



Universidade Federal Fluminense

CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DOUTORADO EM HIGIENE VETERINÁRIA E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO
DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

ROBSON LOPES DE ABREU

ANÁLISE DE HIPOXANTINA E HIDROXIPROLINA EM CARNE RESFRIADA DE
JAVALI (*Sus scrofa scrofa*) POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA
E
AVERIGUAR A CORRELAÇÃO ENTRE TEMPO, TEMPERATURA E pH COM A
CONCENTRAÇÃO DE HIPOXANTINA

NITERÓI

2008

ROBSON LOPES DE ABREU

ANÁLISE DE HIPOXANTINA E HIDROXIPROLINA EM CARNE RESFRIADA DE
JAVALI (*Sus scrofa scrofa*) POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA
E
AVERIGUAR A CORRELAÇÃO ENTRE TEMPO, TEMPERATURA E pH COM A
CONCENTRAÇÃO DE HIPOXANTINA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal

Orientador: Prof. Dr. IACIR FRANCISCO DOS SANTOS
Co-orientador: Dr. RONOEL LUIZ DE OLIVEIRA GODOY

Niterói

2008

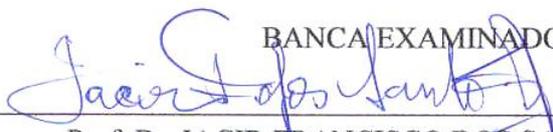
ROBSON LOPES DE ABREU

ANÁLISE DE HIPOXANTINA E HIDROXIPROLINA EM CARNE RESFRIADA DE
JAVALI (*Sus scrofa scrofa*) POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA
E
AVERIGUAR A CORRELAÇÃO ENTRE TEMPO, TEMPERATURA E pH COM A
CONCENTRAÇÃO DE HIPOXANTINA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor. Área Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal

Aprovada em 29 de fevereiro de 2008.

BANCA EXAMINADORA



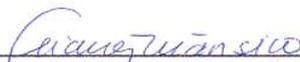
Prof. Dr. IACIR FRANCISCO DOS SANTOS – Orientador
UFF



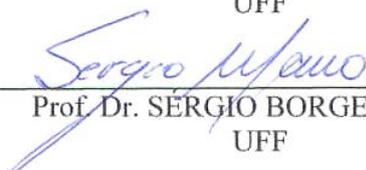
Dr. RONOEL LUIZ DE OLIVEIRA GODOY – Co-Orientador
EMBRAPA AGROINDUSTRIA DE ALIMENTOS – CTAA



Prof. Dr. CELSO GUIMARÃES BARBOSA
UFRRJ



Profa. Dra. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO
UFF



Prof. Dr. SÉRGIO BORGES MANO
UFF

Niterói

2008

DEDICATÓRIA

“O vencedor é aquele que aprendeu que o sucesso deve ser avaliado não pelas conquistas, mas pelos obstáculos vencidos ao longo do percurso”.

Fonte: César Romão, autor do livro *Sonhando e Realizando*.

Aos meus pais, Julião e Heloisa, que compreenderam minha ausência; tinham certeza que a causa era justa.

Ao meu filho, Robson, que mesmo à distância, nunca faltou com seu apoio.

A minha namorada, companheira incansável e musa, Josete Esteves da Costa, pelos incentivos, pela ajuda direta e indireta, criando infra-estrutura organizacional compatível com o trabalho realizado, pela paciência e compreensão em relação às alterações em nosso *modus vivendi* durante este período de quatro anos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Deus por manter-me com saúde e disposição; pela motivação e perseverança a fim de não desviar dos objetivos que algum dia idealizei, e, por me conceder forças para ultrapassar todas as dificuldades que se apresentaram no decorrer destes últimos quatro anos.

Ao Sr. Vanderley Ravello, proprietário da Granja Ravello que disponibilizou os animais e doou as amostras usadas nesta pesquisa.

À Diretoria da Cooperativa dos Suinocultores de Caí Superior Ltda. na pessoa de seu Diretor Industrial, Sr. Valmor Jensen que me deixou à vontade e atendeu minhas necessidades durante as atividades de coleta e acondicionamento das amostras; ao Gerente de Produção, Sr. Pedro Cacildo de Massena e sua equipe pela ajuda inestimável durante nosso trabalho no Matadouro.

Ao Serviço de Inspeção Federal (SIF), na pessoa do colega Fiscal Federal Agropecuário Júlio Grass, líder da equipe do SIF 0459 onde se destacaram os Agentes Agropecuários, Srs. Nelson e Cláudio, assim como a Srta. Kátia Flach, responsável pelas atividades da Secretaria.

À EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, na pessoa do Sr. Chefe Adjunto Substituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Dr. Rogério Germani, e extensivo aos funcionários e estagiários, especialmente aqueles do Laboratório de Cromatografia Líquida: Srs. Sidney Pacheco, pelo seu empenho e dedicação a uma causa que não era sua, mas se realizava ajudando, em fazer acontecer e ao Rafael dos Santos Souza, estagiário paciente e dedicado, assim como por sua desenvoltura durante as atividades laboratoriais.

Ao Prof. Celso Guimarães Barbosa que, com muita tranquilidade e eficácia contribuiu com seus conhecimentos, especialmente na área de Estatística.

À Prof^a. Arlene Gaspar, que me socorreu cedendo o padrão de hidroxiprolina, na medida exata de nossa necessidade.

Ao Dr. Ronoel Luiz de Oliveira Godoy, co-orientador neste trabalho e quem viabilizou o projeto a tornar-se uma pesquisa e, de quem assimilei muito conhecimento.

Ao Prof. Iacir Francisco dos Santos, orientador tranqüilo, paciente e atento emprestando seus conhecimentos, inclusive em áreas afins, em prol da ciência.

Aos Srs. Membros desta Douta Banca Examinadora por ter contribuído, sobretudo, no enriquecimento deste trabalho de pesquisa.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 Cromatograma do padrão de hipoxantina na concentração 20,2µg/mL, f. 43
- Fig. 2 Curva de calibração para hipoxantina, f. 43
- Fig. 3 Esquema das fórmulas estruturais dos aminoácidos hidroxiprolina e prolina, f. 44
- Fig. 4 Superposição cromatogramas dos padrões hidroxiprolina e prolina demonstrando tempos de retenção de 11,1min e 22,8min respectivamente, f. 45
- Fig. 5 Curva de calibração para hidroxiprolina, f. 46
- Fig. 6 Esquema da Reação de derivatização, f. 47
- Fig. 7 Valores médios de hipoxantina em músculos “LD” e “IE” nos oito momentos durante as 360 horas do estudo, f. 49
- Fig. 8 Valores médios de pH em músculos “LD” e “IE” nos oito momentos durante as 360 horas do estudo, f. 49
- Fig. 9 Valores médios de temperatura em músculos “LD” e “IE” nos oito momentos durante as 360 horas do estudo, f. 50
- Quadro 1 Médias e velocidades da variação de pH nos músculos “LD” e “IE” de javali, em cinco períodos durante 360 horas após sangria, f. 50
- Fig. 10 Valores médios de pH obtidos nos músculos “LD” e “IE”, f. 52
- Quadro 2 Médias e velocidades de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali, em cinco períodos, durante 360 horas de estudo, f. 55
- Fig. 11 Concentração de hipoxantina em músculos “LD” e “IE” de javali nos oito momentos após sangria, f. 56
- Fig. 12 Concentração de hipoxantina em amostras de músculos “LD” e “IE” de javali durante 360h de observação, f. 57

- Quadro 3 Médias e velocidades de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali, em três períodos, durante 360 horas de estudo, f. 58
- Quadro 4 Médias e velocidade de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali, no período de 360h de estudo, f. 59
- Fig. 13 Comparação entre médias dos valores de pH e da concentração de hipoxantina em músculo “LD” de javali, em oito momentos, durante 360h, f. 61
- Fig. 14 Comparação entre médias dos valores de pH e da concentração de hipoxantina em músculo “IE” de javali, em oito momentos, durante 360h, f. 61
- Fig. 15 Coeficiente de correlação de Pearson, f. 62
- Fig. 16 Média de concentração em hidroxiprolina em amostras de músculos “LD”, “IE” e de javali, f. 63
- Fig. 17 Evolução da média de hidroxiprolina em músculos “LD” e “IE” de javali em três momentos durante 360h após sangria, f. 63
- Fig. 18 Média da concentração em hidroxiprolina em músculos (média entre “LD” e “IE”) de javali nas primeira e 360 horas após sangria, f. 66

LISTA DE TABELAS

- TABELA1 - Construção da curva de calibração de hidroxiprolina, f. 89
- TABELA2 - Temperatura dos músculos “LD” e “IE” nos diferentes momentos *post mortem* de javalinas e javardos, f. 89
- TABELA3 - Média e desvio padrão dos valores de temperatura entre músculos “LD” e “IE” de javali, f. 90
- TABELA4 - Análise de variância para a variável temperatura, f. 90
- TABELA5 - Valores médios de temperatura nos músculos “LD” e “IE”, f. 90
- TABELA6 - Valores de pH dos músculos “LD” e “IE” em javalinas e javardos com médias nos diferentes momentos após sangria, f. 91
- TABELA7 - Valores de pH dos músculos “LD” e “IE” em javalinas e javardos durante os diferentes momentos após sangria, f. 92
- TABELA8 - Análise de variância para a variável pH, f. 93
- TABELA9 - Valores médios de pH por músculo, f. 93
- TABELA10 - Concentração de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” em javalinas e javardos nos diferentes momentos *post mortem* e respectivas médias, f. 94
- TABELA11 - Concentração de hipoxantina no músculo “IE” de javali após sangria, f. 95
- TABELA12 - Concentração de hipoxantina no músculo “LD” de javali após sangria, f. 95
- TABELA13 - Análise de variância para a variável hipoxantina em javali, f. 96
- TABELA14 - Valores médios da concentração de hipoxantina por músculo, f. 96
- TABELA15 - Coeficiente de correlação linear de Pearson, f. 96
- TABELA16 - Concentração de hidroxiprolina nos músculos “LD” e “IE” em javalinas, javardos e javali em três momentos *post mortem*, f. 97

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| | |
|-----------|---|
| AA | Aminoácido |
| AMQ | Aminoquinoline |
| AOAC | Association of Official Agricultural Chemists |
| AQC | aminoquinolhidroxicarbamato |
| DIPOA | Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal |
| Hx | Hipoxantina |
| IBAMA | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis |
| IE | Músculo infra-espinhoso (<i>Infraspinatus</i>) |
| LD | Músculo longo dorsal (<i>Longissimus dorsi</i>) |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| NHS | N-hidroxysuccinimide |
| RIISPOA | Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal |
| UFF | Universidade Federal Fluminense |
| UFRRJ | Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro |
| mmHg | Milímetro de mercúrio. Unidade de pressão |
| un/h | Unidade por hora. Para designar uma relação (taxa) |
| 2n | Número diplóide |
| kcal/100g | Quilocaloria por cem gramas |
| cal/mol | Caloria por molécula grama |
| µg | Micrograma = 10^{-6} grama |
| ng | Nanograma = 10^{-9} grama |
| pg | Picograma = 10^{-12} grama |
| mM | Unidade de concentração milimolar |

RESUMO

A demanda por carnes “não convencionais” tem aumentado nos últimos anos, seja por seu valor nutricional, devido à maior proporção em proteínas e menor em gordura, seja por seu forte sabor e maciez. Quanto a estas características existem poucas pesquisas no que concerne à carne de javali, razão pela qual se elaborou projeto com objetivo de apreciar a transformação do músculo em carne face à evolução de tempo, temperatura e pH; e, especificamente quantificar hipoxantina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando-se detector ultra violeta, e, hidroxiprolina, também por CLAE, aplicando-se a técnica de Derivatização pré-coluna com 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate na análise cromatográfica. Foram estudados músculos longo dorsal (“LD”) e infra-espinhoso (“IE”) de seis animais (duas fêmeas com idade de cinco anos e quatro jovens entre sete e oito meses) provenientes de um único criatório e abatidos em matadouro-frigorífico sob o regime sanitário da Inspeção Federal, ambos localizados no Estado do Rio Grande do Sul. As 96 amostras foram coletadas em oito momentos (h) diferentes (1 – 6 – 8 – 12 – 24 – 72 – 240 e 360) após a sangria e analisadas no laboratório de CLAE da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Verificou-se a partir de 240 horas após sangria um aumento significativo na formação de hipoxantina; a média do valor para temperatura (°C), em cada músculo estudado foi 7,82 (“LD”), 11,08 (“IE”) e 9,45 (média entre músculos); a média do valor para pH foi 5,9 (“LD”), 6,17 (“IE”) e 6,04 (média entre músculos); a média da concentração em hipoxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) foi 212,17 (“LD”), 318,73 (“IE”) e 265,45 (média entre músculos). Constatou-se diferença significativa entre “IE” e “LD” em todos os resultados. A média da concentração em hidroxiprolina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) foi 261,4 (“LD”), 343,0 (“IE”) e 302,2 (média entre músculos). Concluiu-se que: não houve correlação entre as variáveis tempo e temperatura, com a concentração de hipoxantina; houve correlação positiva, regular (0,417), entre pH e concentração de hipoxantina; a concentração em hipoxantina foi $1,95\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$; a concentração, em hidroxiprolina foi $2,3\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ e a análise cromatográfica aplicando-se a técnica de Derivatização pré-coluna com 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate, pioneira na quantificação de hidroxiprolina no Brasil, demonstrou eficácia e sensibilidade inerentes às técnicas modernas.

Palavras-chave: Javali. Carne de javali. Carne não convencional. Hipoxantina. Hidroxiprolina. Correlação. CLAE.

ABSTRACT

The demand for “not conventional” meats has increased in the last years, either for its nutritional value, due to bigger ratio in proteins and minor in fat, either for its strong flavor and soft. How much to these characteristics few research exists in that it concerns to the wild boar meat, reason for which if elaborated project with objective to appreciate the transformation of the muscle in meat face to the time evolution, temperature and pH; and specifically to quantify hypoxanthine for liquid chromatography of high efficiency (CLAE), using violet extreme detector, and hydroxyproline, for CLAE, also applying itself it technique of Derivatization daily pay-column with 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate in the chromatographic analysis. Muscles *Longissimus dorsi* ("LD") and *Infraspinatus* ("IE") of six animals (two females with age five year and four young ones between seven and eight months) proceeding from an only breeder and abated in slaughterhouse-cold storage room under the sanitary regimen of the Federal Inspection had been studied, both located in the State of the Rio Grande do Sul. The samples had been collected at eight different after the bleeding and analyzed moments in the laboratory of CLAE of the Embrapa Agroindústria de Alimentos. Bleeding was verified after from 240 hours significant increase in the hypoxanthine formation; the average of the value for temperature ($^{\circ}\text{C}$), in each studied muscle was, 7.82 ("LD"), 11.08 ("IE") and 9.45 (average between muscles); the average of the value for pH was 5.9 ("LD"), 6.17 ("IE") and 6.04 (average between muscles); the average of the concentration in hypoxanthine ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of meat) was 212.17 ("LD"), 318.73 ("IE") and 265.45 (average between muscles). Significant difference of the "IE" was evidenced on the "LD" in all the results. The average of the concentration in hydroxyproline ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of meat) was 261.4 ("LD"), 343.0 ("IE") and 302.2 (average between muscles). One concluded that: correlation between the variable was not evidenced time and temperature, with the hypoxanthine concentration; positive, regular (0.417) correlation was evidenced, between pH and concentration of hypoxanthine. The concentration in hypoxanthine was $1.95\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$; the quantification in hydroxyproline was $2.3\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ and the chromatographic analysis applying it technique of Derivatization daily pay-column with 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate, pioneer in the quantification of hydroxhproline in Brazil, demonstrated to inherent effectiveness and sensitivity to the modern techniques.

Keywords: Wild boar. Meat of wild boar. Not conventional meat. Hypoxanthine. Hydroxyproline. CLAE.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO, p. 14

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, p. 16

2.1 JAVALI: ORIGEM, LEGISLAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA CARNE, p. 16

2.1.1 Origem e aspectos gerais do javali, p. 16

2.1.2 Legislação, p. 17

2.1.3 Composição nutricional da carne de javali e de outras espécies, p. 18

2.2 HIDROXIPROLINA, p. 18

2.3 HIPOXANTINA, p. 20

2.4 ESTRUTURA HISTOQUÍMICA DO MÚSCULO ESQUELÉTICO, p. 21

2.5 GLICÓLISE *post mortem* E DECLÍNIO DE pH, p. 25

2.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA, p. 35

3 MATERIAL E MÉTODOS, p. 37

3.1 MATERIAL, p. 37

3.1.1 Amostras, p. 37

3.1.2 Material de consumo, p. 37

3.1.3 Material permanente, p. 38

3.1.4 Padrão, p. 39

3.1.5 Reagentes e soluções, p. 39

- 3.2 MÉTODOS, p. 40
- 3.2.1 Na frigorificação, p. 40
- 3.2.2 Planejamento experimental, p. 40
- 3.2.3 Coleta de amostras, p. 41
- 3.2.4 Mensuração da temperatura, p. 41
- 3.2.5 Mensuração do pH, p. 42
- 3.2.6 Transporte das amostras para o laboratório, p. 42
- 3.2.7 Quantificação da hipoxantina, p. 42
- 3.2.8 Quantificação da hidroxiprolina, p. 44
- 3.2.9 Análise estatística, p. 47

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO, p. 48

- 4.1 TEMPO, p. 48
- 4.2 TEMPERATURA DOS MÚSCULOS, p. 50
- 4.3 pH DOS MÚSCULOS, p. 51
- 4.4 HIPOXANTINA, p. 54
- 4.4.1 Média de concentração de hipoxantina, p. 55
- 4.4.2 Velocidade média de formação de hipoxantina, p. 58
- 4.4.3 Comparação entre pH e concentração de hipoxantina por músculo, p. 59
- 4.5 CORRELAÇÃO, p. 62
- 4.6 HIDROXIPROLINA, p. 62

5 CONCLUSÃO E SUGESTÃO, p. 67

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 68

7 APÊNDICES, p. 78

- 7.1 MODÉLO DE RELATÓRIO PARA ENTREVISTA, p. 79
- 7.2 FOTOGRAFIAS, p. 85
- 7.3 TABELAS, p. 89

8 ANEXOS, p. 98

- 8.1 MAPA ESTATÍSTICO DE ABATE, p. 99

1 INTRODUÇÃO

A demanda por carne “não convencional”, especialmente de javali, aumenta gradativamente, mormente pelos restaurantes mais finos, sejam isolados (independentes) ou em hotéis, atendendo a um público cada vez maior, tendo em vista o seu valor nutricional. Hoje a oferta de carne de javali está muito aquém da demanda, de acordo com informações obtidas junto aos criadores. Poucos estudos existem sobre a carne dos animais criados nas condições brasileiras. Em relação ao aspecto sensorial apresenta sensação de maior maciez e acentuado saboroma.

Segundo Cicco (1995), a criação de javali tem crescido, a partir de 1991, no município de Caxias do Sul – RS, sendo encontrados vários criatórios nos estados de Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo. Os criadores estão organizados em associações e parcerias como a Javali Selvagem “36 C” que comercializa sua carne em carcaças inteiras, em cortes, produtos defumados e processados. Mantém seus parceiros legalizados junto ao IBAMA e com a identificação de propriedade dos animais por *microchips*, com avaliação e certificação em nível de plantel – Certificado de Qualificação Racial (CQR).

Segundo a revista Regional Agrícola (2002), o mercado da carne de javali é promissor, podendo ser alternativa viável para o meio ambiente. Dos criatórios visitados, dois estão situados no Estado de São Paulo, três em Santa Catarina e dois no Rio Grande do Sul. Os estabelecimentos de abate, com Serviço de Inspeção Federal (SIF) estão localizados principalmente nos Estados de Rio Grande do Sul, São Paulo e Santa Catarina.

Quanto aos matadouros-frigoríficos visitados, um encontra-se localizado no Estado de São Paulo e está sob fiscalização da Inspeção Sanitária Estadual, e dois estabelecidos, respectivamente em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, ambos sob o regime de Inspeção Sanitária Federal. As empresas distribuidoras Land Java; Sanglier Carnes Especiais; J.P.A.; Lafatoria Produtos Alimentícios; Frigorífico Bel Paladar Ind. e Com. de Alimentos Ltda. e Frigoeste estão localizadas respectivamente em: Antonio Prado / RS e Jundiá / SP; Ribeirão

Preto / SP; Santa Felicidade / PR e Bacacheri / PR. Existem, ainda, estabelecimentos de transformação, elaborando embutidos artesanais. A carne produzida é comercializada totalmente no mercado interno, não tendo sido encontrado maiores informações a respeito.

Além da carne, Silva et al. (2003) afirmaram que a pele de javali apresenta condições de uso tanto pela face carnal quanto pela flor, aliando-se às peles atualmente utilizadas, e, em alguns casos, substituindo-as com qualidade.

Conforme dados do DIPOA / MAPA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal / Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), Brasil (2002, 2003, 2004, 2005 e 2006), foram abatidos, no ano de 2002, dois mil oitocentos e quarenta e oito animais, e, em 2003, dois mil novecentos e dezenove animais; em 2004 o total de javalis abatidos foi quatro mil e noventa e cinco animais, e em 2005 o abate somou dois mil novecentos e quarenta e sete animais e em 2006 o total de animais abatidos foi mil setecentos e dezesseis (Anexo 1).

Devido à carência de literatura sobre carne de javali, decidiu-se realizar estudos tendo como objetivo geral analisar a transformação do músculo em carne face à evolução das variáveis: tempo, temperatura e pH; e, como objetivos específicos: quantificar hipoxantina e hidroxiprolina, ambas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), respectivamente por análise cromatográfica com detector ultravioleta e por fluorescência, avaliando a técnica de derivatização em vários momentos após a sangria dos animais e observar a correlação entre formação de hipoxantina com as variáveis mencionadas.

Face o aspecto sensorial que apresenta, a expectativa é encontrar elevada concentração de hipoxantina e baixa quantidade de hidroxiprolina em comparação com a carne de outras espécies relatadas na literatura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 JAVALI: ORIGEM, LEGISLAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA CARNE

2.1.1 Origem e aspectos gerais do javali

Fuente (1979) escreveu que os javalis pertencem à seguinte classificação zoológica: classe dos mamíferos, ordem Artiodáctila, família *Suidae*, sub-família *Suinae* e ao gênero *Sus*. São animais corredores, possuindo membros torácicos e pélvicos curtos e delgados em relação ao tamanho do corpo, com número par de dedos, conseguindo desenvolver bastante velocidade. Os adultos possuem corpo maciço, cabeça cônica, de focinho alongado (beijada). Pelagem composta por cerdas muito grossas, que sobressaem de uma espessa e áspera felpa; tom geralmente preto, podendo apresentar-se acinzentado ou pardacento. Crina erétil que percorre o dorso a partir da parte anterior. São onívoros, alimentando-se de raízes, frutos, cogumelos, larvas de insetos e pequenos vertebrados. A arcada dentária completa consta de quarenta e quatro dentes sendo seis incisivos, dois caninos, oito pré-molares e seis molares. Os caninos são usados para defesa e os pré-molares e molares são apropriados à mastigação. Os olhos são pequenos, contudo o olfato e a audição apresentam considerável desenvolvimento. Para procurar alimento revolvem a terra com a beijada e os caninos, graças à enorme potência dos músculos da nuca, que se traduz por um grande desenvolvimento da crista occipital do crânio, onde aqueles músculos se inserem. O período de gestação varia entre 16 e 20 semanas. Os javardos (filhotes) nascem com os olhos abertos, beijada curta, com 10 dentes, entre os quais quatro caninos, completando a dentição aos 6 meses. Apresentam pelagem leonada, extraordinariamente mimética, composta por faixas longitudinais alternadamente claras e escuras. A fase de amamentação dura cerca de dez semanas, embora durante a segunda ou terceira os jovens já consigam fuçar o solo, comendo alguns vegetais e animais. Aos 6 meses, o pêlo dos jovens já é totalmente avermelhado. A

maturidade sexual é alcançada entre 8 e 10 meses de idade. Com um ano, sua cor já é castanha ou preta e os caninos começam a se destacar nos machos. O estômago pode considerar-se como de transição para os ruminantes e é formado por um saco simples com um leve esboço de duas bolsas.

Segundo Wallach e Boever (1983), a temperatura corporal considerada normal para o javali está entre 38,3°C e 39,1°C e seu pulso entre 60 e 80 pulsações por minuto, elevando-se a 180 batimentos por minuto quando o animal é excitado. A pressão arterial, medida em nível de carótida, é de 169mmHg e, os movimentos respiratórios oscilam entre 12 e 20 / minuto, aumentando em dias quentes.

Cavalcanti (1984) afirma que todas as raças conhecidas de porcos podem ser filiadas a dois grandes grupos específicos: *Sus scrofa* (descendentes do javali europeu) e *Sus vittatus* (porcos selvagens originários da Índia).

Miranda e Luí (2003), estudando a citogenética do javali em 1.308 animais provenientes de criatórios comerciais das regiões Sul e Sudeste do Brasil encontraram 46,71% de animais com número diplóide (2n) de 36 cromossomos, 39,68% com 37 cromossomos e 13,61% com 38 cromossomos. Atualmente considera-se o cariótipo padrão para o javali europeu (*Sus scrofa scrofa*) como sendo 2n=36, o porco doméstico 2n=38 cromossomos e animais híbridos, resultantes do cruzamento do javali com o porco doméstico, com 2n=37 cromossomos.

2.1.2 Legislação

A Portaria n° 102/ 1998 do IBAMA (BRASIL, 1998), designa no art. 20, que :

“os proprietários de criadouros de javali - *Sus scrofa scrofa* e seus híbridos já existentes deverão no prazo de 60 (sessenta) dias informar ao IBAMA a sua existência, garantindo o direito de apresentação da documentação”.

Nos parágrafos 1° e 2° a legislação é explícita:

“Fica proibida a implantação de criadouros comerciais de javali-europeu - *Sus scrofa scrofa*, em todo o Território Brasileiro que não estiverem de acordo com a presente Portaria. É permitido a transferência e o transporte de espécimes vivos de javali entre os Estados da Federação para aqueles criadouros devidamente registrados junto ao IBAMA ou quando os animais destinarem-se ao abate em frigoríficos ou abatedouros, mediante apresentação da licença de transporte do IBAMA e da Guia de Transporte Animal - GTA, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento”. No art. 21 e seu parágrafo único o documento determina que: “Os criadouros comerciais de javali

européu já instalados ou em funcionamento, terão prazo de 180 (cento e oitenta) dias contados a partir da data de publicação desta Portaria, no Diário Oficial da União, para regularizar sua situação junto ao IBAMA, em função das normas estabelecidas por esta Portaria. Findo o prazo estipulado o IBAMA poderá exigir o abate dos animais”.

2.1.3 Composição nutricional da carne de javali e de outras espécies

Em Gaspar (2003), a respeito da composição nutricional da carne de diversas espécies utilizadas na alimentação humana, encontra-se respectivamente para lipídeos (%), protéidos (%) e calorias (kcal/100g), as seguintes informações: bovinos: 11,50; 22,50 e 193,50 (MIDORIKANA,1993); frango: 3,08; 21,39 e 112,28 (USDA, 1979); peixe: 15,00; 15,00 e 195,00 (VIVEIROS, 1996); jacaré: 1,20; 22,80 e 102,00; capivara: 4,50; 22,1 e 129,00; cateto/queixada: 8,30; 16,80 e 142,00; javali: 2,80; 22,00 e 113,00; avestruz: 2,70; 25,5 e 126,00; rã: 0,30; 19,90 e 83,00 (IBGE, 1981); tartaruga (*C. mydas*): 1,00; 18,50 e 83,00 (CHALLIOL et al.,1983).

2.2 HIDROXIPROLINA

Deulofeu e Marenzi (1955a) descreveram a hidroxiprolina ou ácido L (-) γ hidroxí α pirrolin-carbônico como pertencente ao grupo dos iminoácidos; peso molecular igual a 131,08; ponto de fusão 270°C e é glicogenético ou seja, capaz de se transformar em ácido glutâmico. É aminoácido não essencial obtido por hidrólise de protéidos, destacando-se por ser exclusivo do colágeno, elemento básico do tecido conjuntivo. É usada como parâmetro para se estabelecer a quantidade de colágeno presente na carne e em produtos derivados. O colágeno é formado por três cadeias polipeptídicas, cada uma com aproximadamente 1000 aminoácidos. É um protéido natural do grupo simples do tipo escleroprotéidos. É classificado como fibroso. Apresenta estrutura enroscada ou em forma de hélice, da cadeia de aminoácidos. Caracteriza-se por sua insolubilidade na água destilada, sendo difícil sua hidrólise e, resiste à maior parte das ações enzimáticas. Forma a principal substância dos ligamentos brancos e o principal protéido dos ossos e cartilagens. Tratado com ácido em meio aquoso ele se solubiliza e se transforma em gelatina; é atacado pela pepsina (suco gástrico), mas não o é pela tripsina (suco pancreático). A prolina e a hidroxiprolina são aminoácidos não essenciais e glicogenéticos. Foi demonstrado que a prolina converte-se parcialmente a

hidroxiprolina por mecanismo enzimático, por oxidação. A partir do ácido glutâmico pode haver formação de prolina e hidroxiprolina.

Consta em Pardi et al. (2001) que as condições de estrutura, consistência e textura da carne, difíceis de serem medidas objetivamente, são tidas pelos consumidores como as propriedades sensoriais que mais os interessam. Os métodos químicos destinados a avaliar a consistência da carne fundamentam-se na determinação do tecido conjuntivo através, por exemplo, da hidroxiprolina e da digestão enzimática, além de outros. Três tipos de proteínas dos músculos contribuem na consistência da carne: as do tecido conjuntivo, as da miofibrila e as do sarcoplasma.

Alvarez (2001), estudando *Longissimus dorsi* de bovino constatou, respectivamente para colágeno e hidroxiprolina, em mg/100g de amostra, 824,00 e 103,00.

Gaspar (2003) citou que o tamanho dos feixes musculares e a quantidade de tecido conjuntivo que os mantém ligados determinam a textura da carne. Quando as fibras são pequenas em diâmetro, a textura da carne é melhor. Outros fatores que influem na textura da carne são: a espécie, a alimentação e atividades físicas. Animais de boa qualidade e bem nutridos, sujeitos habitualmente a poucos exercícios, possuem carne com textura mais adequada (CRAWFORD, 1985). Pesquisas mostraram que o colágeno tem um papel importante no endurecimento da carne durante o cozimento (DRANSFIELD, 1977). Não apenas o teor de colágeno era responsável por variações em dureza da carne, mas sim uma combinação de *crosslinking* (entrecruzamento de fibras musculares) de colágeno, diferenças no conteúdo de colágeno e diâmetro da fibra perimisial respondiam por variações de dureza entre os músculos. Em geral, foi observado que músculos com alto teor de colágeno possuíam concentração de *crosslink* mais elevada (SHIMOKOMAKI et al., 1972; LIGHT et al., 1985). No que concerne ao teor de colágeno e hidroxiprolina (mg/100g de amostra), Gaspar (2003) encontrou respectivamente para fêmeas e machos encontrou os seguintes valores: 651,43 e 582,86; 81,40 e 72,86.

Segundo Pereira (2003), dentre as características sensoriais que contribuem para a qualidade da carne, a maciez é provavelmente a mais importante. Para alguns pesquisadores, músculos com pouco tecido conjuntivo resultavam em carnes mais macias que aqueles com menor teor de tecido conjuntivo. Porém, somente o colágeno não foi suficiente para explicar a variabilidade da maciez em carnes bovinas. A deposição de gordura intramuscular (marmorização) está diretamente relacionada à palatabilidade e suculência da carne. Além disso, tem sido correlacionada com a textura, devido ao seu efeito de diluição do tecido conjuntivo. Entretanto, pesquisas posteriores comprovaram que a presença de marmorização

na carne tem pequena influência em sua maciez, variando entre 10 ou menor que 15%. Por outro lado, pelo fato de ser extremamente importante no aspecto de palatabilidade (sabor e suculência) é muito utilizada como parâmetro de qualidade em diversos sistemas de classificação de carcaças, tornando-se um importante fator de qualidade. É de extrema importância identificar os sistemas que atuam no processo de maciez da carne de bovinos.

Os consumidores consideram a textura da carne um importante atributo de qualidade, sendo esta determinada principalmente, pelas proteínas presentes no tecido conjuntivo e nas miofibrilas. O aumento da textura causado pelas proteínas do tecido conjuntivo é explicado pela formação e estabilidade das pontes cruzadas das moléculas de colágeno formadas com o avanço da idade do animal. A textura promovida pelas proteínas miofibrilares é afetada pelo desenvolvimento do *rigor mortis* e depende do manuseio da carcaça durante o processo de maturação (SHIMOKOMAKI et al.,2006).

Zochowska et al. (2005) avaliaram a textura, histologia e características de músculos como *Quadriceps femoris*, *Biceps femoris* e *Semimembranosus* de carcaças de javalis com diferentes pesos (20 ± 2 e 60 ± 3 kg). Músculos jovens mostraram valores menores para textura e camadas delgadas de perimísio e endomísio em relação a músculos velhos. A maior dureza foi verificada no *Biceps femoris* e a maior percentagem de fibras tipo I e II foi típica de *Biceps femoris* e *Semimembranosus* seja em músculos jovens ou velhos, enquanto a menor percentagem de fibras tipo I e maior percentual de fibras tipo II foi encontrada no músculo *Quadriceps femoris*. Os resultados sugeriram que a dureza pode estar relacionada com perimísios e endomísios espessos, fibras com corte transversal maior e provavelmente com maior conteúdo de fibras vermelhas (tipo I).

2.3 HIPOXANTINA

A hipoxantina é uma base purínica isolada dos ácidos nucléicos e produto de degradação do adenosinotri-fosfato e da transformação do ácido inosínico. Pertence ao grupo das xantinas apresentando uma hidroxila ou carbonila em seu anel cíclico. É hidrossolúvel e seu peso molecular é 136,1. Os produtos finais da digestão dos nucleoprotéides, além dos aminoácidos, são os nucleosídeos (nucleotídeos e ácido fosfórico). Estes nucleosídeos são desdobrados à sua base (purínica e/ou pirimidínica) e no correspondente glicídio, sob a ação de enzimas (nucleosídeo-fosforilases). Os compostos purínicos são constituídos por duas bases purínicas: adenina e guanina. Estas bases purínicas são oxidadas por enzimas específicas. A adenase atua sobre a adenina, desaminando-a e transformando-a em

hipoxantina. A oxidação das bases purínicas pode ser realizada sobre os nucleosídeos devido a ação das nucleosídeo-desaminases na adenosina e na guanosina, convertendo-as, respectivamente a inosina e xantosina (DEULOFEU e MARENZI, 1955c).

Pereira (2004a) conceitua qualidade como a relação de muitos aspectos e segmentos, desde o nascimento do animal, manipulação até o consumo do produto final. Em geral, nas pesquisas, testa-se a palatabilidade de um ou mais dos seguintes cortes: contrafilé (músculo *Longissimus dorsi*), do coxão mole (músculo *Semimembranosus*) e da paleta (músculo *Triceps brachii*). O sabor da carne pode ser alterado por vários fatores e é composto pelo sabor da própria carne, derivado de açúcares redutores solúveis em água e aminoácidos e sabor característico da espécie. A maior parte do sabor é atribuída à quebra do ATP ou energia. Este fenômeno resulta em sabor mais acentuado nos músculos armazenadores, devido à concentração de energia, que nos outros. Também faz parte da mudança de sabor atribuída à maturação, quando certas moléculas do produto são destruídas ao longo do tempo. Em relação às espécies, cada qual tem um sabor levemente diferenciado, que pode ser atribuído à gordura contida no músculo. Outro fator importante na avaliação dos atributos relacionados à palatabilidade é o fornecimento de alto teor de concentrado na dieta para bovinos. À medida que aumentava o nível de concentrado na dieta, as carnes foram consideradas mais macias, com melhor sabor e aroma, que a carne de bovinos alimentados somente a pasto. Outras influências podem ser atribuídas ao tecido conjuntivo (solubilização e termo-estabilização durante o cozimento) e ainda à composição em fosfolípídeos das membranas celulares. O sabor natural e característico da carne de determinada espécie se desenvolve quando o animal atinge sua maturidade, embora possa existir uma variação individual, devido ao desenvolvimento fisiológico. A idade que a maioria dos autores considera para o desenvolvimento do sabor característico é dezoito meses para bovinos. Ainda, a idade também influencia no sabor e aroma característicos da carne de cada espécie. É importante considerar o fator genético dos animais.

2.4 ESTRUTURA HISTOQUÍMICA DO MÚSCULO ESQUELÉTICO

Deulofeu e Marenzi (1955b) afirmaram que a creatina contém um grupo guanidina e é formada no fígado pela interação dos aminoácidos: glicocola (glicina), arginina e metionina. É um processo enzimático catalisado por transferases. No primeiro passo ocorre a transferência do grupo amidina da arginina para a glicina formando guanidoacetato e ornitina

(arginina + glicina → guanidoacetato + ornitina); no segundo o guanidoacetato aceita um grupo metilo da metionina originando a creatina e homocisteína (guanidoacetato + metionina → creatina + homocisteína). A maior parte da creatina é encontrada nos músculos e, em grande parte, sob a forma de fosfocreatina. Na composição química dos músculos encontra-se aproximadamente: glicogênio (0,5 a 0,7g / 100g); fosfocreatina (0,4 a 0,5g / 100g), creatina (0,05 a 0,08g / 100g) e ATP (0,2 a 0,4g / 100g).

Bioquimicamente, a creatina é o ácido metil-guanidin-acético ou metil-glucociamina apresentando a fórmula molecular: $C_4H_9O_2N_3$. É um aminoácido, porém não da forma α usual, assim como não é constituinte das proteínas. Aproximadamente 98% da creatina somática se encontram nos músculos. Os músculos brancos de ação rápida contêm mais creatina que os vermelhos, de ação mais lenta. Estima-se que 80% da creatina encontrada nos músculos estão sob a forma de fosfocreatina. Seu fosfato está ligado por uma união rica em energia (cerca de 12000cal/mol) e serve como depósito energético temporal (DUKES, 1962b).

Gürtler et al. (1974) mencionaram que alguns músculos da carcaça são particularmente escuros ou vermelhos. Esta diferença de cor se deve a mioglobina, presente no sarcoplasma das fibras musculares. As fibras especializadas para o metabolismo aeróbio têm concentração elevada de mioglobina. Tais músculos, de cor vermelha, contêm elevada proporção de fibras de contração lenta e resistente à fadiga. Diferenciam-se em tipos de contração rápida e lenta, com características próprias, tanto ultra-estruturais quanto em atividade ATPase miofibrilar. Outro aspecto é que os tipos fisiológicos de fibras musculares se comportam de forma diferente após o sacrifício do animal quando seus músculos estão se convertendo em carne. Na carne de bovino o tamanho e a frequência dos diferentes tipos histoquímicos de fibras musculares aparecem relacionados com a dureza e a marmorização da carne. No cordeiro, a composição do tipo de fibras parece relacionada com a suculência e a intensidade do sabor da carne.

Para Harper; Rodwell e Mayes (1982) o músculo estriado é constituído de fibrilas circundadas por uma membrana eletricamente excitável, o sarcolema. Quando uma fibra muscular é examinada microscopicamente, nota-se que ela é composta por um feixe de muitas miofibrilas dispostas paralelamente e que estão embebidas em fluido intracelular denominado sarcoplasma. Dentro deste fluido encontra-se glicogênio e compostos de alta energia, como ATP e fosfocreatina, além das enzimas da glicólise.

Light et al. (1985) indicaram que o endomísio pode atuar como um nível mais tênue na dureza da carne, além do que o perimísio é o mais abundante do tecido conjuntivo intramuscular, sendo indicado como o principal determinante da textura da carne. A idade do

animal tem relação direta com a insolubilidade do colágeno. O colágeno é o principal componente da maciez que pode ser modificado pelo aquecimento. O epimísio (tipo I) aumenta em maciez com temperatura de cocção elevada – em torno de 70°C, pelo fato de conter mais ligações cruzadas lábeis ao calor e ao ácido. O tipo III aparenta ser menos afetado pelo aquecimento que outros tipos de colágeno no músculo, não só pela presença de menor número de ligações cruzadas termolábeis, mas também pela presença de ligações dissulfeto intramoleculares. São conhecidos dois tipos de ligação cruzada: ligação intramolecular, ocorrendo no interior da molécula, e ligação intermolecular, que liga uma tripla hélice à outra, sendo esta ligação crucial para o mecanismo de estabilidade da fibra de colágeno. A maciez da carne é influenciada pela quantidade de ligações cruzadas de colágenos estáveis ao calor; quantidades maiores destas ligações cruzadas estão presentes nos músculos duros. A maciez da carne cozida é influenciada pelo efeito do calor sobre a força dos componentes dos tecidos miofibrilar e conjuntivo. Quando a temperatura é elevada entre 40 – 50°C, durante a cocção da carne, existe um aumento na rigidez determinado pela força de cisalhamento, devido à coagulação de proteínas desnaturadas para formar um gel mais rígido. Um segundo aumento na força de cisalhamento ocorre entre 60 – 70°C, quando existe um encolhimento maior da carne e perda de fluido. Esta segunda fase pode ser interpretada, em termos de colágeno intramuscular. A fibra de colágeno desnatura em torno de 65°C e diminui $\frac{1}{4}$ de seu comprimento; o aquecimento continuado gelatiniza o colágeno. A elevada solubilidade ao calor é positivamente associada com maciez. No animal mais velho, a maior força residual do perimísio desnaturado mantém as miofibrilas juntas, contribuindo para aumentar a dureza da carne. Enquanto na carne de animais jovens as fibras desnaturadas são frágeis e tendem a dissolver, na dos animais mais velhos possuem ligações cruzadas estáveis ao calor e, por conseguinte, mais fortes e, virtualmente, insolúveis. O perimísio, geralmente possui uma proporção mais elevada da ligação cruzada oxo-imina, termicamente mais estável que o epimísio.

Lira (1997) descreveu que o colágeno apresenta importante influência sobre a textura de carnes. Tece considerações sobre a importância das ligações cruzadas de colágeno e como os diferentes tipos destas ligações afetam a textura de carnes, pois com o aumento da idade, uma proporção mais elevada de ligações cruzadas, estáveis ao calor, está presente no colágeno e, conseqüentemente, a carne torna-se mais dura. Não somente a quantidade do colágeno é importante, mas também sua qualidade, primariamente devido à natureza das ligações cruzadas estabilizando a fibrila e sua alteração na estabilidade térmica com a idade e a

presença de tipos geneticamente distintos de colágeno no músculo, podendo ou não formar fibras. A sensação de textura é provida pelas principais proteínas da carne, que são a actomiosina desnaturada e o colágeno que, embora constituindo somente 2% da proteína total, desempenha um papel crucial. O colágeno, com um número ótimo de ligações cruzadas, é essencial para dar à carne, uma textura aceitável. Conclui que esses fatores são uma clara demonstração da importância do colágeno em determinar a textura de carnes. Quimicamente exibe uma composição de aminoácidos, destacando-se um elevado conteúdo em glicina e pirrolidina (prolina e hidroxiprolina) que juntos compreendem, aproximadamente, metade do total de aminoácidos. A presença de hidroxiprolina no colágeno é tão característica que ela tem sido usada como um meio para determinar o teor de colágeno presente no tecido.

Pedreira (2001) considerou o colágeno uma proteína macromolecular rica em aminoácido glicina (que compreende 1/3 da constituição total de aminoácidos), seguida pela hidroxiprolina e prolina (que compreendem outros 1/3 do total de aminoácidos). Ainda comentou que nos mamíferos, o colágeno é a proteína mais abundante do corpo (constitui 20 a 30% da proteína total do corpo), apresentando funções e quantidades diversas. Na carne, a maciez é diretamente influenciada pelo colágeno, tanto pela sua quantidade quanto pela sua qualidade (tipo de colágeno e natureza das ligações cruzadas). Dos dezenove tipos de colágeno (LIRA, 1997), seis (I, II, III, IV, V e VI) são encontrados na carne. Os mais estudados, e que influenciam diretamente na maciez da carne são os tipos I, III e IV, sendo o I o componente principal do epimísio e perimísio, o III é encontrado no perimísio e, em menor proporção no endomísio e o IV em pequena quantidade no endomísio (WOESNER, 1961).

Pereira e Luchiari (2004) entenderam que o tecido conjuntivo intramuscular atua como parte significativa na determinação da textura da carne e a estabilidade mecânica aumenta progressivamente com o crescimento do animal. No tecido conjuntivo típico, os elementos de maior importância para a ciência da carne, são: presença de colágeno, tropocolágeno e elastina, responsáveis pela variação da maciez da carne. As fibras de colágeno podem ser encontradas no epimísio, perimísio e endomísio dos tecidos musculares dos mamíferos. A distribuição do colágeno está relacionada também com a atividade física e localização no músculo: nas extremidades a quantidade de colágeno é maior, sendo a carne menos macia. Além disso, o músculo *Psoas major* (filet mignon) e o *Infraspinatus* são considerados mais macios e o *Biceps femoris* (picanha), *Semitendinosus* (lagarto), *Supraspinatus* (peixinho), *Adductor*, e *Semimembranosus* (coxão mole) são menos macios que outros músculos. O músculo mais macio, *Psoas major*, assim considerado devido à combinação de maior comprimento de sarcômero e reduzida quantidade de colágeno presente, além de pouca

atividade de proteólise. Por outro lado, o músculo *Infraspinatus* é considerado macio, devido ao comprimento do sarcômero, que é relativamente maior, juntamente com elevado conteúdo de colágeno presente, além de possuir baixa atividade proteolítica. Além disso, os músculos *Biceps femoris*, *Supraspinatus*, e *Semitendinosus* podem ser considerados menos macios e com elevado conteúdo de colágeno. Por outro lado, no músculo *Longissimus* a resistência mecânica do músculo cru e cozido aumentou, no início do período de engorda de animais com idade superior a 20 meses, entretanto, o conteúdo de colágeno diminuiu neste período. Isso poderia sugerir que alterações na quantidade de colágeno total, relacionada à idade do animal, não contribuem diretamente para a maciez da carne. Todavia, a diminuição da quantidade de colágeno no músculo em animais, após 20 meses de idade, poderia influenciar a maciez desses músculos. Grande parte da variação na maciez da carne é atribuída à atividade das proteases cálcio dependentes presentes no músculo pós-morte. A existência de pontes intermoleculares torna as fibras de colágeno com maior estabilidade em maior número e inextensibilidade. Entretanto, à medida que o animal envelhece essas ligações tornam-se mais estáveis, insolúveis, portanto dificilmente seriam rompidas, resultando em menor maciez da carne.

Shimokomaki et al. (2006) descreveram que a miofibrila é constituída por unidade estrutural denominada sarcômero, que é a distância entre duas linhas “Z”, formada por diversas proteínas, cujas principais são: miosina (filamento grosso) e actina, tropomiosina, troponinas, β e γ actininas (filamento delgado). A linha “Z” apresenta outras proteínas, tais como: eu-actinina, desmina, filamina, vimetina e sinemina; na banda “I” está a nebulina e, distribuída por toda extensão do sarcômero encontra-se a titana (SWARTZ, 1994). A função destas proteínas é manter a integridade estrutural da miofibrila (PRICE, 1991), sendo que sua degradação enfraquecê-la-á com o conseqüente amaciamento da carne.

2.5 GLICÓLISE *post mortem* E DECLÍNIO DE pH

A velocidade de formação da hipoxantina aumenta, sem dúvida, quando o pH final é elevado. Devido ao aumento do aroma produzido durante o processo de maturação, há muito tempo se diz que a adição de hipoxantina ou o seu precursor, o ácido inosínico à carne, aumentava o seu aroma (KODAMA, 1913).

Segundo Deulofeu e Marenzi (1955d) o adenosinotriposfato (ATP) é importante no processo de contração muscular, vez que suas uniões fosfato são de alto potencial energético.

Outra substância vinculada ao processo da contração muscular é a fosfocreatina (combinação entre creatina e ácido fosfórico). Sua união fosfórica também tem alto potencial energético. O principal glicídio muscular é o glicogênio, representando material de reserva. Os nucleoprotídeos existem em todas as células, tanto no núcleo quanto no citoplasma. São formados pela combinação de um protídeo com um núcleo prostético (ácido nucléico). O ácido nucléico pode ser de dois tipos: desoxirribonucléico (contém desoxirribose) e é encontrado nos núcleos celulares e, ribonucléico (contém ribose) sendo encontrado no citoplasma celular, inclusive nas mitocôndrias.

A fosfocreatina se forma pela transferência de um fosfato rico em energia do ATP para a creatina em presença da fosfoquinase apropriada. A exaustão muscular é acompanhada pela depleção de: ATP, fosfato de creatina e glicogênio, com acúmulo de ácido láctico (DUKES, 1962a).

A maturação é considerada ótima, do ponto de vista sensorial, quando a hipoxantina alcança níveis de $1,5 - 2,0 \mu\text{moles.g}^{-1}$ de carne, sendo estas mudanças sensoriais proporcionais ao aumento de concentração da hipoxantina. Estes níveis são observados entre os 10° e 13° dias quando a temperatura de maturação é de 0°C (LEE e WEBSTER, 1963).

Gürtler et al. (1974) comentaram que a conversão de actina G em actina F necessita de ATP. A união da miosina e a actina F gera a actomiosina, que também possui ação ATPase que depende da concentração de cálcio. A fosfocreatina não interfere sobre o estado da actomiosina. O desdobramento da glicose em ácido láctico (glicólise) não é muito produtivo no que se refere à síntese do ATP: para cada molécula de glicose degradada só se obtém duas uniões de alto potencial energético. As reservas de ATP na fibra muscular são relativamente escassas e, por esta razão, devem ser repostas continuamente mediante aporte energético de outra procedência. As reservas de glicogênio muscular são relativamente altas e pode tomar-se glicose continuamente do sangue, a glicólise anaeróbica permite ao órgão sintetizar quantidades importantes de fosfato rico em energia. Como depósito de energia tem-se a fosfocreatina, presente nos músculos esqueléticos dos mamíferos numa concentração de quatro a seis vezes superior a do ATP. O fósforo rico em energia na fosfocreatina (CP) é transportado pela enzima creatinoquinase ao adenosinodifosfato (ADP), que se transforma em adenosinotrifosfato (ATP). O músculo esquelético contém $20 \mu\text{moles.g}^{-1}$ em fosfocreatina e $5 \mu\text{moles.g}^{-1}$ em ATP.

Lawrie (1977) destacou, dentre outros componentes do músculo esquelético de mamífero adulto após instalação do *rigor mortis*, mas antes da degradação *post mortem*, em percentagem de peso fresco, substâncias nitrogenadas não protéicas solúveis como a creatina

(0,5), a adenosinotri-fosfato, a adenosinodifosfato (0,07), a IMP-inosinomonofosfato (0,30); carboidratos: glicogênio (0,1), glicose (0,01), ácido láctico (0,9) e glicose-6-fosfato (0,17). Mencionou que no momento em que o pH final do músculo é alto, parte do ATP foi degradada a ácido inosínico, fosfato inorgânico e amoníaco. Embora em tal momento uma parte do ácido inosínico tenha sido degradada a fosfato, ribose e hipoxantina, este processo depende do tempo, temperatura e pH existentes depois de alcançar o pH final. Escreveu ainda que os mono nucleotídeos são os principais componentes responsáveis pelo aroma, sendo essencial que a purina contenha um grupo OH em posição 6 e a ribose, um grupo fosfato em posição 5. Além do ácido glutâmico, no Japão se vende como condimentos aromatizantes, a inosina e a hipoxantina. Tem sido aceito e tem sido demonstrado, cientificamente, que o aumento do aroma que ocorre na carne durante o processo de maturação deve-se à degradação progressiva dos nucleotídeos, onde o ADP e o AMP são respectivamente desfosforilado e desaminado a ácido inosínico (IMP), e este é desfosforilado a inosina ou posteriormente transformado em ribose e hipoxantina.

Forrest et al. (1979) escreveram que o músculo não morre e se converte em carne no momento em que o animal é abatido. O ATP continua proporcionando energia durante um período de tempo para todas as funções musculares. Existem certas provas demonstrando que inosinomonofosfato (IMP) e a hipoxantina aumentam o sabor e o aroma. Considerando que IMP e hipoxantina são produtos de degradação do ATP, sem dúvida os músculos com grandes reservas energéticas apresentarão um sabor mais pronunciado. Os mesmos autores descreveram que a maturação da carne determina uma serie de alterações que são apreciadas por muitos consumidores; tais trocas incluem provavelmente a destruição dos mononucleotídeos do adenosino monofosfato (AMP) e IMP e produção de alguns componentes do aroma por microrganismos, especialmente pelas leveduras e pelos mofos. Mencionaram, ainda, que a intensidade da velocidade da glicólise *post mortem* afeta a dureza da carne de bovinos, suínos e ovinos, tendo sido observado que a elevação do pH de 5,5 a 6,0 aumenta a dureza, diminuindo esta quando supera aquele limite. Atingindo, porém, pH 6,8, a carne mostra-se depreciada, ao tomar uma consistência gelatinosa. Há que se atentar, ainda, para o fato da relação entre o pH e maciez da carne variar entre os diversos músculos. Dentre outros componentes do músculo esquelético de mamíferos citam, em percentagem de peso fresco, substâncias nitrogenadas não protéicas: creatina e fosfato de creatina (0,5), nucleotídeos – adenosinotri-fosfato, adenosinodifosfato, etc... (0,3), creatinina, uréia, IMP- inosinomonofosfato, nicotinadeninad nucleotídeo (0,1); carboidratos e outras substâncias não nitrogenadas: glicogênio (0,8), glicose (0,1).

Gire; Monin (1979) e Fabiansson; Reutersward (1984) observaram que a concentração de glicogênio no músculo no momento do abate influi nas reações bioquímicas *post mortem* as quais determinam a qualidade da carne para o consumo e processamento.

Foi demonstrado em suínos (HONIKEL; FISCHER; HAMM, 1980) que o estresse pré-abate causa diminuições bruscas de pH da massa muscular do animal no *post mortem* e, como consequência, há desnaturação de proteínas musculares, afetando propriedades bioquímicas e tecnológicas, tais como: diminuição da capacidade de retenção de água, e mudança na aparência normal da cor da carne, fenômeno chamado PSE (“Pale, Soft and Exudative”) ou carne pálida, flácida e exsudativa. O glicogênio muscular está relacionado com o pH do músculo através do ácido lático formado.

Abreu (1984) estudando a correlação entre tempo, temperatura e pH com o comprimento do sarcômero no *rigor mortis* em carcaça frigorificada de bovino constatou uma variação do pH médio para o músculo grácil entre 6,5 na 1ª e 5,5 na 30ª hora; para o bíceps braquial, 6,6 e 5,8. A taxa de redução (declínio) do pH médio (unidade / hora) foi 0,057 até a 15ªh e 0,013 entre a 15ª e a 30ªh para o grácil; para o bíceps braquial 0,043 até a 15ªh e 0,013 entre as 15ª e 30ªh. Portanto, a taxa de declínio do pH tanto para o músculo grácil quanto para o bíceps braquial foi maior nas primeiras 15 horas após o abate que depois deste tempo, sendo maior para o grácil.

Segundo Tarrant (1987) e Forrest et al. (1979) animais estressados, abatidos sem período de descanso, apresentaram lenta variação de pH na massa muscular, causada pela baixa concentração de glicogênio no momento do abate. O pH fica estabilizado em valor elevado e, em consequência, as proteínas musculares terão maior capacidade de reter água. A carne torna-se pegajosa e escura, além de ser mais susceptível à contaminação microbiológica, fenômeno chamado DFD (“Dark, Firm and Dry”) ou escura, dura e seca.

As características e propriedades da carne dependem da velocidade de declínio do pH, bem como de seu valor final estabilizado (MARSH, 1952; GIRE e MONIN, 1979; HOFMANN, 1989).

Para Price e Schweigert (1994) as mudanças químicas *post mortem* que ocorrem nos músculos dependem essencialmente dos compostos fosfatos ricos em energia, assim como dos mecanismos que intervêm em sua síntese e degradação. Portanto, a glicólise é um dos processos implicados. A energia química potencial da glicose é utilizada na síntese do ATP. Todas as células são capazes de oxidar parcialmente a glicose em condições anaeróbicas, obtendo um rendimento de dois moles de ATP para cada molécula de glicose convertida em ácido lático. A glicólise constitui um meio rápido de obtenção de ATP em condições

anaeróbicas, como as que se apresentam no músculo vivo normal em momentos de estresse ou depois da morte até que desapareça o glicogênio. Como consequência da morte, a glicose deixa de proporcionar energia necessária para o metabolismo, permanecendo apenas três fontes disponíveis para manter a glicólise: ATP, CP (fosfocreatina) e glicogênio. Como fontes imediatas de energia para a contração muscular, podendo inter-relacionar-se com o objetivo de fornecer a máxima energia são: ATP, ADP (adenosinodifosfato) e CP. Citaram, inclusive, que o acúmulo de ácido láctico e o conseqüente declínio de pH muscular *post mortem* dependem fundamentalmente da quantidade de glicogênio presente no momento da morte do animal. A velocidade de degradação do glicogênio não é uniforme em todas as fases após a morte; aumenta quando o pH elimina a resistência e capacitância do sarcolema, quando ocorre a difusão de íons através a membrana. Isto permite que o pH fique uniforme e a velocidade da glicólise decresça até esgotamento da reserva de glicogênio ou inibição das enzimas glicolíticas. A velocidade de declínio de pH está diretamente relacionada com a temperatura. Admite-se que o ATP seja a fonte mais direta de energia para a contração muscular e que seu nível energético seja restaurado mediante a degradação da fosfocreatina ou pela fosforilação de duas moléculas de ADP (adenosinodifosfato) formando uma de ATP e outra de AMP (adenosinomonofosfato). O excesso de ligações ricas em energia produzidas durante a glicólise pode converter-se em CP. O nível de ATP pode manter-se elevado durante várias horas após a morte e os compostos fosfatos ricos em energia desempenham papel importante na conversão do músculo em carne.

Roça e Serrano (1994) citaram que o glicogênio encontra-se distribuído em todos os tecidos, sendo importante considerá-lo no fígado e no músculo estriado onde seu metabolismo assume maior significado na transformação do músculo em carne. Sua importância no estudo das alterações *post mortem* reside no fato que sua concentração definirá ao nível muscular, momentos antes do abate, de maneira significativa, a formação de ácido láctico e o conseqüente declínio do pH. As primeiras enzimas que regulam a glicose *post mortem* no músculo são a fosforilase “b” e a fosfofrutoquinase. A ativação da glicólise abaixo de 5°C parece ser devido ao grande acúmulo de AMP que estimula a fosforilase “b”. O animal abatido após um período de repouso apresenta, em seus músculos ATP, fosfocreatina e tem pH em torno de 6,9 a 7,2. Nos primeiros momentos *post mortem*, o nível de ATP ($10\mu\text{moles.g}^{-1}$) é mantido por conversão do ADP em ATP (fosfocreatina + ADP \leftrightarrow creatina + ATP), mas quando a fosfocreatina é exaurida, inicia-se a diminuição do nível de ATP. Inicialmente são degradadas as reservas de fosfocreatina, seguido pelas de glicogênio e outros carboidratos e finalmente o ATP, rico em energia. Como resultado os prótons que são

produzidos durante a glicólise e hidrólise de ATP e ADP causam declínio significativo do pH intracelular. A velocidade do consumo de ATP determina a velocidade de degradação do glicogênio e, como consequência, a formação do produto final (ácido láctico) do metabolismo anaeróbico. Assim, a forma mais rápida para observar a velocidade de consumo de ATP é a verificação da diminuição do pH. A velocidade de declínio do pH, bem como o pH final da carne após 24-48 horas, é muito variável. É mais rápida nos suínos, intermediária nos ovinos e mais lenta nos bovinos. Para bovinos, normalmente a glicólise se desenvolve lentamente; o pH inicial (0 hora) em torno de 7,0 cai para 6,4 – 6,8 após 5 horas e para 5,5 – 5,9 após 24 horas. Em suínos, a velocidade de diminuição é maior, atingindo valores de 5,6 – 5,7 após 6 – 8 horas *post mortem* e 5,3 – 5,7 após 24 horas. O aumento do cálcio livre de 10^{-8} moles/L para 10^{-6} moles/L, em ausência de ATP, dá início ao processo de contração, similar à estimulação nervosa que induz à contração do músculo vivo. Quando o nível de ATP se vai esgotando começa a formação de enlaces ou pontes permanentes entre actina e miosina e o músculo vai perdendo a elasticidade e entra em *rigor mortis*. Desta forma, o *rigor mortis* ocorre a 20°C, quando o pH atinge valores em torno de 5,9, valor de “R” de 1,10, o que corresponde à concentração de ATP de $1\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de músculo e continua até o nível de $0,1\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ e pH 5,5. Aspectos da produção animal como herança genética, manejo antes do abate (transporte, descanso, atordoamento e sangria) e nutrição também podem influenciar as propriedades musculares. Em temperaturas variando de 0 a 38°C, o início do *rigor mortis* ocorre em diferentes valores de pH e em diferentes concentrações de ATP muscular. Honikel; Roncalês; Hamm (1983), avaliando a perda de elasticidade do músculo encontraram os seguintes resultados: a 38°C o início do *rigor* ocorreu a pH 6,25 e a $2\mu\text{moles/g}$ de ATP; a 25°C, pH 5,85 e a $1,2\mu\text{moles/g}$ de ATP; a 15°C, pH 5,75 e a $1\mu\text{mol/g}$ de ATP; a 0°C, pH 6,1-6,2 e $1,8-2,0\mu\text{moles/g}$ de ATP. Esses autores observaram a instalação completa do *rigor mortis*, ou seja: o máximo de perda de elasticidade, após 7 horas para o músculo incubado a 38°C, 17 horas para 25°C, 18 horas para 15°C e 2 horas para 0°C. Em temperatura acima de -10°C, a degradação do ATP é mais acelerada esgotando-se em poucos dias, não produzindo o “rigor da descongelação”. A localização anatômica é um fator intrínseco que afeta o teor de glicogênio. Sellier (1995) relatou que as alterações de pH *post mortem* podem ser descritas pela sua taxa (medição aos 40 – 60 minutos *post mortem*) e sua extensão (medição entre 24 e 48 horas *post mortem*); a taxa de declínio de pH tem acentuada influência no grau de desnaturação de proteínas durante o início do *rigor* e, quando é muito rápida, a anomalia PSE é produzida na carne. Quando é limitada, ocorre a anomalia DFD.

Conforme consta em SILVEIRA (1997), o valor crítico de pH para o desenvolvimento da anomalia DFD é superior a 6,4. Para Hedrick et al. (1994) os animais selvagens têm músculos mais escuros que os domésticos devido à maior concentração de mioglobina e ao declínio mais lento no pH devido às intensas atividades físicas, assim como declínio mais rápido de temperatura.

Pinheiro (2000) tendo como objetivo, dentre outros, determinar o valor de pH, temperatura da carcaça e do comprimento de sarcômero de dois diferentes músculos de suínos (*Longissimus dorsi* e *Semispinalis capitis*) estabelecendo correlação entre estes valores nos diferentes tempos após o abate utilizou dez suínos, tipo carne, da raça Landrace, oriundos de Santa Catarina – SC. Após a inspeção *ante mortem* os animais foram abatidos, eviscerados, e suas carcaças serradas, pesadas e destinadas às câmaras de resfriamento, cuja temperatura foi medida utilizando-se um termômetro de máxima e mínima (50 a -30°C), sendo a leitura realizada nos seguintes momentos: 1^a, 3^a, 5^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a, até 12 e 24 horas decorridas do abate, introduzindo-se o termômetro digital até uma profundidade de 3cm na massa muscular, à altura do ísquio. A determinação do pH foi realizada nos dois músculos, a cada intervalo de tempo, pelo processo eletrométrico com pHmetro de eletrodo de vidro combinado, com sensibilidade para leitura direta na carne. Os valores de temperatura da câmara frigorífica variaram de $8,0^{\circ}\text{C}$ (1^a hora) a $16,3^{\circ}\text{C}$ (5^a hora) e a $4,3^{\circ}\text{C}$ (24 horas), enquanto os valores médios da temperatura das carcaças variaram de $39,95^{\circ}\text{C}$ (1^a hora), $27,52^{\circ}\text{C}$ (5^a hora) e $7,02^{\circ}\text{C}$ (24 horas). Os valores médios obtidos ao determinar o pH dos músculos *Longissimus dorsi* e *Semispinalis capitis*, na 1^a hora após o abate, foram de 6,68 e 6,72, na 6^a hora, de 5,89 e 6,10 e 24 horas após o abate igual a 5,49 e 5,71, respectivamente. Concluiu que a queda do pH acompanhou, gradativamente, o desenvolvimento do *rigor mortis* em ambos os músculos estudados até 24 horas após o abate; a média inicial das temperaturas das carcaças foi de $39,95^{\circ}\text{C}$, e a final foi de 7°C . A menor medida do sarcômero do músculo *Longissimus dorsi* foi obtida na sexta hora após o abate ($1,39\mu\text{m}$), enquanto para o músculo *Semispinalis capitis*, a menor medida foi obtida na oitava hora após o abate ($1,37\mu\text{m}$); na análise da correlação linear nos músculos *Longissimus dorsi* e *Semispinalis capitis* observou uma correlação regular entre variável pH e variável comprimento de sarcômero; temperatura e comprimento de sarcômero, e uma correlação negativa regular entre tempo e comprimento de sarcômero. Observou, ainda, correlação negativa entre pH e tempo de abate, temperatura e tempo de abate e correlação alta entre pH e temperatura.

Marchiori e Felício (2001) estudaram, comparativamente aos suínos, as mudanças nos músculos *Longissimus dorsi* (LD) e *Semimembranosus* (SM), no *post mortem* de javalis,

acompanhando com medidas de temperatura e pH no período entre 1 e 48h após o abate. Constataram para o músculo *Longissimus dorsi*, respectivamente 1-2-6-12-24 e 48h após o abate, os seguintes valores para temperatura (°C) / pH: 30,2 / 6,18; 22,9 / 5,97; 12,4 / 5,75; 9,5 / 5,64; 5,4 / 5,57; 4,3 / 5,46. Para o músculo *Semimembranosus* os valores foram: 32,9 / 6,22; 26,0 / 6,0; 13,3 / 5,78; 10,2 / 5,68; 5,4 / 5,6; 4,8 / 5,47. A diminuição de pH na carne de javali ocorreu de forma gradual, enquanto no *Longissimus dorsi* de suíno a diminuição foi mais rápida e mais extensa. Diferenças de temperatura foram verificadas em alguns tempos *post mortem*, sendo os menores valores encontrados nos javalis.

Segundo Marchiori (2001) os valores de cor observados 24 horas pós-morte no músculo “LD” de javali estão próximos da carne normal, e, a maior intensidade de cor vermelha foi constatada na carne de javali. O comportamento da evolução de pH das javalinas, a partir da 12^ah após a sangria apresentou valores de pH (5,27 a 5,37) na faixa crítica (5,34 a 5,44) para desenvolvimento da anomalia PSE em suínos. Para javardos observou valores de pH fora da faixa crítica.

Gaspar (2003) encontrou em seus estudos os seguintes valores, respectivamente para pH e temperatura da carne de tartaruga após 1h e 24h da sangria para fêmeas e machos insensibilizados por CO₂ e gelo: 1h: 6,83 / 18,39°C; 6,87 / 18,09°C; 6,73 / 14,57°C; 6,66 / 14,93°C; 24h: 5,74 / 1,69; 5,74 / 1,67; 5,80 / 2,17; 5,81 / 1,96. Citou ainda, que a degradação do glicogênio em glicose e ácido láctico é similar entre mamíferos e pescado. O acúmulo de ácido láctico provoca a queda do pH do músculo (BENDALL e BOURNE, 1973). As calpaínas ou fator ativado por cálcio (FAC) constituem um grupo de proteases intracelulares que tem sido associadas a autólise do músculo, sendo consideradas as principais responsáveis pela autólise *post mortem*, devido a quebra das proteínas da linha “Z” das miofibrilas. São ativas em pH fisiológico. As calpaínas degradam a troponina-T, desmina, titina e nebulina, atuando tanto sobre a actina quanto a miosina (KOOHMARAIE, 1992). Com o declínio do pH e aumento da concentração de íons Ca as calpaínas são ativadas, responsabilizando-se pela maciez da carne; à medida que ocorre a maciez, a calpastatina inibe a calpaína ativada, e, a autólise inativa tanto a calpaína quanto a calpastatina (DRANSFIELD, 1977). Os responsáveis pela crescente fragilidade das miofibrilas durante o processo de maturação são provavelmente: o enfraquecimento e/ou degradação do disco “Z”, a degradação da proteína desmina, provavelmente devido à ruptura de pontes entre as miofibrilas, a degradação da proteína titina, que liga filamentos de miosina, no sentido longitudinal das miofibrilas (KOOHMARAIE, 1994).

Taboga et al. (2003), estudando músculo de jacaré, observaram que durante a glicólise, o pH muscular inicial de 6,7-6,6 atingiu o valor aproximado de 6,0 nas primeiras 15-20 horas; continuou declinando e, após 36-48 horas, atingiu um pH final entre 5,5-5,7. Concluíram que a glicólise no músculo *Longissimus dorsi* demorou em torno de 36-48 horas, passando de um pH inicial entre 6,6-6,7 para um pH praticamente estabilizado de 5,5-5,7, em uma temperatura de 3-6°C. Observaram ainda a glicogenólise ao longo do tempo, através do desaparecimento dos grânulos de glicogênio, com marcações citoquímicas, mas a variação foi alta. Estudando o *rigor mortis* em músculo bovino, Marsh (1952) mostrou a influência da temperatura na queda do pH. Concluiu que o pH muscular diminuiu de 7 para 6 em menos de 4 horas, em temperatura de 37°C, mas demorou cerca de 20 horas sob temperatura de 7°C, resultados estes, semelhantes aos obtidos no trabalho com jacaré. A influência da variação da temperatura (tempo/temperatura) e o declínio do pH sobre a glicólise foi estudada também em animal selvagem (bisão), quando foi acompanhada a influência da temperatura de 10°C durante 10h, com relação à temperatura (variação entre 0°C a 2°C), durante 24 horas, nos músculos *Longissimus lumborum* e *Semimembranosus*. Os resultados permitiram concluir que a glicólise na carcaça exposta a condições relativamente elevadas de temperatura, foi acelerada e acompanhada do correspondente declínio de pH, e de uma significativa melhora na maciez, no início e durante a maturação (JAM et al., 2000).

O período de tempo que transcorre do abate até a instalação do *rigor mortis* depende de vários fatores, como tipo de músculo, espécie animal e tratamento dos animais pré-abate. Ainda, a temperatura corporal exerce importante influência na velocidade de instalação do *rigor*: quanto mais elevada a temperatura, mais rápido transcorre a glicólise e o declínio de pH. Outros fatores importantes são as reservas de glicogênio, no momento do abate, pois maior é a síntese de ácido láctico e a extensão de diminuição de pH pós-morte (PEREIRA, 2004b).

Galban; Kettelhut (2005) referiram-se às proteases dependentes de cálcio, denominadas calpaínas, classificando-as como cisteíno-proteases presentes em diversos tecidos sob duas formas que diferem quanto à necessidade de cálcio para a sua atividade: a calpaína I (m-calpaína) é ativada a partir de 0,7mM, enquanto a calpaína II (μ -calpaína) ativada em concentrações a partir de 10 μ M de cálcio. Uma terceira isoforma, a n-calpaína, foi descrita em músculo esquelético, sendo ativada por concentrações na faixa de 10 a 1000nM de cálcio, correspondendo à concentração fisiológica do mesmo. Atribuiu-se à proteólise lisossomal (primeiro sistema proteolítico intracelular identificado), toda a atividade degradativa do interior da célula, o que foi desmentido com a descoberta posterior de outras

vias proteolíticas extra lisossomais. Diversas enzimas (lisossomais) proteolíticas ativas em pH ácido, tais como as catepsinas B, C, D, H, L e outras, foram identificadas, às quais se atribui a degradação de proteínas de meia-vida longa, de receptores de membrana e de diversas outras proteínas em condições de privação nutricional (em tecidos como o fígado, o rim e o músculo cardíaco). Essa proteólise ocorre através processos não seletivos, como a macroautofagia (fusão de lisossomas com vacúolos originários do Golgi e retículo endoplasmático liso) que é ativada sobretudo no fígado em períodos iniciais de jejum e a microautofagia (invaginação da superfície lisossomal que leva à produção de vesículas cujo conteúdo protéico sofre degradação no interior do lisossoma) e que ocorre sob condições nutricionais normais. Uma via proteolítica de fundamental importância para a viabilidade celular, o sistema proteolítico dependente de ATP e ubiquitina é formado por uma protease de peso molecular entre 1000 a 1500kDa, composta por subunidades de 34-110kDa e com um coeficiente de sedimentação de 26S, daí ter surgido a sua denominação mais aceita atualmente: proteassoma 26S. O sistema proteolítico, dependente de ATP e ubiquitina, é estimulado em diversas situações como o jejum, o diabetes e a enervação muscular. Em resumo, as células possuem diversas vias proteolíticas que podem ser ativadas ou inibidas de acordo com as suas necessidades em diferentes estados nutricionais e patológicos. Ainda, pouco se sabe sobre os mecanismos bioquímicos envolvidos na regulação da proteólise intracelular, mas a própria existência de diferentes vias, algumas delas exibindo um elevado grau de complexidade, nos permite dizer que a degradação protéica intracelular é um processo vital extremamente bem regulado por diversos fatores internos e externos às células.

Shimokomaki et al. (2006) relataram diminuição na dureza da carne após a instalação do *rigor mortis*, durante o armazenamento. Este processo de amaciamento é denominado maturação, ocorrendo devido à ação de proteases na estrutura miofibrilar. Vários sistemas proteolíticos, tais como: calpaína-calpastatina, catepsina-cistatina e proteosoma estão envolvidos no processo. Os dois primeiros têm sido mais estudados, considerando-se as proteases sarcoplasmáticas: m e μ -calpaínas e as lisossômicas: catepsinas D – B – H e L. O sistema calpaína depende da concentração de íons cálcio (Ca^{+2}) para ser ativado. A m-calpaína (calpaína I) requer cerca de 300mM e a μ -calpaína (calpaína II), 5mM. Atuam sobre certas proteínas localizadas na linha “Z”, tais como: desmina, filamina, nebulina, e, em menor extensão, a titana. Apresentam a propriedade de autólise, inibindo a degradação excessiva das proteínas miofibrilares, além de inibidores específicos de suas atividades, denominados calpastatinas, que também requerem Ca^{+2} para sua atividade. As calpaínas e catepsinas atuam sinergicamente no amaciamento da carne, degradando entre outras, as troponina T, desmina,

titana e nebulina. As catepsinas D – B e L parecem degradar especificamente as miosinas (cadeias pesada e leve), α -actinina, troponina C e actina (GOLL et al., 1983).

2.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Moore et al. (1958) introduziram o método de separação de aminoácidos por coluna de troca iônica e derivatização pós coluna com ninhidrina e posterior detecção espectrofotométrica. Derivatização é o nome que se dá a reação proporcionada por compostos que apresentem grupos cromóforos ou fluoróforos facilmente detectados por espectroscopia de ultravioleta / visível ou fluorímetros. A ninhidrina reage com a maioria dos aminoácidos gerando um derivado de intensa cor púrpura com absorbância máxima em 570nm, contudo não reage com a prolina e com a hidroxiprolina. A fim de aumentar a sensibilidade da técnica propuseram substituir a detecção espectrofotométrica pela fluorimétrica, sendo os aminoácidos derivatizados com fluorescamina, continuando a separação em colunas de troca iônica. Em 1993, foi identificado o derivatizante 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate (AQC) que proporciona limites muito baixos de detecção, além do que a AMQ tem fluorescência em comprimento de onda 100nm distante do derivado ACQ-Aminoácido, permitindo a análise sem sua remoção (COHEN e DENNIS, 1993). A detecção dos derivados é feita por fluorescência em excitação a 250nm e emissão em 395nm, sendo a reação extremamente tolerante a presença de sais e detergentes.

Valls; Bello e Kodaira (1994) desenvolveram métodos por Cromatografia Líquida Alta Eficiência (HPLC – CLAE) para quantificação de amins biogênicas e de nucleotídeos (ATP, ADP, AMP, inosina, inosina monofosfato – IMP e hipoxantina – Hx) e aplicaram a técnica em amostras de sardinha. Concluíram pelo emprego desta técnica para determinação dos compostos mencionados anteriormente. Já se necessitava técnicas de análise com alto nível de detecção e que permitissem quantificar simultaneamente vários compostos. Os nucleotídeos e produtos de sua degradação têm sido assinalados como substâncias indicadoras do frescor no tecido muscular.

Consta em Pardi et al. (2001) que os métodos químicos destinados a avaliar a consistência da carne fundamentam-se na determinação do tecido conjuntivo através, por exemplo, da hidroxiprolina e da digestão enzimática.

Para quantificação de hidroxiprolina, Gaspar (2003) usou a técnica recomendada pela AOAC para digestão, seguida de leitura e quantificação do teor de hidroxiprolina em espectrofotômetro.

Almeida et al. (2005) determinaram o índice de *rigor mortis* (IR) e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macroponum*) de piscicultura utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência com coluna milipore de troca iônica.

Os autores Waters (1993); Valls, Bello e Kodaira (1994); Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (2001); Abreu et al. (2007) testaram a CLAE, tanto para pesquisa de hidroxiprolina quanto para hipoxantina, obtendo resultados compatíveis com a literatura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Amostras

As amostras foram compostas por seis carcaças de animais provenientes de um único criatório, das quais foram estudados dois músculos: um do traseiro (*Longissimus dorsi* – “LD”) e outro do dianteiro (*Infraspinatus* – “IE”). Duas carcaças procederam de matrizes (javalinas) abatidas como descarte, com idade de 5 anos e quatro carcaças foram de animais jovens (javadros) abatidos com idade entre 7 e 8 meses.

3.1.2 Material de consumo

- bolsa térmica (capac.: 27L / 25kg);
- pinça histológica;
- espátula;
- frascos com tampa para guardar amostras;
- caneta para identificar frascos de amostras;
- dessecador com dispositivo para eliminar o ar (produzir vácuo);
- ampola de vidro borossilicato, capacidade 20mL;
- funil raiado com diâmetro 10cm;
- bécher, capacidade 100mL;
- balão volumétrico, capacidade 50mL;
- balão volumétrico, capacidade 100mL;
- tubo com tampa, capacidade 1,5mL, para centrífuga, marca Eppendorf;
- pipetador modelo transferpette, marca Brand, capacidade 10 a 100µL;
- pipetador modelo transferpette, marca Brand, capacidade 100 a 1000µL;

- ponteiras (marca Brand), em material plástico;
- recipiente para amostras “vial” de 1,8mL para injetora automática;
- Agitador mecânico Vórtex – 2 Genie;
- suporte (estante) para tubos para centrífuga e “vial”;
- suporte para tubos no ultra-som (capacidade para 9 tubos);
- pissete 500mL;
- máscara de segurança (protetor facial) e luvas térmicas;
- luvas de látex;
- ar comprimido comercial;
- gás liquefeito de petróleo (GLP);
- nitrogênio gasoso 5.0;
- maçarico;
- tabuleiro em alumínio, contendo areia;
- termômetro técnico digital (de máxima e mínima), com graduações de +150 a -50°C; marca CE; modelo: Digital Pocket Thermometer.

3.1.3 Material permanente

- pHmetro portátil, com eletrodo de vidro combinado, com sensibilidade para leitura direta na carne (punção) e respectivas soluções tampão, pH 4,01 – 7,0 e 9,0;
- purificador de água marca Millipore modelo milli-Q A10;
- balança analítica, marca BEL, modelo Mark 210A;
- homogeneizador (marca IKA modelo Ultra Turrax T18 basic);
- estufa, de fabricação alemã (tuttlingen/germany), marca WTC binder 78532, tipo 1511530000202, número 950686, capacidade: 300°C; 6,9A; 230V; 60HZ; 1,6kw;
- centrífuga fabricada por: HSIANGTAI MACHINERY IND. Co. Ltda. Modelo CD – 2000. Velocidade máxima de 14.000rpm.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) marca Waters modelo Alliance 2695;
- separador, marca Waters 2695 – Separations module;
- coluna Waters AccQ Tag C18: 3,9 x 150mm (hidroxiprolina);
- coluna Waters X terra C18: 4,6 x 300mm - partículas de 5µm (hipoxantina);
- injetor automático com 5 carrosséis com capacidade para 24 amostras cada (hidroxiprolina);
- detector: multi λ fluorescence detector marca Waters 2475 (hidroxiprolina);

- detector ultravioleta ($\lambda=248,7\text{nm}$), photodiode array detector marca Waters 996 (hipoxantina).
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) modular marca Waters com bomba e controlador modelo 600;
- injetor automático marca Waters 717plus Auto sampler com carrossel com capacidade para 96 amostras (hipoxantina);
- programa de aquisição de dados EMPOWER para os dois sistemas cromatográficos;
- ultrassom BRANSON modelo 2210;
- refrigerador duplex marca Electrolux, *frost free* modelo Premium, capacidade: volume para 440L e temperatura entre -15 e -25°C (congelador);
- refrigerador duplex marca Electrolux, modelo *Air Flow System* DC 47, capacidade: volume para 440L e temperatura entre -15 e -25°C (congelador) e -2 e $+8^{\circ}\text{C}$ (refrigerador).
- Máquina para selar embalagem sob vácuo – marca Selovac modelo 200B.

3.1.4 Padrão

- hidroxiprolina (trans-4-HYDROXY-L-PROLINE): fabricado pelo laboratório Sigma, marca SigmaUltra, lote 85H01331;
- hipoxantina (HYPOXANTHINE 99%): marca ALFA AESAR, lote F7123A.

3.1.5 Reagentes e soluções

- HCl 6M;
- água milli-Q;
- kit para análise de aminoácidos marca Waters AccQ-Fluor;
- eluente “A” (Waters);
- eluente “B” (Acetonitrila);
- eluente “C” (água milli-Q);
- tampão borato;
- ácido perclórico a 8% ACS (TEDIA);
- hidróxido de potássio 6M P.A. (F.Maia Ind. e Com.);
- ácido fórmico a 1%;
- acetonitrila a 2%.

3.2 MÉTODOS

Foram realizadas visitas em criatórios e matadouros-frigoríficos, quando os proprietários foram entrevistados e cujas anotações constam em modelos de questionários previamente preparados. Então, usou-se relatórios (Apêndice 7.1) para entrevistas, tanto em criatório quanto em matadouro-frigorífico. Dos proprietários das sete propriedades visitadas que criavam javali, o da localizada no município Antonio Prado - RS (Apêndice 7.2) forneceu os animais; foram visitados três estabelecimentos classificados como matadouro-frigorífico, dos quais no localizado no município Harmonia – RS (Apêndice 7.2), que está sob Inspeção Sanitária Federal houve o abate dos respectivos animais.

3.2.1 Na frigorificação

Após o abate, as meias-carcaças foram mantidas em câmara de resfriamento. A temperatura dos músculos em estudo, assim como a mensuração do pH foram anotadas, em papeleta desenvolvida para tal finalidade, nos momentos (1, 6, 8, 12, 24, 72, 240 e 360h após sangria) de coleta dos fragmentos.

Foi registrada a temperatura dos músculos longo dorsal e infra-espinhoso (*Longissimus dorsi* – “LD” e *Infraspinatus* – “IE”), imediatamente antes de serem colocadas na câmara frigorífica (zero hora: 1^a) e às 6, 8, 12, 24, 72, 240 e 360h de tratamento pelo frio industrial.

Foi anotado, também, o pH muscular (“LD” e “IE”), imediatamente antes de serem colocadas na câmara frigorífica (zero hora: 1^a) e às 6, 8, 12, 24, 72, 240 e 360h de tratamento pelo frio industrial.

Em cada momento de mensuração de temperatura e pH foram coletados dois fragmentos musculares em forma de cubo, de aproximadamente 5g, sendo um para quantificação de hipoxantina e outro para hidroxiprolina quantificada nos seguintes momentos após sangria: 1, 12 e 360h.

3.2.2 Planejamento experimental

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente ao acaso com três fatores: idade do animal, tipo de músculo e tempo pós-abate / sangria, tendo cada tratamento quatro repetições.

3.2.3 Coleta de amostras

3.2.3.1 Preparo da amostra bruta

As coletas foram realizadas de acordo com o planejamento delineado, sendo os animais separados, aleatoriamente, exceto as javalinas que foram os primeiros a serem abatidos. As carcaças foram desviadas para o “DIF” – Departamento de Inspeção Final, quando foram acessados os músculos: “LD” e “IE”. As carcaças foram desossadas após vinte e quatro horas de resfriamento e os músculos (amostra bruta) foram dissecados, pesados, identificados e embalados a vácuo, sendo acomodados em recipientes de polietileno de alta densidade e mantidos em câmara frigorífica sob temperatura de resfriamento.

O músculo “LD” foi obtido pela liberação das massas musculares aderidas às três últimas vértebras torácicas (décima segunda à décima quarta), às seis lombares, já seccionadas longitudinalmente, e posterior dissecação. O músculo “IE” foi obtido pela dissecação e separação, à faca e por arrancamento do músculo inserido na fossa infra-espinhosa (BRASIL, 1988).

3.2.3.2 Preparo da amostra laboratorial

O segmento do músculo “LD” usado apresentou como base óssea as seis vértebras lombares, iniciando pela primeira vértebra.

Quanto ao músculo “IE”, as mensurações iniciaram-se pelo segmento próximo a apófise espinhosa junto à extremidade cartilaginosa da escápula.

Os fragmentos (amostra laboratorial) coletados em forma de cubo, de aproximadamente 5g, foram envoltos em papel alumínio, identificados e acomodados em bandejas de material inoxidável e imediatamente levados para a câmara de congelamento cuja temperatura foi mantida a -25°C .

3.2.4 Mensuração da temperatura

Mensurou-se a temperatura em cada músculo estudado, a cada intervalo de tempo pré-estabelecido, introduzindo-se a haste metálica (sensor) do termômetro técnico até uma profundidade equivalente a metade da espessura de cada músculo, no local onde foram retirados fragmentos para a quantificação de hidroxiprolina e hipoxantina.

3.2.5 Mensuração do pH

A medição do pH foi realizada em cada músculo estudado, a cada intervalo de tempo pré-estabelecido, introduzindo-se o eletrodo do pHmetro, até a metade da espessura do músculo, no local onde foram retirados fragmentos para a quantificação de hidroxiprolina e hipoxantina.

3.2.6 Transporte das amostras para o laboratório

As amostras, tanto a bruta quanto a laboratorial, embaladas em estojos em material de polietileno de alta densidade foram acondicionadas em bolsas isotérmicas (Apêndice 7.2) e transportadas ao Rio de Janeiro.

As amostras foram transportadas ao Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, na Embrapa Agroindústria de Alimentos, quando foi providenciada a recepção das mesmas. A amostra laboratorial foi mantida sob temperatura de congelamento (-18°C) e a amostra bruta sob temperatura de resfriamento (-1 a +4°C).

Após cada coleta de amostra laboratorial a amostra bruta foi reembalada sob vácuo e mantida em temperatura de resfriamento.

3.2.7 Quantificação da hipoxantina

Foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência de acordo com Almeida (2005) a partir da técnica usada por Schulte et al. (1992), modificada por Valls et al. (1994). Houve necessidade de ensaios laboratoriais no sentido de determinar o seu tempo de retenção, que foi obtido em 4min. A quantificação de hipoxantina teve como base a curva de calibração, cujo coeficiente de determinação (r^2) foi 0,999937, obtido com três injeções em cada um dos seis pontos da curva.

Procedeu-se a seguinte adequação:

PREPARO DA SOLUÇÃO PADRÃO DE HIPOXANTINA: Calibrou-se a balança analítica (peso padrão de 200,0000g); tarou-se o balão volumétrico de 100mL; pesou-se 20,2mg de hipoxantina em balão volumétrico; dissolveu-se em 20mL de água milli-Q; adicionou-se 2mL de acetonitrila a 2%; acrescentou-se 1mL de ácido fórmico a 1%; completou-se o volume (100mL) com água milli-Q. O cromatograma obtido pela injeção de

solução padrão contendo 20,2 μg do padrão de hipoxantina por mililitro está representado na Figura 1.

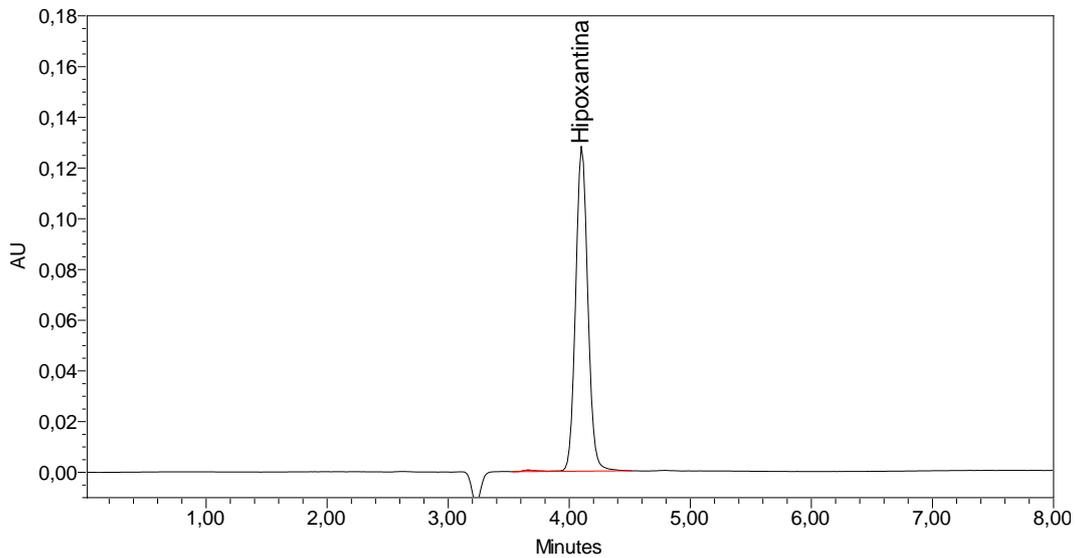


Figura 1. Cromatograma do padrão de hipoxantina na concentração 20,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$

A curva de calibração (Figura 2) foi elaborada a partir da solução estoque de hipoxantina. Recolheu-se, em balão volumétrico, seis volumes diferentes (em μL), respectivamente: 10, 50, 100, 200, 350 e 500. Completou-se para volume final igual a 1000 μL . De cada volume recolhido aplicou-se três injeções em cada ponto, correspondendo respectivamente às seguintes concentrações ($\mu\text{g}/\text{mL}$): 2,02; 10,1; 20,2; 40,4; 70,7 e 101.

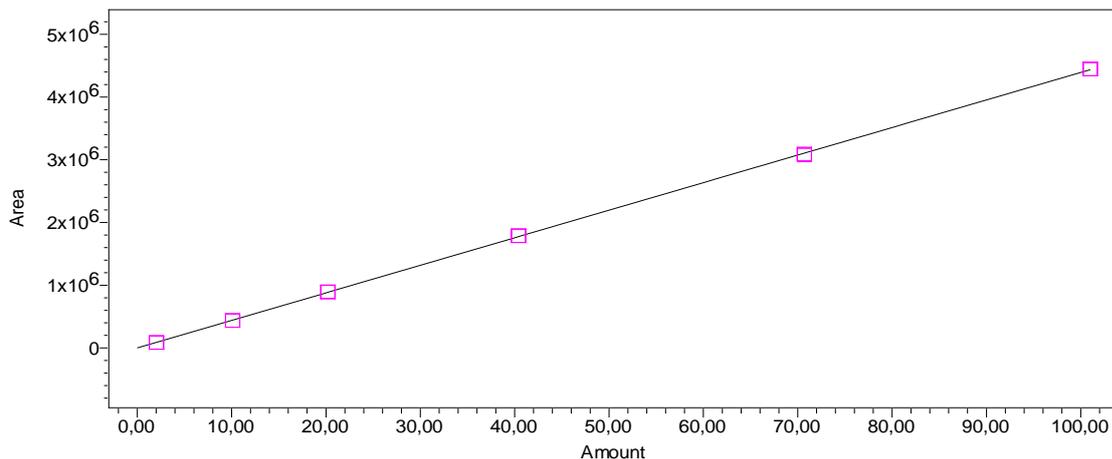


Figura 2. Curva de calibração para hipoxantina

Preparo da amostra analítica:

Homogeneizou-se a amostra laboratorial a 14.000rpm durante 40 a 60s. Pesou-se três alíquotas (50mg cada uma) em tubos para centrífuga, devidamente identificados.

Adicionou-se 1mL (pipeta micrométrica) de ácido perclórico (HClO_4) a 8%; levou-se ao ultra-som durante 10 minutos; recolheu-se alíquota de $500\mu\text{L}$ em tubos para centrifuga e adicionou-se $120\mu\text{L}$ de hidróxido de potássio (KOH) 6M; agitou-se em Vortex durante 20s; centrifugou-se a 14.000rpm durante 3 minutos; transferiu-se o sobrenadante para tubo “vial” com auxílio de pipeta micrométrica;

Injetou-se $10\mu\text{L}$ programando o tempo de corrida para 8 minutos.

Obs.: A cada 15 amostras a coluna era submetida à limpeza com acetonitrila 100% durante 25 minutos, após o que a mesma era recondicionada durante 10 minutos para então reiniciar as análises.

3.2.8 Quantificação da hidroxiprolina

A quantificação da hidroxiprolina foi realizada por hidrólise ácida a 110°C sob vácuo durante 24 horas (AOAC, 2005) e análise cromatográfica (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) aplicando-se a técnica de Derivatização pré-coluna com 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate (COHEN e DENNIS, 1993). Esta técnica foi utilizada a fim de obter-se resultados, em picomol ($\text{pmol}\cdot\text{g}^{-1}$), e, deste modo aproveitando sua maior sensibilidade, em consequência da hipótese do baixo teor de hidroxiprolina a ser encontrado. Devido a semelhança entre as fórmulas estruturais de hidroxiprolina e prolina (Figura 3) houve preocupação com possíveis interferências durante a análise, razão pela qual se procurou averiguar o tempo de retenção para cada um destes aminoácidos (Figura 4). Para a realização de análise de hidroxiprolina pela técnica de derivatização pré-coluna houve necessidade de ensaios laboratoriais no sentido de determinar o seu tempo de retenção.



Figura 3. Esquema das fórmulas estruturais dos aminoácidos hidroxiprolina e prolina
Fonte: DEULOFEU e MARENZI (1955b)

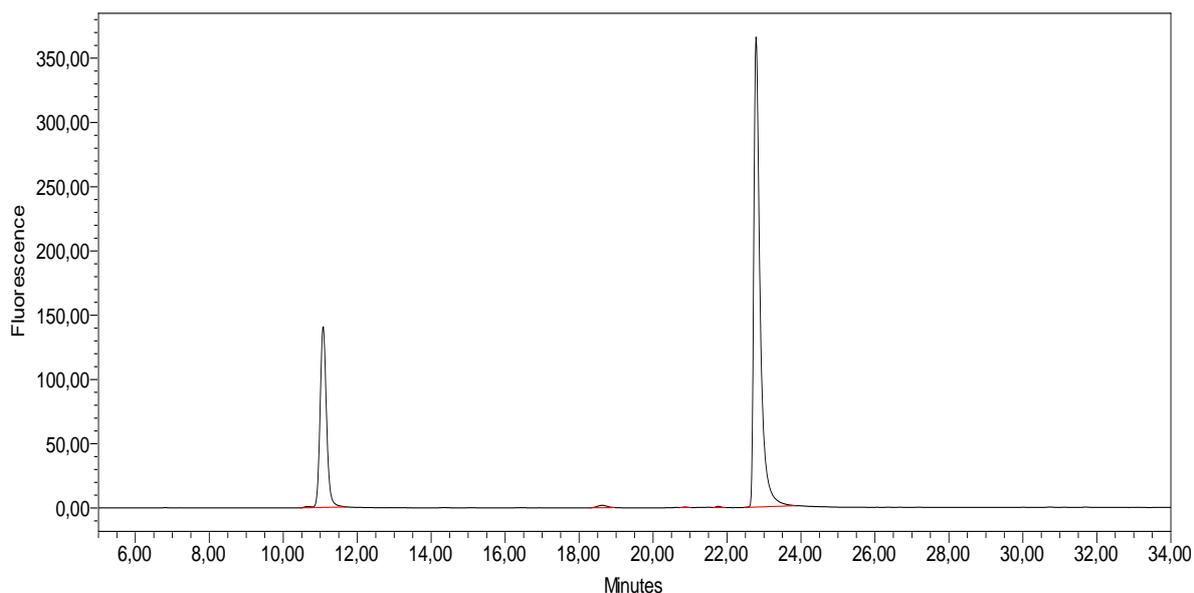


Figura 4. Superposição cromatogramas dos padrões hidroxiprolina e prolina demonstrando tempos de retenção de 11,1min e 22,8min respectivamente

Procedeu-se da seguinte maneira:

Preparou-se o reagente de derivatização, transferindo-se 1mL do diluente AQC para o frasco de derivatização; tampou-se e agitou-se em vortex durante 10s; aqueceu-se em banho de areia a 55°C, até dissolução completa (10min no máximo).

O procedimento foi realizado em três fases móveis:

Fase móvel “A” – diluiu-se na proporção 1:10, ou seja, 200mL da fase adquirida com o kit de derivatização para 2000mL de água milli-Q.

Fase “B”- é a acetonitrila.

Fase “C”- é água ultra pura (milli-Q).

Solução padrão de hidroxiprolina:

Preparou-se 100mL de solução padrão 2,5mM, pesando-se 32,75mg de hidroxiprolina em balão volumétrico de 100mL; dissolveu-se em água milli-Q (100mL) e adicionou-se 3 gotas de HCl 6M; homogeneizou-se por inversão.

Em seguida, transferiu-se 40µL da solução padrão (balão volumétrico) para tubo “vial” adicionando-se 960µL de água milli-Q; homogeneizou-se em agitador mecânico durante 20 segundos; transferiu-se 10µL da solução padrão diluída para outro tubo “vial” adicionando-se 70µL do tampão (borato) e 20µL do reagente (AccQ Flúor); homogeneizou-se em agitador mecânico.

Levou-se ao banho de areia a 55°C / 10 minutos; colocou-se no carrossel para injetar.

Preparou-se a curva de calibração (Figura 5) tendo como base quatro pontos (de acordo com as massas injetadas para cada volume de injeção – Tabela 1): 32,75mg de hidroxiprolina (padrão) foram pesadas e avolumadas em 100mL de água milli-Q, acidificada com 3 gotas de HCl 6M. 1µL da solução foi utilizada na reação com AQC, obtendo-se a solução de calibração, cuja concentração foi 5,04ng/µL. A quantificação de hidroxiprolina teve como base a curva de calibração, cujo coeficiente de determinação (r^2) foi 0,9998.

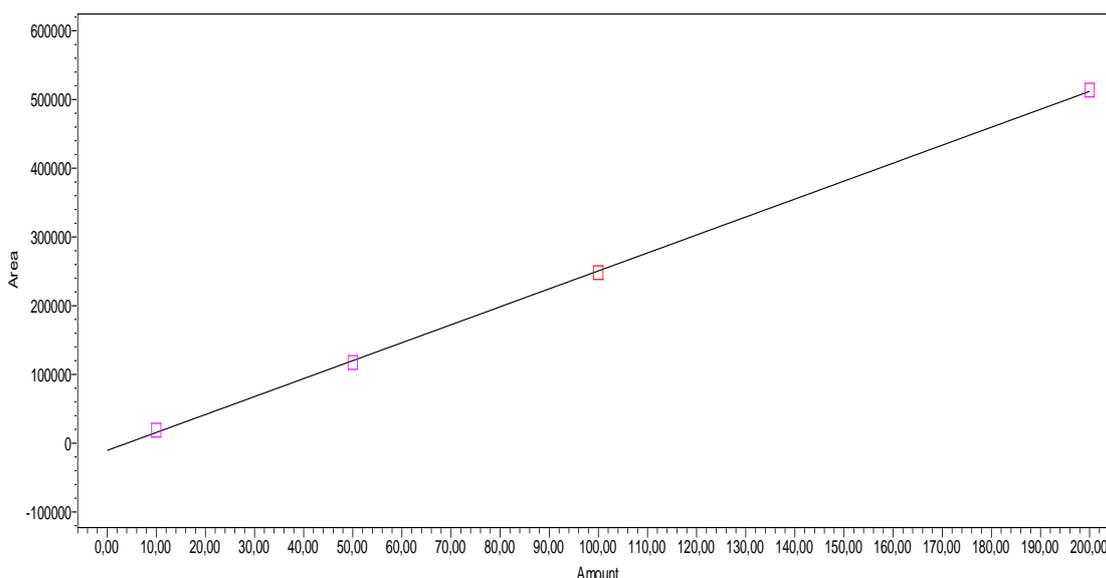


Figura 5. Curva de calibração para hidroxiprolina

Configuração do equipamento:

Marca: cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Waters modelo Alliance 2695;

Coluna: Waters C18 com 3,9 x 150mm;

volume injetado: 10µL;

detector: fluorescence, marca Waters 474;

separador: Waters modelo Alliance 2695;

sistema de aquisição de dados: EMPOWER.

Preparo da amostra:

Homogeneizou-se a amostra laboratorial. Foram pesadas duas alíquotas (500mg cada uma) da amostra diretamente em ampolas devidamente identificadas.

Hidrolisou-se as amostras em ampolas fechadas sob vácuo, em estufa a 110°C durante 20-24h; em seguida avolumou-se as amostras retiradas da estufa e transferiu-se alíquotas em

tubos para centrifuga; após centrifugação 50µL foram transferidos para tubos “vial” e levados ao dessecador (ambiente sob vácuo) durante 24 horas.

REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO (Figura 6)

Reconstituiu-se e homogeneizou-se as amostras após 24h. Procedeu-se a derivatização, acrescentando-se tampão borato e reagente AQC, levando-se ao banho de areia a 55°C durante 10 min;

Injeção das amostras

Os tubos foram acomodados no carrossel do separador cromatógrafo. Programou-se a injeção de 5µL de cada alíquota.

LEITURA E QUANTIFICAÇÃO

Posteriormente realizou-se a leitura do aminograma. Com base na curva de calibração e no aminograma respectivo, o software Empower quantificou a hidroxiprolina nas amostras analisadas.

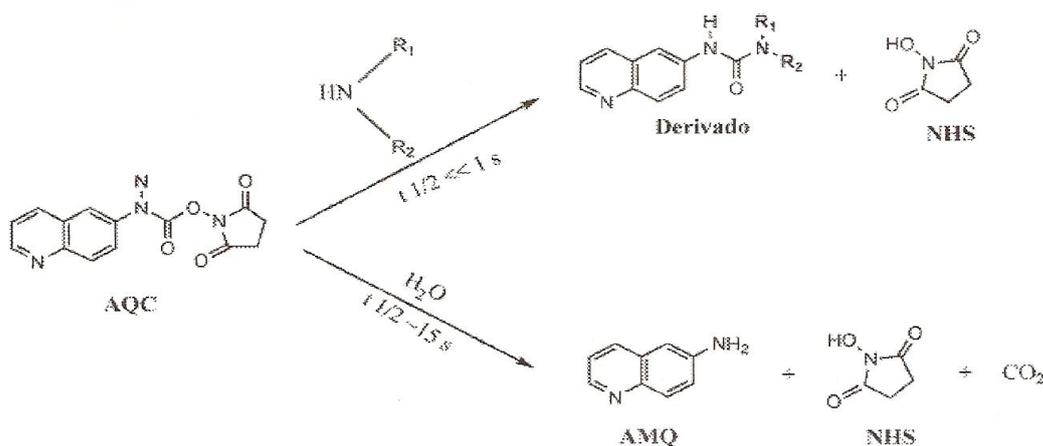


Figura 6. Esquema da reação de derivatização
Fonte: COHEN e DENNIS (1993)

3.2.9 Análise estatística

As análises dos dados das variáveis estudadas (temperatura; pH e hipoxantina) foram realizadas através da análise de variância (teste “F”) e complementada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (VIEIRA, 2006).

O grau de interação entre as variáveis foi verificado pelo teste Correlação de Pearson.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo e apresentados em tabelas, figuras, quadros, fotografias e questionários que não se encontram inseridos no texto ou qualquer outra informação, foram relacionados no Apêndice.

Como resultado de visita às sete propriedades criadoras de javali, foram vistos: 73 reprodutores, 876 matrizes e 4.115 javardos. As matrizes são das seguintes procedências: França, Espanha, Canadá, Rússia, Polônia, Alemanha, África e Uruguai, predominando a França. Os javardos possuem a pele listrada (leonada) e são desmamados aos 35 dias. São abatidos entre 6 e 8 meses de idade, pesando entre 40 e 50kg (peso vivo). Os machos, quando ocorre, são castrados antes da desmama. O regime de criação varia entre o intensivo e semi-intensivo, com alimentação tipicamente de suíno e suplementação a base de carboidratos de origem vegetal (95%) e de produtos de origem animal (5%).

Em razão da escassez de literatura específica recorreu-se, também, às informações análogas, de outras espécies, tais como: bovina, suína, e quelônios.

As observações realizadas nos criatórios, com exceção da desmama que é procedida aos 35 dias, assemelham-se com as apreciações de Fuente (1979) sobre o período de gestação e prolificidade das javalinas, assim como sobre as características fenotípicas dos recém-nascidos e maturidade sexual (Apêndice 7.2).

4.1 TEMPO

Os resultados de hipoxantina obtidos em relação ao tempo (10 e 13 dias) para maturação da carne (Figura 7) estão de acordo com Lee e Webster (1963).

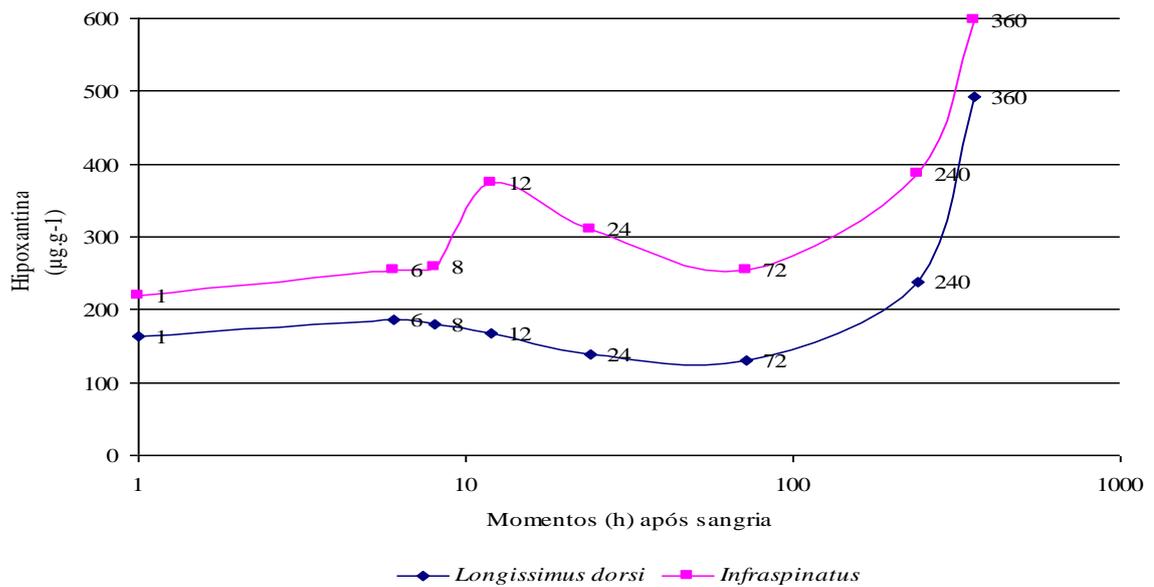


Figura 7. Valores médios de hipoxantina (μg) em músculos *Longissimus dorsi* e *Infraspinatus* nos oito momentos durante as 360 horas do estudo

A cinética do pH em carne de javali, em função do tempo, está demonstrada na figura 8.

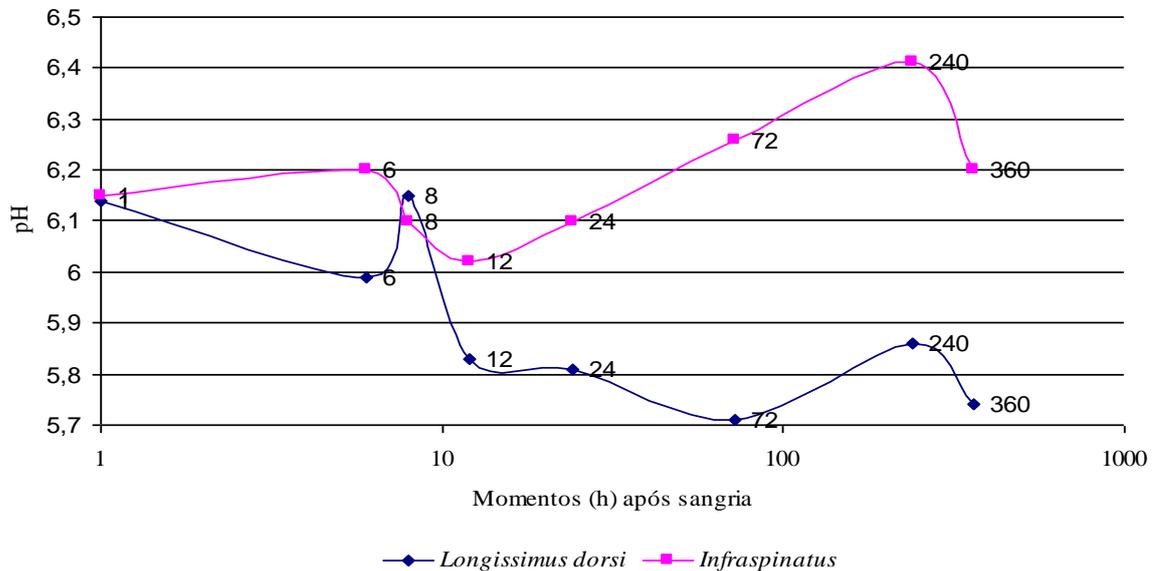


Figura 8. Valores médios de pH em músculos *Longissimus dorsi* e *Infraspinatus* nos oito momentos durante as 360 horas do estudo

A velocidade de declínio dos valores de pH calculada para javali (Quadro 1), em função do tempo, tanto no músculo “LD” ($281,8 \cdot 10^{-4}$) quanto no “IE” ($118,2 \cdot 10^{-4}$), foi maior nas primeiras doze horas após sangria e maior no músculo “LD”, coincidindo com o relatado para bovinos (ABREU, 1984).

Quadro 1. Médias e velocidades da variação de pH nos músculos “LD” e “IE” de javali, em cinco períodos durante 360 horas após sangria

| Momentos (h) após sangria | | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 |
|---------------------------|----|------------------------|------|------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------|
| Média | LD | 6,14 | 5,99 | 6,15 | 5,83 | 5,81 | 5,71 | 5,86 | 5,74 |
| | IE | 6,15 | 6,2 | 6,1 | 6,02 | 6,1 | 6,26 | 6,41 | 6,2 |
| Períodos (h) | | 1 a 12 | | | 12 a 24 | 24 a 72 | 72 a 240 | 240 a 360 | |
| Amplitude | LD | 0,31/11h | | | 0,02/12h | 0,1/48h | -0,15/168h | 0,12/120h | |
| | IE | 0,13/11h | | | -0,08/12h | -0,16/48h | -0,15/168h | 0,21/120h | |
| Velocidade (un/h) | LD | 281,8.10 ⁻⁴ | | | 16,7.10 ⁻⁴ | 20,8.10 ⁻⁴ | -8,9.10 ⁻⁴ | 10.10 ⁻⁴ | |
| | IE | 118,2.10 ⁻⁴ | | | -66,8.10 ⁻⁴ | -33,3.10 ⁻⁴ | -8,9.10 ⁻⁴ | 17,5.10 ⁻⁴ | |

LD - Longo dorsal IE - Infra-espinhoso

Com o estudo estatístico, verificou-se que o tempo de 240h e o aumento de temperatura (72h) após sangria, produziu aumento significativo de hipoxantina. Possivelmente, resultante das reações bioquímicas.

4.2 TEMPERATURA DOS MÚSCULOS

A temperatura mensurada nos músculos “LD” e “IE”, nos oito momentos durante as trezentas e sessenta horas da pesquisa, em cada um dos seis animais, foi registrada na Tabela 2.

Observou-se que a variação da média de temperatura no músculo “IE” de javali foi maior que a do “LD” no decorrer do período de estudo, com exceção da 24^ah. (Figura 9 e Tabela 3).

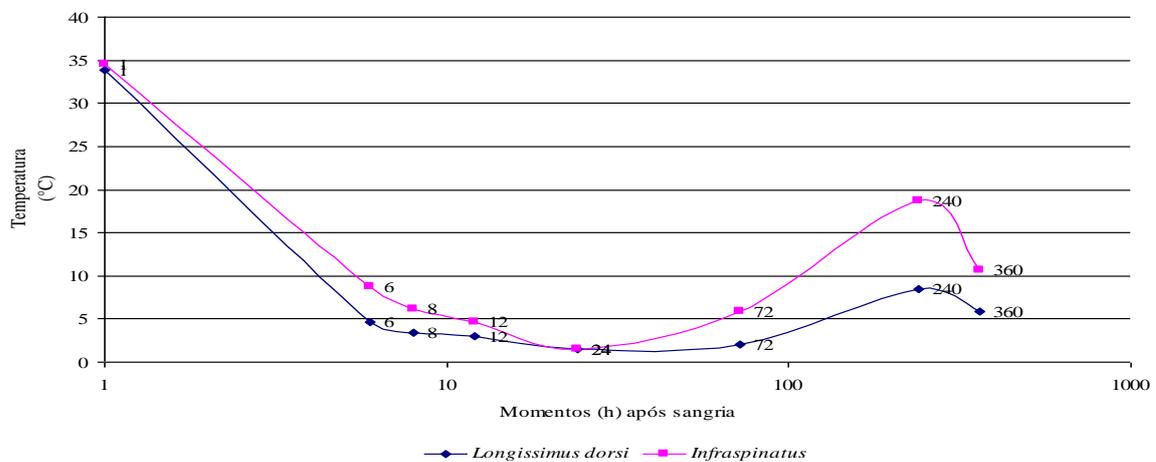


Figura 9. Valores médios de temperatura em músculos *Longissimus dorsi* (LD) e *Infraspinatus* (IE) nos oito momentos durante as 360 horas do estudo

O valor encontrado para média da temperatura foi 9,45°C (Tabela 4).

A média do valor para temperatura no músculo “LD” foi 7,8 e no músculo “IE”, 11,1. Houve diferença significativa entre médias de temperatura para os músculos “IE” e “LD” (Tabela 5).

Observou-se uma redução de temperatura (34,5 para 1,5), em carne de javali, sendo no músculo “IE”, superior àquela encontrada no músculo “LD”.

Comparando resultados desta pesquisa com os obtidos por Marchiori e Felício (2001), verificou-se, tanto em músculo longo dorsal quanto semimembranoso de javali, temperatura idêntica para 1 hora após sangria, diferindo, entretanto, para 6, 8, 12, 24 e 48 horas quando foi superior. Estas diferenças podem ser devido aos seguintes fatores, isoladamente ou em conjunto: condicionamento do ambiente (temperatura, velocidade do ar e disposição das carcaças na câmara frigorífica), e, pela característica das fibras musculares, vez que se trata de músculos do traseiro e do dianteiro, respectivamente.

Pinheiro (2000), estudando carne de suínos, encontrou variação para valores médios de temperatura das carcaças, em todos os momentos superior àquelas verificadas nesta pesquisa. Alguns fatores que podem explicar tais diferenças dizem respeito ao fato que os suínos apresentam menor velocidade de perda de calor devido à camada adiposa de revestimento, à temperatura na câmara frigorífica que era de 8°C e 16,3°C (na 1ª e 5ª hora respectivamente) e a temperatura não ter sido medida nos músculos estudados e sim num determinado local da carcaça.

4.3 pH DOS MÚSCULOS

O pH mensurado nos músculos “LD” e “IE”, nos oito momentos durante as trezentas e sessenta horas da pesquisa, em cada um dos seis animais, assim como médias por momento e por faixa etária estão expressos nas Tabelas 6 e 7 onde constatou-se a média de 6,04, sendo 6,44 o maior valor e 5,04 o menor. As informações decorrentes da aplicação da análise de variância (ANOVA) estão representadas na Tabela 8. A média foi 5,9 para músculo “LD” e 6,2 para o “IE” e, esta diferença foi significativa ao nível de 5% (Tabela 9).

A interação entre o pH e as variáveis tempo após sangria e tipo de músculo está representada na figura 10.

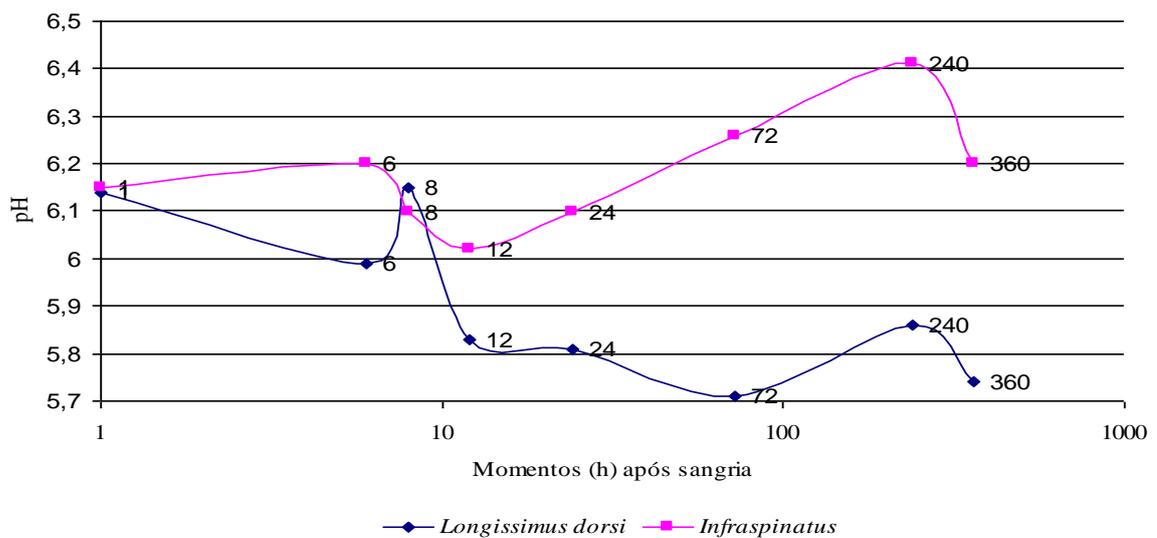


Figura 10. Valores médios de pH obtidos nos músculos “LD” e “IE”

Os valores de pH mais baixos encontrados para o músculo “LD” podem ser explicados pela sua menor atividade, em relação ao “IE”, apresentando, portanto, maior concentração de glicogênio.

Considerando-se a média dos valores de pH encontrada calculou-se sua taxa (un/h) de variação (Quadro 1) com base nos seguintes períodos (horas) após sangria, respectivamente: 1 a 12, 12 a 24, 24 a 72, 72 a 240, 240 a 360. Assim, para o músculo “LD” encontrou-se: $281,8 \cdot 10^{-4}$, $16,7 \cdot 10^{-4}$, $20,8 \cdot 10^{-4}$, $-8,9 \cdot 10^{-4}$ e $10 \cdot 10^{-4}$; para o músculo “IE”: $118,2 \cdot 10^{-4}$, $-66,8 \cdot 10^{-4}$, $-33,3 \cdot 10^{-4}$, $-8,9 \cdot 10^{-4}$, $17,5 \cdot 10^{-4}$.

Interpretando estas informações constatou-se maior taxa de declínio do pH no período compreendido entre 1 e 12 horas após a sangria. Esta taxa de variação de pH foi 138,4% mais elevada no “LD” pressupondo que este músculo contenha maior concentração de glicogênio que o “IE”. Entre 240 e 360h houve inversão, tendo sido 75% maior no “IE”, possivelmente em virtude da temperatura mais elevada deste em relação à do “LD”. Marchiori e Felício (2001) constataram para o músculo *Longissimus dorsi* e *Semimembranosus*, valores iniciais e finais, respectivamente superiores e inferiores aos encontrados em nossa pesquisa; portanto, uma taxa de declínio maior comparativamente com a verificada nesta pesquisa, cujos animais não cumpriram período de repouso *ante mortem*. Abreu (1984) constatou, em carne bovina, uma taxa de declínio do pH, tanto para o músculo grácil quanto para o bíceps braquial, maior nas primeiras 15 horas após o abate que a verificada depois deste tempo. A taxa de diminuição do pH foi maior para o grácil, o que se assemelha aos resultados encontrados em nossa pesquisa para os músculos “LD” e “IE”, nas primeiras doze horas de estudo,

permitindo-nos deduzir que o músculo de menor atividade tenha maior reserva de glicogênio e que esta reserva é utilizada mais intensamente nas primeiras doze horas após sangria.

Pinheiro (2000) mensurou o valor de pH de músculos de suínos (*Longissimus dorsi* e *Semispinalis capitis*) tendo encontrado, na 6ª hora, valores compatíveis com os que encontramos em javali.

Marsh (1952) mostrou a influência da temperatura na queda do pH. Resultados semelhantes foram obtidos por Taboga (2003) em jacaré da espécie *Caiman crocodilus yacare*. No presente trabalho, verificou-se maior declínio do valor de pH nas primeiras 12 horas após sangria, quando a temperatura do músculo que influencia nas reações bioquímicas era descendente.

A velocidade de evolução de pH não foi uniforme durante as 360h, no presente estudo. Foi mais intensa durante as primeiras 12h e, no músculo “LD” o que é compatível com a observação de Price e Schweigert (1994) quando escreveram que o declínio de pH muscular *post mortem* depende da quantidade de glicogênio presente no momento da morte do animal e que a velocidade de degradação do glicogênio não é uniforme em todas as fases após a morte. Gire e Monin (1979) e Fabiansson e Reutersward (1984) também observaram que as reações bioquímicas *post mortem* que determinam a qualidade da carne são influenciadas pela concentração de glicogênio no músculo no momento do abate.

Segundo Tarrant (1987); Forrest et al. (1979) e Honikel, Fischer e Hamm (1980), animais estressados, abatidos sem período de descanso, apresentaram lenta variação de pH na massa muscular, causada pela baixa concentração de glicogênio no momento do abate. O pH fica estabilizado em valor elevado e, em conseqüência, as proteínas musculares terão maior capacidade de reter água. Coincide com o resultado (lenta variação nos valores de pH) do presente experimento no qual os animais utilizados não foram submetidos ao repouso recomendado para suínos (Brasil, 1995). Marchiori (2001) observou que, além da gradual variação de pH, a perda de exsudato foi menor em carne de javalinas em relação à de suínos. Estes fatos sugerem que seja realizada, não apenas a quantificação de glicogênio muscular, mas também a de fosfocreatina em carne de javali, vez que esta é a real fonte de energia para as modificações pós morte.

No presente trabalho (Quadro 1), observou-se, em javali, que o valor de pH para o músculo “LD” apresentou menor valor (5,71) com 72h após sangria, ao passo que para o “IE” (6,02) foi 12h. Isto sugere que o ATP foi consumido nesses períodos. Significa uma exaustão das reservas energéticas (glicose, glicogênio e fosfocreatina), iniciando sua degradação a ADP. O “LD” apresentou maior concentração de glicogênio em relação ao “IE”. Roça e

Serrano (1994) afirmaram que a forma mais rápida para observar a velocidade de consumo de ATP é a verificação da diminuição do pH. A velocidade de declínio do pH, bem como o pH final da carne, após 24-48 horas, é muito variável. Para bovinos, normalmente a glicólise se desenvolve lentamente; o pH inicial (0 hora) em torno de 7,0 cai para 6,4 – 6,8 após 5 horas e para 5,5 – 5,9 após 24 horas. Em suínos, a velocidade de diminuição é maior, atingindo valores de 5,6 – 5,7 após 6 – 8 horas *post mortem* e 5,3 – 5,7 após 24 horas. Marchiori e Felício (2001) detectaram, para javali, menor valor para pH no músculo longo dorsal (5,46) e no músculo semimembranoso (5,47), com 48h após sangria, possivelmente devido ao fato dos animais terem cumprido o período de repouso regulamentar, o que não ocorreu com os animais que participaram da presente pesquisa.

Sellier (1995) relatou que as alterações de pH *post mortem* podem ser descritas pela sua taxa (medição aos 40 – 60 minutos *post mortem*) e sua extensão (medição entre 24 e 48 horas *post mortem*). A taxa de declínio de pH tem acentuada influência no grau de desnaturação de proteínas durante o início do *rigor*. No presente trabalho, observou-se baixa taxa e baixa extensão para músculo “IE”, e, baixa taxa e alta extensão para “LD” de javali. Taboga et al. (2003) estudando carne de jacaré, concluíram que a glicólise no músculo *Longissimus dorsi* demorou em torno de 36-48 horas, passando de um pH inicial entre 6,6-6,7 para um pH praticamente estabilizado de 5,5-5,7, em uma temperatura de 3 a 6^oC. Muito embora sejam espécies diferentes, à guisa de informação, estas observações não coincidem com as deste trabalho.

Quanto mais elevada for a temperatura, mais rápido transcorre a glicólise e o declínio de pH. Outros fatores importantes são as reservas de glicogênio, no momento do abate, pois maior é a síntese de ácido láctico e a extensão de diminuição de pH *post mortem* (PEREIRA, 2004b). Na presente pesquisa, como mencionado anteriormente, os animais foram abatidos sem o devido repouso, o que deve ter prejudicado as reservas de glicogênio, revelando-se pela baixa taxa inicial de glicólise. Contudo, a extensão foi alta (72h) podendo significar elevada reserva de fosfocreatina.

4.4 HIPOXANTINA

A concentração de hipoxantina, em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne, nos músculos “LD” e “IE” dos seis animais, nos oito momentos de estudo durante 360 horas está registrada na Tabela 10.

4.4.1 Média de concentração de hipoxantina

Tal média foi calculada em duas unidades: micrograma por grama ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de carne e micromol por grama ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$) de carne, vez que serão necessárias para comparações com trabalhos de outros autores, bem como elaboração de gráfico.

Em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne.

Para cada momento do estudo foi calculada a respectiva média (Quadro 2).

Observou-se que o músculo “IE” apresentou média de concentração de hipoxantina superior à do “LD” durante as 360 horas de pesquisa (Figura 11).

Comparou-se a média de concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) de hipoxantina entre músculo “LD” e “IE”. Constatou-se (Tabelas 11 e 12) que a do “IE” (318,7) foi maior que em “LD” (212,17) em 50,1%. Assim, o músculo “IE”, por apresentar maior concentração em hipoxantina em relação ao músculo “LD”, sugere ser mais saboroso, o que encontra suporte na citação de Lawrie (1977) que o aumento do aroma que ocorre na carne durante o processo de maturação deve-se à degradação progressiva dos nucleotídeos, onde o ADP e o AMP são respectivamente desfosforilado e desaminado a ácido inosínico (IMP), e este é desfosforilado a inosina ou posteriormente transformado em ribose e hipoxantina.

Quadro 2. Médias ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e velocidades ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali (*Sus scrofa scrofa*), em cinco períodos, durante 360 horas de estudo

| Momentos (h) após sangria | | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 | |
|--|----|----------------------|-------|------------------------|-------|-----------------------|-------|----------------------|-------|-----------------------|
| Média ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | LD | 163,5 | 186,6 | 180,9 | 166,6 | 139,6 | 130,5 | 238,7 | 492 | |
| | IE | 219,6 | 254 | 258,6 | 373,6 | 310,8 | 255,5 | 387 | 598,9 | |
| Períodos (h) | | 1 a 12 | | 12 a 24 | | 24 a 72 | | 72 a 240 | | 240 a 360 |
| Amplitude | LD | 3,1/11h | | -27/12h | | -9,1/48h | | 108,2/168h | | 253,3/120h |
| | IE | 154/11h | | -62,8/12h | | -55,3/48h | | 131,5/168h | | 211,9/120h |
| Velocidade ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) | LD | $281,8\cdot 10^{-3}$ | | $-2250\cdot 10^{-3}$ | | $-189,6\cdot 10^{-3}$ | | $644\cdot 10^{-3}$ | | $2110,8\cdot 10^{-3}$ |
| | IE | $14000\cdot 10^{-3}$ | | $-5233,3\cdot 10^{-3}$ | | $-1152\cdot 10^{-3}$ | | $782,7\cdot 10^{-3}$ | | $1765,8\cdot 10^{-3}$ |

LD - Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

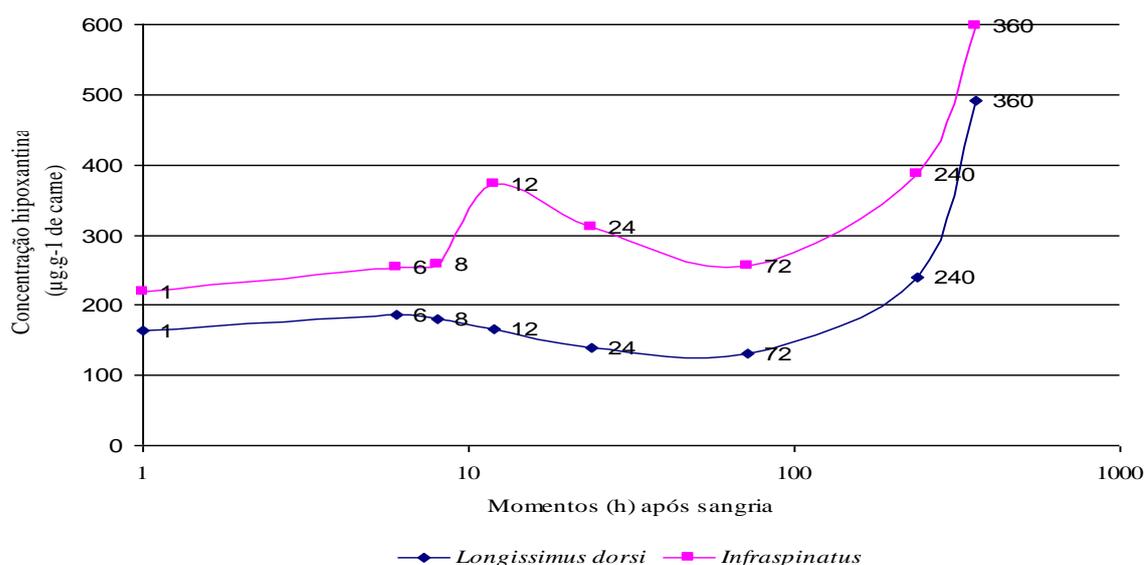


Figura 11. Concentração de hipoxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em músculos “LD” e “IE” de javali (*Sus scrofa scrofa*) nos oito momentos após sangria

As informações decorrentes da aplicação da análise de variância constam na Tabela 13, onde se verificou que a média da concentração em hipoxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) foi 265,45.

O teste Tukey revelou que a média obtida para o músculo “LD” foi significativamente inferior à obtida para o “IE” (Tabela 14).

Em $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne.

Para cada momento do estudo foi calculada a concentração média de hipoxantina, em $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne, nos músculos “LD” e “IE” para javali, dividindo a concentração de hipoxantina por seu peso molecular (Merck, 1983).

O comportamento da concentração de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” foi expresso na figura 12.

Observou-se que a concentração em hipoxantina no músculo “IE” foi superior a do “LD” durante todo o período de 360 horas da pesquisa. A média da concentração em hipoxantina ($\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) foi 1,95, sendo para o músculo “LD” (1,56) e músculo “IE” (2,34). Em relação à média de concentração de hipoxantina ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) os resultados de análise das amostras revelaram que: em javali, variou entre 0,95 (72h) e 3,61 (360h) para o “LD” e 1,61 (1h) e 4,4 (360h) para o “IE”.

Estes resultados estão em perfeita consonância com Deulofeu e Marenzi (1955d) e Gürtler et al. (1974) quando afirmaram que músculos brancos, de ação rápida, contêm mais creatina que os vermelhos, de ação mais lenta.

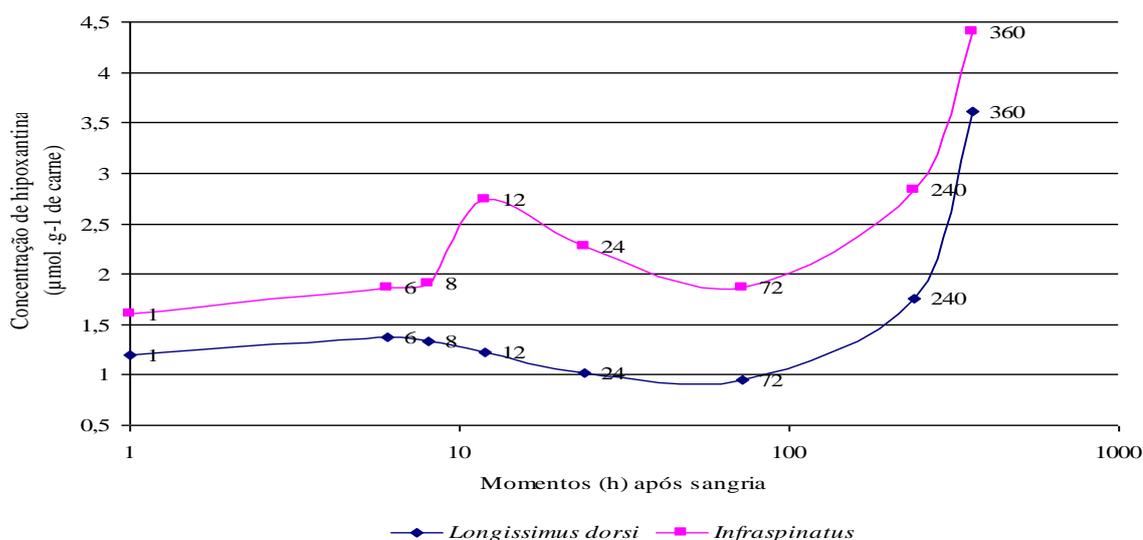


Figura 12. Concentração de hipoxantina ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ de carne) em amostras de músculos “LD” e “IE” de javali (*Sus scrofa scrofa*) durante 360h de observação

Estima-se que 80% da creatina encontrada nos músculos estão sob a forma de fosfocreatina. Asseveraram, ainda, que a fosfocreatina é o depósito de energia, presente nos músculos esqueléticos dos mamíferos numa concentração de quatro a seis vezes superior a do ATP. O músculo esquelético contém $20\mu\text{moles.g}^{-1}$ em fosfocreatina e $5\mu\text{moles.g}^{-1}$ em ATP. Macroscopicamente, observou-se que o “LD” é mais claro que o “IE”. Isto permite entender que demora mais tempo, em relação ao “IE”, para formar hipoxantina, vez que músculo branco, com mais creatina, reconstitui ATP por mais tempo, retardando a formação de hipoxantina. O resultado induz ao seguinte raciocínio: pelo fato de possuir dianteiro mais desenvolvido que o traseiro (característica da espécie) significa mais atividade física, atuando como músculo armazenador. Neste caso, há concordância com as observações de Pereira (2004) que afirma: “músculos armazenadores apresentam maior concentração de energia que nos outros”. O músculo “IE” de javali, desde 1h após sangria, pode ser considerado maturado, de acordo com Lawrie (1977) que escreveu que a maturação é ótima, do ponto de vista sensorial, quando a hipoxantina alcança níveis de $1,5 - 2,0\mu\text{moles.g}^{-1}$ de carne. Contudo, pelo fato de continuar a formar hipoxantina, até 360h após sangria, significa que a exaustão muscular não ocorreu naquele momento (1h) e, sim, neste momento (360h). Não condiz com as afirmações de DUKES (1962b), quando ele cita que a exaustão muscular é acompanhada pela depleção de ATP, fosfato de creatina e glicogênio, com acúmulo de ácido láctico. Esta citação contraria a afirmativa de Kodama (1913) que a produção de hipoxantina aumenta quando o pH é elevado. O acúmulo de ácido láctico pressupõe baixo valor de pH.

4.4.2 Velocidade média ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) de formação de hipoxantina

A velocidade média de formação de hipoxantina, em micrograma por grama ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de carne, foi calculada em vários períodos do estudo, para os músculos “LD” e “IE”. Considerando-se a concentração média de hipoxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) encontrada (Quadro 2), constatou-se que em músculo “LD” a velocidade de formação de hipoxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) foi: entre 1 e 12h: $281,8\cdot 10^{-3}$; 72 e 240h: $644\cdot 10^{-3}$ e entre 240 e 360h: $2110,8\cdot 10^{-3}$. Em músculo “IE” constatou-se: entre 1 e 12h: $14000\cdot 10^{-3}$; entre 72 e 240h: $782,7\cdot 10^{-3}$, entre 240 e 360h: $1765,8\cdot 10^{-3}$. Portanto, a velocidade de transformação em hipoxantina não foi uniforme durante as 360h.

Quadro 3. Médias ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e velocidades ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali, em três períodos, durante 360 horas de estudo

| Momentos após sangria (h) | | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 | |
|--|----|-----------------------|-------|-------|-------|-------|----------------------|-------|-----------------------|--|
| Media ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | LD | 163,5 | 186,6 | 180,9 | 166,6 | 139,6 | 130,5 | 238,7 | 492 | |
| | IE | 219,6 | 254 | 258,6 | 373,6 | 310,8 | 255,5 | 387 | 598,9 | |
| Períodos (h) | | 1 a 72 | | | | | 72 a 240 | | 240 a 360 | |
| Amplitude | LD | -33/71h | | | | | 108,2/168h | | 253,3/120h | |
| | IE | 35,9/71h | | | | | 131,5/168h | | 211,9/120h | |
| Velocidade média ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$) | LD | $-464,8\cdot 10^{-3}$ | | | | | $644\cdot 10^{-3}$ | | $2110,8\cdot 10^{-3}$ | |
| | IE | $505,6\cdot 10^{-3}$ | | | | | $782,7\cdot 10^{-3}$ | | $1765,8\cdot 10^{-3}$ | |

LD - Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

A oscilação na formação de hipoxantina no período entre 1 e 72h (Quadro 3), inclusive, pode ser explicada, baseado nas informações publicadas por Roça e Serrano (1994) quando escreveram que nos primeiros momentos *post mortem*, o nível de ATP ($10\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$) é mantido por conversão de ADP em ATP (fosfocreatina + ADP \leftrightarrow creatina + ATP). Mas quando a fosfocreatina é exaurida, inicia-se a diminuição do nível de ATP. Inicialmente são degradadas as reservas de fosfocreatina, seguido pelas de glicogênio e outros carboidratos e finalmente o ATP, rico em energia. Assim, os resultados podem ser interpretados da seguinte forma: o músculo longo dorsal apresentou maior reserva em fosfocreatina, retardando o início

da degradação do ATP, e consequentemente o início de formação de hipoxantina, sendo contudo recuperado no período entre 240 e 360 horas.

Observou-se que para o músculo “LD”, a velocidade de formação de hipoxantina entre 1 e 360h foi 915.10^{-3} e no “IE”, 1056.10^{-3} . A amplitude foi, respectivamente, 328,5 μ g e 379,3 μ g (Quadro 4). A velocidade de transformação em hipoxantina, para o músculo “LD”, foi maior a partir de 72h após sangria ($1255,5.10^{-3}$) em 37,2% em relação a velocidade média durante as 360h (915.10^{-3}) e, que a velocidade de transformação em hipoxantina para o músculo “IE” foi maior a partir de 72h após sangria ($1192,3.10^{-3}$) em 12,9% em relação a velocidade média durante as 360h (1056.10^{-3}). Constatou-se que a velocidade de formação de hipoxantina, em ambos os músculos, foi intensificada após 72 horas, portanto em acordo com a afirmativa de Kodama (1913): “a velocidade de formação da hipoxantina aumenta, sem dúvida, quando o pH final é elevado”.

Quadro 4. Médias (μ g.g⁻¹) e velocidades (μ g.h⁻¹) de formação de hipoxantina nos músculos “LD” e “IE” de javali, no período de 360 horas de estudo

| Momentos após sangria (h) | | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 |
|--|----|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Média (μ g.g ⁻¹) | LD | 163,5 | 186,6 | 180,9 | 166,6 | 139,6 | 130,5 | 238,7 | 492 |
| | IE | 219,6 | 254 | 258,6 | 373,6 | 310,8 | 255,5 | 387 | 598,9 |
| Períodos (h) | | 1 a 360: | | | | | | | |
| Amplitude | LD | 328,5/359h | | | | | | | |
| | IE | 379,3/359h | | | | | | | |
| Velocidade média (μ g.h ⁻¹) | LD | 915.10^{-3} | | | | | | | |
| | IE | 1056.10^{-3} | | | | | | | |

LD - Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

4.4.3 Comparação entre pH e concentração de hipoxantina (μ mol.g⁻¹ de carne) por músculo

Comparou-se médias de valores de pH com médias de concentração de hipoxantina (μ mol.g⁻¹ de carne) para cada músculo estudado.

Observou-se que, para o músculo “LD”, a evolução do valor de pH foi proporcional a do valor de hipoxantina até 72 horas após sangria, e, a partir deste momento, inclusive, a

formação de hipoxantina foi acelerada, ao passo que a do pH permaneceu gradual e lenta (Figura 13).

Quanto o músculo “IE” observou-se oscilação durante a evolução de formação de hipoxantina até 72 horas após sangria. A partir deste momento, inclusive, a evolução foi uniforme e ascendente ao passo que o comportamento da evolução de pH foi gradual e lento, permanecendo na faixa de 6 a 6,4 (Figura 14).

Portanto, em ambos os músculos a produção de hipoxantina intensificou-se a partir de 72 horas após sangria, sugerindo este momento como o esgotamento das fontes energéticas usadas na recuperação do ATP.

Observou-se que a tendência para formação de hipoxantina no músculo “LD” é, em grau leve, inversamente proporcional à variação do valor de pH e no “IE” é, em grau fraco, em razão direta à variação de pH. Para o músculo “LD” há concordância com (DUKES, 1962b) que: a exaustão muscular é acompanhada pela depleção de ATP, fosfato de creatina e glicogênio, com acúmulo de ácido láctico. Não acontece o mesmo em relação ao músculo “IE”.

Os resultados desta pesquisa coincidem com a citação de Lawrie (1977) que “no momento em que o pH final do músculo é alto, parte do ATP é degradada a ácido inosínico, fosfato inorgânico e amoníaco”. Embora, em tal momento, uma parte do ácido inosínico tenha sido degradada a fosfato, ribose e hipoxantina, este processo depende do tempo, temperatura e pH existentes depois de alcançar o pH final (LEE e WEBSTER, 1963), visto que a produção de hipoxantina foi intensificada a partir das 72 horas após sangria, evidenciando-se às 240 horas e culminando às 360 horas após sangria, deixando transparecer que houve depleção do ATP e, conseqüentemente, exaustão da fosfocreatina. Neste momento, é intensificada a degradação de ADP com o aumento de concentração da hipoxantina. Tal observação coincide com as afirmações de Price e Schweigert (1994), quando admitem que o ATP seja a fonte mais direta de energia para a contração muscular e que seu nível energético seja restaurado mediante a degradação da fosfocreatina ou pela fosforilação de duas moléculas de ADP (adenosinodifosfato) formando uma de ATP e outra de AMP (adenosinomonofosfato). O nível de ATP pode manter-se elevado durante várias horas após a morte em virtude de sua reconstituição. Os compostos de fosfatos ricos em energia desempenham papel importante na conversão do músculo em carne.

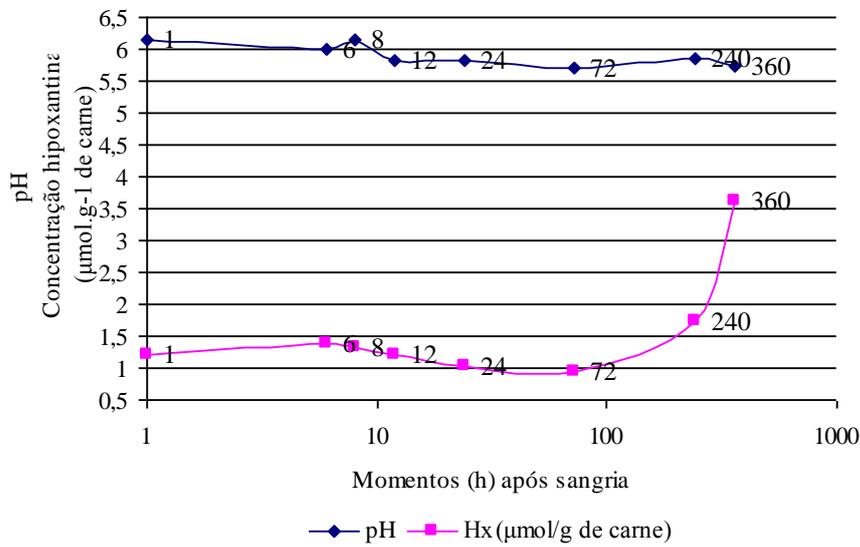


Figura 13. Comparação entre médias dos valores de pH e da concentração de hipoxantina ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) em músculo “LD” de javali (*Sus scrofa scrofa*), em oito momentos, durante 360h

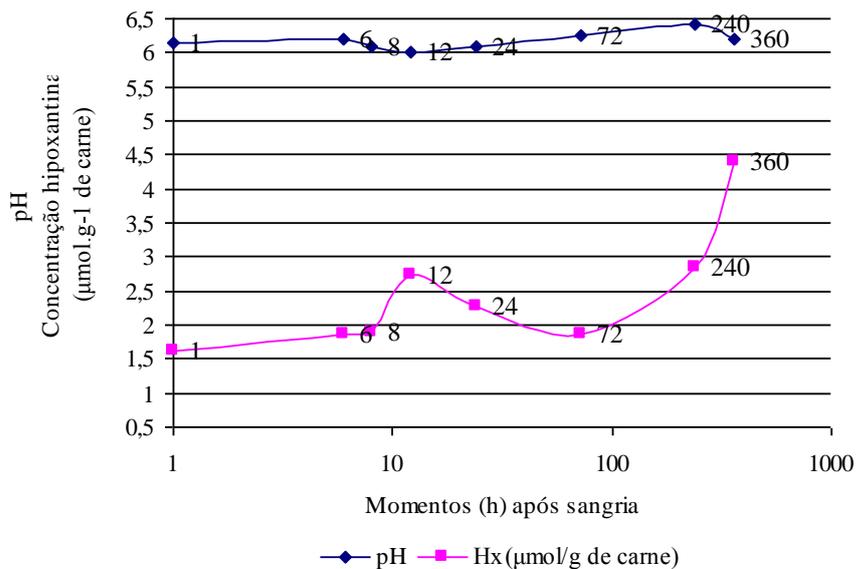


Figura 14. Comparação entre médias dos valores de pH e da concentração de hipoxantina ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) em músculo “IE” de javali (*Sus scrofa scrofa*), em oito momentos, durante 360h

4.5 CORRELAÇÃO

Aplicou-se o teste Coeficiente de Correlação Linear de Pearson para detectar o grau de associação entre as variáveis em questão verificando sua significância ao nível de 5% de probabilidade obtendo-se os resultados para temperatura, pH e hipoxantina expressos na Tabela 15 e Figura 15 .

Os resultados nos permitiram assegurar que não houve correlação linear significativa de temperatura com pH e hipoxantina, contudo constatou-se correlação linear significativa positiva entre as variáveis pH e hipoxantina, sendo 0,417 o valor observado ($P < 0,0001$).

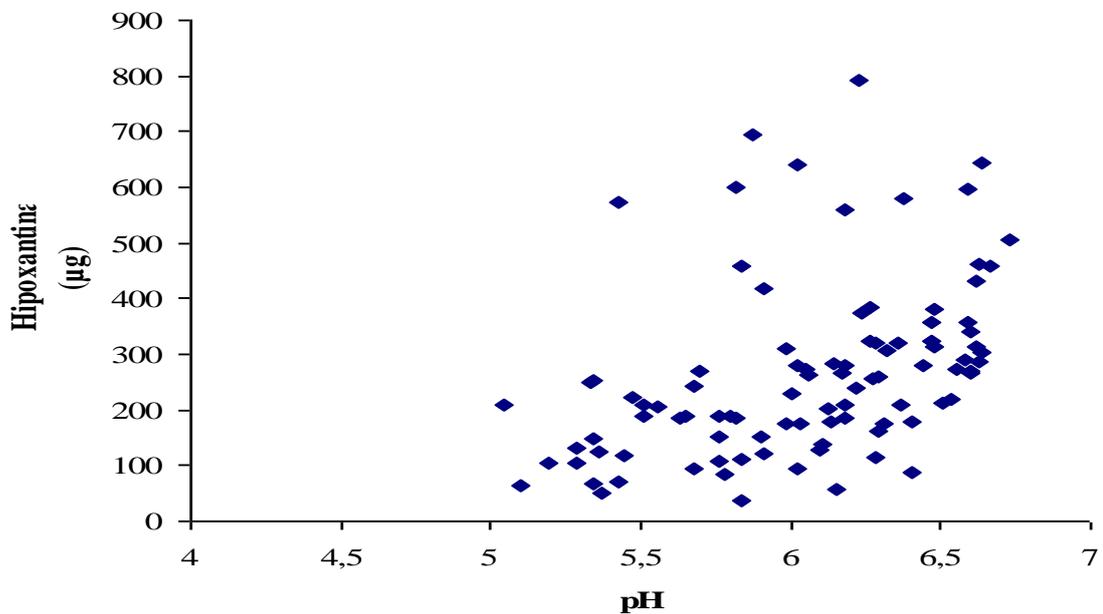


Figura 15. Coeficiente de correlação de Pearson: valor observado: 0,417 ($P < 0,0001$)

4.6 HIDROXIPROLINA

Constatou-se que o tempo de retenção da hidroxiprolina foi 11,1min, assim como não houve interferência da prolina (22,8min) na separação da hidroxiprolina (Figura 4).

Os valores obtidos na quantificação de hidroxiprolina em três diferentes momentos (1, 12 e 360h) após sangria para os músculos “LD” e “IE”, para javalinas, javardos e javali, assim como as respectivas médias, constam na Tabela 16.

Observou-se (Figura 16) que o músculo “IE” (343 μg) para a categoria javali teve concentração de hidroxiprolina superior em 31,2% em relação ao “LD” (261,4 μg), sugerindo seja menos macio.

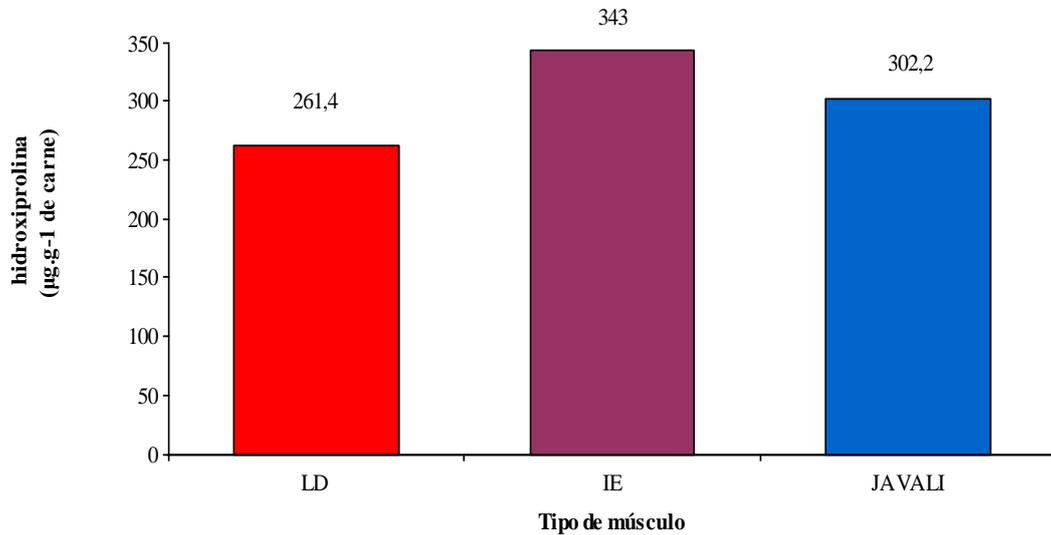


Figura 16. Média de concentração em hidroxiprolina ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne) em amostras de músculos “LD”, “IE” e de javali (média entre os músculos)

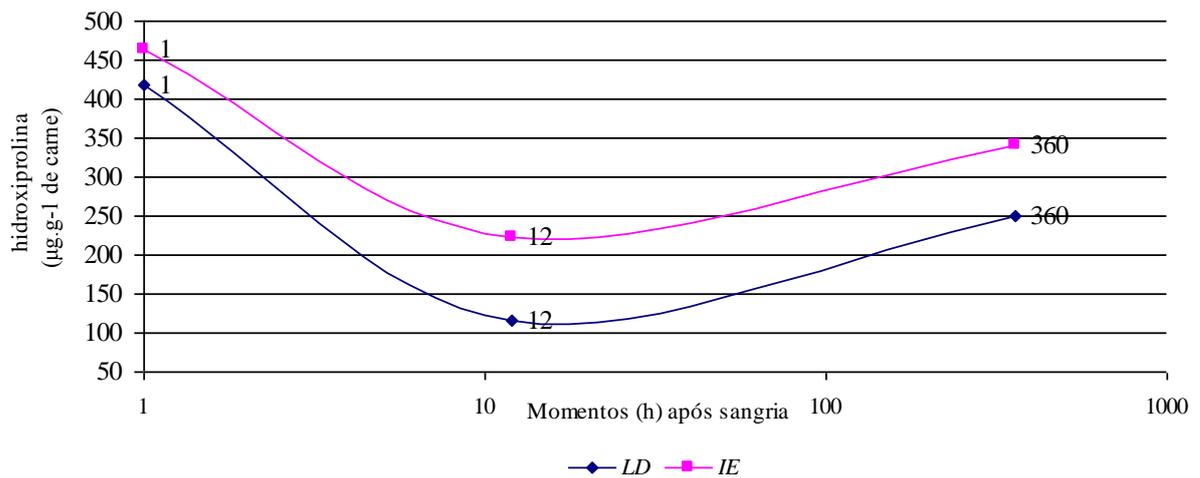


Figura 17. Evolução da média de hidroxiprolina ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em músculos “LD” e “IE” de javali (*Sus scrofa scrofa*) em três momentos durante 360h após sangria

Na Figura 17 foram representadas as quantidades por tipo de músculo; degradação e reconstituição de hidroxiprolina em cada músculo estudado e a redução da concentração de hidroxiprolina em 360 horas. Os resultados expressos levam à seguinte interpretação: a

degradação da hidroxiprolina no período compreendido entre 1 e 12 horas após sangria foi 72,6% (418,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne para 114,8) no músculo “LD” e 51,8% (464,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne para 223,4) no músculo “IE”; a degradação da hidroxiprolina foi 26,2% maior no músculo “LD”; o aumento da concentração de hidroxiprolina, no período compreendido entre 12 e 360 horas após sangria, em músculos “LD” e “IE”, foi respectivamente 118,2% (114,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne para 250,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) e 52,8% (223,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne para 341,3) e a recuperação da concentração de hidroxiprolina no músculo “LD” foi superior a do “IE” em 15,1%. Em ambos os músculos constatou-se que a hidroxiprolina foi degradada em 62,3% (449,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para 169,1) no período compreendido entre 1 e 12 horas após sangria, contribuindo para diminuir a dureza da carne, estando em acordo com Forrest et al. (1979) quando afirmaram que a elevação do pH de 5,5 a 6,0 aumenta a dureza, diminuindo esta quando supera aquele limite. Constatou-se, ainda, que o aumento da concentração de hidroxiprolina, no período compreendido entre 12 e 360 horas após sangria foi 75% (169,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para 295,9). Portanto, observou-se que a degradação da hidroxiprolina foi maior que sua recuperação (280,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para 126,8) em 54,7%. A variação na quantidade de hidroxiprolina, diminuindo entre 1 e 12h e, aumentando entre 12 e 360h após sangria, pode ser explicada pela degradação não hidrolítica à qual são submetidos, naturalmente, os aminoácidos por intermédio do processo de descarboxilação e/ou desaminação. No primeiro caso, são degradados a aminas biogênicas com liberação de CO_2 ; no segundo caso, a ácidos orgânicos (ácido pirúvico), amoníaco e gás sulfídrico (Deulofeu e Marenzi, 1955a). Isto contribui no sentido de acidificar e/ou alcalinizar a carne dependendo do processo de degradação. Estas reações podem explicar, também, a oscilação do valor de pH, principalmente antes de 12h após sangria. Com base nas afirmações de Deulofeu e Marenzi (1955a), que demonstraram a conversão parcial da prolina a hidroxiprolina por mecanismo enzimático e, que a partir do ácido glutâmico, pode haver formação de prolina e hidroxiprolina, se pode entender o aumento da concentração de hidroxiprolina que ocorreu no período compreendido entre 12 e 360h após sangria.

A média da concentração em hidroxiprolina foi convertida de μg para $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne, de acordo com Merck (1983), obtendo-se 2,3 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ (média entre músculos), sendo de 2,0 e 2,6 $\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ nos músculos “LD” e “IE” respectivamente. Alvarez (2001) constatou em *Longissimus dorsi* de bovino concentração de hidroxiprolina de 103,00mg/100g de amostra. Transformando-se este resultado em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, para efeito de comparação com os resultados em javali, obteve-se 1030 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra. Este valor foi superior em 294,0% (1030 para 261,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra) em relação ao “LD” de javali. Gaspar (2003), estudando

carne de tartaruga, encontrou concentração de hidroxiprolina, para fêmeas 81,40mg/100g de amostra e machos 72,86mg/100g de amostra. Transformando-se este resultado em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, para efeito de comparação com os resultados em javali, obteve-se, respectivamente $814\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra e $728,6\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra. O valor relativo à tartaruga fêmea foi superior em 169,3% (814 para $302,2\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra) em relação a javali; o valor relativo à tartaruga macho foi superior em 58,5% ($728,6$ para $302,2\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra) em relação a javali. Fundamentado nestas informações, pressupõe-se que o músculo “LD” de javali seja muito mais macio que o de bovinos; assim como a carne de javali seja mais macia que a de tartaruga.

A média de concentração em hidroxiprolina (Figura 18) mensurada no início da pesquisa (1h após sangria) foi $449,4\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e a encontrada no final (360h após sangria), $295,9\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente $3,4\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne e $2,2\mu\text{moles}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne (Merck, 1983). Em 15 dias a degradação de hidroxiprolina em carne de javali (média entre os músculos) foi 34,2% ($449,4\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne para 295,9), o que pode justificar sua maior maciez e explicado por Price (1991): “a degradação das proteínas miofibrilares poderá enfraquecer a integridade estrutural da miofibrila com o conseqüente amaciamento da carne”.

A quantidade de colágeno, de acordo AOAC (2005) e Terra (1988) foi calculada e, nesta pesquisa, encontrou-se $2.417,6\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne ou 0,24% ($302,2\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne = $0,03\text{g}/100\text{g}$ de carne $\times 8 = 0,24\%$) de colágeno em carne de javali (média entre “LD” e “IE”); valor, como esperado, aquém do encontrado por Lawrie (1977) e Forrest et al. (1979) em músculo de mamíferos adultos, respectivamente 2% (incluindo elastina, reticulina e enzimas insolúveis) e 1,5% (incluindo a reticulina). Os resultados encontrados por Light et al. (1985), Lira (1997), Pedreira (2001), Pardi et al. (2001), Gaspar (2003), Pereira e Luchiari (2004), Żochowska et al. (2005) são unânimes no sentido que o tecido conjuntivo desempenha importante função na maciez da carne; o colágeno é a principal proteína em sua constituição, sendo hidroxiprolina o aminoácido mais abundante e tão característico, que tem sido usado para determinar o teor de colágeno. Por outro lado, Shimokomaki et al. (1972); Light et al. (1985); Lira (1997); Pedreira (2001) escreveram que o perimísio é o mais abundante do tecido conjuntivo intramuscular, sendo indicado como o principal determinante da textura da carne. Pressupõe-se, então, por estes motivos, que a carne de javali seja mais macia que a das demais espécies abordadas neste trabalho.

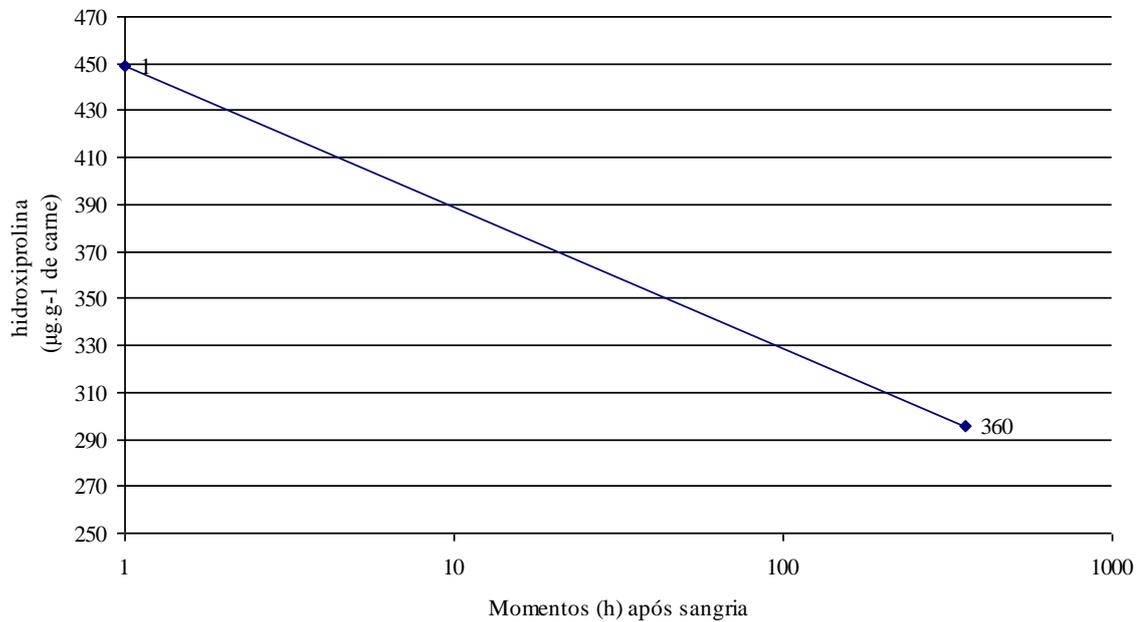


Figura 18. Média da concentração em hidroxiprolina ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne) em músculos (média entre “LD” e “IE”) de javali nas primeira e 360 horas após sangria

Em virtude dos resultados alcançados nesta pesquisa e da possibilidade de realizar diversas análises em um único laboratório, da sensibilidade do método, da facilidade na execução e obtenção de resultados, na otimização de tempo, assim como por imposição tecnológica do mercado internacional de alimentos, recomenda-se a adoção de técnicas modernas como a cromatografia líquida de alta eficiência para detectar hipoxantina, e, com derivatização pré-coluna para quantificação de hidroxiprolina.

5 CONCLUSÃO E SUGESTÃO

5.1 CONCLUSÃO

Não se constatou correlação linear entre as variáveis: tempo e temperatura, com a concentração de hipoxantina.

Constatou-se correlação linear positiva, regular, entre pH e concentração de hipoxantina.

A quantificação em hipoxantina para a carne de javali foi $265,4\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne ($1,95\mu\text{moles.g}^{-1}$).

A quantificação em hidroxiprolina para a carne de javali foi $302,2\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne ($2,3\mu\text{moles.g}^{-1}$).

A análise cromatográfica (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) aplicando-se a técnica de Derivatização pré-coluna com 6-aminoquinolyl-N-succinimidyl carbamate, pioneira na quantificação de hidroxiprolina no Brasil, demonstrou eficácia e sensibilidade inerentes às técnicas modernas.

5.2 SUGESTÃO

Tendo em vista os resultados obtidos para a concentração de hipoxantina em carne de javali (até $4,4\mu\text{moles.g}^{-1}$ de carne), superando teores mencionados por Lawrie (1977) entre $1,5 - 2,0\mu\text{moles.g}^{-1}$, assim como concentração de colágeno (0,24%) muito aquém de citação de Lawrie (1977) e Forrest et al. (1979), respectivamente 2 e 1,5%, sugere-se avaliação sensorial para confirmação do sabor e maciez apresentados pela carne de javali, quando consumida.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, R. L. *Correlação entre tempo, temperatura e pH com comprimento de sarcômero no rigor mortis em carcaça frigorificada de bovino*. 1984. 81 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1984.

ABREU, R. L.; GODOY, R. L. O.; SANTOS, I. F.; PACHECO, S.; FREIRE, C.; SOUZA, R. Desenvolvimento de uma análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para determinação de hidroxiprolina em carne. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, IX, 2007, Porto Seguro-BA. *Anais*. São Paulo: DPI Studio e Editora Ltda, 2007. 554 p. v. 21, n. 150, p. 286-287.

ALMEIDA, N. M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; VAL, A. L.; LESSI, E. Determinação do índice de *rigor mortis* e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, p. 698-704, 2005.

ALVAREZ, M. I. *Avaliação da porcentagem de colágeno total e da maciez do contrafilé (músculo Longissimus dorsi) de bovinos machos castrados mestiços nelore*. 2001. 33 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

AOAC. *Official Methods of Analytical Chemists*. 18^a ed. Assoc. Offic. Agr. Chemist. Washington, D.C. 2005.

BENDALL, J. R.; BOURNE, G.H. *Structure and function of muscle*. New York: *Academic Press*, 1973, p. 243-309.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Determinação de colesterol em carne: comparação de um método colorimétrico e um método por cromatografia líquida de alta eficiência. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 60, n. 1, p. 53-57, 2001.

BRASIL. MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. Portaria n° 05 de 08 de novembro de 1988. Padronização de cortes de carne bovina. 1988.

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. Portaria n° 711 de 01 novembro de 1995. Normas Técnicas de Instalações e Equipamentos para o Abate e Industrialização de Suínos.

_____. MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Portaria n° 102/98, de 15 de julho de 1998.

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA. DIPOA-MAPA. 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 17 out. 2003

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA. DIPOA-MAPA. 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 08 jun. 2004.

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA. DIPOA-MAPA. 2004 Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 12 abril 2005.

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA. DIPOA-MAPA. 2005. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 18 maio 2006.

_____. MINISTERIO DA AGRICULTURA. DIPOA-MAPA. 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 25 mar. 2007.

CAVALCANTI, S.S. Introdução ao estudo dos suínos. In: _____. *Produção de suínos*. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1984. 453 p. cap.1, p. 1-30.

CHALLIOL, J.; GUERERE, M.; BONNET, B.; PAJANIAYE, A. Les lipids de la tortue verte *Chlonia mydas*: Comparación entre animaux sauvages et animaux d'élevage. *Ann. Fals. Exp. Chim.* v. 76, n. 818, p. 237-244, 1983. In: GASPAR, A. *Avaliação do abate e da qualidade da carne de tartaruga – da -Amazônia (podocnemis expansa) criada em cativeiro para consumo humano*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

CICCO, L.H.S. de. *Enciclopédia Os Animais*. Rio de Janeiro: Ed. Bloch, 1995. Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/javali.htm>>. Acesso em: 15 out. 2003.

COHEN, S.A.; DENNIS, D.M. Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application for the analysis of hydrolysate amino acids via high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, n. 211, p. 279-287. 1993.

CRAWFORD, A.M. *Seleção e preparo de alimentos*. Rio de Janeiro: Record, 1985. 160 p.

DEULOFEU, V.; MARENZI, A.D. Aminoácidos, Polipeptídeos e Protídeos. In: _____. *Química biológica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1955a, cap. IX, p. 150–197. 840 p.

_____. Metabolismo Intermediário dos Protídeos. In: _____. *Química biológica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1955b, cap. XX, p. 471–507. 840 p.

_____. Metabolismo dos Nucleoprotídeos. In: _____. *Química biológica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1955c, cap. XXI, p. 508–514. 840 p.

_____. Química e Metabolismo dos Tecidos. In: _____. *Química biológica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1955d, cap. XXVIII, p. 692, 696–697. 840 p.

DRANSFIELD, E. Intramuscular composition and texture of beef muscles. *Journal of Food and Agriculture*, n. 28, p. 833-842. 1977.

DUKES, H.H. Metabolismo protéico. In: _____. *Fisiologia de los Animales Domesticos*. 2. ed. Madrid: Aguilar, 1962a. Cap. XXIII, p. 521-545. 961 p.

_____. Actividad Muscular. In: _____. *Fisiologia de los Animales Domesticos*. 2. ed. Madrid: Aguilar. 1962b. Cap. XXVIII, p. 657-671. 961 p.

FABIANSOON, S.; REUTERSWARD, A.L. Glycogen determinations in *post-mortem* beef muscles. *Food chemistry*, v. 15, p. 269-284, 1984.

FERNANDEZ, A. T. *Caracterização do processo de rigor mortis e efeito da radiação gama na paleta (triceps brachii) e no músculo duro (extensor/flexor) de javali (Sus scrofa) durante a sua validade comercial*”, 2007. 140 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.

FORREST, J. C.; ABERLE, E.D.; HEDRICK,H.B.; JUDGE,M.D. e MERKEL,R.A. Crecimiento y desarrollo. In: _____. *Fundamentos de ciencia de la carne*. Zaragoza: Acribia, 1979. Cap. 4, p. 69-107. 364 p.

FUENTE, F. R. de la. O javali. In: _____. *A Fauna: vida e costumes dos animais selvagens*. São Paulo: Salvat, 1979. 11v, v. V, cap. 62, p. 145- 161. 300 p.

GALBAN, V. D.; KETTELHUT, I. C. Mecanismos de proteólise e seus fundamentos. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Departamento de Bioquímica. Disponível em <http://www.rbi.fmrp.usp.br/proteol/proteol.htm>. Acesso em: 16 out. 2005.

GASPAR, A. *Avaliação do abate e da qualidade da carne de tartaruga – da -Amazônia (podocnemis expansa) criada em cativeiro para consumo humano*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

GIRE, P.; MONIN, G. Taux de glycogene musculaire, stress de transport et pH ultime de la viande chez le mouton. *Ann. Technol. Agric.*, v. 28, n. 4, p. 433-444, 1979.

GOLL, D.E.; OTSUKA, Y.; NAGAINES,P.A.; SHANNON, J.D.; SATHE, S.K.;

MUGURUMA, M. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *Journal Food Biochemistry*, n. 7, p. 137-177. 1983.

GÜRTLER, H.; KETZ, A.; KOLB, E.; SCHRÖDER, L.; SEIDEL, H. Fisiologia general de los músculos y del tejido óseo. In: _____. *Fisiología veterinária*. Zaragoza: Acríbia, 1974. 2 v, v. 2, p. 873-913.

HARPER, H.A.; RODWELL, V.W.; MAYES, P.A. Tecido muscular. In: _____. *Manual de química fisiológica*. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 1982. Cap. 40, p. 682-685. 736 p.

HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. Conversion of muscle to meat and development of meat quality. *Principles of Meat Science*, 3rd ed, ch. 5, p. 95-122, 1994.

HONIKEL, K.O.; FISCHER, C.; HAMM, R. Characteristics and utilization of pre rigor meat. *Ann. Technol. Agric.*, v. 29, n. 4, p. 589-602, 1980.

HONIKEL, K.O.; RONCALÊS, P.; HAMM, R. The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle. *Meat Science*, v. 8, n. 3, p. 221-241. 1983.

HOFMANN, K. Comparative studies on german and australian wild boar meat. *Fleischwirtschaft*, v. 69, n. 10, p. 1558-1560. 1989.

IBGE – ENDEFE. Tabela de composição de alimentos. 2. ed, Rio de Janeiro: Fundação Brasileira de Geografia e Estatística, 1981. 213 p.

JAM, J. The influence of elevated temperature conditioning on bison (*Bison bison bison*) meat quality. *Meat Science*, v. 56, n. 3, p. 279-284. 2000.

KODAMA, S. J. Tokyo Chem. Soc., n. 34, p. 751. 1913. In: LAWRIE, R.A. *Ciencia de la carne*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1977. 456 p.

KOOHMARAIE, M. Role of the neutral proteinases in *post mortem* muscle protein

degradation and meat tenderness. In: *Proc. Rec. Meat Conference*. Colorado State University. v. 45, p. 63-71. 1992.

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

LAWRIE, R.A. *Ciencia de la carne*. 2ed. Zaragoza: Acribia, 1977. 456 p.

LAWRIE, R.A.; POMEROY, R.W.; CUTHBERTSON, A. Studies on the muscles of meat animal III. Comparative composition of various muscle in pigs of three weight groups. *The Journal of Agriculture Science*, v. 60, p. 195. 1963. In: LAWRIE, R.A. *Ciencia de la carne*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1977. 456 p.

LAWRIE, R.A.; POMEROY, R.W.; WILLIAMS, D.R.A. *The Journal of Agriculture Science*, v. 62, p. 89. 1964. In: LAWRIE, R.A. *Ciencia de la carne*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1977. 456 p.

LEE, C.A.; WEBSTER, H.L. Div. Food Pres. Tech. Paper. C.S.I.R.O., n. 30. 1963. In: LAWRIE, R.A. *Ciencia de la carne*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1977. 456 p.

LIGHT, N.; CHAMPION, A.E.; VOYLE, C.; BAILEY, A.J. The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat Science*, v. 13, p. 137-149, 1985.

LIRA, G. M. Influência do colágeno sobre a textura de carnes. *Higiene Alimentar*, v. 11, n. 48, p. 12-18, 1997.

MARSH, B.B. Observations on *rigor mortis* in whale muscle. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 9, p. 127-132. 1952.

MARCHIORI, A. F. *Composição e propriedades físico-químicas da carne de javali e de suíno comercial*. 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

MARCHIORI, A. F.; FELICIO, P. E. *Qualidade da carne de javali e de suíno comercial*. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas: UNICAMP, 2001.

Merck index. 10th ed. New Jersey: Merck, 1983.

MIDORIKANA, Y.; FUJII, T.; OHIRA, A.; NITTA, K. Celss Nutrition System Utilizing Snails. *Acta Astronautica*, v. 29, n. 8, p. 645-650, 1993. In: GASPAR, A. *Avaliação do abate e da qualidade da carne de tartaruga – da - Amazônia (podocnemis expansa) criada em cativeiro para consumo humano*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

MIRANDA, L.L.; LUI, J.F. Citogenética do javali em criatórios comerciais das regiões Sul e Sudeste do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 11. 2003.

MOORE, S., STEIN, W.H.; SPACKMAN, D.H. Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*, v. 30, n. 7, p. 1190-1206. 1958.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. Fundamentos da ciência da carne. In:_____. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 2. ed. revisada e ampliada. Goiânia: UFG, v. I, p. 39-129. 2001. 623 p.

PEDREIRA, C.M.S. Como as fibras do colágeno influenciam na maciez da carne. 2001. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em: 07 set. 2006.

PEREIRA, A.S.C. O sistema bioquímico na influência da maciez da carne. 2003. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em: 07 set. 2006

_____. A questão da palatabilidade na qualidade da carne. 2004a. Disponível em <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em: 07 set. 2006.

_____. Temperatura e qualidade da carne. 2004b. Disponível em: <http://www.zoonews.com.br/noticias2/noticia>. Acesso em: 13 maio 2004.

PEREIRA, A.S.C.; LUCHIARI FILHO, A. Colágeno e qualidade da carne. 2004. Disponível em <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em: 16 fev. 2006.

PINHEIRO, R.M.K. *Temperatura, pH e comprimento de sarcômero durante o rigor mortis, em carcaça frigorificada de suínos abatidos em São Gonçalo – RJ*. 2000. 96 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2000.

PRICE, J.F.; SCHWEIGERT, B.S. *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. Zaragoza: Acribia, 1994. 581 p.

PRICE, M. G. In “Advances in structural biology”, v. I, ed. by Melhorta, S. K. J. Al Press, Greenwich, CT, p. 175. 1991.

REGIONAL AGRÍCOLA on line. n. 14, jul. 2002. Disponível em: <<http://www.escalarural.com.br>>. Acesso em: 15 out. 2003.

ROÇA, R.O.; SERRANO, A.M. Abate de bovinos: conversão do músculo em carne. *Higiene Alimentar*, v. 8, n. 33, p.7–13, 1994.

SELLIER, P. Genetics of pork quality. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO E INDUSTRIALIZAÇÃO DE SUÍNOS, I., 1995, Campinas. Anais. Campinas: CTC – ITAL, 1995. p. 1-34.

SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I.; KRIESE, P.R.; SOARES, A.L. Calpaínas e Calpastatinas. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. *Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes*. São Paulo: Varela, 2006. Cap. 18, p. 185-194. 236 p.

SHIMOKOMAKI, M.; ELSDEN, D. F.; BAILEY, A. J. Meat tenderness: age related changes in bovine intramuscular collagen. *Journal Food Science*, v. 37, p. 892-896, 1972.

SILVA, P. et al. Aproveitamento das peles de javali na indústria coureiro - calçadista. Enciclopédia Associações Criadores. 2003. In:_____. *Catálogo Rural*. Disponível em: <<http://www.agrov.com/animais/peq.ani/javali.htm>>. Acesso em: 15 out. 2003.

SILVEIRA, E. T. F. Técnicas de abate e seus efeitos na qualidade da carne suína. In: MARCHIORI, Andréa Fernanda. *Composição e propriedades físico-químicas da carne de javali e de suíno comercial*. 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SISSON, S. Anatomia de los Animales Domesticos. Madrid – Espanha: Salvat Editores S.A., 4ª edição. 1974. 952 p.

SWARTZ, D. R.; LIM, S. S.; FASSEL, T.; GREASER, M. L. Mechanism of myofibril assembly. Annual Reciprocal Meat Conference, *Proceedings*, v. 47, p. 141-153, 1994.

SCHULTE, P.M. et al. Integrating metabolic pathways in post exercise recovery of white muscle. *Journal Experimental Biology*, v.166, p.181-195, 1992.

TABOGA, S.R.; ROMANELLI, P.F.; FELISBINO, S.L.; BORGES, L.F. Acompanhamento das alterações *post mortem* (Glicólise) no músculo do jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 1, 2003.

TARRANT, P.V. Muscle biology and biochemistry. In: *EUROPEAN MEETING OF RESEARCH WORKERS*. Proceedings, v. 1, p. 1-5, 1987.

TERRA, N.N.; BRUM, M.A.R. Carne e seus derivados: *Técnicas de Controle de Qualidade*. Ed. NOBEL. 1988. p. 36-38.

USDA – United States Departamento f Agriculture. Composition of food: Poultry Products, Washington DC: USA: *Agriculture Handbook*, n.8, p.5-8,1979. In: GASPAR, A. *Avaliação do abate e da qualidade da carne de tartaruga – da - Amazônia (podocnemis expansa) criada em cativeiro para consumo humano*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

VALLS, J., BELLO, R.A.; KODAIRA, M. Determinacion de aminos biogenas y nucleotidios por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) en muestras de sardinhas (*Sardinella aurita*). Informativo de Pesca, n. 538, suplemento, mar. In: *TERCERA CONSULTA DE EXPERTOS SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS EN EL AMÉRICA LATINA*, 1994, Roma,Itália. FAO, 145 p.

VIEIRA, S. Análise de variância (ANOVA). São Paulo: Atlas, 2006. 204 p.

VIVEIROS, A. T. M. Como manejar a criação de caracóis comestíveis. *A lavoura*. 1996. In: GASPAR, A. *Avaliação do abate e da qualidade da carne de tartaruga – da - Amazônia (podocnemis expansa) criada em cativeiro para consumo humano*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

WALLACH, J.D.; BOEVER, W.J. Wild swine and peccaries. In: _____ *Diseases of exotic animals*. London: W. B. Saunders Company. 1983. Cap. 12, p. 631-651. 1159 p.

WATERS AccQ Tag. Amino acid analysis method. *Chemistry package. Instruction manual*. Waters Corporation, n.Wat 05874. 1993.

WOESNER, Jr., J.F. The determination of hydroxiprolin in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Archivos Biochemical and Biophysical*, v. 93, p. 440. 1961.

ŻOCHOWSKA, J.; LACHOWICZ, K.; GAJOWIECKI, L.; SOBCZAK, M.; KOTOWICZ, M.; ŻYCH, A. Effects of carcass weight and muscle on texture, structure and myofibre characteristics of wild boar meat. *Meat Science*, v. 71, n. 2, p. 244-248, 2005.

7 APÊNDICES

7.1 MODÉLOS DE RELATÓRIO PARA ENTREVISTA

MODÉLO DE RELATÓRIO VISITA A PROPRIEDADE
(Criatório de javali)

DATA:

PROPRIETÁRIO:

1 – NOME DA PROPRIEDADE:

a) ÁREA DA PROPRIEDADE:

2 – ENDEREÇO:

3 – PERTENCE A ALGUMA ASSOCIAÇÃO DE CRIADORES DE JAVALI?

4- ESPÉCIES CRIADAS NA GRANJA:

5 – MATRIZES:

a) PROCEDÊNCIA:

b) QUANTIDADE:

Total do plantel (javados):

c) CARIOTIPAGEM: sim não Aonde?

d) ÁREA POR FILHOTES NA CRECHE:

e) ÁREA DO BOX NA MATERNIDADE:

f) QUANTIDADE DE BOX:

g) ÁREA DA TERMINAÇÃO:

h) TEM CERCA ELÉTRICA?

Obs.:

6 – ALIMENTAÇÃO USADA:

a) Tipo: vegetal ..-... animal -

b) Quantidade: Adulto ⇒

Javados ⇒ durante a amamentação:

após o desmame:

durante o crescimento:

na fase de terminação:

c) Base da formulação da ração:

d) É preparada na propriedade?

e) É comprada pronta? sim não De onde?.....

7 – PROLIFICIDADE:

a) QUANTOS FILHOTES POR FÊMEA?

- b) QUANTOS SÃO DESMAMADOS?
- c) IDADE AO DESMAME?
- d) PERDA: -----
- e) CAUSAS: -----

8 – ABATE:

a) PESO:

Cachaço castrado adulto:

Fêmea adulta:

Javardos:

b) IDADE:

c) RENDIMENTO DE CARÇAÇA:

9 – OS FILHOTES MACHOS SÃO CASTRADOS? Sim não

a) COM QUE IDADE?

10 – REGIME DE CRIAÇÃO: extensiva.... intensiva semi intensiva

11 – COMO É FEITA HIGIENIZAÇÃO DOS LOCAIS DE CRIA E RECRIA?

a) QUAL PERIODICIDADE DESTA ATIVIDADE?

12 – USA ALGUM SISTEMA DE MARCAÇÃO DOS ANIMAIS? Sim não

a) QUAL?

b) COM QUE IDADE?

13 – CONTROLE SANITÁRIO

a) AO ADQUIRIR OS ANIMAIS:

b) ADMINISTRA VERMÍFUGO? sim não

Qual a base química?

14 – FAZ TRATAMENTO PREVENTIVO (VACINAS)? Sim não

a) QUAIS?

15 – ÁGUA DE ABASTECIMENTO: Poço: raso..... semi artesiano..... artesiano
nascente rede pública
tratada

16 – APARTAÇÃO PARA O ABATE USA GAIOLAS? Sim não

JEJUM? Sim não

NO MESMO DIA? Sim não

17 – QUAIS AS DOENÇAS QUE TÊM SIDO DIAGNOSTICADAS?

18 – TRANSPORTE PARA O MATADOURO É RESPONSABILIDADE DE QUEM?

19 – TEM CADASTRO NO IBAMA?

20 – TEM CERTIFICAÇÃO?

21 – O PROJETO FOI APROVADO?

a) O QUE FICOU PENDENTE?

b) QUAL FIRMA ELABOROU O PROJETO?

22- DESTINO DOS DEJETOS:

tratamento de efluentes: sim não ..

qual o sistema?

23 – TEM MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL? Sim não

a) QUEM É?

COMENTÁRIOS:

MODÉLO DE RELATÓRIO DE VISITA MATADOURO REFERENTE MATANÇA
JAVALI

SIF – POINS:

Encarregado pela IF: Tel.:

Razão Social :

Município:

Data:

MARCA FANTASIA:

2 – ENDEREÇO:

3 – PROPRIETÁRIO:

4 – ESPÉCIES ABATIDAS:

5 – NÍVEL DE INSPEÇÃO SANITÁRIA :

6 – CAPACIDADE DE ABATE:

7 – INDUSTRIALIZA? Sim..... não Quais os produtos?

8 – ÁGUA DE ABASTECIMENTO: Poço: raso..... semi artesiano artesiano

nascente..... rede pública

tratada: sim não

9 – TRATAMENTO DE EFLUENTES: sim..... não

Qual o sistema?

10 – MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL: CRMV-... n°

11 – REPOUSO, JEJUM E DIETA HÍDRICA: sim..... não..... tempo:

12 - ÁREA DE POCILGA / ANIMAL :

13 - ALTURA PAREDE POCILGA :

13.1 ALTURA PAREDE DA SERINGA:

14 - PÉ DIREITO DA POCILGA :

15 – INSENSIBILIZAÇÃO:

15.1 ÁREA POR ANIMAL :

15.2 VOLTAGEM:

15.3 AMPERAGEM: Freqüência:

15.4 TEMPO DE APLICAÇÃO DO CHOQUE:

15.5 TEMPO ENTRE INSENSIBILIZAÇÃO E INICIO DA SANGRIA :

16 - SANGRIA:

16.1 ALTURA DO TRILHO:

16.2 COMPRIMENTO DO ANIMAL ENTRE

FIXAÇÃO DO MEMBRO TRASEIRO E EXTREMIDADE DO FOCINHO:

BASE (INSERÇÃO) DO RABO E NUCA:

NUCA E EXTREMIDADE DO FOCINHO:

Comp. da cabeça medido do côndilo do occipital até o focinho, pelo palato duro:

16.3 DISTÂNCIA ENTRE EXTREMIDADE DO FOCINHO E CANALETA:

16.4 PUNÇÃO CARDIACA: sim não

SECÇÃO DOS GRANDES VASOS: sim não

OUTRO:

16.5 TEMPO DE SANGRIA:

VOLUME DE SANGUE DURANTE O TEMPO DE SANGRIA:

16.6 CIRCUNFERENCIA DO ANIMAL:

17 - COUREAMENTO ?

OU

ESCALDAGEM ?

18 – ESCALDAGEM : imersão aspensão

TEMPO de permanência no tanque:

TEMPERATURA DA ÁGUA :

19 – DEPILAÇÃO:

CHAMUSCAMENTO: sim não

TOALETE:

LAVAGEM DO ANIMAL:

CIRCUNFERENCIA DO ANIMAL:

20 - ÁREA LIMPA:

20.1 ALTURA DO TRILHO:

20.2 COMPRIMENTO DO ANIMAL ENTRE FIXAÇÃO DO MEMBRO TRASEIRO E EXTREMIDADE ANTERIOR (focinho):

20.3 DISTÂNCIA ENTRE EXTREMIDADE ANTERIOR (focinho) E O PISO:

20.4 OCLUSÕES: reto.... esôfago (extremidades cranial e caudal).... duodeno. .

20.5 EVISCERAÇÃO:

VÍSCERAS BRANCAS

VISCERAS VERMELHAS

APARELHO GENITAL (ÚTERO):

20.6 INSPEÇÃO SANITARIA:

CARCAÇA:

DIANTEIRO:

TRASEIRO e rins:

VISCERAS

BRANCAS: estômagos..... intestinos..... pâncreas.....baço.....

VERMELHAS: coração..... fígado..... pulmões..... língua.....

CABEÇA:

Obs.:

20.7 CIRCUNFERÊNCIA DA CARÇAÇA:

20.8 LESÕES JÁ ENCONTRADAS:

20.8.1 LINGUA

20.8.2 PALATO

DURO

MOLE

20.8.3 MAXILAR

MANDIBULA

20.8.4 CORAÇÃO

20.8.5 PULMÕES

20.8.6 FÍGADO

20.8.7 RINS

20.8.8 INTESTINO DELGADO

20.8.9 INTESTINO GROSSO

20.8.10 ESTOMAGO

20.8.11 PANCREAS

20.8.12 BEXIGA

20.8.13 ÚTERO

20.8.14 VAGINA

Obs:.

21 - PESO MÉDIO: VIVO (EM PÉ): MORTO (CARÇAÇA):

22 - RENDIMENTO CARÇAÇA:

DIANTEIRO COM OSSO.....PALETA
COSTELA

DIANTEIRO DESOSSADO.....

TRASEIRO COM OSSOPERNIL

LOMBO COM FILÉ MINGNON

TRASEIRO DESOSSADO..... PERNIL

LOMBO

FILÉ MINGNON

Carçaça:

Cortes:

CONTATOS:

Diretor industrial:

Gerente de produção:

Encarregado da matança:

Encarregado pela triparia:

SIF:

Agente de Inspeção:

Secretária:

7.2 FOTOGRAFIAS

Vista parcial do criatório



Matadouro-frigorífico em Harmonia-RS - SIF 0459



Bolsa isotérmica e estojo em polietileno de alta densidade para transporte de amostras e frascos contendo gel frigorígeno



Javalina com javardos na maternidade



7.3 TABELAS

Tabela 1. Construção da curva de calibração de hidroxiprolina

| VOLUME DE INJEÇÃO | MASSA INJETADA |
|-------------------|----------------|
| μL | pMol |
| 1 | 10 |
| 5 | 50 |
| 10 | 100 |
| 20 | 200 |

Tabela 2. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) dos músculos “LD” e “IE” nos diferentes momentos (horas) *post mortem* de javalinas (1 e 2) e javardos (3, 4, 5 e 6)

| ANIMAL | MOMENTOS | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 |
|--------|----------|------|------|------|-----|-----|------|------|------|
| | MÚSCULOS | | | | | | | | |
| 1 | LD | 32,6 | 4,4 | 3,1 | 3,5 | 1,4 | 0,3 | 8,0 | 4,1 |
| | IE | 36,4 | 8,7 | 7,6 | 4,7 | 1,5 | 3,3 | 14,5 | 8,7 |
| 2 | LD | 40,6 | 9,4 | 6,4 | 5,3 | 1,5 | 5,4 | 8,7 | 4,5 |
| | IE | 36,3 | 15,9 | 10,0 | 6,6 | 1,5 | 12,8 | 20,5 | 9,3 |
| 3 | LD | 31,6 | 1,9 | 2,2 | 3,3 | 1,5 | -0,4 | 7,5 | 7,4 |
| | IE | 32,2 | 3,8 | 3,5 | 3,4 | 1,4 | -0,2 | 20,5 | 9,5 |
| 4 | LD | 31,4 | 1,2 | 1,8 | 3,3 | 1,6 | 1,2 | 9,3 | 7,0 |
| | IE | 33,7 | 3,8 | 3,0 | 3,4 | 1,4 | 5,4 | 18,8 | 12,4 |
| 5 | LD | 30,9 | 2,5 | 2,0 | 4,3 | 1,6 | 0,2 | 8,8 | 6,8 |
| | IE | 31,8 | 6,3 | 4,7 | 4,2 | 1,5 | -0,3 | 20,1 | 11,7 |
| 6 | LD | 30,8 | 4,0 | 2,6 | 4,2 | 1,7 | 5,2 | 9,7 | 9,2 |
| | IE | 33,2 | 6,9 | 3,8 | 4,5 | 1,6 | 10,5 | 20,8 | 16,3 |

LD - Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores de temperatura entre músculos “LD” e “IE” de javali

| Momentos após sangria (h) | | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 |
|---------------------------|----|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| Média | LD | 32,98 (3,78) | 3,9 (2,95) | 3,01 (1,72) | 3,98 (0,78) | 1,55 (0,10) | 1,98 (2,62) | 8,66 (0,81) | 6,5 (1,9) |
| | IE | 33,93 (1,99) | 7,56 (4,49) | 5,43 (2,77) | 4,46 (1,17) | 1,48 (0,07) | 5,25 (5,45) | 19,2 (2,40) | 11,31 (2,84) |

LD - Longo dorsal IE - Infra-espinhoso

Tabela 4. Análise de variância para a variável temperatura

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|---------------------|----|--------------|------------------------|---------|--------|
| Idade | 1 | 57,531302 | 57,531302 | 11,888 | 0,0010 |
| Horas | 7 | 9146,089583 | 1306,584226 | 269,992 | 0,0000 |
| Músculo | 1 | 254,801667 | 254,801667 | 52,652 | 0,0000 |
| Idade-Horas | 7 | 186,509948 | 26,644278 | 5,506 | 0,0001 |
| Idade-Músculo | 1 | 2,275052 | 2,275052 | 0,470 | 0,4954 |
| Horas-Músculo | 7 | 240,941667 | 34,420238 | 7,113 | 0,0000 |
| Idade-Horas-Músculo | 7 | 17,792865 | 2,541838 | 0,525 | 0,8123 |
| TOTAL | 95 | 10215,659583 | | | |
| CV (%) = | | 23,27 | | | |
| Média geral: | | 9,45 | Número de observações: | | 96 |

FV - fatores de variação

GL – grau de liberdade

SQ – soma dos quadrados

QM – quadrado das médias

Fc – fator de correção

CV – coeficiente de variação

Tabela 5. Valores médios de temperatura (°C) nos músculos “LD” e “IE”

| Músculos | Médias |
|-----------------|-------------------|
| Longo dorsal | 7,8 ^a |
| Infra-espinhoso | 11,1 ^b |

Médias de tratamentos com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 6. Valores de pH dos músculos “LD” e “IE” em javalinas (1 e 2) e javardos (3, 4, 5 e 6) com médias nos diferentes momentos (horas) após sangria

| ANIMAL | MOMENTOS | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 |
|--------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | MÚSCULOS | | | | | | | | |
| 1 | LD | 6,4 | 5,91 | 5,84 | 5,44 | 5,37 | 5,34 | 5,43 | 5,34 |
| | IE | 5,8 | 5,36 | 5,51 | 5,33 | 5,51 | 5,65 | 5,76 | 5,43 |
| 2 | LD | 6,15 | 5,04 | 5,68 | 5,10 | 5,19 | 5,29 | 5,29 | 5,34 |
| | IE | 6,02 | 5,47 | 5,56 | 5,63 | 6,05 | 6,18 | 6,26 | 6,02 |
| Média | LD | 6,28 | 5,47 | 5,76 | 5,27 | 5,28 | 5,31 | 5,36 | 5,34 |
| | IE | 5,91 | 5,41 | 5,53 | 5,48 | 5,78 | 5,91 | 6,01 | 5,72 |
| 3 | LD | 5,98 | 6,14 | 6,00 | 5,68 | 5,82 | 5,76 | 5,91 | 5,84 |
| | IE | 6,13 | 6,18 | 6,03 | 5,70 | 6,17 | 6,12 | 6,47 | 6,18 |
| 4 | LD | 6,06 | 6,51 | 6,60 | 6,29 | 6,37 | 6,22 | 6,48 | 6,23 |
| | IE | 6,44 | 6,62 | 6,64 | 6,55 | 5,98 | 6,63 | 6,63 | 6,59 |
| 5 | LD | 6,02 | 6,29 | 6,60 | 6,40 | 6,31 | 5,90 | 6,32 | 5,87 |
| | IE | 6,27 | 6,60 | 6,59 | 6,36 | 6,62 | 6,47 | 6,73 | 6,64 |
| 6 | LD | 6,28 | 6,10 | 6,18 | 6,11 | 5,84 | 5,78 | 5,76 | 5,82 |
| | IE | 6,28 | 6,48 | 6,26 | 6,58 | 6,24 | 6,53 | 6,66 | 6,38 |
| Média | LD | 6,08 | 6,26 | 6,34 | 6,12 | 6,08 | 5,90 | 6,11 | 5,94 |
| | IE | 6,28 | 6,47 | 6,38 | 6,29 | 6,25 | 6,44 | 6,62 | 6,45 |

LD - Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

Tabela 7. Valores de pH dos músculos “LD” e “IE” em javalinas (1 e 2) e javardos (3, 4, 5 e 6) durante os diferentes momentos (horas) após sangria

| A N I M A L | MO MEN TOS | MÚS CU LO | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 | Média (desvio padrão) | Média (desvio padrão) |
|----------------------------|------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | | | | | | | | | | |
| 1 | LD | | 6,4 | 5,91 | 5,84 | 5,44 | 5,37 | 5,34 | 5,43 | 5,34 | 5,63 (0,38) | |
| | IE | | 5,8 | 5,36 | 5,51 | 5,33 | 5,51 | 5,65 | 5,76 | 5,43 | 5,54 (0,17) | |
| 2 | LD | | 6,15 | 5,04 | 5,68 | 5,1 | 5,19 | 5,29 | 5,29 | 5,34 | 5,38 (0,36) | |
| | IE | | 6,02 | 5,47 | 5,56 | 5,63 | 6,05 | 6,18 | 6,26 | 6,02 | 5,89 (0,30) | 5,61 (0,21) |
| 3 | LD | | 5,98 | 6,14 | 6 | 5,68 | 5,82 | 5,76 | 5,91 | 5,84 | 5,89 (0,14) | |
| | IE | | 6,13 | 6,18 | 6,03 | 5,7 | 6,17 | 6,12 | 6,47 | 6,18 | 6,12 (0,21) | |
| 4 | LD | | 6,06 | 6,51 | 6,6 | 6,29 | 6,37 | 6,22 | 6,48 | 6,23 | 6,34 (0,17) | |
| | IE | | 6,44 | 6,62 | 6,64 | 6,55 | 5,98 | 6,63 | 6,63 | 6,59 | 6,51 (0,22) | |
| 5 | LD | | 6,02 | 6,29 | 6,6 | 6,4 | 6,31 | 5,9 | 6,32 | 5,87 | 6,21 (0,25) | |
| | IE | | 6,27 | 6,6 | 6,59 | 6,36 | 6,62 | 6,47 | 6,73 | 6,64 | 6,53 (0,15) | |
| 6 | LD | | 6,28 | 6,1 | 6,18 | 6,11 | 5,84 | 5,78 | 5,76 | 5,82 | 5,98 (0,20) | |
| | IE | | 6,28 | 6,48 | 6,26 | 6,58 | 6,24 | 6,53 | 6,66 | 6,38 | 6,42 (0,15) | 6,25 (0,24) |
| Média Javali | | | | | | | | | | | 6,04 (0,38) | |

LD – Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

Tabela 8. Análise de variância para a variável pH

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|---------------------|----|-----------|------------------------|---------|--------|
| Idade | 1 | 8,687008 | 8,687008 | 131,852 | 0,0000 |
| Horas | 7 | 0,677257 | 0,096751 | 1,468 | 0,1945 |
| Músculo | 1 | 1,672176 | 1,672176 | 25,380 | 0,0000 |
| Idade-Horas | 7 | 1,153908 | 0,164844 | 2,502 | 0,0245 |
| Idade-Músculo | 1 | 0,032552 | 0,032552 | 0,494 | 0,4847 |
| Horas-Músculo | 7 | 1,191932 | 0,170276 | 2,584 | 0,0207 |
| Idade-Horas-Músculo | 7 | 0,372615 | 0,053231 | 0,808 | 0,5839 |
| TOTAL | 95 | 18,004049 | | | |
| CV (%) = | | 4,25 | | | |
| Média geral: | | 6,04 | Número de observações: | | 96 |

FV - fatores de variação

GL – grau de liberdade

SQ – soma dos quadrados

QM – quadrado das médias

Fc – fator de correção

CV – coeficiente de variação

Tabela 9. Valores médios de pH por músculo

| Músculos | Médias |
|-----------------|------------------|
| Longo dorsal | 5,9 ^b |
| Infra-espinhoso | 6,2 ^a |

Médias de tratamentos com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 11. Concentração de hipoxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne) no músculo "IE" de javali após sangria

| MOMENTO | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 | Média (desvio padrão) | Média (desvio padrão) |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------|-----------------------------|
| ANIMAL | | | | | | | | | | |
| JAVALINA 1 | 188,5 | 124,3 | 188 | 250,4 | 207,5 | 187,2 | 187,3 | 572,6 | 238,23 (139,41) | |
| JAVALINA 2 | 94,6 | 222,8 | 206,6 | 184,8 | 272,7 | 279 | 383,7 | 641,1 | 285,7 (166,03) | 261,96 (33,56) |
| JAVARDO 1 | 178,9 | 210,6 | 175,6 | 270,1 | 267,2 | 200,7 | 325 | 559,2 | 273,45 (126,54) | |
| JAVARDO 2 | 279,7 | 312,3 | 302,2 | 272,7 | 309,5 | 288,2 | 460,3 | 597 | 352,35 (115,67) | |
| JAVARDO 3 | 257,3 | 338,9 | 355,9 | 320,6 | 432,7 | 357,6 | 506,9 | 645,3 | 401,92 (123,48) | |
| JAVARDO 4 | 321,6 | 314,9 | 323,5 | 290,1 | 375,3 | 220,4 | 459,3 | 578,6 | 360,47 (111,54) | 347,05 (53,654) |
| MÉDIA | | | | | | | | | 318,73 (62,31) | |

IE - Infra-espinhoso

Tabela 12. Concentração de hipoxantina ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de carne) no músculo "LD" de javali após sangria

| MOMENTO | 1 | 6 | 8 | 12 | 24 | 72 | 240 | 360 | Média (desvio padrão) | Média (desvio padrão) |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------|-----------------------------|
| ANIMAL | | | | | | | | | | |
| JAVALINA 1 | 88,1 | 123 | 38,3 | 117 | 49,6 | 66,3 | 69,2 | 254,3 | 100,72 (68,86) | |
| JAVALINA 2 | 58,2 | 208,4 | 94,6 | 62,6 | 104 | 130,5 | 103,4 | 149,7 | 113,92 (48,99) | 107,32 (9,33) |
| JAVARDO 1 | 174,8 | 284 | 230,5 | 241,2 | 191,2 | 108 | 419,6 | 458,8 | 263,51 (120,58) | |
| JAVARDO 2 | 263,9 | 211,2 | 265,2 | 260,7 | 208,3 | 239,7 | 380,6 | 792,9 | 327,81 (195,39) | |
| JAVARDO 3 | 279,8 | 163,4 | 269,7 | 180,3 | 175 | 153,3 | 306,3 | 695,4 | 277,9 (178,85) | |
| JAVARDO 4 | 116,1 | 129,3 | 187 | 137,7 | 109,7 | 85,3 | 153,1 | 600,8 | 189,88 (168,77) | 264,77 (57,02) |
| MÉDIA | | | | | | | | | 212,17 (92,62) | |

LD – Longo dorsal

Tabela 13. Análise de variância para a variável hipoxantina em javali

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|---------------------|----|----------------|------------------------|--------|--------|
| Idade | 1 | 313536,340833 | 313536,340833 | 63,152 | 0,0000 |
| Horas | 7 | 1195184,638229 | 170740,662604 | 34,390 | 0,0000 |
| Músculo | 1 | 272501,625938 | 272501,625938 | 54,887 | 0,0000 |
| Idade-Horas | 7 | 61001,063333 | 8714,437619 | 1,755 | 0,1121 |
| Idade-Músculo | 1 | 27720,046875 | 27720,046875 | 5,583 | 0,0212 |
| Horas-Músculo | 7 | 33934,014896 | 4847,716414 | 0,976 | 0,4561 |
| Idade-Horas-Músculo | 7 | 120571,782292 | 17224,540327 | 3,469 | 0,0033 |
| TOTAL | 95 | 2342194,837396 | | | |
| CV (%) = | | 26,54 | | | |
| Média geral: | | 265,45 | Número de observações: | | 96 |

FV - fatores de variação

GL – grau de liberdade

SQ – soma dos quadrados

QM – quadrado das médias

Fc – fator de correção

CV – coeficiente de variação

Tabela 14. Valores médios da concentração de hipoxantina por músculo

| Músculos | Médias |
|-----------------|---------------------|
| Longo dorsal | 212,18 ^b |
| Infra-espinhoso | 318,73 ^a |

Médias com letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

Tabela 15. Coeficiente de correlação linear de Pearson

| | TEMPERATURA | pH | HIPOXANTINA |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| TEMPERATURA | 1 | | |
| pH | 0,149631457 | 1 | |
| HIPOXANTINA | 0,026658157 | 0,416664589 | 1 |

Tabela 16. Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de carne) de hidroxiprolina nos músculos “LD” e “IE” em javalinas (1 e 2), javardos (3, 4, 5 e 6) e javali em três momentos (1h, 12h e 360h) *post mortem*

| ANIMAL | MOMENTOS APÓS A SANGRIA (HORA) | 1 | 12 | 360 | Médias por categoria |
|----------------|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|
| | MÚSCULOS | | | | |
| 1 | LD | 504,4 | 101,2 | 132,4 | |
| | IE | 656,8 | 518,2 | 596,9 | |
| 2 | LD | 77,7 | 88,6 | 324,8 | |
| | IE | 448,0 | 152,5 | 132,6 | 311,2 (221) |
| 3 | LD | 458,9 | 284,8 | 405,3 | |
| | IE | 342,0 | 129,2 | 166,0 | |
| 4 | LD | 997,7 | 67,6 | 378,2 | |
| | IE | 783,7 | 215,1 | 151,2 | |
| 5 | LD | 86,0 | 55,0 | 180,8 | |
| | IE | 350,9 | 162,4 | 354,7 | |
| 6 | LD | 387,8 | 91,9 | 81,4 | |
| | IE | 203,6 | 163,2 | 646,7 | 297,7 (236,5) |
| JÁ VA LI | LD | 418,8 (338,2) | 114,8 (84,9) | 250,5 (136,5) | 261,4 (240,0) |
| | IE | 464,2 (183,2) | 223,4 (147,1) | 341,3 (232) | 343,0 (215,1) |
| JA VA LI | AMBOS OS MÚSCULOS | 449,4 | 169,1 | 295,9 | 302,2 (228,4) |

LD – Longo dorsal

IE - Infra-espinhoso

8 ANEXOS

8.1 MAPAS ESTATÍSTICOS DE ABATE

| UF/ MÊS | Estatística do abate | | | | | | | | | | | Total | |
|--------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|
| | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | | DEZ |
| PR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RS | 301 | 265 | 238 | 101 | 172 | 220 | 284 | 263 | 359 | 279 | 177 | 189 | 2.848 |
| SC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total | 301 | 265 | 238 | 101 | 172 | 220 | 284 | 263 | 359 | 279 | 177 | 189 | 2.848 |

Fonte: MAPA (2003)

| UF/ MÊS | Estatística do abate | | | | | | | | | | | Total | |
|--------------|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|
| | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | | DEZ |
| PR | 30 | 53 | 80 | 0 | 0 | 60 | 0 | 32 | 70 | 30 | 0 | 0 | 355 |
| RS | 200 | 249 | 245 | 239 | 280 | 160 | 90 | 44 | 196 | 121 | 124 | 0 | 1.948 |
| SC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 99 | 97 | 0 | 0 | 405 |
| SP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 99 | 97 | 0 | 0 | 211 |
| Total | 230 | 302 | 325 | 239 | 280 | 220 | 90 | 91 | 515 | 383 | 164 | 80 | 2.919 |

Fonte: MAPA (2004)

Estatística do abate Ano 2004

| UF/ MÊS | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | DEZ | Total |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| PR | 0 | 20 | 44 | 80 | 0 | 0 | 0 | 30 | 50 | 0 | 26 | 40 | 290 |
| RS | 120 | 90 | 84 | 223 | 110 | 202 | 116 | 119 | 164 | 142 | 253 | 245 | 1.868 |
| SC | 0 | 50 | 60 | 130 | 60 | 90 | 185 | 60 | 175 | 88 | 50 | 50 | 998 |
| SP | 98 | 50 | 0 | 0 | 132 | 200 | 100 | 121 | 122 | 60 | 0 | 56 | 939 |
| Total | 218 | 210 | 188 | 433 | 302 | 492 | 401 | 330 | 511 | 290 | 329 | 391 | 4.095 |

Fonte: MAPA (2005)

Estatística do abate Ano 2005

| UF/ MÊS | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | DEZ | Total |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| PR | 0 | 30 | 40 | 80 | 20 | 52 | 75 | 0 | 0 | 52 | 0 | 0 | 349 |
| RS | 155 | 105 | 205 | 150 | 149 | 130 | 100 | 100 | 150 | 50 | 101 | 50 | 1.445 |
| SC | 78 | 0 | 103 | 113 | 37 | 56 | 89 | 113 | 65 | 32 | 115 | 31 | 832 |
| SP | 56 | 71 | 78 | 47 | 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 321 |
| Total | 289 | 206 | 426 | 390 | 275 | 238 | 264 | 213 | 215 | 134 | 216 | 81 | 2.947 |

Fonte: MAPA (2006)

| Estatística do abate | | | | | | | | | | | | | Ano 2006 |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|
| UF/ MÊS | JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | DEZ | Total |
| PR | 0 | 20 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 0 | 0 | 110 |
| RS | 42 | 0 | 142 | 49 | 50 | 71 | 50 | 71 | 124 | 37 | 0 | 0 | 636 |
| SC | 65 | 125 | 31 | 118 | 98 | 26 | 119 | 71 | 40 | 85 | 44 | 0 | 822 |
| SP | 0 | 0 | 0 | 0 | 60 | 0 | 0 | 88 | 0 | 0 | 0 | 0 | 148 |
| Total | 107 | 145 | 173 | 217 | 208 | 97 | 169 | 230 | 204 | 122 | 44 | 0 | 1.716 |

Fonte: MAPA (2007)