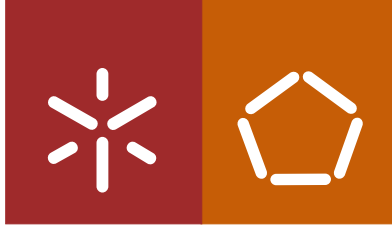


Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Sofia Maria Peixoto Arantes

**Importância do pH na carne
de bovino embalada**



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Sofia Maria Peixoto Arantes

Importância do pH na carne de bovino embalada

Dissertação de Mestrado
Mestrado Integrado em Engenharia Biológica
Ramo Tecnologia Química e Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Isabel Rocha (Universidade do Minho)
e da
Engenheira Graciete Machado (Central de Carnes)

outubro de 2014

Declaração

Nome: Sofia Maria Peixoto Arantes

Endereço eletrónico: sofiarantes@hotmail.com

Número do Bilhete de Identidade: 13910501

Título da tese: Importância do pH na carne de bovino embalada

Orientadores: Isabel Cristina de Almeida Pereira da Rocha;

Maria Graciete Araújo Machado

Ano de conclusão: 2014

Designação do Mestrado: Mestrado Integrado em Engenharia Biológica – Ramo Tecnologia Química e Alimentar

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITO DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Universidade do Minho, 31/10/2014

Assinatura: _____

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem.”

Fernando Pessoa

*Aos meus pais, pelo esforço que fizeram e por me ensinarem desde cedo que a educação é a base da
nossa transformação como seres humanos.*

Aos meus irmãos, Filipa e João, por todo o apoio e motivação.

AGRADECIMENTOS

Um trabalho de estágio requer um grande empenho e dedicação para que se torne uma mais-valia. No final desta etapa, que trouxe novos conhecimentos, é o momento de expressar por escrito os agradecimentos a todos quantos permitiram que este percurso fosse concluído com sucesso. É altura de deixar registado um Obrigado a todos aqueles que se cruzaram no meu caminho e me transmitiram o conhecimento necessário para que fosse possível concluir esta etapa.

À minha orientadora, Professora Doutora Isabel Rocha, pela sua disponibilidade e orientação prestada ao longo da realização deste trabalho.

À minha “mestre”, Engenheira Graciete Machado, por todos os conhecimentos transmitidos, pela paciência, pelo seu constante apoio e prontidão. Por sempre me ajudar, motivar e mostrar que nos momentos mais difíceis há sempre uma solução. Pelas suas ideias e dicas que tornaram o trabalho mais profissional. Por me lançar novos desafios que me permitiram evoluir. Pela amizade e preocupação que sempre teve comigo.

Aos meus colegas do departamento de qualidade, Engenheira Isabel Miranda e Engenheiro Tiago Correia, que nestes meses foram um grande apoio. Por me fazerem sentir parte da equipa e me ajudarem a integrar no meio laboral. Por todos os dias me ensinarem algo novo. Pela paciência em repetir aquilo que não percebia à primeira, pelas ideias e dicas que foram fundamentais no decorrer do trabalho. Por toda a ajuda, amizade, prontidão e preocupação.

Aos administradores da empresa por disponibilizarem meios e não imporem quaisquer condições, mas acima de tudo por me terem dado uma oportunidade.

Às pessoas que trabalhavam na desmancha, obrigado pela colaboração neste trabalho.

A todos os meus colegas de curso, em especial à Joana e à Guida que ao longo de 4 anos partilharam comigo muitos momentos difíceis e outros inesquecíveis momentos de alegria. Em especial, neste trabalho pelo apoio, ajuda e troca de ideias.

À Inês que ao longo destes 4 anos se foi tornando cada vez mais amiga, obrigado por toda a ajuda, pelo apoio nos momentos mais complicados, pelo “abrigo” que tantas vezes me deu em

sua casa, pela paciência e explicações nas “maratonas de estudo”, por todos os momentos de animação e parvoíce. Acima de tudo agradeço a amizade e a troca de ideias que nesta fase foi tão importante para a evolução do trabalho.

Aos meus amigos, Lameira, Fred, Xavier e Marisa que sempre me apoiaram e me transmitiram a força que necessitava. Por fazerem com que eu visse sempre o lado positivo em todas as situações. Por me fazerem rir, me incentivarem e por terem tanta paciência comigo.

E por fim, mas não menos importantes, ao meu Pai e à minha Mãe que fizeram um esforço enorme para me conseguir proporcionar este caminho. Pelo incentivo, preocupação e carinho que sempre tiveram para comigo, dedico-lhes este trabalho como pequena forma de agradecimento pelo grande sacrifício que tiveram. Aos meus irmãos, Filipa e João, que sempre me acompanharam, ajudaram, motivaram e me mostraram como ultrapassar os obstáculos, obrigado por estarem sempre comigo.

RESUMO

A carne é um alimento com características que a tornam um meio propício à deterioração. O pH é um dos fatores que mais influencia a conservação da carne bovina, pelo facto de interferir com a capacidade de retenção de água e com o desenvolvimento microbiano nesta. Por outro lado, o pH tem um papel decisivo na qualidade exibida pela carne, pois influencia características às quais os consumidores dão elevado ênfase, como cor, textura e suculência. Uma forma de se prolongar o tempo de vida útil de carnes de bovino frescas é embalando-as a vácuo. A remoção do ar da embalagem faz com que se previna o crescimento de microrganismos que deterioram o produto, a oxidação e a descoloração da carne.

O presente trabalho tinha como principais objetivos avaliar a variação do pH mediante o local de medição na carcaça e determinar quais os parâmetros que influenciam o pH *post mortem*. Acresce ainda, a atribuição do máximo tempo de vida útil a peças de bovino embaladas a vácuo, com pH inicial conhecido.

De forma a atingir os objetivos supra mencionados procedeu-se à medição de pH, pelo método potenciométrico (método não destrutivo), em carcaças de bovino, ao nível da 5ª e da 14ª costelas no músculo *Longissimus dorsi*.

Constatou-se que o pH da carne de bovino é mais elevado quando medido do lado esquerdo da carcaça, tanto ao nível da 5ª costela como ao nível da 14ª costela. Verificou-se ainda que a média de pH se apresentou mais elevada para bovinos do sexo feminino do que para bovinos do sexo masculino, $5,77 \pm 0,03$ e $5,70 \pm 0,02$, respetivamente. Por outro lado, apurou-se que o pH é superior em bovinos mais velhos já que a média de pH para animais entre 0-25 meses foi de 5,68 e entre 101-200 foi de 5,82. Relativamente à carne embalada a vácuo verificou-se que, de uma forma geral, o pH diminuiu ao longo do tempo de armazenamento e que esta diminuição de pH era acompanhada por um aumento do crescimento microbiano, o que leva a inferir que a diminuição de pH é resultado da produção de ácido láctico por ação das bactérias lácticas microaerófilas. Apurou-se ainda que valores de pH da carne superiores a 5,80, passadas, no mínimo, 24 horas *post mortem*, podem advir, por exemplo, do stresse e tempo de jejum a que os bovinos estão sujeitos, momentos antes do abate. Verificou-se que existe uma tendência de elevado crescimento microbiano em carnes DFD ("dark, firm and dry") e que nestas há uma dificuldade acrescida em determinar o seu tempo de vida útil.

Concluiu-se que existem vários fatores que influenciam o pH da carne, como: sexo e idade do animal. O lado da carcaça onde se realizam as medições de pH também interfere muito nos resultados obtidos. Na metade esquerda da carcaça é onde se observam os valores mais elevados de pH. O fator mais difícil neste trabalho foi conseguir determinar o tempo de vida útil de carne de bovino DFD pelo facto de que muitos microrganismos têm um ótimo crescimento para valores de pH próximo de 7,00. Inferiu-se ainda que a determinação do tempo de vida útil da carne de bovino embalada a vácuo não foi realizada de forma rigorosa pelo facto de, no decorrer deste estudo, se alterarem variáveis como tipo de saco utilizado na embalagem a vácuo, pressão e tempo de armazenamento. Assim, os resultados obtidos apenas se podem aplicar àquelas condições em particular, não podendo ser extrapolados para a carne bovina no geral.

Palavras chave: carne de bovino, pH, embalagem a vácuo, tempo de vida útil, músculo *Longissimus dorsi* e bactérias ácido lácticas microaerófilas.

ABSTRACT

Meat pH is one of the factors that influence the most its preservation, once it interferes with the ability to retain water and with microbial growth. Furthermore, the pH plays a decisive role in the quality exhibited by the meat, since it influences the characteristics which consumers rate the most, such as colour, texture and juiciness. One way to extend the shelf life of fresh beef meat is to pack it in vacuum. The removal of the air from the container prevents the following aspects: the growth of microorganisms which degrade the product, oxidation and discoloration of the meat.

The main objectives of this work were the evaluation of the changes in pH values depending on the measurement place, as well as the determination of which parameters influence *postmortem* pH values. It was also attributed the maximum shelf life for vacuum packed beef meat, knowing its initial pH value.

In order to achieve the objectives referred above, pH measurements were done using potentiometric methods (nondestructive) in the 5th and in the 14th ribs of the *Longissimus dorsi* muscle in the bovine carcass.

It was found that the pH values for bovine meat were higher when measured in the left side of the carcass for both 5th and 14th ribs. It was also observed that the average pH values were higher in female bovine meat than in male bovine meat ($5,77 \pm 0,03$ and $5,70 \pm 0,02$, respectively). On the other hand, it was possible to verify that pH values are higher in the older bovine, given that the average pH values for the animals from 0 to 25 months were 5,68 and 5,82 to animals from 101 to 200 months. In what concerns to the beef meat vacuum packed, it was found that, in general, pH values decreased during storage time and that this decrease was accompanied by an increase in microbial growth. This leads to the conclusion that the decrease in pH values was due to lactic acid production by microaerophilic lactic acid bacterias. It was also possible to conclude that pH values higher than 5,80 for, at least, 24 hours *postmortem* can be due to factors such as stress and time of fasting animals are subjected just before slaughter. It was observed a high tendency for microbial growth in DFD meat and, therefore, there were a further difficulty to determine the shelf life in this type of meat.

It was concluded that there are several factors which influence the pH values of the meat, such as the gender and the age of the animal. Besides, the side of the carcasses where the

measurements took place interferes with the results obtained and it was realized that the best pH value results were observed in the left half of the carcass. The predominant and most difficult factor in this study was the determination of the shelf life of DFD meat because of the fact that many microorganisms have an optimum growth at pH values near 7,00. We can also conclude that the determination of the shelf life of vacuum-packed beef meat was not performed accurately because, during this study, there were a change in variables as the type of bag used in vacuum packing, the pressure and the storage time. Thus, the results obtained can only be applied to those particular conditions and they cannot be extrapolated for beef meat in general.

Key words: beef meat, pH values, vacuum packing, shelf life, *Longissimus dorsi* muscle and microaerophilic lactic acid bacterias.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. Introdução	19
1.1. Enquadramento	21
1.2. Apresentação da empresa	22
1.3. Objetivos	23
2. Revisão Bibliográfica	25
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1. O músculo e a carne	27
2.1.1. Transformação do músculo em carne	28
2.1.1.1. <i>Rigor mortis</i> (rigidez cadavérica)	29
2.1.1.2. Glicólise <i>post mortem</i>	31
2.1.2. Influência do bem-estar animal no produto final	32
2.1.2.1. Stresse pré-abate	33
2.2. pH e a carne	34
2.2.1. Carne DFD (<i>Dark, Firm and Dry</i>)	35
2.3. Embalagem de carnes	36
2.3.1. Embalagem a vácuo	38
2.3.1.1. Deterioração da carne de bovino embalada a vácuo	39
2.3.1.1.1. Deterioração “blown pack”	41
2.4. Tempo de vida útil de produtos cárneos	42
3. Metodologias	43
3.1. Medição de pH	45
3.1.1. Calibração do medidor de pH	47
3.2. Determinação do tempo de vida útil de carcaças de bovino com diferentes valores de pH	48
3.2.1. Recolha das amostras	50
3.2.1.1. Características dos bovinos em que se recolheram amostras	50
3.2.2. Sacos retrácteis	52
3.2.2.1. Embalagem a vácuo	53
3.2.2.1.1. Condições de recolha e de embalagem a vácuo de cada amostra	54
3.2.2.2. Análise das amostras	56

4.	Resultados e discussão	57
4.1.	Varição de pH consoante o local de medição na carcaça	59
4.2.	Fatores que influenciam o pH	60
4.2.1.	Sexo do animal	60
4.2.2.	Idade do animal	62
4.2.3.	Conformação da massa muscular da carcaça	63
4.3.	Desenvolvimento microbiano nas carcaças depois do abate	64
4.4.	Tempo de vida útil de peças de bovino embaladas a vácuo com pH conhecido	68
4.4.1.	Avaliação da evolução do pH e da carga microbiana ao longo do tempo de armazenagem da carne de bovino embalada a vácuo	68
5.	Conclusões e perspectivas futuras	81
	Bibliografia	85
	Anexos	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Apresentação dos diferentes espaços da Central de Carnes.	22
Figura 2 - Variação da dureza da carne ao longo tempo, conseqüente do processo de <i>rigor mortis</i> da carne. Adaptado de Panella-Riera, 2012.	29
Figura 3 - Esquema representativo das principais diferenças verificadas entre o funcionamento de um metabolismo aeróbio e um metabolismo anaeróbio a nível muscular. Adaptado de (Panella-Riera, 2012).	31
Figura 4 – Comparação da cor de carne de bovino do tipo DFD (lado esquerdo) e de carne de bovino cujo valor de pH se apresenta dentro da normalidade (lado direito)..	35
Figura 5 – Aspecto da carne de bovino embalada a vácuo (lado esquerdo), e aspecto que a carne de bovino adquire quando é retirada da embalagem a vácuo (lado direito).	39
Figura 6 - Deterioração “blown pack” na carne de bovino embalada a vácuo, onde é possível verificar a grande produção de gás, característica deste tipo de deterioração. Fonte: (Fornazari, 2010).	42
Figura 7 - Medidor de pH portátil de carne, com lâmina em aço inoxidável.	45
Figura 8 - Representação da medição correta de pH no músculo <i>Longissimus dorsi</i>	46
Figura 9 - Pistola de bovino realçando-se a azul a localização específica do músculo <i>Longissimus dorsi</i>	47
Figura 10 - Fluxograma com todas as etapas inerentes à determinação do tempo de vida útil de produtos bovinos cujo pH é conhecido.	49
Figura 11 - Medição de pH, dentro do saco retráctil, da amostra recolhida da peça de bovino..	50
Figura 12 - Etapa da embalagem a vácuo que consiste na remoção do ar de dentro do saco, a uma pressão conhecida, e selagem imediata do saco.	53
Figura 13 - Passagem do conjunto, devidamente selado, da máquina de embalagem a vácuo para o depósito com água a 82 °C.	53
Figura 14 - Última etapa do processo de embalagem, em que ocorre a passagem da embalagem do depósito de água quente para uma máquina de secagem de embalagens.	54
Figura 15 - Médias de pH de carne de bovinos com idades entre 0-25, 26-50, 51-75, 76-100 e 101-200 meses.	62
Figura 16 - Variação média de pH conforme a conformação de carcaças bovinas.	63
Figura 17 - Variação do crescimento microbiano, ao nível do lombo, desde o abate do animal até ao momento de desmancha da carcaça.	65

Figura 18 - Comportamento do pH e respectivo crescimento microbiano, dentro da embalagem a vácuo, da carne dos bovinos A, B, C e E, ao longo do tempo de armazenamento em condições similares às reais.....	72
Figura 19 - Variação do pH e do crescimento microbiano na carne recolhida dos bovinos D, F, G, H, I, J e K ao longo do período de armazenamento.	73
Figura A2.1 - Distribuição do pH pelo sexo dos bovinos, feminino e masculino	81
Figura A2.2 - Distribuição do pH consoante a idade dos bovinos	82

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Sexo, idade e classificação das carcaças de bovino em que se recolheram amostras para o presente estudo	51
Tabela 2 - Descrição de cada um dos caracteres utilizados na classificação das carcaças de bovino, de acordo com o Regulamento (EU) nº 1308/2013	52
Tabela 3 - Condições a que decorreu a embalagem a vácuo: pressão e tempo de selagem; sacos retrácteis utilizados na embalagem; local de recolha da amostra e tempo de armazenamento das amostras	55
Tabela 4 - Média e respetivo desvio-padrão das medições de pH realizadas ao nível da 5ª e da 14ª costelas, tanto do lado esquerdo como do lado direito	59
Tabela 5 - Média de pH e respetivo desvio-padrão para o sexo feminino e masculino dos bovinos estudados	61
Tabela 6 – Tempo que decorreu entre o abate de cada animal até ao momento de desmancha das peças, variação de pH e crescimento microbiano para cada dia de armazenamento das peças recolhidas dos bovinos A a J, tempo de vida útil de cada produto e sacos retrácteis utilizados na embalagem a vácuo. Sendo que a) Bovino; b) Saco; c) Tempo entre o abate e desmancha da carcaça (dias); d) Tempo de armazenamento (dias); e) Tempo de vida útil do produto (dias)	69
Tabela A1.1 - Propriedades de barreira dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados	79
Tabela A1.2 - Propriedades mecânicas dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados	79
Tabela A1.3 - Propriedades óticas dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados	80
Tabela A1.4 - Propriedades de resistência térmica dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP - adenosina trifosfato

ADP - adenosina difosfato

aw - actividade da água

CE - Comissão Europeia

CO₂ - dióxido de carbono

CP - creatina fosfato

DFD – Dark, Firm and Dry

g - gramas

H₀ - Hipótese nula

[H⁺] - concentração de iões de hidrogénio

H⁺ - ião de hidrogénio

ISO - *International Organization for Standardization*

L.dorsi - Longissimus dorsi

NP - Norma Portuguesa

OIE - World Organisation for Animal Health

pH_v – pH *ultimate*



1. Introdução

O presente capítulo contempla o enquadramento do tema do trabalho, a apresentação da empresa onde foi realizado o trabalho de dissertação e os principais objetivos.

INTRODUÇÃO

1.1. Enquadramento

A qualidade da carne é influenciada por vários fatores, nomeadamente, a raça do animal, sexo, alimentação e sobretudo o manejo do animal. No manejo estão implícitas as condições a que o animal está sujeito. Por isso, o bem-estar animal influencia de modo fulcral a qualidade da carne que será obtida. Animais sujeitos a stresse originam carne de pior qualidade e com valores de pH não aceitáveis. A carne oriunda de animais stressados tem contagens microbianas superiores às restantes, tendo a carne uma cor mais escura e um pH mais básico.

A carne de bovino é um alimento bastante perecível, sendo esse o principal motivo por se considerar um dos alimentos com maior risco para a segurança alimentar dos consumidores. Por outro lado, o permanente contacto da carne de bovino fresca com o oxigénio faz com que os microrganismos aeróbios, introduzidos durante o abate, existentes à superfície da carcaça, se desenvolvam rapidamente. Consequentemente, estes microrganismos provocam uma célere deterioração da carne, comparativamente, com a ação de microrganismos anaeróbios, o que faz com esta tenha um curto tempo de vida útil.

Neste sentido, surge a necessidade de se estudar formas de aumentar o tempo de vida útil de carnes frescas. Uma delas é embalando a carne vácuo. Ao privar-se a carne do contacto com o oxigénio, apenas haverá espaço para que se desenvolvam microrganismos anaeróbios que, por sua vez, promovem uma deterioração mais lenta da carne, levando a que o tempo de vida útil do produto seja prolongado. Por outro lado, o valor de pH que a carne exhibe, aquando da embalagem a vácuo, será determinante para as espécies de microrganismos que se venham a desenvolver nesta. O pH permite ainda supor, mediante o comportamento apresentado, quais os produtos oriundos do metabolismo dos microrganismos que se acumulam na carne embalada a vácuo. Assim, o controlo de pH na carne de bovino é considerada uma medida de controlo nas salas de desmancha que possibilita garantir o tempo de vida útil e qualidade do produto embalado em prateleira.

1.2. Apresentação da empresa

A Central de Carnes, SA é uma empresa cuja principal área de negócio se baseia no abate de animais da espécie suína, bovina, ovina, caprina e equina. No entanto, nesta empresa, para além do abate de animais, também existem atividades de desmanche e desossa de carcaças bovinas, comercialização de carcaças de suíno, aparas e miudezas resultantes do abate das espécies supra mencionadas, e ainda congelação e armazenamento de carne.

A empresa situa-se no extremo Sul do concelho de Vila Nova de Famalicão a cerca de 35 km do Porto. As instalações da Central de Carnes estão construídas num terreno com cerca de 92 000 m², sendo que estas apenas ocupam uma área de 18 000 m².



Figura 1 - Apresentação dos diferentes espaços da Central de Carnes.

A Central de Carnes foi adquirida pelo grupo Primor em Dezembro de 2005. Contudo, esta empresa já desenvolve a sua atividade desde 1994. Atualmente, é a maior empresa deste sector a nível nacional, assegurando cerca de 185 postos de trabalho. A Central de Carnes dispõe de três linhas de abate autónomas (suínos, bovinos e ovinos/caprinos) que foram equipadas com máquinas que possibilitam condições higio-sanitárias ideais. A linha de abate de suínos permite abater 290 animais/hora, a linha de bovinos possibilita o abate de 30 animais/hora e a linha de abate de ovinos/caprinos 111 animais/hora.

A empresa não descarta de dar garantia de qualidade dos seus produtos, e para isso conta com a colaboração de um laboratório externo que realiza análises microbiológicas tanto às instalações como aos produtos comercializados pela empresa. De forma a garantir a satisfação dos clientes, a empresa aposta na inovação/desenvolvimento tecnológico e tem sempre em linha de

consideração as normas nacionais e internacionais que regulam o abate de animais e a produção de carne.

1.3. Objetivos

A presente dissertação tem como objetivo, numa primeira fase, perceber se existe variação de pH consoante o local da carcaça (lado direito ou lado esquerdo e ao nível do número da costela) onde se realiza a medição e a partir daí definir o local correto para as medições de pH posteriores. Por outro lado, pretende-se também verificar, mediante as medições de pH efetuadas, quais os fatores que influenciam o valor de pH *post mortem*.

Contudo, o objetivo primordial desta dissertação prende-se com a atribuição do máximo tempo de vida útil a peças de bovino embaladas a vácuo cujo pH inicial é superior a 5,80 e, também quando o pH se encontra dentro dos limites considerados normais. Nesta fase do estudo, pretende-se, ainda, apurar qual a influência do pH na carne embalada a vácuo e como este varia consoante o desenvolvimento microbiano.



2. Revisão Bibliográfica

Neste capítulo realiza-se uma revisão bibliográfica sobre conceitos como carne, músculo, pH e embalagem a vácuo. Inicialmente, abordam-se os processos inerentes à transformação do músculo em carne, como *rigor mortis* e glicólise *post mortem*, sendo ainda relatada a influência do bem-estar animal no produto final, como é o caso do stresse do animal, momentos antes do abate. Além disso, apresenta-se de que forma o pH interfere com a qualidade do produto final e quais as características e efeitos de carnes com pH superior a 5,80, carnes DFD. São ainda apresentados conceitos de embalagem, dando-se especial ênfase à embalagem a vácuo. No que respeita a carne embalada a vácuo, relatam-se quais os tipos de deterioração mais comuns, como é o caso da deterioração “blown pack”. Finalmente, explica-se o conceito de tempo de vida útil de produtos cárneos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O músculo e a carne

O componente da carne com maior importância é o músculo. Genericamente, a carne corresponde ao produto que resulta de mudanças contínuas que afetam o músculo após a morte do animal (Matos, 2013; Araújo, 2014). Um bovino deve ser constituído por carne maciça e compacta, com um desenvolvimento muscular superior no traseiro, ao longo do dorso e inferior nos membros. No entanto, para uma excelente garantia de qualidade da carne é necessário que a carcaça seja constituída por uma quantidade substancial de gordura intramuscular, o que também faz com que essa carcaça tenha um maior valor comercial (Lawrie, 1998; Quidute, 2006).

A fibra muscular é a unidade essencial do músculo-esquelético sendo constituída principalmente por miofibrilas. As miofibrilas desempenham um papel fulcral no ciclo de relaxamento e contração muscular. As fibras musculares podem dividir-se a nível energético, histoquímico e fisiológico em fibras vermelhas e brancas. As fibras vermelhas caracterizam-se por possuírem elevado conteúdo de mioglobina, citocromo (responsáveis pela cor), e de mitocôndrias, já que estas fibras conseguem captar a energia por intermédio de processos de fosforilação oxidativa. Comparativamente com as fibras brancas, estas são fibras de contração mais lenta e contínua. As fibras brancas têm um baixo teor de mioglobina, citocromo e mitocôndrias. Caracterizam-se por serem detentoras de uma contração rápida; contudo, não têm a capacidade de trabalhar continuamente (Matos, 2013; Mantese, 2012; Alves, *et al.*, 2005; Lawrie, 1998).

Existem ainda as fibras de colagénio que têm influência direta no nível de tenrura da carne; contudo, a quantidade de fibras de colagénio presente na carne é diretamente dependente da genética, idade e sexo do animal (Matos, 2013).

O músculo pode dividir-se em dois grandes grupos: músculo estriado, que comporta o esquelético e cardíaco, e o músculo liso. O músculo mais abundante na carcaça é o músculo esquelético, sendo constituído maioritariamente por proteínas (miofibrilares, sarcoplasmáticas e proteínas do estroma), gorduras e água (Matos, 2013; Alves, *et al.*, 2005).

Fisiologicamente, o músculo tem como principal função facilitar a locomoção do animal e possibilitar que este mantenha a postura durante a sua vida. O movimento do esqueleto é

conseguido através da força que é gerada por ação da contração muscular e que, posteriormente, é transmitida aos tendões por ação do tecido conjuntivo. Por esse motivo, os músculos que estão diretamente relacionados com a locomoção dos animais têm maior quantidade de tecido conjuntivo na sua constituição. Por outro lado, os músculos associados à postura, ou seja, os músculos que se situam ao longo da coluna, possuem tecido conjuntivo em menor quantidade e constituem peças de talho com maior valor comercial (Matos, 2013).

No momento do abate, o músculo do animal pode definir-se como um tecido vivo que tem complexas propriedades fisiológicas e bioquímicas. Contudo, após o abate, as células musculares ficam privadas de oxigénio, pelo que a metabolização da glicose existente nos músculos passa a ocorrer por via anaeróbia. Durante este processo há a produção de ácido láctico que provoca acidificação das células musculares, sendo que esta acidificação é observada através da descida do pH muscular (Matos, 2013).

2.1.1. Transformação do músculo em carne

A conversão do músculo em carne é um processo complexo que envolve inúmeras alterações a nível bioquímico e estrutural que se relacionam com a falta de oxigénio e consequente produção de ácido láctico a partir do glicogénio muscular. Estes fenómenos desencadeiam, por sua vez, alterações como a redução do pH muscular, a desnaturação das proteínas e ainda a diminuição da temperatura do músculo (Souza, *et al.*, 2013).

Imediatamente a seguir à sangria do animal, verifica-se a interrupção do abastecimento de oxigénio aos músculos, o que faz com que haja uma diminuição do potencial de oxirredução, ou seja, a partir deste momento o músculo passa a obter energia por ação de um processo de glicólise anaeróbia. Consequentemente, as enzimas constituintes do citocromo não conseguem atuar de forma a promover a ressíntese de ATP a partir do citocromo. Por outro lado, a atividade contínua da ATPase da miosina não-contráctil promove, simultaneamente, a redução do nível de ATP e a produção de fosfato inorgânico. O fosfato inorgânico será o responsável pela estimulação da hidrólise do glicogénio em ácido láctico. A síntese ineficiente de ATP, por ação da glicólise anaeróbia, origina a formação de actomiosina e a inextensibilidade do *rigor mortis* ou rigidez cadavérica, detalhados na secção seguinte (Lawrie, 1998; Costa, 2006).

Após o abate do animal, os músculos, de forma a manterem-se vivos, iniciam um processo de homeostasia a partir do ATP proveniente do glicogénio muscular (Paz, 2009). A homeostasia é um processo que consiste em evitar a contração muscular de forma abrupta e ao mesmo tempo permitir que se mantenha a temperatura e a integridade celular (Paz, 2009).

A nível fisiológico, quando o músculo ultrapassa o processo de *rigor mortis* considera-se que se está perante carne e não músculo (Matos, 2013).

2.1.1.1. *Rigor mortis* (rigidez cadavérica)

O *rigor mortis* corresponde à contração irreversível do músculo, após o abate do animal. Como se pode observar no gráfico da Figura 2, este processo conduz ao endurecimento muscular. A rigidez muscular advém da formação de ligações cruzadas entre os filamentos de miosina e actina. De modo análogo, verifica-se a ocorrência desta reação durante a contração muscular *in vivo*; contudo, durante o processo de rigidez cadavérica a contração muscular não é seguida pelo relaxamento do músculo, pois não existe ATP livre para quebrar as ligações cruzadas. As mudanças físicas que evidenciam a ocorrência da rigidez cadavérica são a perda de extensibilidade e elasticidade e o aumento de tensão (Alves, *et al.*, 2005; Matos, 2013; Ferreira, 2005).

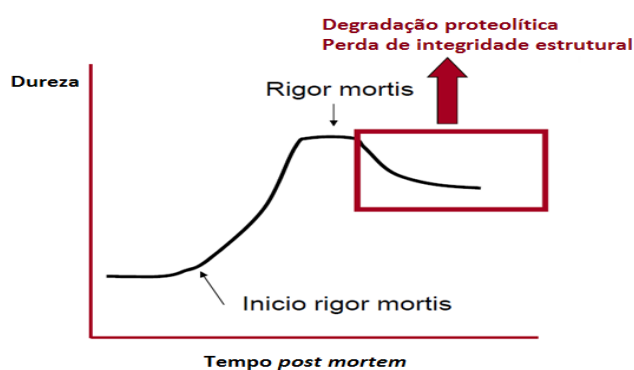


Figura 2 - Variação da dureza da carne ao longo tempo, consequente do processo de *rigor mortis* da carne. Adaptado de Panella-Riera, 2012.

No que respeita a um animal dito fisiologicamente normal, o *rigor mortis* surge, aproximadamente, 9-12 horas, depois do abate. Passadas 20 a 24 horas, atinge a rigidez cadavérica máxima, sendo que depois de obtido este nível se verifica uma redução gradual da intensidade da rigidez muscular (Carvalho Filho, *et al.*, 2005; Matos, 2013). No entanto, o tempo que decorre até ao

aparecimento da rigidez cadavérica varia consoante o tipo de músculo, raça do animal e a temperatura a que se encontra a carcaça. A velocidade da ocorrência da rigidez cadavérica está ainda diretamente relacionada com fatores que interferem com a quantidade de glicogénio e de fosfocreatina, existentes no músculo antes do abate (Ferreira, 2005).

A temperatura de arrefecimento da carcaça tem bastante influência na velocidade de desenvolvimento do processo de *rigor mortis*. Um arrefecimento abrupto de carcaças recém-abatidas potencia um forte aumento da concentração de iões de cálcio no sacroplasma. Contudo, o retículo sacroplasmático e as mitocôndrias da fibra muscular perdem parte da sua capacidade de retenção de cálcio (Vazquez *et al.*, 2004), o que fará com que apareça um excesso de iões cálcio no espaço intracelular que acelerará a velocidade de desenvolvimento do processo de *rigor mortis*, e que por conseguinte promoverá também um aumento da intensidade da contração muscular (Vazquez *et al.*, 2004; Matos, 2013). Este aumento da intensidade da contração dos músculos limita a diminuição necessária do valor de pH da carne e, ainda, provoca uma desnaturação proteica excessiva (Lawrie, 1998). Por outro lado, o aumento de intensidade de contração muscular faz com que haja uma diminuição da tenrura da carne. Este fenómeno denomina-se de endurecimento pelo frio (Ferreira, 2005; Matos, 2013).

Para que se garanta, na prática, um desenvolvimento microbiano controlado e se impeça um endurecimento permanente da carne, deve ocorrer um arrefecimento moderado logo após o abate. Ou seja, as carcaças, imediatamente a seguir ao abate devem ser submetidas a uma temperatura de cerca de 10 °C, durante um período de 10 horas, antes de serem arrefecidas a temperaturas abaixo dos 4 °C (Matos, 2013).

Durante a rigidez cadavérica há uma diminuição da capacidade de retenção de água, que se evidencia, durante o processamento culinário, numa carne seca e dura (Lawrie, 1998; Alves, *et al.*, 2005).

A ocorrência de uma rigidez cadavérica adequada e uma queda notória do pH são fatores benéficos para a carne, pois o pH dito baixo (5,4-5,5) promove a inibição do crescimento microbiano e o ácido láctico formado potencia uma textura macia, em virtude da conversão do colagénio em gelatina (Carvalho Filho, *et al.*, 2005).

2.1.1.2. Glicólise *post mortem*

De acordo com o que já foi mencionado, depois do abate, desencadeia-se no músculo um processo de glicólise anaeróbia como consequência da privação do fornecimento de oxigênio ao mesmo.

A concentração de glicogênio presente no tecido muscular, *ante mortem*, será determinante na formação de ácido láctico e, conseqüentemente, na queda de pH (Joaquim, 2002). Esta concentração é bastante variável, visto que depende de fatores como a alimentação, peso vivo, estado nutricional e tipo de músculo do animal. Devem ter-se ainda em consideração as fibras musculares, capacidade tampão do músculo, sexo e tipo de raça do animal (Mach, *et al.*, 2008).

Genericamente, a seqüência de reações químicas associadas à conversão de glicogênio em ácido láctico no *post mortem* é semelhante à seqüência de reações verificadas *in vivo*, assim como é possível observar pela Figura 3 (Joaquim, 2002; Lawrie, 1998).

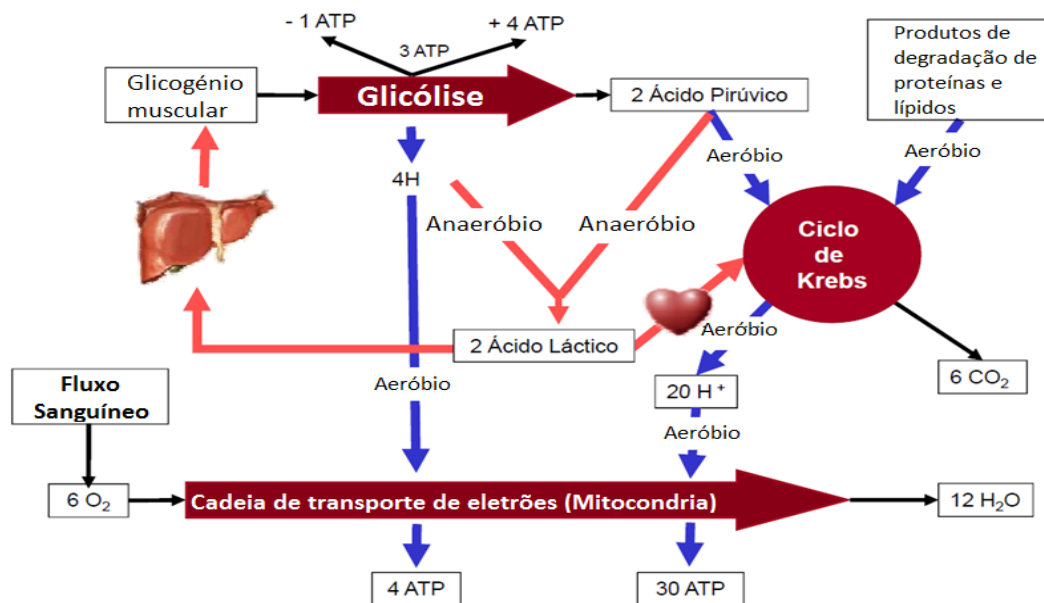


Figura 3 - Esquema representativo das principais diferenças verificadas entre o funcionamento de um metabolismo aeróbio e um metabolismo anaeróbio a nível muscular. Adaptado de (Panella-Riera, 2012).

Nos primeiros momentos *post mortem* os músculos do animal exibem um pH que varia entre 7,2 e 6,9, para além de apresentarem ATP e fosfocreatina (CP) (Joaquim, 2002). Nesta fase, o nível de ATP consegue manter-se constante através da conversão de ADP em ATP, ou seja, $ADP + CP \leftrightarrow creatina + ATP$. No entanto, a partir do momento em que a fosfocreatina é metabolizada verifica-se um declínio gradual do nível de ATP (Lawrie, 1998; Joaquim, 2002). Como

consequência, os prótons oriundos da glicólise provocam uma diminuição substancial do pH intracelular (Joaquim, 2002).

À medida que se forma o ácido láctico, verifica-se a diminuição do pH, que se justifica principalmente pela libertação de iões H^+ (Joaquim, 2002). Contudo, a conversão do glicogénio em ácido láctico apenas progride até ao momento em que o pH atinge um valor que é capaz de inativar as enzimas glicolíticas. Normalmente, esse valor de pH ronda os 5,4 a 5,5 (Lawrie, 1998; Newbold *et al.*, 1965).

A taxa de desenvolvimento da glicólise *post mortem* é influenciada pela temperatura. Deste modo, músculos que demorem mais tempo a arrefecer tendem a possuir taxas de glicólise *post mortem* mais elevadas. Assim, aqueles músculos que têm uma maior proximidade com o exterior da carcaça têm um arrefecimento mais rápido e, conseqüentemente, uma taxa de glicólise *post mortem* reduzida (Lawrie, 1998). No caso dos bovinos, o desenvolvimento da glicólise *post mortem* processa-se lentamente (Joaquim, 2002).

2.1.2. Influência do bem-estar animal no produto final

Quando se fala na produção animal, deve ter-se em linha de consideração práticas de bem-estar animal. Atualmente, não é suficiente que o animal tenha boa genética, alta produtividade e que a alimentação seja de boa qualidade e equilibrada, visto que estes agentes não garantem que o produto final tenha a qualidade exigida pelos clientes (Oliveira, *et al.*, 2008). A velocidade e a extensão da redução do pH *post mortem* são influenciadas por fatores intrínsecos como a espécie, sexo, genética, idade, tipo de músculo e variabilidade entre animais, mas também por fatores extrínsecos como o manejo do animal na exploração, no transporte e no matadouro, temperatura ambiental e a administração de drogas (Lawrie, 1998; Costa J., 2013).

Segundo a OIE (World Organization for Animal Health), o bem-estar animal relaciona-se com a capacidade que o animal tem em interagir com as condições em que vive. Se um animal se encontra em bom estado de saúde, confortável, bem nutrido, em segurança, capaz de expressar o seu comportamento inato, e se não estiver a sofrer de estados desagradáveis como dor, medo e aflição, isto significa que o animal tem bons níveis de bem-estar (International Office of Epizootics, 2011). Bem-estar animal requer a prevenção de doenças e tratamentos veterinários, e ainda que

os animais tenham um abrigo e nutrição adequados. Em suma, bem-estar refere-se ao estado e tratamento que o animal recebe (International Office of Epizootics, 2011).

Todas as práticas e condições a que os animais estão sujeitos antes do abate, como transporte, jejum (privação de água e comida), mudanças das condições climáticas e maior contacto humano, levam a que a carga de stresse sobre o animal aumente (Costa J. , 2013).

2.1.2.1. Stresse pré-abate

O stresse é o principal indicador usado para a avaliação de bem-estar animal e está, geralmente, relacionado com alterações fisiológicas que ocorrem no animal, quando exposto a condições adversas. A alteração nos animais é perceptível ao nível do ritmo respiratório e cardíaco, temperatura corporal e pressão sanguínea. Normalmente, estas alterações ocorrem quando se insere o animal num ambiente que para ele é desconfortável (Batista de Deus, *et al.*, 1999; Souza, *et al.*, 2013).

O aparecimento de doenças e traumatismos nos animais é resultado, inúmeras vezes, do stresse a que estes estão expostos antes do abate e da consequente diminuição das defesas orgânicas (Costa J. , 2013). A associação da carga emocional com o esforço físico realizado pelo animal durante o transporte, carga e descarga, reflete-se em modificações ao nível do metabolismo *post mortem* (Batista de Deus *et al.*, 1999).

De acordo com o Regulamento (CE) nº 1/2005, durante o transporte as condições de bem-estar animal estão diretamente dependentes do comportamento dos transportadores; contudo, esta responsabilidade é partilhada por trabalhadores dos matadouros, agricultores, comerciantes e centros de agrupamento. Os transportadores, assim como qualquer outra pessoa que manuseie animais durante o transporte, devem adquirir formação por organismos acreditados por autoridades competentes. Inúmeras vezes, a ausência do bem-estar dos animais advém de falta de formação.

Quando um animal é submetido a stresse verifica-se uma redução nas reservas de glicogénio muscular, o que faz com que o pH *post mortem* seja elevado e por conseguinte, a carne (produto final) seja escura, dura e seca (Venturini, 2003).

2.2. pH e a carne

A determinação de pH é utilizada, inúmeras vezes, para avaliar a qualidade da carne fresca, pelo facto desta ser uma medida objetiva e bastante fiável (Araújo, 2014). O pH tem um papel decisivo na qualidade exibida pela carne, pois influencia características às quais os consumidores dão elevado ênfase, como: cor, textura e suculência. Para além das características supra mencionadas, o pH interfere com a conservação da carne, capacidade de retenção de água e propriedades tecnológicas (Matos, 2013; Araújo, 2014). O pH tem um papel determinante no que respeita ao crescimento microbiano, sendo que a acidificação da carne bovina é considerada uma excelente barreira à deterioração (Sigarini, 2004).

A diminuição dos valores pH no músculo demora entre 15 a 36 horas, no caso concreto dos bovinos (Costa J. , 2013). Como mencionado acima, o pH final da carne é diretamente dependente da quantidade de glicogénio existente no músculo (Matos, 2013).

Tal como já foi mencionado, se um animal ficar sujeito a stresse prolongado, isso pode levar a que se esgote o glicogénio muscular, mesmo antes do abate, o que resultará numa menor quantidade de ácido láctico formado posteriormente. Por outro lado, quantidades de glicogénio muscular inferiores a 0,6 % dificultam o declínio de pH *post mortem*, o que faz com que o pH final seja superior a 6,0 (Miller, 2007). Com estas quantidades de glicogénio, a desnaturação proteica da carne será inferior ao normal, e por consequência, o músculo torna-se uma estrutura translúcida e fechada, que passa a absorver a luz em vez de a refletir, fazendo com que a carne exiba uma coloração escura relativamente ao normal (Warriss, 2010; Miller, 2007).

O pH tem um papel importante no que respeita ao crescimento microbiano e enzimático; neste sentido, o pH final da carne será significativo para determinar a sua resistência à deterioração (Pinho, 2009). As enzimas bacterianas proteolíticas operam melhor para valores de pH próximos de 7,0. No entanto, as enzimas responsáveis pelo “ataque” aos hidratos de carbono tendem a atuar de forma mais vigorosa para valores de pH inferiores a 6,0; já as bactérias lácticas têm pH ótimo entre 5,5-6,0 (Lawrie, 1998).

A comunidade científica adotou que a medição de pH se deveria realizar 24 horas *post mortem* e que esta medição seria denominada de pH *ultimate* (pH_u). Existem estudos científicos que evidenciam que a partir de uma determinada concentração de glicogénio o valor de pH não

diminui mais (Costa J. , 2013). Segundo Sahlin (1978) quando o pH desce para valores inferiores a 5,4 resulta na inativação das enzimas, o que leva à interrupção das reações enzimáticas.

2.2.1. Carne DFD (*Dark, Firm and Dry*)

Carne DFD é a sigla usada para designar carne escura, firme e seca e com pH superior a 5,8, sendo também conhecida como carne de corte escuro (Ferreira, 2005; Miller, 2007). Considera-se que a carne tem valores de pH normais quando estes se encontram dentro de uma gama de 5,4-5,8. Por outro lado, a carne tende a apresentar uma cor anormal para valores de pH entre 5,8 e 6,0. Para esta gama de valores a qualidade da carne é também afetada pelo aumento de deterioração que surge em consequência do aumento do crescimento microbiano. A carne tende a escurecer com o aumento gradual de pH para valores superiores a 5,9 (Miller, 2007; Costa J. , 2013). Na Figura 4 é possível observar as diferenças de cor referentes a carnes DFD e a carnes com pH dentro dos parâmetros normais.

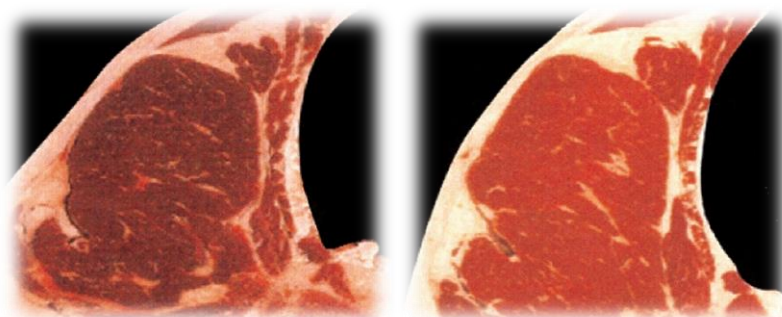


Figura 4 – Comparação da cor de carne de bovino do tipo DFD (lado esquerdo) e de carne de bovino cujo valor de pH se apresenta dentro da normalidade (lado direito). Fonte: (Miller, 2007).

Os principais problemas deste tipo de carne prendem-se com a cor que esta exhibe, vermelho escuro, sendo esta um efeito da incapacidade que os tecidos têm na incorporação de oxigénio suficiente para formar a oximioglobina, quando a carne é exposta ao meio ambiente (Ferreira, 2005; Miller, 2007).

Para altos valores de pH (superiores a 5,9), as proteínas miofibrilares são detentoras de uma grande capacidade de retenção de água no interior das células, o que se reflete na superfície de corte da carne, já que esta permanece pegajosa e escura (Maganhini, *et al.*, 2007)

Na carne de corte escuro verifica-se que há um aumento de variação na tenrura, aumento da capacidade de retenção de água, sabor mais pobre, comparativamente com a carne normal, e crescimento de microrganismos para níveis inaceitáveis, com posterior desenvolvimento de odores, sendo que muitas vezes ainda há a formação de limo (Mach, *et al.*, 2008).

Uma característica de carnes DFD é o reduzido prazo de validade, conseqüente do metabolismo de proteínas e aminoácidos. Quando se embala a vácuo este tipo de carnes verifica-se frequentemente o crescimento de *Shewanella putrefaciens*, uma vez que esta é tolerante ao frio e possui a capacidade de se desenvolver em ambientes de anaerobiose (Costa J. , 2013).

Cerca de 10% da carne com pH superior a 5,80 é desvalorizada pelo mercado (Costa J. , 2013), sendo esse um dos motivos que levam a que carnes com valores de pH similares a carne DFD possam representar perdas económicas para a indústria. Aos olhos dos consumidores, esta carne evidencia problemas ao nível da qualidade, já que associam a sua cor a uma carne dura e de animais velhos (Mach, *et al.*, 2008; Ferreira, 2005). Esta associação nem sempre corresponde à verdade, pois carne oriunda de animais cujas reservas de glicogénio eram baixas, momentos antes do abate, não atinge valores de pH *post mortem* suficientemente baixos para que haja a produção de colorações normais, independentemente da idade do animal e da maciez da carne (Bressan, *et al.*, 2001). A formação de carne mais escura acontece, por exemplo, quando há um aumento do consumo de oxigénio que, conseqüentemente, promove um incremento da concentração de mioglobina desoxigenada (Bressan, *et al.*, 2001). Apesar dos consumidores rejeitarem carne de corte escuro, esta carne pode ser tão segura e nutritiva como a carne normal. Por outro lado, carnes com elevados valores de pH tendem a ser mais tenras depois de cozinhadas embora apresentem um sabor mais fraco que as carnes normais (Ferreira, 2005; Miller, 2007).

2.3. Embalagem de carnes

A embalagem foi inventada com o intuito de prolongar a qualidade e o tempo de prateleira do produto alimentar (Tesser, 2009). Segundo Poças *et al.*, (2003), uma embalagem define-se como um sistema coordenado de preparação de bens para o transporte, distribuição, venda e consumo final. Já para Brooks (2007), a embalagem possibilita que o produto se torne, de certa forma, mais atrativo para os consumidores.

Durante o ciclo de vida de um produto, a embalagem desempenha um conjunto de funções que se relacionam com a segurança do produto: proteção, conservação, informação e serviço (Poças *et al.*, 2003). No caso de produtos frescos, como é o caso da carne, a embalagem permite dar uma garantia de segurança e qualidade aos consumidores, pois será a embalagem que protegerá o produto de contaminações, da deterioração e que permitirá o aumento do tempo de prateleira do produto (Brooks, 2007; Tesser, 2009).

Na indústria das carnes a embalagem tem uma elevada influência no que concerne à durabilidade do produto, sendo criado dentro desta um ambiente diferenciado que proporciona ao produto condições que retardam reações de deterioração (Fornazari, 2010).

De modo a garantir a conservação da carne, durante a criação/desenvolvimento da embalagem devem considerar-se os seguintes requisitos: propriedades de barreira ao oxigénio, vapor de água e à luz e propriedades mecânicas (resistência à tração e/ou perfuração). A embalagem deve ser livre de odores estranhos que possam, eventualmente, levar o produto a adquirir diferentes aromas (Tesser, 2009; Poças *et al.*, 2003).

No caso concreto da carne, algo que se deve preservar é a cor, já que este é um fator primordial para o consumidor. Este está habituado a que a carne tenha uma coloração vermelho vivo e deste modo o material de embalagem para a indústria de carnes frescas deveria permitir a formação de oximioglobina (Castro *et al.*, 2003).

A carne contém mioglobina, que é uma proteína responsável pela cor da carne. Qualquer interferência com a mioglobina provocará alterações na cor da carne (Brooks, 2007). A oximioglobina é oriunda da oxidação da mioglobina por ação do oxigénio. Por sua vez, a oximioglobina determina a cor característica da carne fresca (vermelho vivo). Quando a carne tem na sua presença uma reduzida quantidade de oxigénio, ocorre a formação de metamioglobina que é responsável pelo tom acastanhado que a carne exhibe (Castro *et al.*, 2003).

Os consumidores estão cada vez mais exigentes. Neste sentido, é absolutamente crucial que as indústrias melhorem a aparência e a segurança dos alimentos oferecidos. Atualmente, existem inúmeros tipos de embalagens, sendo estas aprimoradas ao nível de técnicas de embalagem e de conservação (Tesser, 2009). No entanto, cada vez mais as indústrias têm em consideração o

desenvolvimento de embalagens económicas com o intuito destas permitirem a competitividade do produto no mercado (Brooks, 2007).

Por outro lado, a embalagem contém informação sobre o produto tanto a nível de distribuição e venda como ao nível do consumidor. No que concerne à distribuição e venda, a informação que existe na embalagem incide sobre a gestão de *stocks*, identificação, rastreabilidade e preço do produto. Ao nível do consumidor, a embalagem contempla a informação requerida pela legislação da rotulagem alimentar (Poças *et al.*, 2003).

Na presente dissertação apenas se dará ênfase à embalagem a vácuo, já que o estudo se prendeu com este tipo de embalagem.

2.3.1. Embalagem a vácuo

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

A embalagem a vácuo tem como principal objetivo o isolamento do produto cárneo do oxigénio (Tesser, 2009). Dentro da embalagem, o oxigénio residual é utilizado pelos microrganismos aeróbios presentes na carne, o que leva a que os microrganismos passem a produzir 10-20 % de dióxido de carbono. Estas alterações no potencial redox e na composição da atmosfera fazem com que haja uma inibição do crescimento das bactérias aeróbias deteriorantes e que promovam alterações nas características da carne (Mantilla, *et al.*, 2010; Tesser, 2009). A ausência de oxigénio dentro da embalagem proporciona as condições ideais para o crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos, nomeadamente as bactérias ácido-lácticas. No entanto, como o crescimento destes é lento, a deterioração da carne é atrasada, o que permite o aumento do tempo de prateleira do produto (Mantilla, *et al.*, 2010; Tesser, 2009).

Este método de embalagem socorre-se do uso de um saco/filme retráctil que é fabricado a partir de materiais detentores de resistência mecânica, propriedades de barreira à permeabilidade de gases e migração de humidade (Brooks, 2007).

Uma desvantagem da embalagem a vácuo é que o produto dentro desta exibe uma cor mais escura que o habitual, resultado da carne não estar em contacto com o oxigénio. Contudo, aquando da abertura da embalagem, a carne volta a estar na presença do oxigénio e volta a ter a coloração vermelho púrpura que lhe é tão característica, tal como se verifica na Figura 5 (Tesser, 2009).



Figura 5 – Aspeto da carne de bovino embalada a vácuo (lado esquerdo), e aspeto que a carne de bovino adquire quando é retirada da embalagem a vácuo (lado direito).

O fator preponderante, no que respeita ao tempo de vida de produtos cárneos embalados a vácuo, é a taxa de permeabilidade ao oxigénio da qual o material da embalagem é detentora. A entrada de oxigénio na embalagem desencadeará reações de oxidação na carne, levando à sua consequente deterioração (Tesser, 2009).

Normalmente, os produtos cárneos embalados a vácuo têm uma durabilidade de trinta dias. No entanto, esta validade pode variar consoante a temperatura de acondicionamento, propriedades do saco utilizado para a embalagem do produto e estado da carne antes da embalagem (carga microbiana e pH, por exemplo) (Tesser, 2009).

2.3.1.1. Deterioração da carne de bovino embalada a vácuo

A carne é constituída por 75 % de água e 25 % de outros metabolitos (aminoácidos, péptidos, nucleótidos e açúcares), o que a torna um alimento bastante perecível (Lawrie, 1998). Estas características tornam este produto um meio bastante propício ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogénicos (Tesser, 2009).

Considera-se que um alimento está deteriorado quando este sofre uma alteração que o torna impróprio para consumo. A deterioração pode ser verificada ao nível da textura (formação de limo) ou pela percepção de maus odores, oriundos de reações bioquímicas e do desenvolvimento microbiano na carne (Felipe, 2008).

O crescimento de microrganismos no alimento é dependente não só das características do produto mas também da forma como este é processado e armazenado. A proliferação de microrganismos nos alimentos pode ocorrer por parâmetros intrínsecos, extrínsecos e implícitos, e ainda pelo modo de processamento e preservação (Felipe, 2008).

Os parâmetros intrínsecos relacionam-se com propriedades químicas, físicas e estruturais do alimento, tais como: atividade da água, potencial de oxidação-redução, acidez, oxidação lipídica e disponibilidade de nutrientes. No que concerne aos parâmetros extrínsecos, estes associam-se aos agentes ambientais inerentes aos locais de armazenamento do produto, como: temperatura, humidade e composição atmosférica. Os parâmetros implícitos associam-se ao desenvolvimento microbiano, que pode ocorrer pela disponibilidade de nutrientes existentes na carne ou por variações: nos valores de pH, potencial de oxidação-redução e aw (atividade da água) (Felipe, 2008).

Num bovino saudável, após o abate, os seus músculos encontram-se estéreis, ou seja, estão livres de contaminação. No entanto, a flora microbiana está presente na superfície da carcaça e com o passar das horas os microrganismos podem migrar desta para os músculos, que até então estavam isentos de microrganismos (Felipe, 2008; Tesser, 2009).

Existem inúmeros microrganismos que se alojam na carne bovina e que, posteriormente são responsáveis pela sua deterioração, de entre os quais se destacam as seguintes categorias: bactérias em forma de bacilos gram-negativos (*Pseudomonas spp.*, *Enterobacteraceae*), bactérias gram-positivas capazes de formarem esporos (*Clostridium spp.*), bactérias ácido-lácticas (*Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*), outras bactérias gram-positivas (*Brochothrix thermosphacta*), leveduras e bolores (Felipe, 2008). Após o abate, os microrganismos deteriorantes estão presentes em quantidades mínimas; contudo, durante o armazenamento estes mesmos microrganismos têm uma taxa de crescimento bastante acelerada, sendo responsáveis pela produção de metabolitos que, posteriormente, levam à formação de limo e odores que, por sua vez, conduzem à rejeição da carne por parte dos consumidores (Dalgaard, 1993).

Mudanças das condições de acondicionamento do produto, como é o caso da embalagem a vácuo, que priva a carne do contacto com oxigénio, não fazem com que não exista a deterioração, apenas retardam este processo. No caso da embalagem a vácuo, como há uma alteração das condições atmosféricas que normalmente envolvem a carne, já que retira o oxigénio, isso faz com que haja lugar à proliferação de outros géneros de microrganismos que estão perfeitamente aptos a crescer em ambientes anaeróbios (Felipe, 2008).

Na embalagem a vácuo, as bactérias aeróbias gram-negativas dão lugar às bactérias gram-positivas, cuja taxa de crescimento é mais lenta. A deterioração que se verifica nas embalagens a vácuo caracteriza-se pela formação de um gás no interior da embalagem, havendo também alteração do odor e da cor da carne (Felipe, 2008).

Existem espécies de lactobacilos e enterobactérias que evidenciam a capacidade de descarboxilação de aminoácidos com produção de aminas biogénicas, como: histamina, tiramina, putrescina e cadaverina (Felipe, 2008). Durante o período em que o produto permanece embalado a vácuo há o acumular de aminas biogénicas oriundas de microrganismos deteriorantes e patogénicos. A produção das aminas inicia-se quando estamos perante níveis de microrganismos de $6 \log_{10} \text{ UFC.g}^{-1}$ (Felipe, 2008).

2.3.1.1.1. Deterioração “blown pack”

A deterioração mais comum nas carnes embaladas a vácuo é conhecida como “blown pack”. Esta deterioração consiste na produção de um gás dentro do vácuo, que leva à completa distensão da embalagem durante o armazenamento desta no frio, tal como se pode observar pela Figura 6. Para além da produção de gás, também ocorre a formação de odores desagradáveis, que se tornam perceptíveis aquando da abertura da embalagem (Rossi Júnior, *et al.*, 2011). O gás é constituído por: CO_2 e vários tipos butíricos oriundos do metabolismo fermentativo (Rossi Júnior, *et al.*, 2011).



Figura 6 - Deterioração “blown pack” na carne de bovino embalada a vácuo, onde é possível verificar a grande produção de gás, característica deste tipo de deterioração. Fonte: (Fornazari, 2010).

Segundo Fornazari (2010), em casos com este tipo de deterioração verifica-se que os microrganismos que estão em maior quantidade são as bactérias ácido-lácticas e alguns géneros de *Enterobacteriaceae*: *Hafnia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Edwardsiella*.

2.4. Tempo de vida útil de produtos cárneos

O tempo que decorre desde a embalagem até à deterioração da carne é definido como tempo de vida útil do produto. Basicamente, o controlo do tempo de vida útil do produto realiza-se a partir de fatores extrínsecos, intrínsecos, propriedades da embalagem, número e tipo de microrganismos presentes na carne, e ainda taxa de crescimento microbiano (Moreira, 2012).

De acordo com o *Codex Alimentarius* a validade de um produto corresponde ao período durante o qual um alimento é seguro, mantendo as suas características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas, a uma dada temperatura de armazenamento.

Para a determinação da deterioração máxima de um produto tem-se em consideração, a contagem de microrganismos presente no produto, até ao limite máximo aceitável, e as alterações físicas e químicas, que modificam a aparência do produto (Moreira, 2012).



3. Metodologias

Neste capítulo descreve-se o local de medição de pH em carcaças de bovino, bem como o aparelho utilizado. São também enunciadas as metodologias para a determinação do tempo de vida útil em peças de bovino com pH conhecido.

METODOLOGIAS

A primeira fase deste estudo prendeu-se com a medição diária de pH, a fim de se perceber, de uma forma geral, qual a influência: do sexo e da idade dos animais e ainda da conformação da carcaça nos valores de pH medidos. Nesta fase, ao nível de metodologias, apenas havia a calibração do medidor de pH portátil da carne e a medição, simultânea, de pH e de temperatura das carcaças de bovino.

Numa segunda fase, e mais importante no contexto empresarial, verificou-se qual o tempo de vida útil de produtos oriundos de carcaças de bovino com valores de pH iniciais a variar de 5,61 a 6,88, tendo também sido possível observar o comportamento dos microrganismos e do pH na carne embalada a vácuo.

3.1. Medição de pH

O pH permite medir a quantidade de iões de hidrogénio livres no músculo (Sigarini, 2004). Define-se pH como o negativo do logaritmo de base dez da concentração de H^+ . Um fator preponderante, no momento da medição de pH da carne, é a temperatura. Quanto mais elevado for o valor de temperatura, maior será a velocidade de dissociação das moléculas, logo maior será $[H^+]$ e, conseqüentemente, os valores de pH serão sempre mais baixos do que aquilo que são na realidade (Costa J. , 2013).

Nos dias de hoje, a medição de pH em alimentos é um procedimento simples, devido ao desenvolvimento tecnológico. O medidor de pH portátil para carnes, exibido na Figura 7, tem na sua constituição um elétrodo de pH/temperatura pré-amplificado. Basicamente, o elétrodo, após o contacto com o alimento, cria uma voltagem que é dependente da $[H^+]$, esta, por sua vez, é amplificada de forma a que possa ser visualizada no visor do potenciômetro o valor correspondente em escala de pH (Costa J. , 2013).



Figura 7 - Medidor de pH portátil de carne, com lâmina em aço inoxidável.

A medição do pH muscular de carcaças de bovino foi realizada com auxílio de um medidor de pH portátil de carne (método potenciométrico), da marca Hanna Instruments e modelo HI 99163, visto ser um processo bastante simples e rápido. Este aparelho efetua correção de temperatura e tem uma resolução de 0,01 para o pH e de 0,1 °C para a temperatura.

Este método consiste em inserir o eletrodo, juntamente com a lâmina que o protege, no músculo onde se pretende medir. Depois aguarda-se até à estabilização do valor de pH, que é indicado pelo desaparecimento da palavra “Not stable” do ecrã do medidor. A partir desse instante pode observar-se no monitor o valor de pH muscular com compensação de temperatura.

No presente estudo, as medições de pH foram efetuadas no músculo *Longissimus dorsi*, ao nível da 4ª e 5ª costela quando se mediu em dianteiros, e entre a 13ª e a 14ª costela quando as medições ocorreram em traseiros e pistolas. Para as leituras realizadas até dia 3 de Junho não se tinha em consideração em qual das metades da carcaça estas se efetuavam. No entanto, a partir do dia 4 de Junho, inclusive, as medições de pH passaram a fazer-se apenas na metade esquerda da carcaça, para que houvesse uma uniformização dos resultados obtidos.



Figura 8 - Representação da medição correta de pH no músculo *Longissimus dorsi*.

É ressaltar o facto de que o eletrodo deve ser inserido de cima para baixo e fazendo ângulos entre 45° a 90° com a perpendicular, tal como se encontra representado na Figura 8. Este procedimento garante que o líquido existente no eletrodo estará sempre em contacto com a sonda, o que conduz à existência do menor erro possível associado à medição.

De ressaltar que antes de se guardar o potenciómetro deve sempre proceder-se à sua limpeza.

O músculo *Longissimus dorsi*, ilustrado na Figura 9, é inúmeras vezes usado como indicador, já que de entre qualquer outro músculo localizado no traseiro ou dianteiro, é aquele que evidencia valores mais elevados de pH (Ferreira, 2005). Por outro lado, é um músculo homogéneo no que concerne à profundidade de inserção e de diâmetro e é um músculo longo, tal como o nome

indica, o que permite a realização de medições padronizadas de pH (Bressan, *et al.*, 2001; Batista de Deus, *et al.*, 1999).

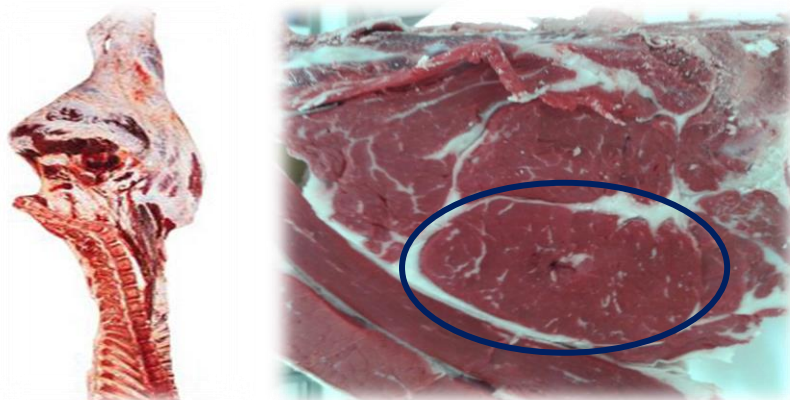


Figura 9 - Pistola de bovino realçando-se a azul a localização específica do músculo *Longissimus dorsi*.

3.1.1. Calibração do medidor de pH

O eletrodo necessita de ser calibrado com duas soluções tampão (7,01 e 4,01), antes da realização das medições de pH. Os valores medidos deverão ficar compreendidos entre os valores das soluções tampão.

Inicialmente, deve ter-se em atenção o local onde se procede à calibração do medidor de pH, pois a calibração deve realizar-se à mesma temperatura a que serão efetuadas as medições de pH nas carcaças.

A calibração do medidor de pH da carne é automática. Depois de ligar o potenciômetro basta pressionar o botão ON/OFF e esperar até que apareça no monitor a palavra CAL. Neste momento, o aparelho passa automaticamente para o modo de calibração. De seguida, o aparelho solicita a primeira solução tampão, 7,01, e apenas se tem de mergulhar o eletrodo, na perpendicular, nessa solução e esperar até à estabilização do medidor. Posteriormente, aparece no ecrã do aparelho o valor de 4,01, cujo valor corresponde ao da segunda solução tampão. No entanto, antes de se mergulhar o eletrodo nesta solução, este deve ser passado pela solução de limpeza (para evitar a contaminação das soluções). Depois deste procedimento deve colocar-se o eletrodo em contacto com a solução de 4,01. O aparelho, após estabilização, passa automaticamente para o modo de medição, pelo que se deve retirar o eletrodo desta solução.

De modo a que não se introduzam erros nas medições posteriores, o eléctrodo, depois de estar em contacto com a solução de 4,01, deve passar novamente pela solução de limpeza, ficando neste instante apto à realização das leituras dos valores de pH da carne.

3.2. Determinação do tempo de vida útil de carcaças de bovino com diferentes valores de pH

No decorrer desta fase do trabalho houve alguns fatores que implicaram a mudança das estratégias e metodologias previamente definidas. Um deles foi o facto de durante este período estarem a realizar-se testes na embalagem a vácuo, nomeadamente, ao nível de sacos retrácteis, pressão e tempo de selagem da embalagem. Outro fator prende-se com os resultados que se iam obtendo a nível microbiológico, já que resultados insatisfatórios implicaram a mudança dos métodos adotados, como por exemplo mudança do local de recolha da amostra.

O fluxograma da Figura 10 resume, de forma genérica, as etapas inerentes ao estudo de determinação do tempo de vida útil de produtos de bovino com valores de pH conhecidos. No entanto, as condições do estudo não foram as mesmas para todas as amostras recolhidas, sendo estas condições referidas no ponto 3.2.2.1.1..

Como já foi mencionado, a medição do pH das carcaças foi diária. Contudo, nem sempre houve a possibilidade de se medir o pH 24 h *post mortem*, já que este trabalho era totalmente dependente das carcaças que iam para a câmara de apoio à desmancha, e, posteriormente para a sala de desmancha. Este facto possibilitou a comparação, a nível microbiológico e de pH, entre carcaças desmanchadas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias depois do abate.

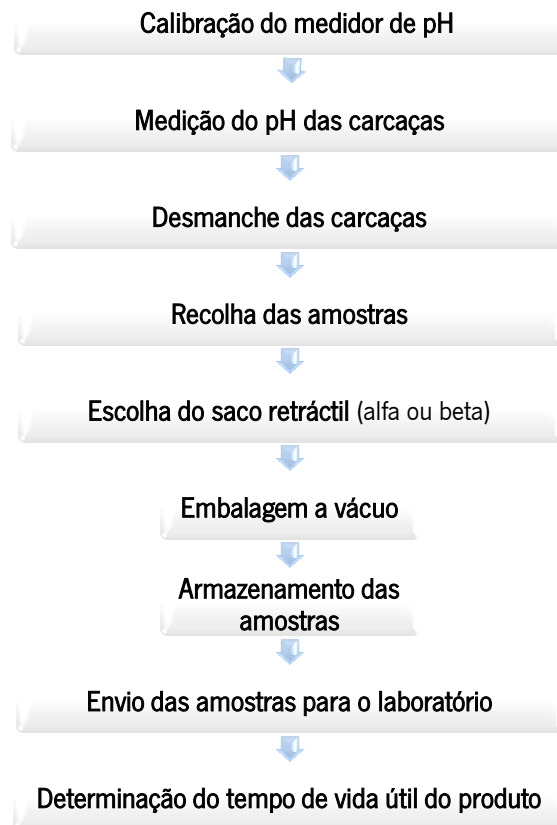


Figura 10 - Fluxograma com todas as etapas inerentes à determinação do tempo de vida útil de produtos bovinos cujo pH é conhecido.

Antes de introduzir um novo produto no mercado é necessário, primeiramente, a determinação do tempo de vida útil deste. Para esse efeito, são realizados estudos que comprovem a segurança alimentar do produto, durante aquele intervalo de tempo. Estes estudos são efetuados sob condições que se assemelham o mais possível à realidade.

Basicamente, o estudo consiste na recolha e armazenamento das amostras, durante intervalos de tempo e condições previamente estabelecidos. Para se garantir a segurança alimentar da carne durante um maior período de tempo, embalou-se a carne a vácuo e acompanhou-se o crescimento microbiano. As análises microbiológicas às amostras de carne foram realizadas por um laboratório externo à empresa. Quando se verificava que o limite microbiológico de uma das amostras enviadas ultrapassava o limite de aceitação, em algum dos intervalos de tempo estudado, estabelecia-se de imediato que o produto não podia ter uma validade superior a esse intervalo de tempo. Consequentemente, houve a necessidade de se mudar a metodologia adotada desde o início do estudo, tendo-se realizado testes para intervalos de tempo mais curtos.

Importa salientar que o limite microbiológico foi estabelecido tendo em consideração estudos realizados por Louvois, *et al.* em Setembro de 2000.

3.2.1. Recolha das amostras

Para se decidir em qual das peças de bovino é que se recolheriam amostras para o estudo, tinha que se realizar, inicialmente, a medição de pH. Por outro lado, para que fosse possível a recolha de amostras, tinha de haver, primeiramente, o desmanche das peças de bovino. A recolha de amostras da peça de bovino desmanchado consistia em retirar três porções dessa peça, com um mínimo de 100 g cada, sendo que cada uma dessas porções era colocada num saco retráctil.

Quando as amostras estavam já dentro do saco retráctil voltava-se a medir o valor de pH daquela amostra, tal como é apresentado na Figura 11, com o intuito de se obter resultados com o menor erro possível associado à medição.



Figura 11 - Medição de pH, dentro do saco retráctil, da amostra recolhida da peça de bovino.

O pH de cada peça voltava a ser medido em laboratório (método químico) depois do período armazenamento previamente estabelecido.

3.2.1.1. Características dos bovinos em que se recolheram amostras

De acordo com o que já foi citado no capítulo 2, o pH do produto final é influenciado por inúmeros fatores, como é o caso do sexo e da idade do animal. Por outro lado, o estado da gordura e a

conformação da carcaça são importantes requisitos comerciais e que também interferem com a qualidade da carne.

As carcaças de bovino em que se recolheram amostras serão identificadas por letras. Na Tabela 1 apresentam-se características correspondentes a cada animal, tais como: sexo, idade e classificação.

Tabela 1 - Sexo, idade e classificação das carcaças de bovino em que se recolheram amostras para o presente estudo

Animal	Sexo	Idade (meses)	Classificação
Bovino A	F	87	D P ⁺ 2
Bovino B	F	24	D P 2 ⁺
Bovino C	F	86	D O 4
Bovino D	F	96	D O ⁺ 4 ⁺
Bovino E	M	20	A R ⁺ 2
Bovino F	M	15	A U 4 ⁺
Bovino G	M	20	A U 2 ⁺
Bovino H	M	20	A U 3 ⁺
Bovino I	M	22	A R 3
Bovino J	M	16	A R ⁺ 2
Bovino K	M	15	A R 2 ⁺

A classificação das carcaças resume-se pelo emprego da seguinte nomenclatura: duas letras e um número. A primeira letra da nomenclatura corresponde à classificação da categoria do bovino face à idade/sexo, sendo as letras utilizadas as seguintes: A, B, C, D, E, V e Z. Já a segunda letra relaciona-se com a conformação da carcaça, cujas letras são: S, E, U, R, O e P. Por fim, os números usados nesta nomenclatura variam de 1 a 5 e correspondem ao estado da gordura da carcaça. Cada um dos caracteres utilizados na classificação das carcaças encontra-se descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição de cada um dos caracteres utilizados na classificação das carcaças de bovino, de acordo com o Regulamento (EU) n° 1308/2013

Classificação da categoria de bovino face a idade/sexo	Conformação da carcaça	Estado da gordura da carcaça
A - Machos não castrados de idade igual ou superior a 12 meses, mas inferior a 24 meses	S - Superior	1 - Muito magra
B - Machos não castrados de idade igual ou superior a 24 meses	E - Excelente	2 - Magra
C - Machos castrados de idade igual ou superior a 12 meses (Boi/Touro)	U - Muito boa	3 - Média
D - Fêmeas que tenham parido (Vacas)	R - Boa	4 - Gorda
E - Outras fêmeas de idade igual ou superior a 12 meses	O - Razoável	5 - Muito gorda
V - Bovinos com idade inferior a 8 meses (Vitela)	P - Mediocre	
Z - Bovinos com idade igual ou superior a 8 meses, mas inferior a 12 meses (Vitelão)		

3.2.2. Sacos retrácteis

Existem muitos sacos que se podem usar na embalagem a vácuo. Contudo, cada um tem propriedades mecânicas, óticas e de barreira específicas, que fazem com que sejam distintos uns dos outros. Neste sentido, as propriedades inerentes a cada saco retráctil tornam-se um fator determinante no sucesso da embalagem a vácuo. De uma forma geral, os sacos retrácteis apresentam um excelente nível de brilho e transparência, uma boa retração térmica e um elevado nível de resistência à rutura.

No presente estudo usaram-se dois tipos de sacos retrácteis, cujos nomes aqui citados correspondem a nomes fictícios: sacos retrácteis alfa e sacos retrácteis beta.

No anexo A1 encontram-se as informações, compiladas em tabelas, referentes às propriedades de barreira, mecânicas, óticas e de retração térmica dos sacos alfa e beta.

Salienta-se o facto de que as três amostras recolhidas eram colocadas no mesmo tipo de saco, ou seja, caso a amostra 1 fosse recolhida para um saco alfa então, também as amostras 2 e 3 eram recolhidas para um saco retráctil alfa.

3.2.2.1. Embalagem a vácuo

O processo de embalagem a vácuo é constituído por várias etapas. Inicialmente, colocam-se as peças de carne dentro dos sacos retrácteis. Depois o conjunto é colocado numa máquina de embalagem a vácuo, como é demonstrado pela Figura 12, que tem como principal função retirar o ar de dentro do saco e selá-lo de imediato, com vista a impedir que o ar retorne ao mesmo.



Figura 12 - Etapa da embalagem a vácuo que consiste na remoção do ar de dentro do saco, a uma pressão conhecida, e selagem imediata do saco.

Seguidamente, o conjunto, embalagem e produto, passa por um depósito de água com temperatura igual a 82 °C, durante um curto período de tempo. Na Figura 13 observa-se a passagem das embalagens da etapa anterior para o depósito de água quente.



Figura 13 - Passagem do conjunto, devidamente selado, da máquina de embalagem a vácuo para o depósito com água a 82 °C.

A passagem da embalagem por um processo de retração térmica visa a melhoria da aparência e a força do conjunto. Por outro lado, a retração permite que a embalagem adira ao produto, o que favorece a barreira a gases, tornando-se o produto uma barreira física à difusão de oxigénio.

Numa última fase, o produto embalado passa do depósito de água quente para um secador, tal como mostra a Figura 14.



Figura 14 - Última etapa do processo de embalagem, em que ocorre a passagem da embalagem do depósito de água quente para uma máquina de secagem de embalagens.

3.2.2.1.1. Condições de recolha e de embalagem a vácuo de cada amostra

As condições inerentes à recolha das amostras interferem em muito nos resultados obtidos. Por outro lado, e como já foi citado, durante o período em que decorreu o estudo estavam a ser realizados testes ao nível da pressão e tempo de selagem na embalagem a vácuo. Neste sentido, houve a necessidade de se registarem quais os sacos retrácteis utilizados, bem como a pressão e tempo de selagem de embalagem a vácuo.

Relativamente ao tempo de armazenamento, tinha-se como objetivo inicial atribuir 35 dias de validade aos produtos. No entanto, visto que os resultados ao nível microbiológico foram insatisfatórios para os bovinos A e B, reduziu-se o tempo de armazenamento dos produtos oriundos dos bovinos C e D, e foi-se procedendo assim consoante os resultados que se auferiam. Na Tabela 3 encontram-se as condições inerentes à embalagem a vácuo, local de recolha da amostra de cada bovino e o tempo de armazenamento dos produtos a validar.

Tabela 3 - Condições a que decorreu a embalagem a vácuo: pressão e tempo de selagem; sacos retrácteis utilizados na embalagem; local de recolha da amostra e tempo de armazenamento das amostras

Animal	Embalagem a vácuo			Local de recolha da amostra	Armazenamento	
	Saco	Pressão (mbar)	Tempo de selagem (s)		Tempo (dias)	Temperatura (°C)
Bovino A	Beta	Otimizados		Pistola de bovino ao nível da 14 ^a costela	1, 22 e 35	A temperatura da câmara onde ficaram armazenadas as amostras oscilou, a maior parte do tempo, entre -0,5 °C e 1 °C. No entanto, quando abriam a câmara esta chegou a atingir picos de temperatura de 6 °C, não se verificando nunca uma temperatura superior a esta.
Bovino B	Beta	Otimizados		Pistola de bovino ao nível da 14 ^a costela	1, 22 e 35	
Bovino C	Beta	3	1,3	Dianteiro de bovino ao nível da 5 ^a costela	1 e 31	
Bovino D	Beta	3	1,3	Pistola de bovino ao nível da 14 ^a costela	1 e 31	
Bovino E	Alfa	3	1,3	Pistola de bovino ao nível da 14 ^a costela	3, 22 e 31	
Bovino F	Beta	3	1,3	Dianteiro de bovino ao nível da 5 ^a costela	1, 17 e 24	
Bovino G	Alfa	3	1,4	Pistola de bovino ao nível da 14 ^a costela	1, 15 e 22	
Bovino H	Alfa	3	1,4	Pistola de bovino ao nível da 12 ^a costela	1, 12 e 22	
Bovino I	Alfa	3	1,4	Pistola de bovino ao nível da 12 ^a costela	1, 12 e 22	
Bovino J	Alfa	3	1,3	Dianteiro de bovino ao nível da 3 ^a costela	1, 10 e 23	
Bovino K	Alfa	3	1,3	Pistola de bovino ao nível da 12 ^a costela	1, 10 e 23	

De ressaltar que todas as amostras recolhidas, tanto de dianteiros como de pistolas eram cortadas de forma a que contivessem o músculo *Longissimus dorsi*. Teve-se este cuidado devido ao facto de todas as medições serem realizadas neste músculo e, também, por ele ser tão homogéneo, o que é ideal para um estudo como este.

No momento em que se embalaram as amostras do bovino A e B, a máquina estava programada para embalar segundo um programa que otimizava, automaticamente, a pressão e tempo de selagem da embalagem. Ou seja, a pressão apenas era exercida até ao instante em a máquina detetava que houve a recolha total do oxigénio do saco, pelo que não é possível afirmar qual a pressão e tempo de selagem exatos aquando da embalagem destas amostras.

3.2.2.2. Análise das amostras

De acordo com o que já foi mencionado, as análises das amostras de carcaças de bovino foram realizadas por um laboratório externo à empresa.

No que respeita às análises microbiológicas, o método utilizado para a contagem de microrganismos a 30 °C foi de acordo com a ISO 4833:2013. Para além das medições de pH realizadas na empresa (método não destrutivo), houve também a medição de pH em laboratório. Estas medições ocorreram de acordo com o método estabelecido pela NP-3441:2008 (método destrutivo).



4. Resultados e discussão

Ao longo deste capítulo serão apresentados os resultados obtidos no que concerne à variação de pH consoante o local de medição na carcaça e aos fatores que influenciam o pH final na carne, como sexo e idade do animal, e ainda a conformação da carcaça. Expor-se-ão também os resultados associados ao desenvolvimento microbiano nas carcaças depois do abate e o tempo de vida útil de peças de bovino embaladas a vácuo com pH conhecido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Variação de pH consoante o local de medição na carcaça

A medição de pH foi sempre realizada no músculo *Longissimus dorsi*. Contudo, numa primeira fase, importava perceber se havia variação do valor de pH, na mesma carcaça, relativamente ao lado em que se efetuava a medição. A decisão de se optar pelo lado em que se realizaram as medições posteriores, referida no ponto 3.1., teve por base os resultados auferidos nesta fase do estudo.

Na Tabela 4 são apresentadas as médias de pH referentes às medições realizadas, no músculo *Longissimus dorsi*, ao nível da 5ª costela e da 14ª costela, do lado esquerdo e do lado direito da carcaça. Para os resultados correspondentes aos pontos 4.1. e 4.2. realizou-se o teste t considerando duas amostras com variâncias desiguais, com um nível de confiança de 5%.

Tabela 4 - Média e respetivo desvio-padrão das medições de pH realizadas ao nível da 5ª e da 14ª costelas, tanto do lado esquerdo como do lado direito

Costela	Lado da carcaça	pH	P
5ª costela	Direito	5,66 ± 0,03	0,01
	Esquerdo	5,73 ± 0,04	
14ª costela	Direito	5,63 ± 0,05	0,002
	Esquerdo	5,77 ± 0,07	

Verificou-se que, tanto ao nível da 5ª como da 14ª costela, $p \leq 0,05$ ($p < 0,01$ e $p < 0,002$, respetivamente), logo rejeita-se H_0 (hipótese nula) e é possível afirmar com 95% de confiança que há diferenças entre as médias referentes ao lado direito e esquerdo da carcaça. Assim, mediante as médias que constam na tabela 4 pode inferir-se que ao nível da 14ª costela o pH da carne é mais elevado do lado esquerdo da carcaça. O pH do músculo *Longissimus dorsi*, ao nível da 5ª costela, na metade esquerda da carcaça foi, em média, de $5,73 \pm 0,04$. No entanto, na metade direita da carcaça auferiu-se um pH médio de $5,66 \pm 0,03$. Relativamente ao pH ao nível da 14ª costela, na metade esquerda da carcaça obteve-se um valor médio de pH de $5,77 \pm 0,07$; já na metade direita da carcaça o pH médio foi de $5,63 \pm 0,05$.

Mediante os resultados obtidos é notório que, para além do pH variar consoante o lado da carcaça em que se realiza a medição, também existem variações de pH ao nível das costelas da carcaça. Como neste estudo tanto se recolheram amostras de dianteiros como de pistolas, não havia

especial interesse em saber se o pH era mais elevado ao nível da 5^a ou da 14^a costelas, respetivamente. No entanto, a escolha de se realizarem as restantes medições de pH recaiu pela metade esquerda da carcaça pelo facto de tanto ao nível da 5^a costela como da 14^a costela os valores médios de pH serem igualmente mais elevados comparativamente com os auferidos para as metades direitas da carcaça.

A realização de estudos em peças que exibem valores mais elevados de pH tem especial interesse pelo facto de se supor que, ao conseguir determinar o tempo de vida útil em peças com pH mais elevado, provavelmente maior será o tempo de vida útil das restantes peças da carcaça.

4.2. Fatores que influenciam o pH

O pH da carne bovina é um parâmetro que é influenciado por inúmeros fatores, de entre os quais se destacam: espécie, genética, sexo e idade do animal, conformação da carcaça, tipo de músculo, variabilidade entre animais e temperatura (Lawrie, 1998). No entanto, de seguida apenas serão analisados parâmetros como: sexo e idade do animal e, ainda, a conformação da carcaça.

Nesse sentido, realizaram-se medições de pH em 812 carcaças (483 bovinos do sexo feminino e 329 bovinos do sexo masculino), sendo os resultados posteriormente tratados em Excel, visto que o principal objetivo era apurar se havia, realmente, interferência de cada um destes fatores no valor final de pH. As ilações retiradas desta primeira fase do estudo permitem perceber os valores de pH obtidos aquando da recolha das amostras para a posterior determinação do seu tempo de vida útil da carne embalada a vácuo.

4.2.1. Sexo do animal

Segundo Vazquez *et al.* (2004), o sexo do animal afecta o desenvolvimento e crescimento dos diferentes tecidos, apresentando as maiores diferenças relativamente ao desenvolvimento do tecido adiposo, visto que este se desenvolve mais precocemente nas fêmeas. Por outro lado, Lawrie (1998) afirma, no que concerne à gordura intramuscular, que os machos são detentores de uma menor quantidade desta, comparativamente com as fêmeas, o que faz com que a carne das fêmeas possua uma maior percentagem de humidade. Estas diferenças ao nível dos tecidos e da

gordura intramuscular, entre machos e fêmeas, podem influenciar o valor final de pH; no entanto, existem outros factores que não se podem deixar de parte quando se analisa o pH de carne bovina.

No gráfico da figura A2.1 do anexo A2 apresenta-se a distribuição de pH tanto para bovinos do sexo feminino como do sexo masculino. No entanto, perante a dispersão apresentada não era possível verificar qual a tendência de pH para cada um dos sexos em estudo. Assim, calculou-se a média de pH e respectivo desvio-padrão para cada um dos sexos, e ainda se realizou o teste t considerando duas amostras com variâncias desiguais, e um nível de confiança de 5%, expondo-se os resultados na Tabela 5.

Tabela 5 - Média de pH e respetivo desvio-padrão para o sexo feminino e masculino dos bovinos estudados

Sexo do animal	pH	P
Feminino	5,77 ± 0,03	0,00007
Masculino	5,70 ± 0,02	

Verificou-se, no que respeita ao sexo dos animais que $p \leq 0,05$ ($p < 0,00007$) pelo que se rejeita H_0 e se pode afirmar com 95% de confiança que há diferenças entre as médias de pH referentes ao sexo dos bovinos. Observando a Tabela 5 pode apurar-se que a média de pH no músculo *L. dorsi* é mais elevada para bovinos do sexo feminino do que para bovinos do sexo masculino, 5,77 e 5,70, respetivamente. As fêmeas, provavelmente, estiveram sujeitas a um maior nível de stresse que os machos, visto que o stresse dos animais contribui para o esgotamento das reservas de glicogénio muscular e, por conseguinte, para o aumento do pH muscular. O stresse das fêmeas poderia advir do facto de na abegoaria estarem junto a bovinos de espécies diferentes da sua, o que poderia não acontecer nas explorações. Um animal quando exposto a ambientes diferentes daquele a que está habituado pode ficar com medo e agitado, o que faz com que se elevem os seus níveis de stresse.

Os resultados obtidos permitem ainda conjecturar que o sexo do animal realmente interfere com o valor de pH da carne bovina.

4.2.2. Idade do animal

A idade do animal é um fator, que de certa forma, está relacionado com o peso final da carcaça, no sentido em que quanto mais velho for o animal mais peso adquirirá e maior quantidade de gordura se armazenará neste (Vazquez *et al.*, 2004)

De forma a perceber o comportamento do pH da carne para diferentes idades, construiu-se o gráfico da figura A2.2 que consta no anexo A2. Analisando este gráfico não é possível retirar quaisquer ilações devido à grande dispersão de valores de pH para as idades em estudo.

De modo a verificar o comportamento de pH para diferentes intervalos de idade, calcularam-se as médias dos valores de pH medidos em animais com idades compreendidas entre 0-25, 26-50, 51-75, 76-100 e 101-200 meses, sendo estes resultados demonstrados no gráfico da Figura 15.

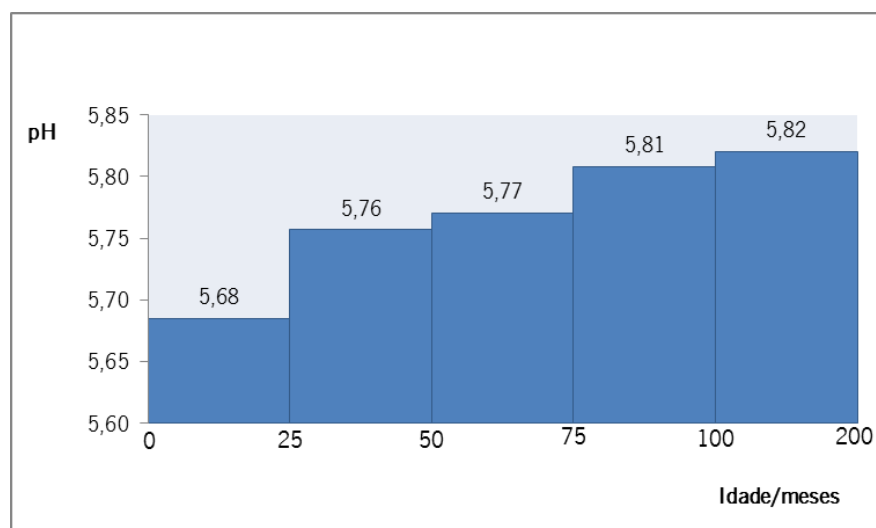


Figura 15 - Médias de pH de carne de bovinos com idades entre 0-25, 26-50, 51-75, 76-100 e 101-200 meses.

Visualizando o gráfico da Figura 15 de imediato se infere que quanto mais velho é o animal maior será o valor de pH carne ao nível do lombo. Para a avaliação das médias de pH para os intervalos de idade supra mencionados realizou-se uma análise de variância do efeito das idades dos animais no valor de pH da carne destes, apurando-se que $p < 0,001$. Para bovinos com idades entre 0-25, 26-50, 51-75, 76-100 e 101-200 meses, o pH médio foi de 5,68, 5,76, 5,77, 5,81 e 5,82, respetivamente. De facto, existe uma tendência de pH consoante a idade do animal e o efeito da variância é altamente significativo. A variação de pH para 25-50 meses e para 51-75 meses foi no entanto bastante baixa (5,76-5,77). O mesmo se apurou para idades entre 76-100 e 101-200 meses, pois o pH médio obtido também rondou valores relativamente próximos (5,81-5,82).

Por outro lado, até aos 75 meses observou-se que a carne exibe um valor de pH considerado normal (pH entre 5,4 e 5,8). Já a partir dos 75 meses a carne apresenta valores de pH médio superiores a 5,80, sendo este característico de carnes DFD, estando estes resultados de acordo com o esperado.

Segundo Lawrie (1998) à medida que o animal fica mais velho aumenta a gordura intramuscular e o conteúdo de mioglobina, sendo por esse motivo que as carnes de animais mais velhos são tendencialmente mais escuras.

4.2.3. Conformação da massa muscular da carcaça

Segundo o Regulamento (CE) n° 1234/2007 a conformação permite avaliar o grau de desenvolvimento dos perfis da carcaça, em particular, as suas partes essenciais como coxa, dorso e pá. O presente regulamento utiliza a escala SEUROP, em que S corresponde a superior, E a excelente, U a muito boa, R a boa, O a média e P a medíocre.

As conformações S e E descrevem perfis excecionalmente arredondados, fora do comum, que advêm de bovinos com dupla musculatura e que são abatidos com pouca frequência. Já a conformação P descreve carcaças com um pobre desenvolvimento muscular, que normalmente, provêm de vacas leiteiras (Felício, s.d.).

No gráfico da Figura 16 apresentam-se as médias de pH referentes a cada uma das conformações da carcaça.

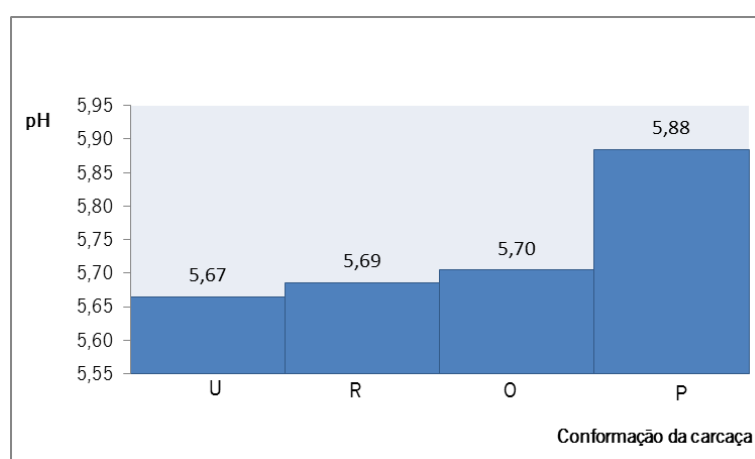


Figura 16 - Variação média de pH conforme a conformação de carcaças bovinas.

Observando o gráfico da Figura 16 rapidamente se infere que quanto mais reduzido for o desenvolvimento muscular da carcaça mais elevado é o pH médio ao nível do músculo *L. dorsi*. A análise de variância revelou que o efeito é altamente significativo ($p < 0,001$). Verificou-se ainda que os valores de pH médio da conformação U, R e O foram bastante próximos, 5,67, 5,69 e 5,70, respetivamente. A maior média de pH obteve-se para a conformação P, 5,87, sendo que este valor já corresponde a carne de corte escuro (DFD), pelo facto do seu valor de pH ser superior a 5,80.

Mediante estes resultados é possível afirmar-se que a conformação da massa muscular da carcaça influencia o pH da carne. Assim, quanto menos desenvolvida for a musculatura do bovino mais alto será o valor de pH da sua carne, o que está de acordo com o expectável. De acordo com o que já foi mencionado, a conformação P, normalmente, é atribuída a carcaças oriundas de vacas leiteiras. Pelo que já foi possível apurar, tanto bovinos do sexo feminino como bovinos com idades superiores a 30 meses têm tendência a que o pH da sua carne seja mais elevado, comparativamente, com bovinos do sexo masculino e mais novos, pelo que estes dados sustentam os resultados obtidos relativamente à variação do pH mediante a conformação da massa muscular dos animais em estudo.

Carcaças com conformação “U” são detentoras de um forte desenvolvimento muscular, sendo o seu perfil geralmente convexo. As carcaças com conformação R e O têm perfis retilíneos; contudo o desenvolvimento muscular é, respetivamente, bom e médio. No que respeita a carcaças com conformação P, estas têm um desenvolvimento muscular reduzido e os seus perfis variam de côncavos a muito côncavos (Regulamento (CE) N° 1234/2007).

4.3. Desenvolvimento microbiano nas carcaças depois do abate

A carne é um alimento bastante perecível, ideal ao crescimento microbiano, pelo facto de ser constituída por um elevado teor de água, proteína e gordura. A taxa de crescimento microbiano na carne é altamente determinada por fatores como: temperatura, pH e atividade da água, pois estes parâmetros constituem obstáculos, durante o armazenamento, no que concerne à seleção, taxa de crescimento e atividade metabólica dos microrganismos presentes na carne (Araújo, 2014; Saraiva, 2008). Neste sentido, importa perceber a tendência do crescimento microbiano ao nível do lombo de bovino (músculo *Longissimus dorsi*), durante o período de armazenamento das

carcaças até à desmancha da peça. Assim, procedeu-se à análise de amostras recolhidas de carcaças de bovino desmanchadas 2, 3, 4, 5 e 6 dias depois do abate dos animais. O gráfico da Figura 17 expressa, em média, o crescimento microbiano na carne para cada um dos dias supra mencionados.

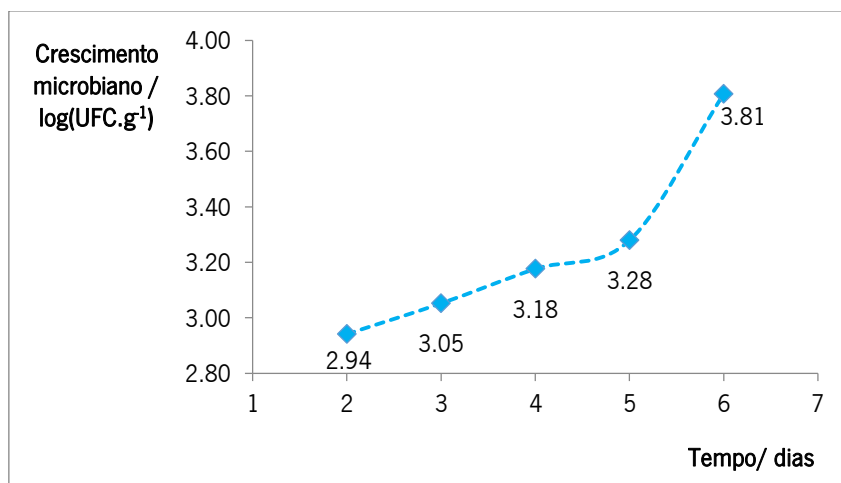


Figura 17 - Variação do crescimento microbiano, ao nível do lombo, desde o abate do animal até ao momento de desmancha da carcaça.

Por visualização do gráfico da Figura 17 verifica-se de imediato que a carga microbiana presente no lombo aumenta exponencialmente ao longo do tempo. Esta tendência de crescimento microbiano na carne, depois do abate do animal, está totalmente de acordo com o expectável, visto que os microrganismos quanto mais tempo estiverem no mesmo meio e sob as mesmas condições mais aptos ficarão e maior será o seu desenvolvimento.

Imediatamente a seguir ao abate, os músculos estão isentos de microrganismos, e a flora microbiana apenas se aloja na superfície das carcaças, pois carcaças oriundas de animais saudáveis têm capacidade bactericida residual capaz de manter os músculos estéreis. Contudo, com o passar das horas e consoante as condições de armazenamento, os microrganismos presentes à superfície das carcaças desenvolvem-se e migram para os músculos (Felipe, 2008; Tesser, 2009; Saraiva, 2008). Por outro lado, é necessário ter-se em consideração que numa primeira fase do crescimento microbiano há uma adaptação dos microrganismos às novas condições do meio (fase de latência). Contudo, depois destes estarem perfeitamente ambientados, conseguem desenvolver-se rapidamente, havendo assim um aumento exponencial da concentração celular durante um determinado período (fase exponencial).

O pH, assim como o processo de arrefecimento são determinantes para o crescimento microbiano. Um animal vivo é detentor de um pH que ronda a neutralidade (pH=7); contudo, após o abate inicia-se um processo de glicólise *post mortem* que faz com que os valores de pH diminuam (Lawrie, 1998). Existem vários estudos que evidenciam que grande parte dos microrganismos possuem um ótimo crescimento para valores de pH próximos de 7. Neste sentido, a temperatura e tempo de arrefecimento constituem um ponto crítico, visto que quanto mais tempo demorar o arrefecimento das carcaças, maior será a probabilidade de desenvolvimento da carga microbiana na carne, uma vez que estão reunidas todas as condições propícias a esse acontecimento. Neste trabalho os binómios temperatura/tempo não foram contabilizados, no entanto as cargas microbianas estão de acordo com Regulamento (CE) N° 2073/2005.

No gráfico da Figura 17 apura-se que, dois dias após o abate, a média da carga microbiana na carne em estudo corresponde a 2,94 log UFC.g⁻¹. Este valor vai de encontro ao esperado e comprova a eficiência do processo de arrefecimento das carcaças pois durante o período em que decorreu o estudo, a média da quantidade de colónias aeróbias presentes em carcaças de bovino abatidas nesta empresa, no final da linha de abate e antes da refrigeração, era de 2,9 log UFC.cm⁻².

A quantidade de microrganismos presentes nas carcaças, no final da linha de abate, permite não só verificar o estado de higiene das carcaças e avaliar as boas práticas de higiene e fabrico no abate mas, também, serve de termo de comparação com a carga microbiana da carne desmanchada 2, 3, 4, 5 e 6 dias depois do abate.

De acordo com o Regulamento (CE) n° 2073/2005 o limite microbiológico aceitável para carcaças de bovino, antes da refrigeração, é de 3,5 log UFC.cm⁻² (média logarítmica diária). Confrontando a média logarítmica diária de microrganismos presente nas carcaças de bovino com os valores estabelecidos no regulamento supra mencionado, infere-se de imediato que a carga microbiana presente nas carcaças se encontra dentro do limite aceitável. Importa, no entanto, salientar que a quantidade de microrganismos nas carcaças nesta fase do processo advém de contaminações introduzidas durante o abate, relacionando-se diretamente com boas práticas de fabrico e também com o estado de limpeza com que os animais chegam ao matadouro que é uma obrigatoriedade legal de acordo com o Regulamento (CE) n°853/2004.

Por outro lado, confrontando a quantidade de microrganismos existente na carne desmanchada dois dias depois do abate ($2,94 \log \text{UFC.g}^{-1}$), com a média da carga microbiana presente nas carcaças no final da linha de abate e antes da refrigeração ($2,9 \log \text{UFC.cm}^{-2}$), infere-se que as condições de refrigeração a que as carcaças são sujeitas, depois do abate, possibilitaram, simultaneamente, a inibição do desenvolvimento microbiano e interferiram com o tempo de adaptação destes ao novo meio.

Na prática, após o abate, as carcaças passam para uma câmara de choque térmico que, tal como o nome indica, tem como finalidade promover um rápido, mas ao mesmo tempo controlado, arrefecimento das carcaças. Passadas cerca de 10 h do abate, as carcaças passam da câmara de choque para uma câmara de estabilização cuja média de temperatura ronda 1°C . Depois de atingirem temperaturas conforme o Regulamento (CE) n°853/2004, iguais ou inferiores a 7°C , as carcaças ou são expedidas ou são encaminhadas para a sala de desmancha. Importa salientar que o número de horas necessário até que a carcaça atinja temperaturas conformes varia de acordo com a conformação da carcaça. A passagem das carcaças pela câmara de choque (onde a temperatura varia entre -4°C e 3°C) permite também que carcaças recém-abatidas, cuja temperatura varia entre os 37°C e os 32°C , não interfiram, nem no aumento da temperatura da câmara de estabilização, nem na temperatura das carcaças existentes nessa câmara.

O gráfico da Figura 17 demonstra que o aumento de colónias aeróbias na carne foi progressivo para os dias em estudo. No que respeita à carga microbiana presente na carne 2, 3, 4, 5 e 6 dias, depois do abate, verificou-se que esta foi de $2,94 \log \text{UFC. g}^{-1}$, $3,05 \log \text{UFC. g}^{-1}$, $3,18 \log \text{UFC. g}^{-1}$, $3,28 \log \text{UFC. g}^{-1}$ e $3,81 \log \text{UFC. g}^{-1}$, respetivamente. A variação da quantidade de colónias aeróbias na carne desmanchada, verificada de 2 a 5 dias, depois do abate, foi em média de $0,11 \log \text{UFC. g}^{-1}$, por dia. Porém, entre o 5º e o 6º dia, observou-se um aumento considerável da carga microbiana, $0,53 \log \text{UFC. g}^{-1}$.

Mediante estes resultados, pode supor-se que até 3 dias depois do abate os microrganismos ainda não estavam perfeitamente adaptados ao meio e a partir do 5º dia o aumento de microrganismos na carne será cada vez maior, sendo que a partir de um determinado instante irão potenciar a deterioração da carne. Salienta-se o facto de que a carne analisada, para além da carga microbiana oriunda do abate e desenvolvida durante o armazenamento, também poderá conter microrganismos que foram introduzidos durante a desmancha das carcaças.

4.4. Tempo de vida útil de peças de bovino embaladas a vácuo com pH conhecido

As propriedades da embalagem, as condições em que decorre a embalagem a vácuo e a carga microbiana presente na carne são fatores determinantes no que respeita ao tempo de vida útil de produtos cárneos. Neste sentido, para a determinação do tempo de vida útil de um produto considera-se o período que decorre desde a embalagem da peça de carne até momento da sua deterioração (Moreira, 2012). Deste modo, segundo o regulamento (CE) n° 2073/2005, o período de vida útil do produto corresponderá à data limite para a qual o produto ainda exhibe segurança alimentar.

Uma forma de se determinar a segurança alimentar das peças em estudo é através da carga microbiana existente nesta. Ou seja, quando a carga microbiana vigente na carne ultrapassa os limites aceitáveis, infere-se de imediato que o tempo de vida útil deste produto será inferior ao tempo considerado, pelo que a validade a atribuir a esse produto terá de ser sempre inferior ao intervalo de tempo estudado.

4.4.1. Avaliação da evolução do pH e da carga microbiana ao longo do tempo de armazenagem da carne de bovino embalada a vácuo

Se por um lado grande parte dos microrganismos tem um excelente crescimento quando estão num meio cujo valor de pH é próximo de 7, por outro lado existem microrganismos com a capacidade de se reproduzirem em meios com pH inferior a 6. Neste sentido, é essencial verificar a variação de pH e, simultaneamente, o crescimento microbiano na carne embalada a vácuo durante o período de armazenamento, a fim de se perceber qual a interferência do pH no crescimento microbiano em carne embalada a vácuo.

A Tabela 6 revela quais os sacos utilizados para embalar a carne recolhida dos bovinos A a J, o tempo que decorreu entre o abate do animal e a desmancha da peça, o tempo de vida útil que consoante as condições estudadas foi possível atribuir a cada peça e ainda o pH e a quantidade de microrganismos presente na carne de cada bovino para cada um dos dias de armazenamento estudados.

Tabela 6 – Tempo que decorreu entre o abate de cada animal até ao momento de desmancha das peças, variação de pH e crescimento microbiano para cada dia de armazenamento das peças recolhidas dos bovinos A a J, tempo de vida útil de cada produto e sacos retrácteis utilizados na embalagem a vácuo Sendo que **a)** Bovino; **b)** Saco; **c)** Tempo entre o abate e desmancha da carcaça (dias); **d)** Tempo de armazenamento (dias); **e)** Tempo de vida útil do produto (dias)

a)	b)	c)	d)			pH			Microrganismos a 30 °C (UFC.g ⁻¹)			e)
A	Beta	3	1	22	35	6,88	6,66	6,38	$3,50 \times 10^2$	$>3,70 \times 10^7$	$>3,70 \times 10^7$	-
B	Beta	3	1	22	35	5,95	5,72	5,60	$2,70 \times 10^3$	$>3,70 \times 10^7$	$>3,70 \times 10^7$	-
C	Beta	4	1	31		5,94	6,32		$3,70 \times 10^2$	$>3,70 \times 10^7$		-
D	Beta	4	1	31		6,06	5,76		$1,50 \times 10^3$	$3,70 \times 10^5$		31
E	Alfa	2	3	22	31	5,77	5,47	5,50	$2,40 \times 10^2$	$>3,70 \times 10^7$	$>3,70 \times 10^7$	-
F	Beta	2	1	17	24	5,85	5,49	5,47	$8,80 \times 10^2$	$1,10 \times 10^5$	$2,20 \times 10^6$	24
G	Alfa	2	1	15	22	5,76	5,72	5,62	$4,60 \times 10^3$	$1,80 \times 10^4$	$3,00 \times 10^6$	22
H	Alfa	6	1	12	22	5,61	5,40	5,33	$6,40 \times 10^3$	$6,47 \times 10^5$	$>3,70 \times 10^7$	12
I	Alfa	5	1	12	22	5,64	5,21	5,46	$1,90 \times 10^3$	$1,50 \times 10^5$	$1,70 \times 10^5$	22
J	Alfa	3	1	10	23	5,76	5,80	5,56	$4,00 \times 10^4$	$8,50 \times 10^4$	$4,20 \times 10^6$	23
K	Alfa	3	1	10	23	5,75	5,69	5,37	$3,30 \times 10^2$	$1,10 \times 10^4$	$5,60 \times 10^6$	23

Por análise da Tabela 6 verifica-se que a carne dos bovinos A, B, C, D e F exibe um valor de pH característico de carne DFD, já que para todos estes casos o valor de pH da carne foi superior a 5,80. Na tabela 1 da secção 3.2.1.1. verifica-se que os bovinos A, B, C e D tinham 87, 24, 86 e 96, respetivamente, e correspondiam a fêmeas que já tinham parido, pelo que pode supor-se que carne de fêmeas já paridas tendencialmente exibem pH característico de carne DFD e, conseqüentemente, ostentam cargas microbianas mais elevadas ao fim de algum tempo de armazenamento.

É possível ainda observar que a carne foi recolhida, de cada um destes bovinos, 3, 4 e 2 dias após o abate destes animais, portanto era de esperar que o pH desta carne estivesse dentro de uma gama de valores considerados normais (5,40 e 5,80). Neste sentido, importa perceber o que pode ter originado valores de pH tão elevados para a carne dos bovinos supra mencionados.

Segundo o que já foi referido na secção 4.2, o sexo, idade dos animais e a conformação da carcaça, de facto influenciam o pH, contudo por si só não servem de justificação para os valores de pH auferidos. Neste sentido, há uma grande probabilidade destes animais, momentos antes do abate, terem sido submetidos a condições que interferiram com o seu bem-estar, como é o caso das condições na exploração de origem e de transporte, o maneo durante a descarga e alojamento, a forma como os animais são encaminhados e contidos, e ainda durante o atordoamento e abate.

A existência de elementos que perturbem o bem-estar do animal, como é o caso do aumento do medo e da carga de stresse dos animais conduz a uma redução considerável das reservas de glicogénio muscular (Venturini, 2003). Como já foi mencionado no capítulo 2, depois do abate, a diminuição do valor de pH da carne ocorre devido ao processo de glicólise anaeróbia, que promove a conversão do glicogénio existente nos músculos em ácido láctico. Assim, esgotando-se o glicogénio muscular, cessa a conversão do glicogénio em ácido láctico. Como consequência, níveis baixos de glicogénio têm como resultado valores de pH *post mortem* elevados.

De facto, estes valores de pH da carne podem ser um indicador de que o animal esteve sujeito a elevados níveis de stresse antes do abate. As condições de transporte do animal pode causar nele medo e ao mesmo tempo elevar os seus níveis de stresse. Durante o transporte podem haver elementos que contribuam para o estado de excitação animal, calor e ao mesmo tempo aumento de fadiga, sendo que todos estes factores interferem com o bem-estar do animal e fazem com que se esgotem prematuramente as reservas de glicogénio muscular (Vazquez *et al.*, 2004).

Outro factor que influencia o pH da carne é o excesso de horas de jejum a que o animal pode ter sido submetido, momentos antes do abate, pois o jejum do animal interfere diretamente na diminuição das reservas de glicogénio muscular. Neste caso concreto não foi possível apurar qual o tempo de jejum de cada animal, até ao momento do abate. Contudo, se associarmos um excessivo período de jejum a uma elevada agitação, medo ou stresse do animal, de imediato se percebe que estão reunidas as condições ideais ao rápido esgotamento das reservas de

glicogénio muscular do bovino, e conseqüentemente, o elevado valor de pH μ na carne. De acordo com Lawrie (1998), uma forma de conservar o glicogénio muscular, mesmo sob as condições supra mencionadas, seria a administração de cafeína nos bovinos, que segundo este autor, poderia ser usada profilaticamente para conservar o glicogénio muscular de animais expostos ao stress, e desta forma assegurar que o pH final da carne se encontre dentro da gama de valores considerados normais (5,40-5,80).

No gráfico da Figura 18 observa-se, conjuntamente, a variação de pH e do crescimento microbiano das amostras de carne recolhidas dos bovinos A, B, C e E, dentro da embalagem a vácuo, em relação ao tempo de armazenamento.

De acordo com que foi mencionado, o tempo de vida útil de um produto é determinado mediante o intervalo de tempo para o qual este ainda é seguro, ou seja, quando a carne ainda apresenta uma carga microbiana dentro dos limites aceitáveis. Louvois *et al.* (2000), consideram que 1×10^6 UFC.g⁻¹ corresponde ao limite satisfatório para contagens de microrganismos a 30 °C em carnes desmanchadas. Já valores entre 1×10^6 e 1×10^7 UFC.g⁻¹ dizem respeito à gama de valores considerados como aceitáveis. Salienta-se o facto de que quando os resultados obtidos se enquadram na gama de valores referentes ao limite satisfatório estamos perante carne cuja qualidade microbiológica é boa. Por outro lado, quando os resultados incidem no intervalo de valores aceitáveis significa que a carga micobiana existente na amostra em estudo está no limiar de qualidade microbiológica mas que ainda é garantida a segurança alimentar do produto.

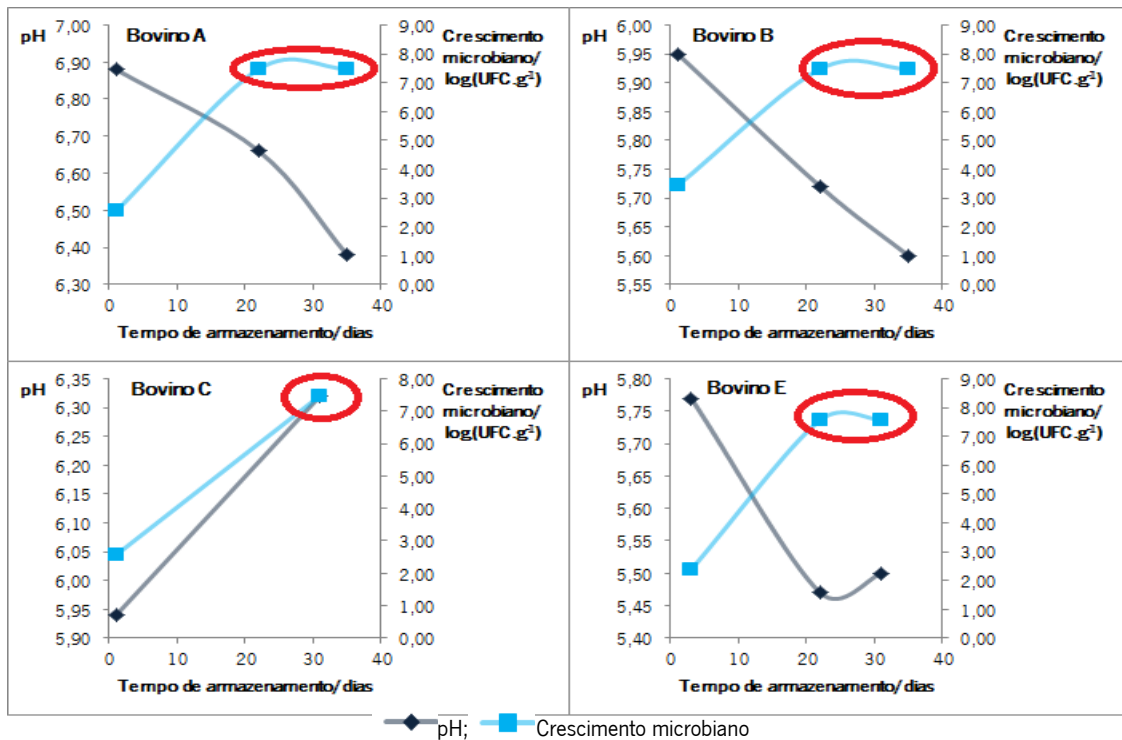


Figura 18 - Comportamento do pH e respetivo crescimento microbiano, dentro da embalagem a vácuo, da carne dos bovinos A, B, C e E, ao longo do tempo de armazenamento em condições similares às reais.

No gráfico da Figura 18 é possível observar o comportamento do pH e o respetivo crescimento microbiano na carne embalada a vácuo, não tendo sido possível determinar o tempo de vida útil da carne recolhida dos bovinos A, B, C e E, pois no segundo tempo de armazenamento estudado a quantidade de microrganismos presente na carne destes bovinos já era superior a $3,70 \times 10^7$ UFC.g⁻¹. Este acontecimento surge como consequência do facto dos tempos de armazenamento previamente definidos serem elevados. Por exemplo, para estas amostras foi definido que apenas seriam enviadas para análise, uma amostra aquando da embalagem a vácuo e outra ao vigésimo segundo dia, sendo que após vinte e dois dias de armazenamento a carga microbiana já era superior ao limite aceitável estabelecido por Louvois, et al. (2000). Mediante estes resultados, definiu-se que as amostras posteriores seriam enviadas com intervalos de tempo de armazenamento inferiores a vinte e dois dias.

No gráfico da Figura 19 é possível observar a variação do pH, dentro da embalagem a vácuo, da carne dos bovinos D, F, G, H, I, J e K e ao mesmo tempo a quantidade de microrganismos que a carne exibe ao longo do período de armazenamento.

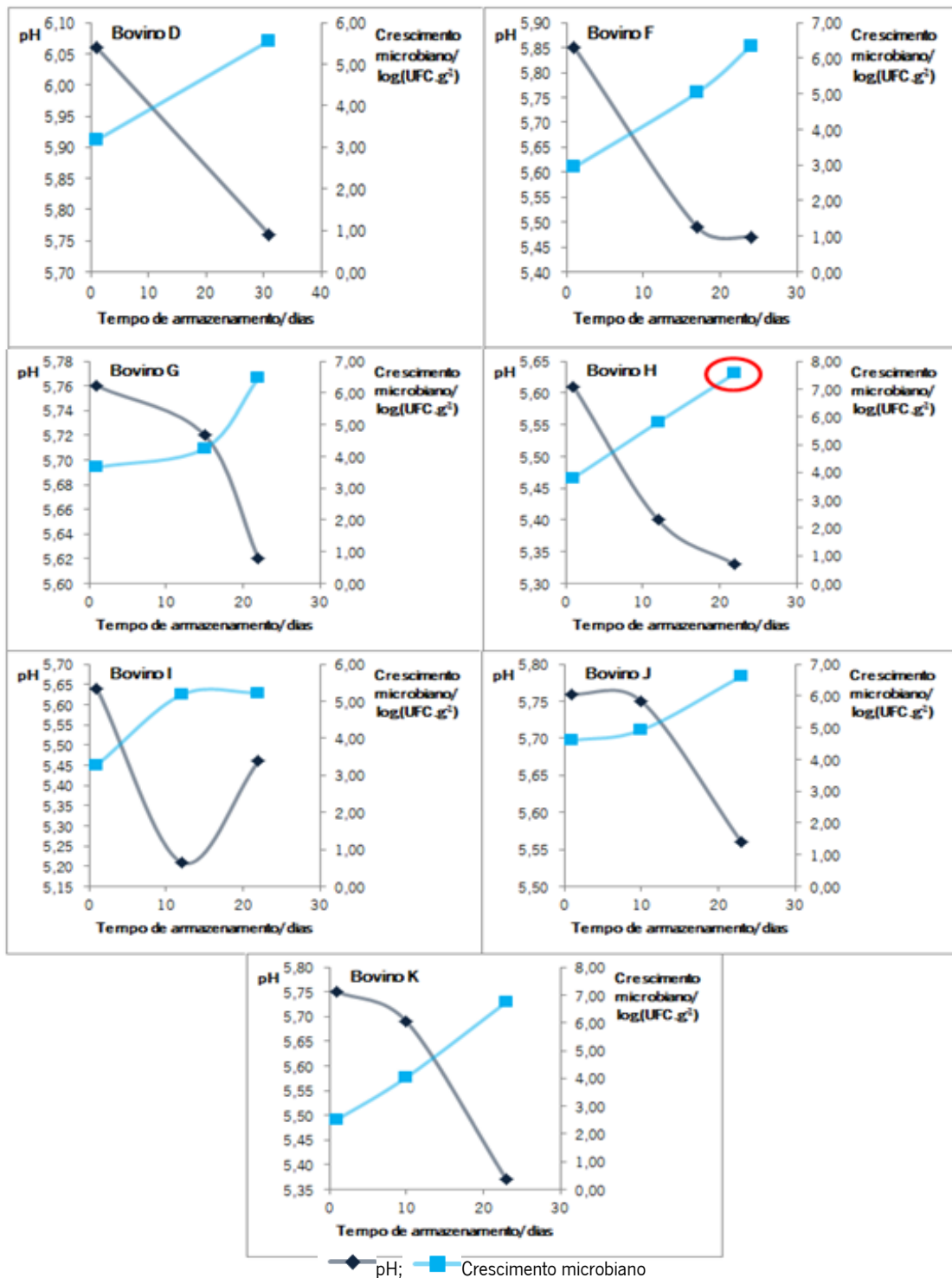


Figura 19 - Variação do pH e do crescimento microbiano na carne recolhida dos bovinos D, F, G, H, I, J e K ao longo do período de armazenamento.

No que concerne às contagens de microrganismos a 30 °C para a carne do bovino D apurou-se que no primeiro dia de armazenamento esta tinha cerca de $1,5 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e que passados 31 dias a carne exibia cerca de $3,7 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. Confrontando os resultados auferidos com os limites

microbiológicos para carne desmanchada estabelecidos por Louvois, *et al.* (2000), apenas se pode conjecturar que a carne cujo pH inicial era de 6,06, após 31 dias de armazenamento em embalagem a vácuo e a uma temperatura de cerca de 1 °C, se encontra dentro da gama de valores microbiológicos considerados satisfatórios ($<1 \times 10^6$ UFC.g⁻¹).

Relativamente, à carne recolhida do bovino F ao fim de 17 dias de armazenamento observou-se uma grande variação da carga microbiana. No primeiro dia de armazenamento a carne tinha uma carga microbiana de $8,80 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ e, como já foi referido, o seu valor de pH era de 5,85; ao fim de 17 dias de armazenamento verificou-se que houve um desenvolvimento dos microrganismos, sendo que a quantidade destes na carne era de $1,10 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. Ao fim de 24 dias de armazenamento, em embalagem a vácuo, a carne do bovino F apresentava um valor de pH igual a 5,47 e uma carga microbiana correspondente a $2,20 \times 10^6$ UFC.g⁻¹. Segundo os limites microbiológicos estabelecidos por Louvois, *et al.* (2000) para carne desmanchada verifica-se que este valor se encontra dentro da gama de valores considerados aceitáveis (1×10^6 UFC.g⁻¹ \leq 1×10^7 UFC.g⁻¹).

A carne do bovino G depois de embalada a vácuo apresentava um valor de pH de 5,76 sendo que a quantidade de microrganismos presente na carne era de $4,60 \times 10^3$ UFC.g⁻¹. Passados 15 dias de armazenamento o pH tinha diminuído para 5,72 e os microrganismos presentes na carne encontravam-se numa quantidade de $1,80 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Porém, ao fim de 22 dias de armazenamento a carne tinha uma quantidade de microrganismos de $3,00 \times 10^5$ UFC.g⁻¹, tendo o valor de pH diminuído para 5,62. Segundo os limites microbiológicos estabelecidos por Louvois, *et al.* (2000), a quantidade de microrganismos presente na carne encontra-se dentro dos valores considerados aceitáveis (1×10^6 UFC.g⁻¹ \leq 1×10^7 UFC.g⁻¹).

No que respeita à carne do bovino H, no primeiro dia de armazenamento a carne tinha um pH de 5,61, sendo que a quantidade de microrganismos na carne era de $6,40 \times 10^3$ UFC.g⁻¹; contudo, ao fim de 12 dias de armazenamento, o pH da carne diminuiu para 5,40 e a carga microbiana aumentou para $6,47 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. Até 12 dias de armazenamento, a quantidade de microrganismos, segundo Louvois, *et al.* (2000), permaneceu dentro da gama de valores considerados satisfatórios. Contudo, ao fim de 22 dias de armazenamento houve um aumento da

quantidade de microrganismos na carne embalada a vácuo para níveis totalmente insatisfatórios, superior a $3,70 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ (valor a partir do qual o laboratório já não realiza mais contagens).

No que concerne à carne do bovino I, constata-se que no primeiro dia a carne tinha uma carga microbiana de $1,90 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e um pH igual a 5,64. Contudo, ao fim de 12 dias de armazenamento observou-se que o pH da carne baixou significativamente para 5,21 e a quantidade de microrganismos aumentou para valores da ordem de $1,50 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. Porém, ao fim de 22 dias (último dia de armazenamento) verificou-se que o valor de pH tinha aumentado para 5,46 e que a quantidade de microrganismos na carne aumentou para $1,70 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. De acordo com Louvois, *et al.* (2000), esta carne após 22 dias de armazenamento tem uma quantidade de microrganismos que se enquadra na gama de valores considerados satisfatórios, já que é inferior a $1,00 \times 10^6$ UFC.g⁻¹.

Relativamente à carne recolhida do bovino J, verificou-se que no primeiro dia de armazenamento, tinha um pH de 5,76 e uma quantidade de microrganismos de $4,00 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Decorridos 10 dias verificou-se que o pH baixou para 5,75 e que a quantidade de microrganismos aumentou para $8,50 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Contudo, a grande variação tanto de pH como da carga microbiana na carne apenas se observou passados 23 dias de armazenamento, já que o pH baixou para 5,56 e a quantidade de microrganismos presente na carne aumentou para $4,20 \times 10^5$ UFC.g⁻¹. Segundo Louvois, *et al.* (2000), a carne do bovino J ao fim de 23 dias de armazenamento tem uma quantidade de microrganismos que se enquadra na gama de valores considerados aceitáveis, já que está entre $1,00 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e $1,00 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ (exclusivé).

A carne recolhida do bovino K, depois de embalada a vácuo, apresentava um pH de 5,75 e uma quantidade de microrganismos de $3,30 \times 10^2$ UFC.g⁻¹. Ao fim de 10 dias de armazenamento o pH diminuiu para 5,69 e a carga microbiana tinha aumentado para $1,10 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Este aumento da carga microbiana na carne foi progressivo visto que ao fim de 23 dias de armazenamento se constatou que havia na carne uma quantidade de microrganismos igual a $5,60 \times 10^6$ UFC.g⁻¹, ao passo que o pH baixou para 5,37. Os resultados microbiológicos ao fim de 23 dias de armazenamento encontram-se dentro da gama de valores considerados aceitáveis ($1,00 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e $1,00 \times 10^7$ UFC.g⁻¹) (Louvois, *et al.*, 2000).

Analisando todos estes resultados não é possível afirmar que os tempos de vida útil mencionados na Tabela 6 podem ser extrapolados para a carne de bovino embalada a vácuo no geral. Este acontecimento deve-se ao facto da amostragem ser pequena e os tempos de armazenamento serem variáveis, visto que o estudo teve de ser adaptado mediante os resultados microbiológicos que se iam obtendo.

Relativamente, ao crescimento microbiano é sabido que quando se procede à embalagem a vácuo o oxigénio é removido de dentro dos sacos retráteis, pelo que estão reunidas as condições ao crescimento de microrganismos anaeróbios e anaeróbios facultativos, sendo que estes últimos possivelmente já estariam em desenvolvimento na carne. Por outro lado, não se consegue garantir que os sacos utilizados na embalagem a vácuo são completamente estanques, sendo que os sacos alfa e beta tinham como propriedades de barreira ao oxigénio 20 cc/m² dia atm e 40 cc/m² dia atm, respetivamente, como se pode observar na tabela A1.1 do anexo A1.

De facto as características dos sacos utilizados na embalagem a vácuo têm muita influência sob o crescimento microbiano, no sentido em que quanto maior a permeabilidade destes ao oxigénio mais se podem vir a desenvolver os microrganismos. Na Tabela 6 pode, também, observar-se quais os sacos retráteis que foram utilizados para embalar a carne recolhida de cada bovino em estudo e comparar com o crescimento microbiano e tempo de vida útil de cada peça. De forma genérica foi possível apurar que quanto maior a permeabilidade do saco ao oxigénio, maior o crescimento microbiano na carne.

Na prática, quando se embala a vácuo existe a necessidade de se utilizar películas impermeáveis ao oxigénio, sendo que esta necessidade surge dada a impossibilidade de se obterem atmosferas completamente livres de oxigénio, aquando do fecho hermético. Assim, é inevitável que mesmo com a remoção do oxigénio, haja sempre vestígios deste que fiquem na embalagem (Gill, 1996). Deste modo, mesmo que o processo de embalagem a vácuo decorra de forma perfeita podem permanecer sempre dentro da embalagem quantidades residuais de oxigénio, e este facto que explica os resultados obtidos, crescimento de microrganismos a 30 °C. Salienta-se que a contagem de microrganismos a 30 °C inclui as bactérias lácticas microaerófilas, que para se desenvolverem necessitam de quantidades residuais de oxigénio.

No que respeita ao comportamento do pH para os gráficos das figuras 18 e 19 verifica-se um decréscimo do valor de pH da carne ao longo do tempo, o que está de acordo com o esperado. O

decaimento dos valores de pH da carne, é consequente do crescimento de bactérias lácticas microaerófilas já que o seu metabolismo leva a que haja a formação de ácido láctico (Mantilla, *et al.*, 2010; Tesser, 2009).

Segundo Lambert *et al.* (1991), o metabolismo das bactérias, que se desenvolvem na carne enquanto esta se encontra embalada a vácuo, leva a que estas produzam aminas, ácido láctico, ácidos gordos voláteis e sulfureto de hidrogénio. A formação de ácido láctico durante o armazenamento justifica a diminuição do valor de pH da carne de bovino embalada a vácuo.

Na figura 20 é possível observar o aspecto da carne dos bovinos A, B, C e F, após a embalagem a vácuo e no último dia de armazenamento. De acordo com o que já foi referido nesta secção todas estas carnes ostentavam um pH superior a 5,80, sendo por isso consideradas carnes DFD.

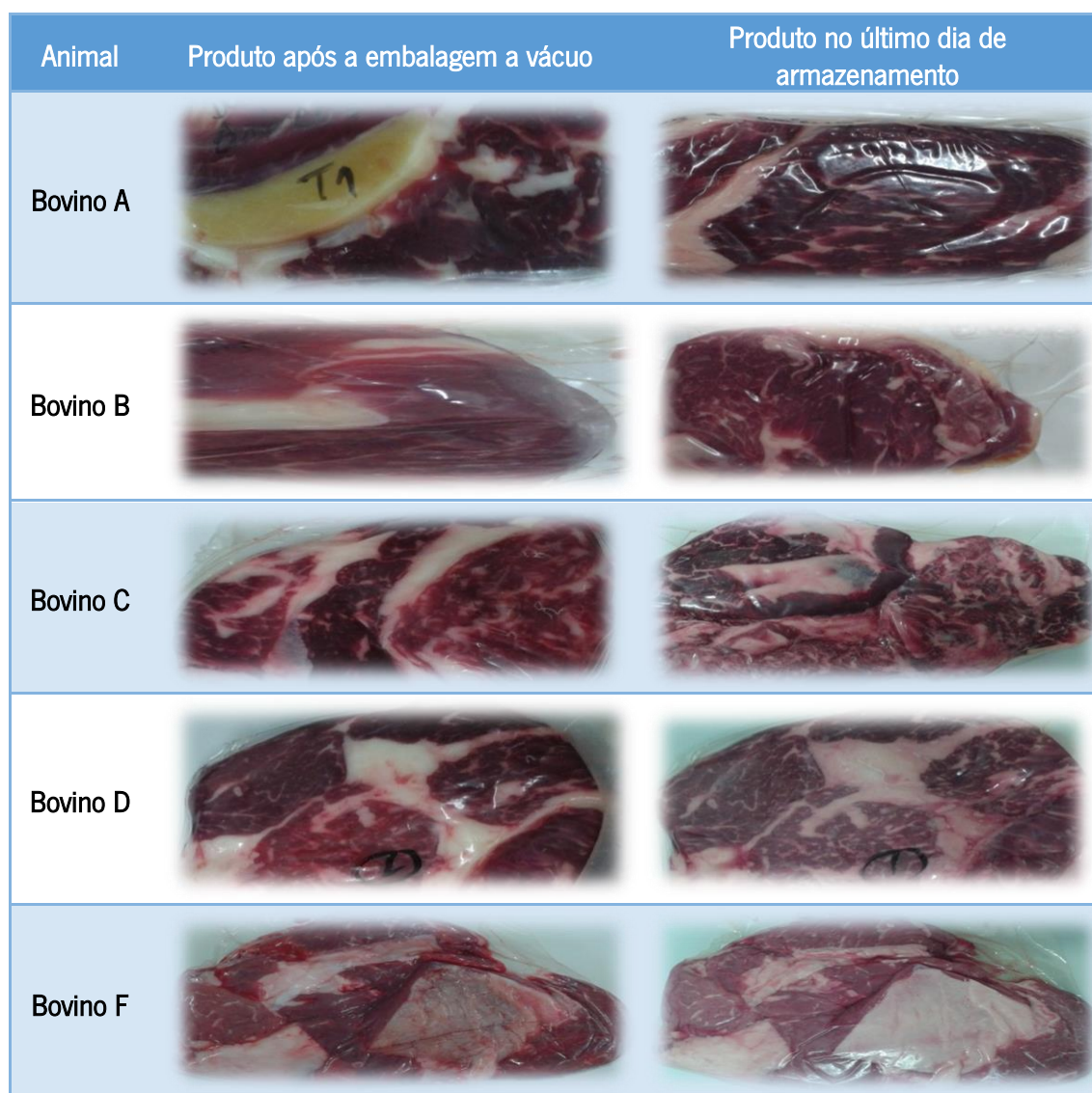


Figura 20 - Aspeto da embalagem e cor da carne dos bovinos A, B, C, D e F, momentos após a embalagem a vácuo e no último dia de armazenamento.

Como termo de comparação, pode visualizar-se na figura 21 carne recolhida dos bovinos E, G, H e I, cujo pH inicial se encontrava dentro da gama de valores considerados normais (5,4 - 5,8), depois do processo de embalagem e vácuo e no último dia de armazenamento.

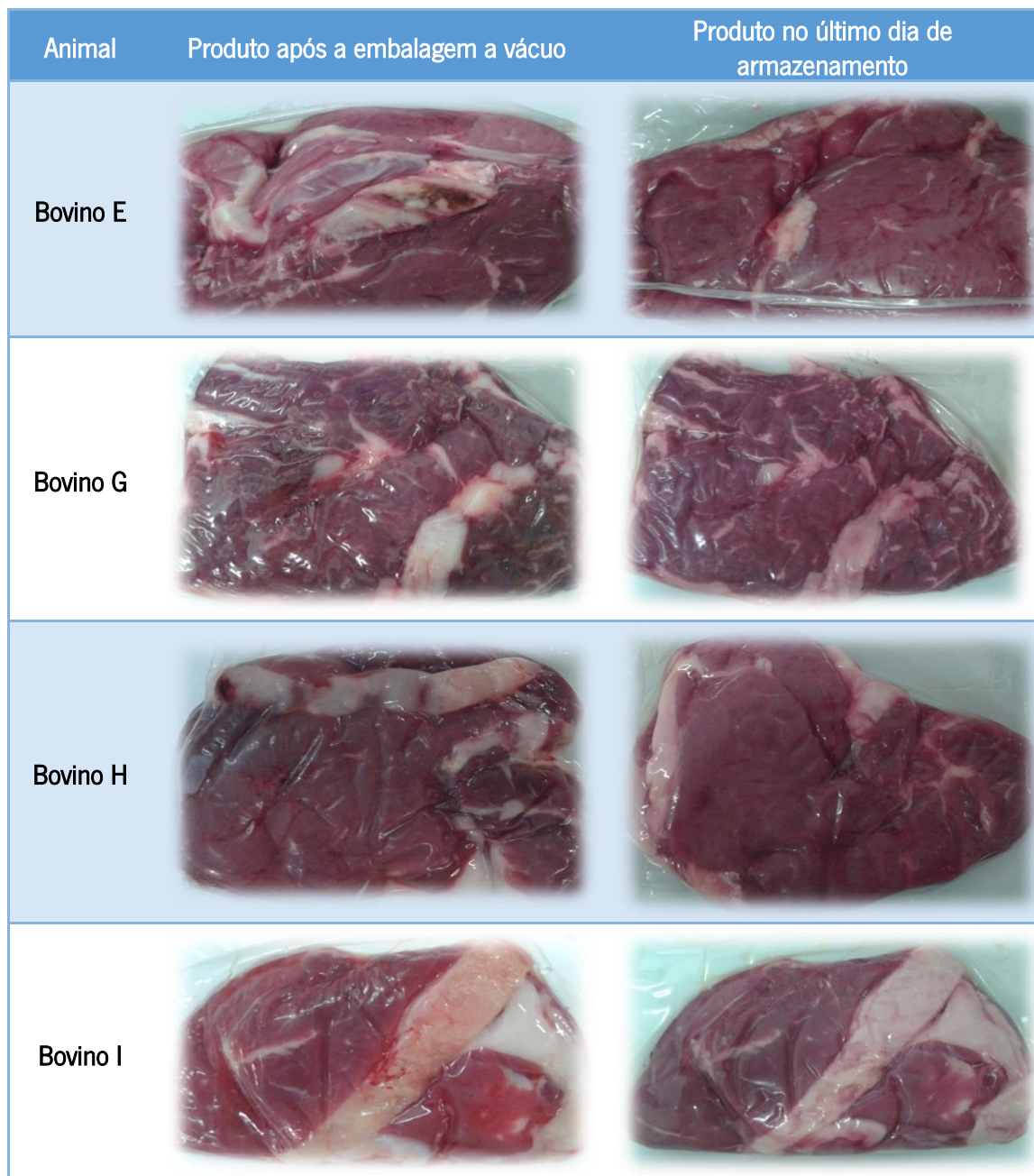


Figura 21 - Aspeto da carne recolhida das carcaças dos bovinos E, G, H e I após a embalagem a vácuo e no último dia de armazenamento.

Um fator preponderante, para um consumidor, no momento da compra de um produto cárneo é a aparência que este exhibe. Carne com uma cor vermelho brilhante é, para o consumidor, mais atrativa do que carne que exhibe uma coloração vermelho escuro (Araújo, 2014). Por outro lado, variações na luminosidade da carne, estão diretamente relacionadas com o pH final do músculo,

grau de hidratação, estrutura das fibras musculares e velocidade do processo de *rigor mortis* da carne (Araújo, 2014).

Analisando as figuras 20 e 21 verifica-se que a carne DFD de facto apresenta uma colocação mais escura que a carne com pH normal. Quanto mais elevado for o valor de pH, maior será a celeridade com que as enzimas utilizarão o oxigénio que ainda predomina a nível muscular, havendo assim uma maior dificuldade para tecidos da carne incorporarem oxigénio suficiente para a formação da oximioglobina (Ferreira, 2005; Miller, 2007; Maganhini, *et al.*, 2007). Para além disso, valores elevados de pH da carne também influenciam a sua capacidade de retenção de água. Para valores de pH superiores a 5,90, as proteínas miofibrilares são detentoras de uma elevada capacidade de retenção de água no interior das células, consequência do facto destes valores de pH estarem distantes do ponto isoeléctrico das proteínas musculares. Consequentemente, para além de contribuírem para a cor escura da carne também tornam a sua textura mais pegajosa, o que dificulta, significativamente, o corte da carne por parte dos manipuladores (Maganhini, *et al.*, 2007).

Uma forma de verificar se a carne se encontra deteriorada é através de alterações da cor desta, pois durante a deterioração da carne sucedem-se inúmeras modificações físicas e químicas, que promovem transformações na aparência da carne. Contudo, nas imagens da carne dos bovinos A a I não são perceptíveis no último dia de armazenamento quaisquer mudanças de cor do vermelho-púrpura, característico de carnes embaladas a vácuo para o esverdeado que é característico de carnes deterioradas.

Na figura 22 pode observar-se a carne dos bovinos J e K após a embalagem a vácuo e ainda ao fim de 23 dias de armazenamento, dentro da embalagem a vácuo e depois de se retirar a carne desta.



Figura 22 - Carne dos bovinos J e K após a embalagem a vácuo, passados 23 dias de armazenamento dentro da embalagem a vácuo e depois de se retirar esta da embalagem.

Analisando as imagens da carne que constam na figura 22 verifica-se, que quando se retira a carne da embalagem esta muda de cor para o vermelho característico de carnes frescas, mudança esta que é justificada pelo facto da carne entrar novamente em contacto com o oxigénio.

De forma geral, foi possível verificar através das fotografias das figuras 20, 21 e 22 que em nenhuma das embalagens a vácuo houve nem a perda de vácuo nem a formação de gás dentro desta. Por outro lado, a carne dos bovinos A a K apresentam uma coloração normal no que concerne a produtos embalados a vácuo.

Em suma, carnes com valores de pH superiores a 5,80 encontram-se mais suscetíveis a alterações de origem microbiana. Este acontecimento surge como consequência de que inúmeros microrganismos têm um ótimo crescimento dentro de uma gama de valores de pH próximos de 7, pelo que quanto mais elevado e próximo de 7 for o valor de pH da carne maior a probabilidade de proliferação microbiana no alimento (Lawrie, 1998). Neste sentido, surge uma dificuldade acrescida em atribuir um longo prazo de validade a produtos com estas características.



5. Conclusões e perspectivas futuras

No presente capítulo são mencionadas as principais conclusões deste trabalho, sendo ainda propostas algumas sugestões que possam enriquecer futuros trabalhos a serem desenvolvidos nesta área.

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

O presente trabalho de estágio possibilitou, numa primeira fase verificar que, o pH é variável consoante o lado da carcaça em que se procede à medição. Pode concluir-se que no lado esquerdo da carcaça é onde se conseguem valores de pH mais elevados, tanto ao nível da 5ª costela como da 14ª costela.

No que respeita a fatores que influenciam o pH da carne, pode inferir-se que o sexo e a idade do animal são dos fatores que mais interferem com o desenvolvimento muscular, e por conseguinte, com o pH final da carne. Bovinos do sexo feminino demonstraram um pH médio de $5,77 \pm 0,03$ e os bovinos do sexo masculino apresentaram um pH médio de $5,70 \pm 0,02$, pelo que as fêmeas são detentoras de músculos com pH mais elevado. Relativamente à idade dos bovinos, apurou-se que quanto mais velhos maior é o pH no músculo *Longissimus dorsi*, pois bovinos com idades entre 0-25 meses apresentaram um pH médio de 5,68 e bovinos com idades entre 100-200 meses ostentam um pH médio de 5,82. Um outro fator estudado foi a influência da conformação da carcaça no pH, tendo-se concluído que carcaças classificadas como mediócras são aquelas que exibem pH mais elevado.

Relativamente à segunda fase do estudo, que correspondeu à determinação do tempo de vida útil de carnes embaladas a vácuo com pH conhecido, e simultaneamente, à perceção de como o pH se comporta e interfere em carne embalada, pode conjecturar-se que além do pH interferir bastante com a validade da carne, também as condições de embalagem como propriedades dos sacos retrácteis utilizados, pressão e tempo de selagem são determinantes.

Carnes embaladas a vácuo com pH superior a 5,80, ou carnes DFD, são mais difíceis para se determinar o seu tempo de vida útil visto que há incremento de desenvolvimento microbiano na carne dentro da embalagem. Por outro lado, a permeabilidade do saco também influencia o crescimento microbiano, no sentido em que carne embalada em sacos com maior permeabilidade ao oxigénio ostentou maior carga microbiana no último dia de armazenamento.

Infere-se ainda que a determinação do tempo de vida útil da carne de bovino embalada a vácuo não foi realizada de forma rigorosa pelo facto de, no decorrer deste estudo, se alterarem variáveis como tipo de saco utilizado na embalagem a vácuo, pressão e tempo de armazenamento. Assim, os resultados obtidos apenas se podem aplicar aquelas condições em particular não podendo ser

extrapolados para a carne bovina no geral. Salienta-se, ainda, que os tempos de vida útil determinados são meramente indicativos e carecem de validação com mais amostras.

Concluiu-se que a determinação do tempo de vida útil de carne oriunda de fêmeas já paridas e de carcaças com conformação classificada como medíocre não foi possível, pois esta carne como ostentava valores de pH entre 6,88 e 5,95, ou seja, carne DFD e exibia uma elevada carga microbiana que excedia os limites aceitáveis no segundo tempo de armazenamento estudado.

No que respeita à variação de pH da carne embalada a vácuo, pode concluir-se que a sua diminuição é sempre acompanhada de uma elevação da carga microbiana, o que permite supor que, de facto, estão a desenvolver-se bactérias lácticas e que, conseqüentemente, produzem ácido láctico que é o principal responsável pelo decréscimo de pH da carne.

Em futuros trabalhos seria interessante selecionar as carcaças em que a sua carne será para embalar a vácuo com base no pH, sendo que a carne DFD deveria ser excluída. Por outro lado deveriam realizar-se novos testes de validade com uma maior amostragem e com intervalos de tempo mais curtos. Era importante definir-se no início do estudo quantos dias após o abate do animal a carne deveria ser desmanchada. Genericamente, os estudos teriam de realizar-se sempre com as mesmas condições, nomeadamente, sacos, pressão e tempo de selagem. Por outro lado, para além da contabilização de microrganismos totais a 30 °C na carne embalada a vácuo poderia realizar-se a identificação dos microrganismos que estavam presentes na carne de bovino embalada a vácuo e a partir daí já se conseguiria inferir quais as enzimas e aminoácidos que eram formadas a partir do metabolismo desses microrganismos.



Bibliografia

Neste capítulo estão registadas todas as referências utilizadas para apoiar a realização deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

Alves, D., Goes, R. H., & Mancio, A. (Julho de 2005). *Maciez da carne bovina* (nº 3 ed., Vol. nº 6). Ciência Animal Brasileira.

Araújo, J. (Maio/Junho/Julho/Agosto de 2014). Qualidade da carne de bovino. *vacaleiteira - Revista da Associação Portuguesa dos Criadores da Raça Frísia*, pp. 54-57.

Batista de Deus, J. C., Silva, W. P., & Soares, G. J. (1999). Efeito da distância de transporte de bovinos no metabolismo post mortem. *5*, pp. 152-156.

Bressan, M., Prado, O., Pérez, J., Lemos, A., & Bonagurio, S. (2001). Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. *Ciênc. Technol. Aliment.*, *21*, pp. 293-303.

Brooks, C. (2007). Beef Packaging. *BEEF FACTS - Product Enhancement*. National Cattlemen's Beef Association.

Carvalho Filho, D., Costa, A., Muratori, M., & Azevêdo, D. (2005). Temperatura e pH de Carcaças de Bovinos Abatidos sob Inspeção Municipal em Teresina, Piauí. *7*, nº 9, 60-66. Revista Científica de Produção Animal.

Castro, A., & Pouzada, A. (2003). *Embalagens para a indústria alimentar*. Instituto Piaget.

Costa, F. (2006). *Caracterização do processo de rigor mortis e da maciez dos músculos Gastrocnemius e Pectoralis e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de peru (Meleagris gallopavo)*. Tese de Doutorado em Higiene veterinária e processamento tecnológico de produtos de origem animal, Universidade Federal Fluminense, Centro de Ciências Médicas, Niterói.

Costa, J. (2013). *IMPACTO DO TRANSPORTE E DO TEMPO NA ABEGOARIA NO pH DAS CARÇAÇAS DE VITELA, EM CONDIÇÕES COMERCIAIS*. Dissertação de mestrado intergrado em medicina veterinária, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.

Dalgaard, P. (1993). *Evaluation and prediction of microbial fish spoilage*. Royal Veterinari and Agricultural University, Copenhagen.

Felício, P. (s.d.). Classificação e tipificação de carcaças bovinas. In *Bovinocultura de corte* (Vol. II, pp. 1257-1276). FEALQ.

Felipe, L. (2008). *Associação de bactérias da família Enterobacteriaceae e Clostridium estertheticum com a deterioração "Blown Pack" em cortes cárneos embalados a vácuo*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo.

Ferreira, G. (2005). *Avaliação do tempo de transporte e descanso de bovinos e seus efeitos na qualidade da carne em carcaças estimuladas eletricamente*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Veterinária, Niterói.

Fornazari, A. (2010). Alternativas para o controle e detecção de microrganismos relacionados com a deterioração do tipo blown pack em carnes embaladas a vácuo refrigeradas. Piracicaba.

Gill, C. (1996). Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Science*, 43, 99-109.

International Office of Epizootics. (2011). *Terrestrial animal health code*. Health World Organisation for Animal, Paris.

Joaquim, C. F. (Julho 2002). *Efeitos da distância de transporte em parâmetros post-mortem de carcaças bovinas*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu – SP.

Kreikemeier, K., Unruh, J., & Eck, T. (1998). Factors affecting the occurrence of dark-cutting beef and selected carcass traits in finished beef cattle. *Journal of Animal Science*, 76, 388-395.

Lambert, A., Smith, J., & Doods, K. (December de 1991). Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. *Food Microbiology*, 8, pp. 267–297.

Lawrie, R. A. (1998). *Ciência da carne* (6ª Edição ed.). Artmed Editora.

Louvois, J., Gilbert, R., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C., . . . Bolton, F. (September de 2000). Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat food sampled at the point of sale. *Communicable disease and public health*, 3, pp. 163-167.

- Mach, N., Bach, A., Velarde, A., & Devant, M. (2008). Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, 78, 232–238.
- Maganhini, M., Mariano, B., Soares, A., Guarnieri, P., & Shimokomaki, M. (2007). Carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e DFD (Dark, Firm, Dry) em lombo suíno numa linha de abate industrial. 69-72. Campinas: Ciênc. Tecnol. Aliment.
- Mantese, F. d. (2012). *Transformação do músculo em carne*. Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS.
- Mantilla, S., Mano, S., Vital, H., & Franco, R. (2010). Atmosfera modificada na conservação de alimentos. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais*, 8, 437-448.
- Matos, J. E. (Março de 2013). Maturação condição essencial à valorização da qualidade de uma carne. *Revista Agrotec*, n° 6, 20-24.
- Miller, M. (2007). Dark, Firm and Dry Beef. *BEEF FACTS - Product Enhancement*. National Cattlemen's Beef Association.
- Moreira, P. (2012). *Validade comercial de presunto de peru fatiado e embalado em atmosfera modificada*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- Newbold, R., & Lee, C. (26 de Março de 1965). Post-Mortem Glycolysis in Skeletal Muscle. *The extent of glycolysis in diluted preparation of mammalian muscle*, n° 97. Biochem.
- Oliveira, C. B., Bortoli, E. C., & Barcellos, J. O. (Outubro de 2008). Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. *38*, n° 7, 2092-2096. Santa Maria: Ciência Rural.
- Panella-Riera, N. (2012). Estructura y composición de la carne. Conversión del músculo en carne. *XI Curso Internacional en Tecnología de Productos Cárnicos. CECOC-PTC*. Cataluña.
- Paz, M. (2009). *Características Gerais da Carne Bovina e Defeitos Relacionados ao Declínio do pH post mortem*. Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Ciência dos Alimentos, Pelotas.
- Pinho, A. P. (2009). *Caracterização físico-químicas de carne bovina de marcas comercializadas no município de Porto Alegre*. Tese de doutoramento, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.

- Poças, M., & Moreira, R. (2003). *Segurança Alimentar e Embalagem*. Porto: ESB/UCP.
- Quidute, P. E. (Janeiro de 2006). *Qualidade sensorial de carnes bovinas resfriadas e embaladas a vácuo em uma central de distribuição de uma rede de supermercados no distrito federal*. Pós-Graduação Latu Sensu, Universidade de Brasília, CET - Centro de Excelência em Turismo, Brasília.
- Regulamento (CE) N° 1234/2007. (22 de Outubro de 2007). *que estabelece uma organização comum dos mercados agrícolas e disposições específicas para certos produtos agrícolas (Regulamento «OCM única»)*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Regulamento (CE) N° 2073/2005. (15 de Novembro de 2005). *Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Texto relevante para efeitos do EEE)*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Regulamento (CE) n°1/2005. (2004 de Dezembro de 22). *Relativo à protecção dos animais durante o transporte e operações afins e que altera as Directivas 64/432/CEE e 93/119/CE e o Regulamento (CE) n.o 1255/97*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Regulamento (CE) n°853/2004. (29 de Abril de 2004). *que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Regulamento (UE) n°1308/2013. (17 de Dezembro de 2013). *Regulamento que estabelece uma organização comum dos mercados dos produtos agrícolas e que revoga os Regulamentos (CEE) n. o 922/72, (CEE) n. o 234/79, (CE) n. o 103797/2001, (CE) n. o 1234/2007 do Conselho*. Jornal Oficial da União Europeia.
- Rossi Júnior, O. D., Felipe, L. M., Martineli, T. M., & Mesquita, A. J. (2011). Estudo da microbiota envolvida na deterioração "blown pack" de cortes cárneos embalados a vácuo. *27*, pp. 94-101.
- Ruiz-Capillas, C., & Jiménez-Colmero, F. (2004). Biogenic Amines in Meat and Meat Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *44*, pp. 489-499.
- Sahlin, K. (1978). Intracellular pH and energy metabolism in skeletal muscle of man. *455*, 1-56. With special reference to exercise. *Acta physiologica Scandinavica*.
- Santos, M. H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *Food Microbiology*, pp. 213-231.

Saraiva, C. (2008). *INFLUÊNCIA DO pH FINAL E TIPO DE EMBALAGEM NA CONSERVAÇÃO DE CARNE DE BOVINO DA RAÇA MARONESA - Parâmetros microbiológicos, físico-químicos, sensoriais e fração volátil*. Dissertação de Doutorado, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro , Vila Real.

Sigarini, C. (2004). *Avaliação bacteriológica da carne de bovino desossada em estabelecimentos comerciais do município de Cuiabá - MT/Brasil*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Veterinária, Centro de Ciências Médicas, Niterói.

Souza, R., Oliveira, R., Rodrigues, R., Ferreira, S., Rodrigues, G., & Nascimento, F. (Janeiro de 2013). Carne Suína PSE e sua correlação com a qualidade: uma revisão de literatura.

Tesser, E. (2009). *O uso de diferentes tipos de embalagem na conservação de carnes bovinas*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre.

Vazquez, R., & Vanaclocha, A. (2004). *Tecnología de mataderos*. España: Ediciones Mundi-Prensa.

Venturini, A. C. (2003). *Embalagens de transporte (Masterpack) com atmosfera modificada e absorvente de oxigênio para aumento da vida útil da carne bovina*. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Warriss, P. D. (2010). *Meat science: an introductory text. 2nd ed.* Wallingford, UK: Cambridge, Oxford: CABI.



Anexos

A1. Propriedades dos sacos retráteis alfa e beta

Nas tabelas A1.1, A1.2, A1.3, A1.4 encontram-se, respetivamente, os valores das propriedades de barreira, mecânicas, óticas e de resistência térmica dos sacos alfa e beta.

Tabela A1.1 - Propriedades de barreira dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados

Sacos	Propriedades de barreira	Condições	Valor	Unidades
Alfa	Vapor de água	40 °C 90 % RH	12	g.m ⁻² dia
	Dióxido de carbono	23°C 80 % RH	100	cc.m ⁻² dia atm.
	Oxigénio	23°C 80 % RH	20	cc.m ⁻² dia atm.
Beta	Vapor de água	40 °C 90 % RH	8	g.m ⁻² dia
		23°C 80 % RH	40	cc.m ⁻² dia atm.
	Oxigénio	23°C 100 % RH	40	cc.m ⁻² dia atm.
		30°C 100 % RH	80	cc.m ⁻² dia atm.

Tabela A1.2 - Propriedades mecânicas dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados

Sacos	Propriedades mecânicas	Condições		Valor	Unidades
Alfa	Resistência à tração	23°C 50 % RH	L	13	kgf.mm ⁻²
			T	14	
	Alongamento até à rutura	23°C 50 % RH	L	148	%
			T	158	
	Módulo secante	23°C 50 % RH	L	90	kgf.mm ⁻²
			T	90	
Resistência à rutura	-	-	-	-	
Beta	Resistência à tração	23°C 50 % RH	L	6	kgf.mm ⁻²
			T	6	
	Alongamento até à rutura	23°C 50 % RH	L	150	%
			T	160	
	Módulo secante	23°C 50 % RH	L	13	kgf.mm ⁻²
			T	13	
Resistência à rutura	23°C 50 % RH	F-D	12	N	

Legenda: L- longitudinal; T - transversal; F-D - fora para dentro

Tabela A1.3 - Propriedades óticas dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados

Sacos	Propriedades óticas	Condições	Valor	Unidades
Alfa	Opacidade		12	
	Brilho	L	120	%
		T	110	
Beta	Opacidade		8	
	Brilho	L	110	%
		T	110	

Tabela A1.4 - Propriedades de resistência térmica dos sacos alfa e beta, cujos valores correspondem às condições em que os sacos foram testados

Sacos	Condições		Valor	Unidades
Alfa	90°C	L	31	%
		T	35	
Beta	75°C	L	41	%
		T	44	
	80°C	L	50	
		T	52	
	90°C	L	58	
		T	55	

A2. Fatores que influenciam pH da carne bovina

De acordo com o que já foi mencionado existem vários fatores que influenciam o pH, como é o caso do sexo e idade, e ainda a conformação da carcaça.

A2.1. Sexo do animal

Na figura A2.1 é possível observar a variação de pH da carne consoante o sexo dos bovinos estudados. No entanto como se verificou uma dispersão dos valores auferidos houve a necessidade de se realizarem médias dos valores obtidos e ainda testes estatísticos.

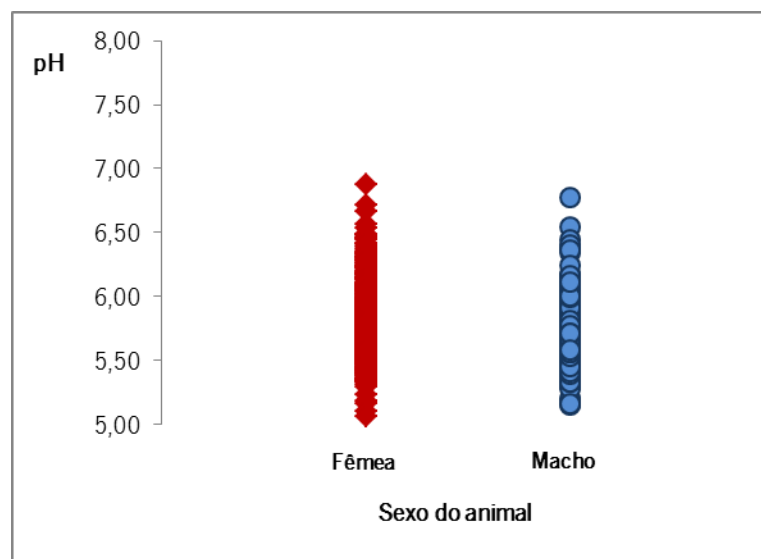


Figura A2.1 - Distribuição do pH pelo do sexo dos bovinos, feminino e masculino.

A2.2. Idade do animal

Na figura A2.2 visualiza-se a dispersão dos valores de pH da carne consoante a idade dos animais. De facto, não é possível retirar quaisquer ilações apenas por observação deste gráfico, pelo que se tiveram de realizar testes estatísticos .

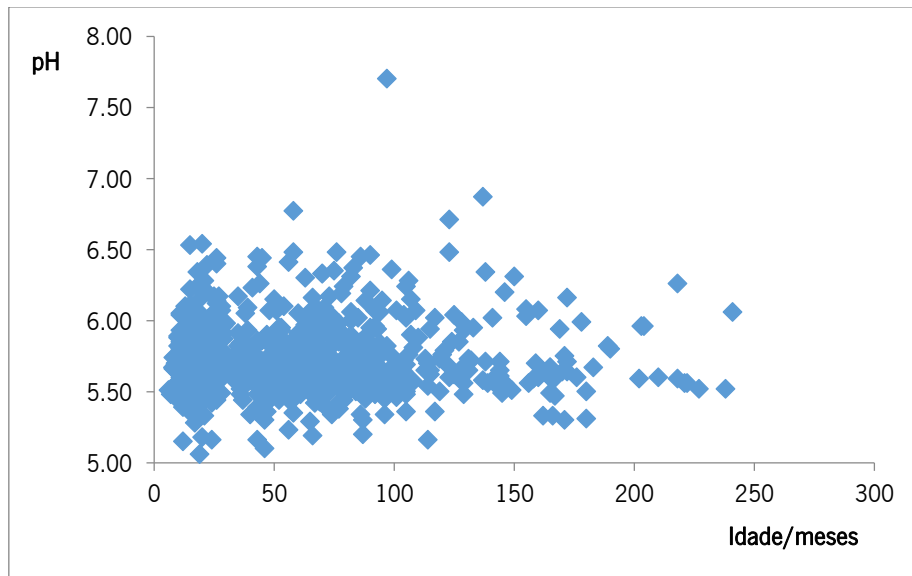


Figura A2.2 - Distribuição do pH consoante a idade dos bovinos.