido relacionado à inibição da atividade das calpastatinas, enzimas estas que atuam na regulação da atividade das calpains (DRANSFIELD, 1993 e 1994). Não obstante disto, outros autores relatam que a autólise da calpaina, mecanismo resultante de sua ativação, é significativamente aumentada com a diminuição do pH (KOOHMARAIE, 1992). Ao contrário dos nossos resultados, dentro do músculo *Biceps femoris* tem sido relatado maior maciez para a região Origem e menor, para a região Inserção (RAMSBOTTOM; STRANDINE; KOONZ, 1945; REUTER; WULF; MADDOCK, 2002; RHEE et al, 2004). Diferente dos autores acima, que utilizaram animais *Bos taurus*, em nosso trabalho foi utilizado animais *Bos indicus*, o que pode ter afetado o resultado final de maciez nas diferentes porções do músculo *Biceps femoris*.



Fig

ura 4 - Efeito de diferentes porções do músculo *Biceps femoris* sobre a força de cisalhamento

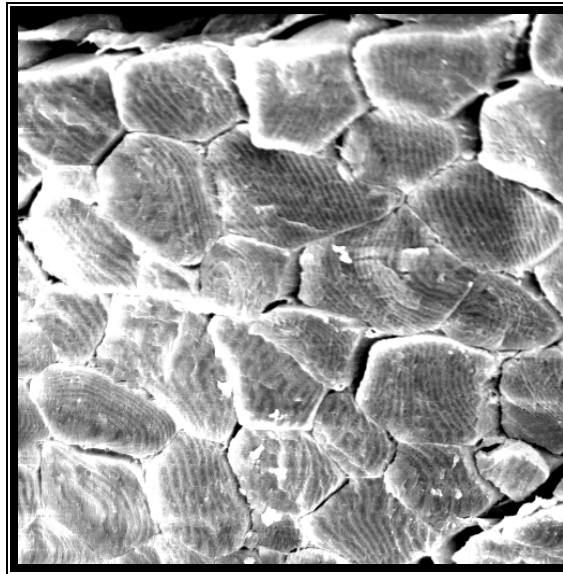
#### 4.3.6 Microscopia eletrônica de varredura

Análises de microscopia eletrônica de varredura para os bifes CONTROLE, CS e SPHS da porção PI2 do músculo *Biceps femoris*, foram realizadas e as fotos obtidas são apresentadas a partir de cortes transversais (Figura 5) e longitudinais (Figura 6). Amostras do CONTROLE (Figura 5A) demonstraram maior espaçamento entre as fibras, em comparação as demais (Figuras 5B e 5C) e preservação parcial destas. A presença de espaçamento entre as fibras do CONTROLE pode estar relacionada a deficiências no corte destas amostras, de forma que a força empregada pode ter alterado a arquitetura das fibras deste. Formato prismático das fibras também foi observado na Figura 5A, de acordo com Swatland (2004).

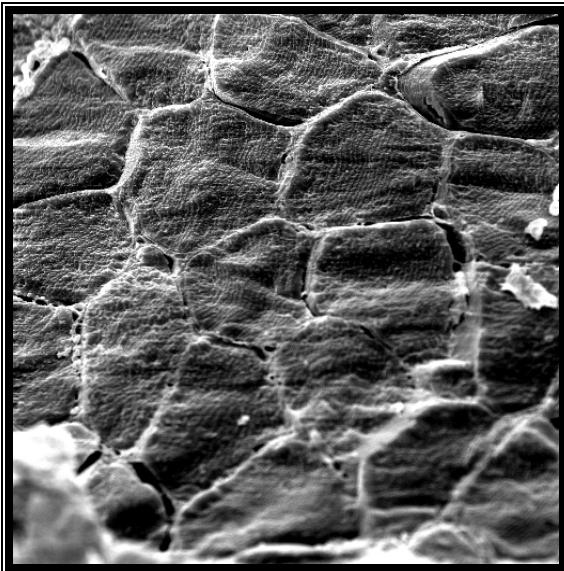
Ação potencial do sal e do tripolifosfato quanto ao inchaço das fibras foram observados na Figura 5B e 5C. Bifes massageados CS (Figura 5B) e SPHS (Figura 5C) apresentaram um significativo aumento no diâmetro das fibras e por conseqüência houve o desaparecimento dos espaços interfibrilares em CS e diminuição destes em SPHS. Possivelmente tais efeitos ocorreram em função do aumento da absorção e retenção de água. A elevação do pH, obtida com o uso de fosfatos alcalinos e o aumento da força iônica do meio, pela adição do cloreto de sódio, permitem

que aumente a força repulsiva eletrostática, resultando em maior captação de água pelas miofibrilas (OFFER; TRINICK, 1983). Resultados similares aos nossos foram encontrados por vários autores que trabalharam com adição de fosfatos e/ou cloreto de sódio em diferentes músculos (XIONG, 2005; VAUDAGNA et al., 2008; BERTRAM et al., 2008; XU et al., 2009).

5A



5B



5C

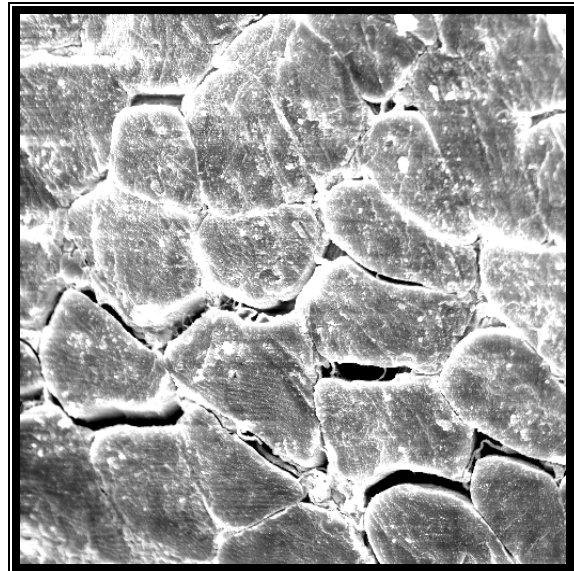


Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura de bifes do músculo *Biceps femoris* tratados com salmouras (cortes longitudinais); (A) Bifes não massageados – CONTROLE; (B)-Bifes massageados com adição de salmoura – CS; (C) Bifes massageados com adição de salmoura acrescida de proteína hidrolisada de soja – SPHS. As amostras foram mantidas sob refrigeração por 48 h à temperatura de  $0 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , pós massagem e foram obtidas da porção PI2 do músculo. Ampliação de 500x

O espaço interfibrilar foi menor para os bifos CS, em comparação aos bifos SPHS (Figura 5B e 5C). Variações na espessura dos espaços entre os filamentos podem variar de 320 a 570A, em função de fatores como comprimento de sarcômero, pressão osmótica, estado de rigor, pH, entre outros (OFFER; TRINICK, 1983; XIONG, 1994), sendo estes fatores possíveis colaboradores para tal efeito. No entanto a hipótese mais aplicável estaria na limitação da obtenção de amostras integras das superfícies do bife, onde possivelmente seria observado o efeito da salmoura SPHS, em função da desestruturação superficial causada pelos movimentos mecânicos do massagedor. Assim, imagens podem ter sido obtidas em regiões de SPHS pouco mais profundas onde não se pode observar com mais autenticidade o efeito desta salmoura na diminuição absoluta dos espaços interfibrilares.

Imagens obtidas a partir de corte longitudinal (Figura 6) dos bifos CONTROLE, CS e SPHS da porção PI2 do músculo *Biceps femoris* demonstraram de forma mais clara o efeito das salmouras CS e SPHS, para o inchaço das fibras musculares. Na Figura 6A, observa-se às fibras bastante separadas uma das outras. Já as Figuras 6B e 6C, demonstram a sobreposição das fibras pela falta de espaço em razão do inchaço destas. Medidas do diâmetro das fibras nos bifos CONTROLE, CS e SPHS variaram de 33 a 52  $\mu\text{m}$ , 42 a 67  $\mu\text{m}$  e 45 a 74  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Os prováveis motivos para o aumento do diâmetro das fibras pelo massageamento com adição de salmoura, são os mesmos já relatados acima.

A Figura 6, ainda demonstra a presença de grande quantidade de tecido conectivo presente nesta porção do músculo *Biceps femoris*, e uma desestruturação deste, melhor observada nas amostras submetidas ao massageamento (Figuras 6A e 6B). Provavelmente o rompimento dos tecidos conectivos, perimísio e endomísio devem ter ocorrido pelos movimentos bruscos do massagedor nos bifos já fragilizados pelo tempo *post mortem*. Degradação e maior solubilização de colágeno têm sido observadas no músculo *Semitendinosus* de frango e *Semitendinosus* de coelho durante estocagem *post mortem* (LIU; NISHIMURA; TAKAHASHI, 1995; SOTELO et al., 2004).

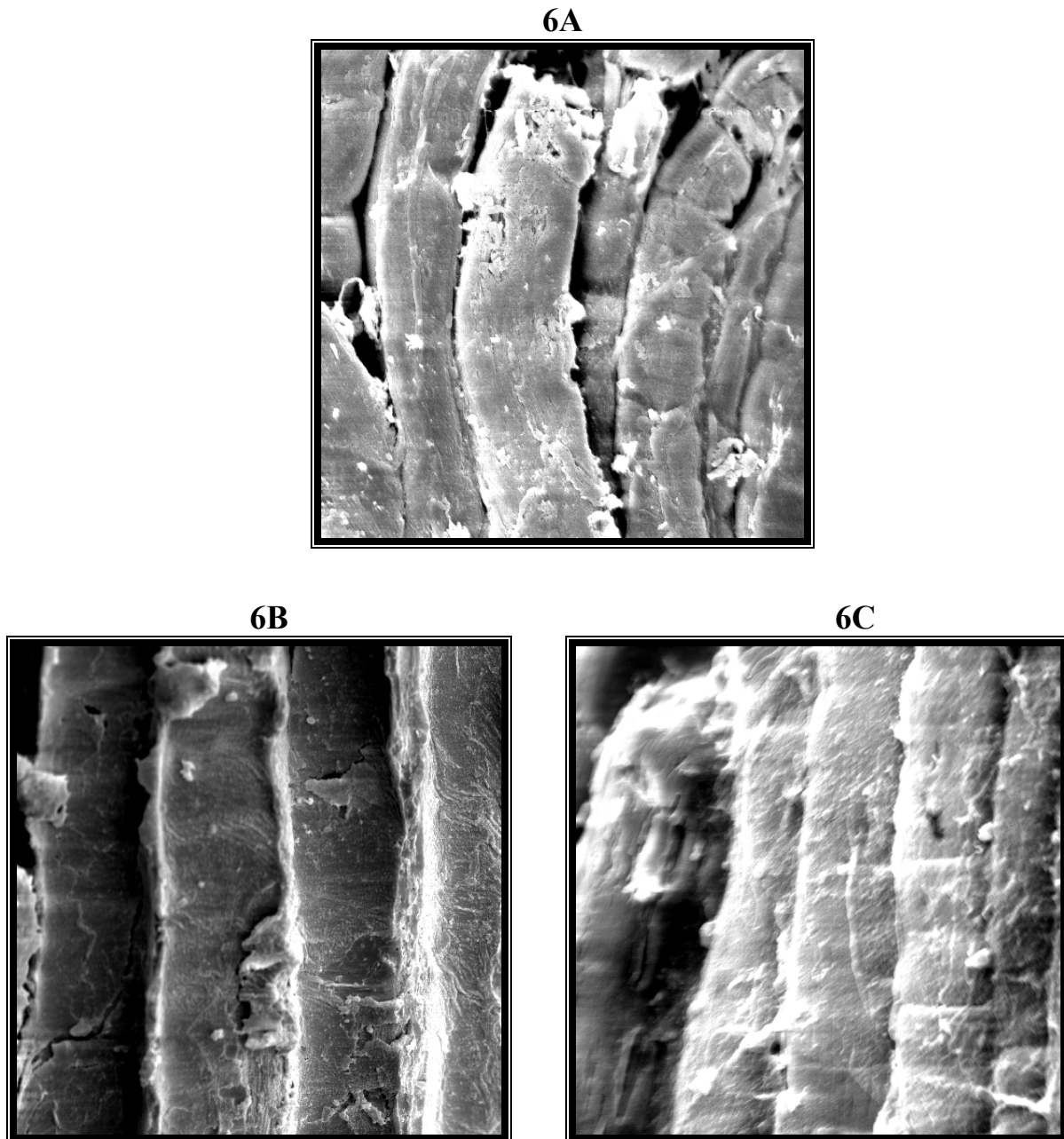


Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura de bifes do músculo *Biceps femoris* tratados com salmouras (cortes longitudinais); (A) Bifes não massageados - CONTROLE; (B)-Bifes massageados com adição de salmoura - CS; (C) Bifes massageados com adição de salmoura acrescida de proteína hidrolisada de soja - SPHS. As amostras foram mantidas sob refrigeração 48 h à temperatura de  $0 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , pós massageamento e foram obtidas da porção PI2 do músculo. Ampliação de 500x

#### 4.4 Conclusão

Diferenças significativas foram observadas entre as porções PO, P11 e P12, para as variáveis pH, rendimento e força de cisalhamento e não diferiram para perdas por cocção e por gotejamento.

pH na porção P12 foi menor que em PO, tanto para os bifes CONTROLE e como aos tratados (CS e SPHS), comportamento este que se manteve durante o período de armazenamento de 12 dias.

Os tratamentos CS e SPHS elevaram os pHs dos bifes armazenados por 1 dia e diminuíram com o armazenamento por 12 dias.

Embora os tratamentos CS e SPHS não tenham diferido entre si, eles resultaram em menores perdas por gotejamento e cocção e também diminuíram os valores de força de cisalhamento, quando comparados ao CONTROLE. Estes resultados indicam que houve penetração e retenção de salmoura nos bifes massageados CS e SPHS, fato este melhor observado pelo inchaço das fibras oriundas destes bifes, através de microscopia eletrônica.

O parâmetro maciez diferiu entre as porções do músculo *Biceps femoris* de forma que a porção P11 e P12 foram mais macias do que a porção PO.

## Referências

AKTAS, N.; AKSU, M.I.; KAYA, M. The influence of marination with different salt concentration on tenderness, water holding capacity and bound water content of beef. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 27, p. 1207-121, 2003a.

AKTAS, N.; AKSU, M.I.; KAYA, M. The effect of organic acid marination on tenderness, cooking loss and bound water content of beef. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 14, p. 181-194, 2003b.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat**. Illinois: National Livestock and Meat Board, 1978. 24p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Washington, 1995. 2v.

BABJI, A.S.; FRONING, G.W.; NGOKA, D.A. The effect of short-term tumbling and salting on the quality of turkey breast muscle. **Poultry Science**, Ithaca, v. 61, p.300-303, 1982.



BAUBLITS, R.T.; POHLMAN, F.W.; BROWN-JR., A.H.; JOHNSON, Z.B. Effects of sodium chloride, phosphate type and concentration, and pump rate on beef *biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking v. 70, p. 205-214, 2005a.

\_\_\_\_\_. Effects of enhancement with varying phosphate types and concentrations, at two different pump rates on beef *biceps femoris* instrumental color characteristics. **Meat Science**, Barking, v.71, p.264-276, 2005b.

\_\_\_\_\_. Enhancement with varying phosphate types, concentrations, and pump rates, without sodium chloride on beef *biceps femoris* quality and sensory characteristics. **Meat Science**, Barking, v. 72, p. 404-414, 2006.

BERTRAM, H.C.; MEYER, R.L.; WU, Z.; ZHOU, X.; ANDERSEN, H.J. Water distribution and microstructure in enhanced pork. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 7201-7207, 2008.

BROOKS, J.C.; BELEW, J.B.; GRIFFIN, D.B.; GWARTNEY, B.L.; HALE, D.S.; HENNING, W.R.; JOHNSON, D.D.; MORGAN, J.B.; PARRISH-JR., F.C.; REAGAN, J.O.; SAVELL, J.W. National beef tenderness survey-1998. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 1852-1860, 2000.

CAMARGO, M.X.; CHIEFFI, A. **Ezoognósia**. Água Branca: Instituto de Zootecnia, 1971. 320 p.

DETIENNE, N.A.; WICKER, L. Sodium chloride and tripolyphosphate effects on physical and quality characteristics of injected pork loins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 6, p. 1042-1047, 1999.

DRANSFIELD, E. Modelling post-mortem tenderization - IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. **Meat Science**, Barking, v. 34, p. 217-234, 1993.

DRANSFIELD, E. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. **Meat Science**, Barking, v. 36, p. 105-121, 1994.

ERTBJERG, P.; MIELCHE, M.M.; LARSEN, L.M.; MOLLER, A.J. Relationship between proteolytic changes and tenderness in prerigor lactic acid marinated beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.79, p.970-978, 1999.

FENG, J.; XIONG, Y.L.; MIKEL, W.B. Textural properties of pork frankfurters containing thermally/enzymatically modified soy proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 1220-1224, 2003.

GANN, G.L.; MERKEL, R.A. Ultrastructural changes in bovine *longissimus dorsi* muscle during postmortem aging. **Meat Science**, Kidlington, v. 2, p. 129, 1978.

GOTOH, T. Histochemical properties of skeletal muscles in Japanese cattle and their meat production ability. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 74, p. 339-354, 2003.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. In: CHICHESTER, C.O.; MRAK, E.M.; STEWART, G.F. **Advances in Food Research**, New York: Academic Press, 1960, p. 355-392.

HARADA, M. M. **Efeito da desossa e da marinação sobre as características de processamento, físico-químicas e sensoriais do músculo *biceps femoris***. 2004. 62 p. Dissertação (Mestrado e Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

HOFFMAN, L.C.; MULLER, M.; VERMAAK, A. Sensory and preference testing of selected beef muscles infused with a phosphate and lactate blend. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 1055-1060, 2008.

KEETON, J.T. Formed and emulsion products. In: SAMS, A. (Ed.). **Poultry Meat Processing**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. chap. 12, p. 195–226.

KINSELLA, J.E. Functional Properties of Soy Proteins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Chicago, v. 56, p. 242-257, 1979.

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

LIU, A.; NISHIMURA, T.; TAKAHASHI, K. Structural weakening of intramuscular connective tissue during *post mortem* ageing of chicken *Semitendinosus* muscle. **Meat Science**, Barking, v. 39, p. 135-142, 1995.

McGEE, M.R. ; HENRY, K.L.; BROOKS, J.C. ; RAY, F.K. ; MORGAN, J.B. Injection of sodium chloride, sodium tripoliphosphate and sodium lactate improves Warner Bratzler shear and sensory characteristics of pre cooked inside round roasts. **Meat Science**, Barking, v. 64, p. 273-277, 2003.

MONTEBELLO, N.P. **Carne & Cia**. Brasília: SENAC, 2006, 324p.

MUCHENJE, V.; DZAMA, K.; CHIMONYO, M.; RAATS, J.G.; STRYDOM, P.E. Meat quality of nguni, bonsmara and aberdeen angus steers raised on natural pasture in the eastern cape, South Africa. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 20-28, 2008.

OBUZ, E.; DIKEMAN, M.E. Effects of cooking beef muscles from frozen or thawed states on cooking traits and palatability. **Meat Science**, Barking, v. 65, p. 993–997, 2003.

OFFER, G.; KNIGHT, P. The structural basis of water holding in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In: LAWRIE, R. (Ed.) **Developments in meat science-4**. London: Elsevier Applied Science, 1988. chap. 3, p. 63-171.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Barking, v. 8, n. 4, p. 245-281, 1983.

OUALI, A.; OBLED, A.; COTTIN, P.; MERDADI, N.; DUCASTAING, A.; VALIN, C. Comparative effects of postmortem storage and low-calcium-requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, n. 5, p. 476, 1983.

PAZOS, A.A; SALITTO, V.A.; LASTA, J.A.; BOLONDI, A.; GUIDI, S.M.; CARDUZA, F.J.; GONZALEZ, C.B. Tenderness improvement of bovine *biceps femoris* muscle by calcium chloride injection. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 13, p. 171-187, 2002.

RAMSBOTTOM, J.M.; STRANDINE, E.J.; KOONZ, C.H. Comparative tenderness of representative beef muscle. **Food Research**, London, v. 10, p. 497-509, 1945.

REUTER, B.J.; WULF, D.M.; MADDOCK, R.J. Mapping intramuscular tenderness variation in four major muscles of the beef round. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2594-2599, 2002.

RHEE, M.S.; WHEELER, T.L.; SCHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M. Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 534-550, 2004.

SHEARD, P.R.; NUTE, G.R.; RICHARDSON, R.I.; PERRY, A.; TAYLOR, A.A. Injection of water and polyphosphate into pork to improve juiciness and tenderness after cooking. **Meat Science**, Barking, v.51, p.371-376, 1999.

SMITH, D.P.; ACTON, J.C. Marination, cooking and curing of poultry products. In: SAMS, A. (Ed.). **Poultry Meat Processing**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. chap. 15, p. 257–279.

SMITH, D.P.; YOUNG, L.L. Marination pressure and phosphate effects on broiler breast fillet yield, tenderness, and color. **Poultry Science**, Ithaca, v. 86, p. 2666-2670, 2007

SMITH, D.P.; FLETCHER, D.L.; PAPA, C.M. Evaluation of duckling breast meat subjected to different methods of further processing and cooking. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 2, p. 305–310, 1991.

SOTELO, I.; PÉREZ-MUNUERA, I.; QUILES, A.; HERNANDO, I.; LARREA, V.; LLUCH, M.A. Microstructural changes in rabbit meat wrapped with *Pteridium aquilinum* fern during postmortem storage. **Meat Science**, Barking, v. 66, p. 823-829, 2004.

SULTANA, A.; NAKANISHI, A.; ROY, B.C.; MIZUNOYA, W.; TATSUMI, R.; ITO, T.; TABATA, S.; RASHID, H.; KATAYAMA, S.; IKEUCHI, Y. Quality improvement of frozen and chilled beef *biceps femoris* with the applications of salt-bicarbonate solution. **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 21, n. 6, p. 903-911, 2008.

SWATLAND, H. J. Muscle. In: Jensen W.K.; Devine, C; Dikeman, M **Encyclopedia of Meat Sciences**. Amsterdam: Elsevier 2004. p. 525-530.

VAUDAGNA, S.R.; PAZOS, A.A.; GUIDI, S.M.; SANCHEZ, G.; CARP, D.J.; GONZALEZ, C.B. Effect of salt addition on *sous vide* cooked whole beef muscles from Argentina. **Meat Science**, Barking, v. 79, p. 470-482, 2008.

WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M.; CROUSE, J.D. Effects of calcium chloride injection and hot boning on the tenderness of round muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 4871-4875, 1991.

XIONG, Y.L. Myofibrillar from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functiona properties in meat processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 3, p. 293-320, 1994.

\_\_\_\_\_. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats. **Food Research International**, Barking, v. 38, p. 281-287, 2005.

XIONG, Y.L.; KUPSKI, D.R. Time-dependent marinade absorption and retention, cooking yield, and palatability of chicken filets marinated in various phosphate solutions. **Poultry Science**, Ithaca, v. 78, p. 1053-1059, 1999.

XU, S.Q.; ZHOU, G.H.; PENG, Z.Q.; ZHAO, L.Y.; YAO, R. The influence of polyphosphate marination on simmental beef shear value and ultrastructure. **Journal of Muscle Foods**, Trumbull, v. 20, p. 101-116, 2009.

YOUNG, L.L.; LYON, C.E. Effect of calcium marination on biochemical and textural properties of peri-rigor chicken breast meat. **Poultry Science**, Ithaca, v. 76, p. 197-201, 1997.

ZHENG, M.; DETIENNE, N.A.; BARNES, B.W.; WICKER, L. Tenderness and yields of poultry breast are influenced by phosphate type and concentration of marinade. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, p. 82-87, 2000.



# **ANEXOS**

**ANEXO 1**

## Questionário

Nome: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_

1 – Você tem algum problema de saúde?

 Sim Não

2 – Caso Afirmativo, qual seu problema de saúde?

3 – Qual a sua Idade?

 18 – 25 25 – 35 35 – 45 acima de 45

4 – Qual o seu grau de escolaridade?

 Nível médio superior pós-graduação \_\_\_\_\_

5 – Você já participou de um treinamento para avaliação sensorial em carnes?

 Sim Não

6 – Você tem habito de consumir carne bovina?

 Sim Não

7 – Caso afirmativo qual a frequência

 1 vez por semana  2 vezes por semana  acima de 3 vezes

8– Qual o modo de prepara abaixo é de sua preferência?

 cozida assada grelhada outros

9 – Qual nível interesse em participar deste treinamento?

 baixo médio alto

Porque?



## ANEXO 2

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Resolução n. 196, 10 de Outubro de 1996, segundo o Conselho Nacional de Saúde.

**Caro colaborador:** Este estudo será realizado por meio de análise sensorial utilizando a escala não estruturada e provadores treinados.

**Título do protocolo de pesquisa:** Marinação do *Biceps femoris* com proteína hidrolisada de soja e seu efeito sobre a estrutura muscular.

**Objetivos:** Avaliar o efeito da marinação com adição de proteína hidrolisada de soja sobre as medidas físicas e químicas de partes distintas do *Biceps femoris* em bovinos por meio de amaciamento.

**Justificativa:** A hipótese seria que a proteína hidrolisada de soja atue de forma aditiva junto à salmoura produzindo um resultado melhor, quanto à maciez e capacidade de retenção de água para o músculo *Biceps femoris* do que a salmoura atuando isoladamente, investigando o modo de absorção e imobilização de água em carnes incorporadas com salmoura. Outra proposta seria verificar as respostas dadas a esse processamento em duas porções do músculo *Biceps femoris*, denominadas como menos macia e mais macia pelo mercado varejista.

**População de estudo:** A população estudada constará de uma amostra da comunidade entre alunos e funcionários da ESALQ, de ambos os sexos, na faixa etária entre 18 e 50 anos, que se declarem consumidores de carne bovina e apresentarem paladar geneticamente normal, boa saúde, não apresentar infecções bucais, dentaduras, etc, boa memória sensorial, boa habilidade descritiva, bom poder discriminativo, reprodutibilidade de julgamentos, disponibilidade, interesse em participar dos testes, tranqüilidade mental para realizar os testes e não possuir aversão aos produtos utilizados para participação na análise sensorial da carne.

**Procedimentos:** Os voluntários serão recrutados e selecionados de acordo com o interesse, disponibilidade e as exigências já apresentadas na População de Estudo. Em seguida serão familiarizados com os atributos de qualidade da carne (maciez, suculência, sabor estranho e impressão global) para poderem participar das análises sensoriais. Todos os provadores receberão instruções sobre a metodologia, antes e durante as análises. Amostras de carne do controle e dos tratamentos serão servidas aos provadores em cabines individuais em copos descartáveis codificados com números aleatórios, sendo um copo para cada amostra. O indivíduo permanecerá sozinho na cabine o tempo necessário para a sessão avaliatória (aproximadamente quinze minutos). Não há grupo placebo ou controle nos testes realizados, portanto todos os participantes receberão os mesmos tratamentos.

**Desconfortos, riscos previsíveis e benefícios:** Aos voluntários não haverá riscos e desconfortos previsíveis, pois ao provarem as carnes, no momento da análise sensorial, estas já passaram por análise microbiológica para comprovação de sua qualidade, certificando que elas não estarão deterioradas. Além disso, as mesmas serão manipuladas seguindo normas de higiene. Não haverá benefícios diretos ao provador, mais as informações obtidas neste estudo serão úteis cientificamente para comparar as características sensoriais (maciez, suculência, sabor estranho) da carne bovina marinada.

**Métodos alternativos existentes:** Não há método alternativo existente que avalie em conjunto as características medidas na análise sensorial.

**Responsabilidades:** Os pesquisadores se responsabilizam por eventuais problemas causados pela análise sensorial aos provadores e comprometem-se a prestar assistência aos mesmos, se necessário. O pesquisador garante fornecer resposta a qualquer pergunta ou esclarecer qualquer dúvida que haja sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

**Privacidade:** As informações obtidas neste estudo poderão ser divulgadas em publicações, congressos, porem sem a identificação do participante.

**Formas de ressarcimento das despesas e indenizações:** Não há previsões de gastos por parte dos voluntários e, portanto, não há previsão de ressarcimento. Não há riscos previsíveis para os voluntários e, portanto, não há previsão de indenização ou previsão de reparação de danos aos voluntários. A participação de vossa senhoria é voluntária, podendo retirar seu consentimento e deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem maiores conseqüências. Todos os voluntários da pesquisa receberão uma copia do TCLE. Ciente do compromisso assumido na minha colaboração com esta pesquisa, e pela importância da mesma subscrevo-me a seguir:

Nome (completo): \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome (completo): Carmen Josefina Contreras Castillo

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome (completo): Alessandra Aparecida Silva

Assinatura: \_\_\_\_\_

Caso necessite informações complementares sobre pesquisa, entrar em contato com:

**Profº Carmen Josefina Contreras Castillo**

Departamento de Agroindústria Alimentos e Nutrição da ESALQ - Universidade de São Paulo  
Av. Pádua Dias, 11. Telefone (19) 3429-4196, email: [ccastill@esalq.usp.br](mailto:ccastill@esalq.usp.br)

**Alessandra Aparecida Silva**

Departamento de Agroindústria Alimentos e Nutrição da ESALQ - Universidade de São Paulo  
Av. Pádua Dias, 11. Telefone (19) 3429-4196, email: [aasilva@esalq.usp.br](mailto:aasilva@esalq.usp.br)

**ANEXO 3**

NOME: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Você está recebendo três amostras de carne bovina. Por favor prove as amostras da esquerda para a direita e as classifique quanto a **maciez** e **suculência** de acordo com as escalas.

**MACIEZ**



0 10  
Pouco macia Muito macia

**SUCULÊNCIA**



0 10  
Pouco suculenta Muito suculenta

Comentários: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)