

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

**EDNA RIBEIRO DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*, DA  
MACIEZ DOS MÚSCULOS *Gastrocnemius internus* E *Fibularis  
longus* E EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA VIDA COMERCIAL  
DA CARNE DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*)**

**UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE**

**Niterói  
2006**

EDNA RIBEIRO DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*, DA MACIEZ DOS MÚSCULOS  
*Gastrocnemius internus* E *Fibularis longus* E EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA VIDA  
COMERCIAL DA CARNE DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*)

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. TEÓFILO JOSÉ PIMENTEL DA SILVA  
Co-Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. ARLENE GASPAR

Niterói  
2006

S237

Santos, Edna Ribeiro dos

Caracterização do processo de *rigor mortis*, da maciez dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de avestruz (*Struthio camelus*) / Edna Ribeiro dos Santos. – Niterói: [s.n.], 2006.

161f.

Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense, 2006.

Orientador: Teófilo Pimentel José da Silva.

1. Irradiação de alimento. 2. Carne de avestruz – Qualidade. 3. *Rigor mortis*. 4. Ressonância paramagnética eletrônica 5. Músculos. I. Título.

CDD 664.0288

EDNA RIBEIRO DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*, DA MACIEZ DOS MÚSCULOS  
*Gastrocnemius internus* E *Fibularis longus* E EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA VIDA  
COMERCIAL DA CARNE DE AVESTRUZ (*Struthio camelus*)

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.

Aprovada em fevereiro de 2006

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. TEÓFILO PIMENTEL JOSÉ DA SILVA - Orientador  
UFF

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. ARLENE GASPAR - Co-orientadora  
UFRRJ

---

Prof. Dr. EDGAR FRANCISCO OLIVEIRA JESUS  
COPPE/UFRRJ

---

Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO  
UFF

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. MÔNICA QUEIROZ DE FREITAS  
UFF

Niterói  
2006

A DEUS e aos meus PAIS,  
Edson Rosa dos Santos (*in memoriam*) e  
Gerçonita Ribeiro dos Santos (*in memoriam*),  
dedico este trabalho de tese  
e meu amor eterno.

“O Senhor é meu pastor: nada me faltará”

Salmo 23.

## AGRADECIMENTO

Em primeiríssimo lugar, agradeço a DEUS e aos meus PAIS, Edson Rosa dos Santos (*in memorian*) e Gerçonita Ribeiro dos Santos (*in memorian*), pelo amor e dedicação extremos, pela vida e oportunidade de ter alcançado tão elevado grau de titulação e que são, infinitas vezes, mais merecedores que eu, deste mérito.

Aos meus professores orientadores, Teófilo Pimentel e Arlene Gaspar pela confiança depositada desde o início do curso e correções e diversas outras contribuições imprescindíveis para sua conclusão.

Agradeço ao meu marido, Armando Sabaa Srur, pelo incentivo, paciência e confiança durante todo o curso.

À amiga Arlene que sempre me ajudou com sua companhia representando força e credibilidade ao meu trabalho.

Aos amigos de turma, principalmente Rosângela, Jussara (*in memoriam*), Cleise e Carol que muito me ajudaram com ações e palavras de estímulo.

Ao amigo Fábio que ajudou-me no teste de aceitação e na coleta das amostras referentes ao *rigor mortis*.

Aos amigos Leonora e Frederico pelo grande contribuição nas análises de estabilidade lipídica.

Ao professor Hélio Jr. pela paciência e dedicação exigidos nos consertos do computador.

Ao professor Robson, sem o qual não conseguiria realizar as análises microbiológicas e saberia muito menos de microbiologia, além do extremo alto astral e da boa vontade em ajudar-me.

À professora Mônica, que tanto me ajudou nas três análises sensoriais e, várias e várias vezes na estatística. Obrigada pela paciência.

Aos professores da Instituição com os quais tive o privilégio de aprender: Teófilo, Robson, Mônica, Iacir, Sérgio, Elmo, Zander, Leila e Beatriz.

Ao Centro Tecnológico do Exército (CTEx) que me possibilitou utilizar o irradiador.

Aos professores de outras instituições: Hélio Vital e Regina que me possibilitaram realizar o processo de irradiação e a análise instrumental de cor.

Ao professor Edgar pelo importantíssimo auxílio na análise de ressonância paramagnética eletrônica que muito enriqueceu meu trabalho.

Aos amigos Andréia, Mara, Suely, Celeste, Alexandre, Lílian, Carol e Sônia pelas importantes palavras de estímulo.

Peço desculpas a todos os que contribuíram de alguma forma e que não foram mencionados, pois o espaço é limitado, mas saibam que foram e são importantes para minha vida profissional.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos durante todo o curso.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fig. 1. Diagrama da organização do músculo esquelético desde sua estrutura grossa (A) até o nível molecular (B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, M e N) elaborado por Aberle et al. (2001). Sendo: (A) músculo estriado esquelético, (B) feixe muscular, (C) fibra muscular, (D) miofibrila, (E) miofilamentos, (F-I) corte transversal mostrando a organização dos miofilamentos em vários locais do sarcômero, (J) moléculas de G-actina, (K) um filamento de actina composto por duas cadeias de F-actina, (L) filamento de miosina, mostrando a organização das cabeças do filamento, (M) filamento de miosina, mostrando as regiões da cabeça e da cauda, (N) a meromiosina leve (LMM) e a meromiosina pesada (HMM) das porções da molécula de miosina, p. 26

Fig. 2. Símbolo da Radura, p. 47

Fig. 3. Representação dos fenômenos de excitação e ionização (por radiação ionizante), num átomo, p. 47

Fig. 4. Meias carcaças de avestruzes, p. 81

Fig. 5. Coxa de avestruz após a coleta de amostras do músculo *Gastrocnemius internus* para as determinações de pH e do comprimento de sarcômero, p. 82

Fig. 6. Coxa de avestruz após a coleta de amostras do músculo *Fibularis longus* para as determinações de pH e do comprimento de sarcômero, p. 82

Fig. 7. Equipamento “Warner- Bratzler Meat Shear ”, p. 85

Fig.8. Serragem das coxas de avestruzes, p. 87

Fig. 9. Corte transversal da coxa de avestruzes identificado e embalado a vácuo, p. 87

Fig.10. Irradiador gama de pesquisa do CTEEx - Centro Tecnológico do Exército em Guaratiba-RJ, p. 87

Fig.11. Colorímetro fotoelétrico S & M Colour Computer, p. 92

Fig.12. Ficha modelo utilizada para a comparação múltipla da diferença quanto à cor vermelha (parte superior) e para a ordenação da preferência quanto à cor (parte inferior), p. 93

Fig.13. Modelo de ficha utilizada no Teste de Aceitação para os quatro atributos, p. 95

Fig.14. Espectrômetro de Ressonância Paramagnética Eletrônica - “RPE”, p. 96

GRÁFICO 1. Valores médios de pH dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas), p. 100

GRÁFICO 2. Valores médios de comprimento de sarcômero (CS) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas), p. 104

GRÁFICO 3. Valores médios de força de cisalhamento (FC) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas), p. 105

GRÁFICO 4. Valores médios de perda de cocção (PC) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas), p. 107

Fig.15. Fotomicrografias ópticas do músculo *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibularis longus* (Fl) durante o resfriamento industrial, mostrando as bandas A, I e disco Z (aumento de 1000 vezes), fixado com formalina tamponada neutra e corado com hematoxilina fosfotúngsta de Mallory: a) músculo Gi aos 30 minutos após a sangria e b) na 24<sup>a</sup> hora após a sangria; c) músculo Fl aos 30 minutos após a sangria e d) na 24<sup>a</sup> hora após a sangria, p. 109

GRÁFICO 5. Resultados do teste de ordenação da preferência quanto à cor de acordo com o método de conservação: carne de avestruz congelada (controle), irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy), p. 125

GRÁFICO 6. Valores médios dos escores convertidos em valores numéricos referentes ao teste de comparação múltipla da diferença quanto à cor vermelha de carne de avestruz congelada (controle) e congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy), p. 126

Fig. 16. Espectros de RPE das amostras não irradiada, irradiada com 1kGy e irradiada com 3kGy, de osso de avestruz, p. 133

GRÁFICO 7. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 5 dias. Dose calculada de 868,8 Gy, p. 158

GRÁFICO 8. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 240 dias. Dose calculada de 331,9 Gy, p. 158

GRÁFICO 9. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 360 dias. Dose calculada de 179,8 Gy, p. 159

GRÁFICO 10. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 5 dias. Dose calculada de 826,7 Gy, p. 160

GRÁFICO 11. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 240 dias. Dose calculada de 1469,7 Gy, p. 160

GRÁFICO 13. Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 360 dias. Dose calculada de 2222,0 Gy, p. 161

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Regiões do espectro eletromagnético e suas faixas de comprimento de onda, p. 48

TABELA 2. Valores médios e desvio padrão ( $\pm s$ ) das medidas de temperatura da câmara de resfriamento (TCâmara-°C), temperatura do músculo (TMusc-°C) e pH dos músculos *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibularis longus* (Fl) em 06 (n) avestruzes nos 06 diferentes intervalos de tempo (h) após sangria no Matadouro Frigorífico Marchiori Ltda. (Amparo-SP), p. 99

TABELA 3. Valores médios e desvio padrão ( $\pm s$ ) das medidas de comprimento de sarcômero (CS- $\mu m$ ), força de cisalhamento (FC-Kg) e perda de peso por cozimento (PC-%) dos músculos *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibulares longus* (Fl) encontrados em 06 (n) avestruzes nos 06 diferentes intervalos de tempo (h) após sangria no Matadouro Frigorífico Marchiori Ltda. (Amparo-SP), p. 103

TABELA 4. Contagens de bactérias psicrotróficas ( $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 dias, 120 dias, 240 dias e 360 dias), p. 110

TABELA 5. Contagens de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. ( $\log_{10}$ NMP/g) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 dias, 120 dias, 240 dias e 360 dias), p. 113

TABELA 6. Resultados da análise de determinação da Aa (atividade de água) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e carne de avestruz congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) e em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias), p. 115

TABELA 7. Resultados das análises de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (mg Mal/ Kg ) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias), p. 116

TABELA 8. Resultados determinação do índice de peróxido - IP (mg Mal/ Kg) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias), p. 116

TABELA 9. Valores médios de pH de carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias), p. 120

TABELA 10. Valores dos parâmetros de L\*, a\* e b\* relativos à análise instrumental de cor em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias), p. 121

TABELA 11. Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo aroma da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias), p. 127

TABELA 12. Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo sabor da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias), p. 129

TABELA 13. Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo cor da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias), p. 130

TABELA 14. Resultados do teste de aceitação sensorial referentes à impressão global da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias), p. 131

## LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ADP	“Adenosine Diphosphate” (Adenosina Difosfato)
AIEA	Agência Internacional de Energia Atômica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	“Adenosine Triphosphate” (Adenosina Trifosfato)
COPPE	Coordenação dos Programas de Pós-Graduação em Engenharia
CTAA	Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos
CTEx	Centro de Tecnologia do Exército
DFD	“Dark, Firm and Dry” (escura, firme e seca)
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DMS	Diferença Mínima Significativa
EMBRAPA	Empresa de Pesquisas Agropecuária
eV	elétron-Volt
FAO	“Food Agriculture Organization” (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura )
FC	Força de Cisalhamento
FDA	“Food and Drug Administration”
Fl	<i>Fibularis longus</i>
Gi	<i>Gastrocnemius internus</i>
HMM	Meromiosina Pesada
IAEA	“International Atomic Energy Agency” (Agência Internacional de Energia Atômica)

ICGFI	“International Consultive Group on Food Irradiation” (Grupo Consultivo Internacional de Irradiação de Alimentos)
kGy	quiloGray
LMM	Meromiosina Leve
NMP	Número Mais Provável
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PC	Perda por Cocção
PSE	“Pale, Soft and Exudative” (Pálida, Flácida e Exsudativa)
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
TBARS	“Thiobarbituric Acid Reactive Substances” (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFF	Universidade Federal fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
USDA	“United States Department Agriculture” (Departamento de Agricultura dos EUA)
WHO	“World Health Organization” (Organização mundial da Saúde)

## RESUMO

O desenvolvimento do processo de *rigor mortis* das carcaças de animais de açougue atua diretamente na qualidade da carne. O processo de irradiação, objetiva aumentar o prazo de vida comercial dos alimentos. Foram realizadas análises, nos intervalos de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h e 24,0h após sangria, para a caracterização do processo de *rigor mortis* nos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* de seis avestruzes híbridos “Blue neck” e “Red neck”, abatidos em matadourofrigorífico sob Inspeção Federal. As coxas foram congeladas a -18 °C, cortadas transversalmente, embaladas a vácuo, submetidas à radiação gama (dosagens de 1kGy e 3kGy) e armazenadas durante 360 dias. Nesse período foram realizadas análises bacteriológicas, determinações físicas, químicas e análises sensoriais, nos períodos de 5, 120, 240 e 360 dias. Analisando-se o tratamento estatístico observou-se que durante o resfriamento industrial nas primeiras 24 horas das carcaças, a temperatura da câmara, dos músculos e o pH decresceram gradualmente. A contração máxima do sarcômero ocorreu em 30 minutos em ambos os músculos e, a partir de então, aumentou significativamente, correspondendo aos maiores valores da força de cisalhamento e perda de peso por cocção, atendendo aos padrões estabelecidos em outras espécies. As demais análises foram realizadas considerando duas variáveis: método de conservação (congelamento, congelamento e irradiação com 1kGy e congelamento e irradiação com 3kGy) e o tempo de estocagem (5, 120, 240 e 360 dias). As contagens de bactérias psicrotróficas e *Enterococcus* spp. aumentaram durante o tempo de estocagem, porém, por efeito da radiação, a contagem por psicrotróficas foi menor, notadamente nas amostras submetidas a maior dosagem, enquanto *Enterococcus* spp., elevou-se. A atividade de água não apresentou diferença significativa em relação à radiação e ao tempo de estocagem. A oxidação lipídica aumentou de acordo com a dosagem de radiação e tempo de estocagem. Os testes de sanidade revelaram que a carne, independente das duas variáveis, permaneceu apropriada para o consumo até o final do experimento. O tempo de estocagem, assim como, a radiação gama, contribuíram para tornar a carne mais escura, principalmente quando submetida à maior dosagem, sendo esta última confirmada como a mais escura pelo teste de comparação múltipla e a preterida no teste sensorial de ordenação. Através da Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) foi confirmada a radiação no osso dos cortes irradiados, porém não houve confirmação dos valores da dosagem absorvida. De acordo com o teste de aceitação, independente do processo de irradiação, bem como da dosagem utilizada e o tempo de estocagem, pode-se concluir que esta carne permaneceu apta para o consumo durante todo o período do experimento.

Palavras-chave: carne de avestruz, músculos, *rigor mortis*, irradiação, RPE, estocagem.

## ABSTRACT

*Rigor mortis* process development of butcher animal patties acts directly on meat quality. Irradiation processes aim to increase food shelf life. Analysis were carried out after exsanguination in a period of 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h and 24,0h for characterization of *rigor mortis* process on *Gastrocnemius internus* and *Fibularis longus* muscles of six *Blue neck* and *Red neck* hybrid ostriches, slaughtered in slaughterhouse under Federal Inspection. Thighs were frozen at -18 °C, cut transversally, vacuum packed and submitted to gamma radiation (1kGy and 3kGy doses) and stored for 360 days. During this period, bacteriological analysis, physical and chemical determinations, and sensorial analysis were done on 3, 120, 240 and 360 period time. Data statistic treatment demonstrated that during the patties industrial refrigeration, chamber temperature, the muscles and the pH decreased gradually. Maximum sarcomere contraction occurred in 30 minutes on both muscles and, from that on, significantly increased, corresponding to the highest shear force values and weight loss by cooking, attending standards established in other species. Other analyses were done considering two variables: preservation method (freezing, freezing and irradiation with 1kGy and freezing and irradiation with 3kGy) and stored period (3, 120, 240 and 360 days). Psychrotrophic bacteria and *Enterococcus* spp. count increased during stored period, however, under irradiation effect, psychrotrophic count decreased clearly on samples submitted to higher doses, whereas *Enterococcus* spp., was high. Water activity did not present significant difference related to irradiation and stored period. Lipid oxidation increased according to irradiation doses and stored period. Sanity tests revealed that the meat, despite the two variables, maintained appropriate to consumption until the end of the experiment. Storage period as well as gamma irradiation contributed to turn the meat darker, specially when submitted to higher dosage, being this last confirmed as the darkest by the comparison multiple test and the favorite in the ordered sensorial test. The Electronic Paramagnetic Resonance (EPR) it confirmed the radiation in the bone of the irradiated courts, even so there was not confirmation of the values of the absorbed dosage. According to the acceptance test, independent of irradiation process, or the dosage used and storage period, it was possible to conclude that this meat maintained suitable for consumption during the whole experiment period.

Keywords: ostrich meat, *rigor mortis*, muscles, irradiation, EPR, storage.

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE SIGLAS**

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**1 INTRODUÇÃO**, p. 21

**2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, p. 23

2.1 O AVESTRUZ (*Struthio camelus*), p. 78

2.2 TECIDO MUSCULAR, p. 24

2.3 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE – *Rigor mortis*, p. 27

2.3.1 *Rigor mortis* E FATORES RELACIONADOS À SUA RESOLUÇÃO, p. 27

2.3.1.1 Temperatura e pH, p. 33

2.3.1.2 Comprimento de sarcômero, p. 36

2.3.1.3 Textura da carne, p. 38

2.3.1.4 Perda de peso da carne por cozimento, p. 40

2.4 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, p. 42

2.4.1 HISTÓRICO DA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, p. 42

2.4.2 O PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, p. 45

2.4.3 RADIAÇÃO GAMA E DOSES DE RADIAÇÃO, p. 47

2.4.4 EFEITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS DA IRRADIAÇÃO, p. 51

2.4.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E NOS ATRIBUTOS SENSORIAIS DOS ALIMENTOS, p. 55

2.4.6 IRRADIAÇÃO DE CARNES, p. 58

2.4.7 IRRADIAÇÃO X MICRORGANISMOS, p. 60
2.4.7.1 Bactérias psicrotróficas e <i>Enterococcus</i> spp.em carnes, p. 62
2.4.8 ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa) , p. 67
2.4.9 IRRADIAÇÃO X OXIDAÇÃO LIPÍDICA, p. 68
2.5 ANÁLISE SENSORIAL, p. 71
2.5.1 SABOR E AROMA, p. 73
2.5.2. COR, p. 75
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS, p. 78</b>
3.1 MATERIAL, p. 78
3.1.1 ANIMAIS, p. 78
3.1.2 REAGENTES, p. 78
3.1.3 EQUIPAMENTOS, p. 78
3.2 MÉTODOS, p. 80
3.2.1 ABATE E CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE <i>rigor mortis</i> , p. 80
3.2.1.1 Aferição das temperaturas da câmara de resfriamento e dos músculos, p. 81
3.2.1.2 Determinação do pH, p. 81
3.2.1.3 Determinação do comprimento de sarcômero, p. 83
3.2.1.4 Determinações da força de cisalhamento (maciez) e da perda de peso por cozimento, p. 85
3.2.2 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO E CONSERVAÇÃO DA CARNE CONGELADA, p. 86
3.2.2.1 Preparo das amostras e processo de irradiação, p. 86
3.2.2.2 Análises Bacteriológicas, p. 87
3.2.2.2.1 <i>Contagem de bactérias psicrotróficas</i> , p. 88
3.2.2.2.2 <i>Enumeração (Número Mais Provável - NMP) de Enterococcus spp.</i> , p. 88
3.2.2.3 Determinação da Atividade de água, p. 88
3.2.2.4 Avaliação da oxidação lipídica, p. 89
3.2.2.4.1 <i>Determinação do Índice de Peróxido</i> , p. 89
3.2.2.4.2 <i>Determinação do número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)</i> , p. 90
3.2.2.5 Controle da sanidade, p. 90
3.2.2.5.1 <i>Prova de cocção</i> , p. 90
3.2.2.5.2 <i>Determinação de pH (método do potenciômetro)</i> , p. 91
3.2.2.5.3 <i>Pesquisa de amoníaco</i> , p. 91
a) <i>Reação de Éber</i> , p. 91

b) Prova de Nessler, p. 91

c) Prova do gás sulfídrico, p. 91

3.2.2.6 Análise instrumental de cor, p. 92

3.2.2.7 Análise Sensorial, p. 93

3.2.2.7.1 *Ordenação da Preferência Quanto à Cor*, p. 93

3.2.2.7.2 *Comparação Múltipla da Diferença Quanto à Cor Vermelha*, p. 93

3.2.2.7.3 *Teste de Aceitação*, p. 94

3.2.2.8 Controle da dose da radiação absorvida, p. 95

3.2.3 Tratamento estatístico, p. 96

#### **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**, p. 98

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*, p. 98

4.1.1 VALORES DE TEMPERATURA E pH, p. 98

4.1.2 VALORES DE COMPRIMENTO DE SARCÔMERO, FORÇA DE CISALHAMENTO E PERDA DE PESO POR COZIMENTO, p. 102

4.1.3 CONTROLE DO PROCESSO DE *rigor mortis* POR MICROSCOPIA ÓPTICA, p. 108

4.2 IRRADIAÇÃO E CONSERVAÇÃO DA CARNE CONGELADA DE AVESTRUZ, p. 110

4.2.1 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p. 110

4.2.2 ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa), p. 114

4.2.3 ANÁLISES DA ESTABILIDADE LIPÍDICA, p. 115

4.2.4 ANÁLISES DE SANIDADE, p. 120

4.2.5 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE COR, p. 121

4.2.6 ANÁLISE SENSORIAL, p. 124

4.2.6.1 *Ordenação da Preferência Quanto à Cor*, p. 124

4.2.6.2 *Comparação Múltipla da Diferença Quanto à Cor Vermelha*, p. 125

4.2.6.3 *Teste de Aceitação*, p. 126

4.2.6.3.1 *Aroma e Sabor*, p. 126

4.2.6.3.2 *Cor e Impressão Global*, p. 130

4.2.7 DOSES DE RADIAÇÃO APLICADA NAS AMOSTRAS ANALISADAS, p. 132

#### **5 CONCLUSÕES**, p. 134

#### **6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, p. 136

#### **7 APÊNDICES**, p. 155

## 1 INTRODUÇÃO

A estruturacultura ou criação de avestruzes é uma atividade desenvolvida há muito tempo na África do Sul, avançando para a Austrália, Américas do Sul e Norte, Israel e, mais recentemente, países europeus, como a Itália, onde o número de criadores cresceu muito. Entretanto o consumo da carne na atualidade não acompanha o aumento do número de aves, entre outros motivos, por não ter ocorrido a construção de matadouros específicos para avestruzes. O comércio das aves e dos ovos é também considerado muito lucrativo. Internacionalmente, tornou-se uma alternativa viável de carne vermelha, contudo o obstáculo principal para comercialização da carne é a escassa informação ao consumidor. Porém, para que as informações sejam divulgadas com credibilidade são necessárias pesquisas relacionadas ao valor nutricional e características sensoriais desta carne, pois a qualidade é imprescindível.

Como fatores que interferem na qualidade da carne, além dos cuidados com o manejo e etapas de abate, o acompanhamento e controle do processo de conversão do músculo em carnes, o *rigor mortis*, é importante, pois ocorrem alterações estruturais e bioquímicas que interferem de forma decisiva na qualidade final do produto, como a cor, a textura, o sabor e o aroma, assim como a qualidade microbiológica por sua relação com o pH.

As carcaças de avestruzes, habitualmente, são resfriadas por 24 horas. A carne é comercializada em cortes resfriados ou congelados, embalados a vácuo, podendo ser descongelados e mantidos à temperatura de resfriamento até o consumo ou serem usados como matéria-prima na obtenção de produtos industrializados como salsichas e salames. Atualmente, as informações sobre o prazo de vida comercial em diferentes condições de estocagem são raras, sendo muito importante a avaliação sensorial e microbiológica para sua determinação.

O método de irradiação constitui um dos métodos de conservação de alimentos ainda pouco explorado, sua utilização e dosagens para aumentar o período de estocagem ou exposição da carne no comércio devem ser mais investigadas. A carne de avestruz ainda é de elevado valor comercial no Brasil, atingindo cerca de R\$50,00/ Kg, variando de acordo com o corte, portanto o emprego de métodos para aumentar o prazo durante o qual permanece viável para o consumo é importante.

Esta pesquisa justifica-se pelo fato das características do processo de *rigor mortis* em carcaças de avestruzes ainda não terem sido estabelecidas no Brasil, bem como a influência da radiação gama na conservação da carne.

Os objetivos do presente estudo são: 1) caracterizar o processo de *rigor mortis* em dois diferentes músculos de avestruz, através de medidas relacionadas ao seu início, desenvolvimento e resolução, tais como: temperatura da câmara, temperatura, pH, comprimento de sarcômero, força de cisalhamento e perda por cocção dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos intervalos de 0,5h, 3,0h, 6,0, 9,0h, 12,0h e 24h após a sangria; 2) determinar se estes parâmetros diferem entre os músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos mesmos intervalos de tempo após a sangria; 3) avaliar a influência do processo de irradiação, utilizando duas diferentes dosagens (1kGy e 3kGy) na conservação da carne de avestruz, contribuindo para a avaliação do prazo de vida comercial dos cortes de carne de avestruz (congelada; congelada e irradiada com 1kGy e congelada e irradiada com 3kGy) através dos seguintes procedimentos analíticos: bacteriológicos (bactérias psicrótroficas e *Enterococcus* spp.), sensoriais (ordenação da preferência quanto à cor, comparação múltipla da diferença quanto à cor vermelha e teste de aceitação), químicos (substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico, índice de peróxido e controle da sanidade-prova da cocção e pesquisa de amoníaco) e físicos (pH, análise instrumental de cor e atividade hídrica); 4) confirmar a radiação e os valores da absorção das dosagens nas amostras através da Ressonância Paramagnética Eletrônica.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O AVESTRUZ (*Struthio camelus*)

Pertencente à classe das aves, subclasse Neornithes, superordem Paleognathae, ordem Struthioniformes, subordem Struthiones, família Struthionidae, gênero *Struthio*, espécie *Struthio camelus*, o avestruz possui grande porte, podendo atingir 160Kg, distribuídos em 2,15 a 2,45m de altura, atingindo, aproximadamente, 105-120Kg o peso do animal na idade de abate (12-14 meses). Originária da África do Sul, detentora do maior plantel do mundo, estimado em 175 mil aves por ano, seguida por países europeus como Bélgica, Holanda França e Itália (SALGADO; SALGADO, 1997).

A produção comercial de ratitas no Brasil iniciou-se por volta de 1994, e vem apresentando ótima capacidade de adaptação, suportando altas e baixas temperaturas (LUCHINI; COSTA, 1998).

Os avestruzes possuem período de vida reprodutivo estimado em 35 a 40 anos, com longevidade média de 70 a 80 anos e maturidade sexual masculina ocorre aos 30 meses, enquanto as fêmeas, aos 20 meses. A postura anual situa-se entre 30 e 50 ovos e período de incubação de 42 dias. Comercialmente são definidas três “raças”, que correspondem a subespécies: “African black” (*Struthio camelus domesticus*) de pescoço acinzentado, “Blue neck” (*Struthio camelus australis*), pescoço azulado e “Red neck” (*Struthio camelus massaicus*), de pescoço avermelhado (GIANONNI, 1996).

O avestruz é convertido em vários produtos comercialmente muito atrativos, além da carne, os ovos para o início de plantéis, o couro com aparência característica e muito resistente e as plumas, sendo o Brasil um dos maiores consumidores para a manutenção da indústria do carnaval e fabricação de pincéis para indústrias automotivas (LUCHINI; COSTA, 1998).

Segundo Gianonni (1996) e Paleari et al.(1998) a carne de avestruz possui propriedades nutricionais e sensoriais de alta qualidade, comparadas com as de carnes bovina e de frango. Em países nos quais há maior preocupação com uma alimentação mais saudável, o consumo desta carne é crescente, por apresentar baixos teores de lipídios e colesterol, além da necessidade de produção de alimentos protéicos de origem animal no menor espaço possível.

## 2.2 TECIDO MUSCULAR

As fibras musculares esqueléticas são células longas, afiladas e multinucleadas, de aparência estriada ao microscópio, constituídas por numerosas miofibrilas formando a musculatura esquelética, também denominada de músculo. O músculo é envolvido por tecido conjuntivo, o epimísio, que se projeta envolvendo os feixes musculares constituindo o perimísio, que por sua vez, prolonga-se revestindo cada fibra, o endomísio (ABERLE et al., 2001). Em contato com o endomísio, encontra-se a membrana plasmática, denominada sarcolema que reveste também várias organelas. Invaginações da sarcolema formam uma rede de túbulos transversos, os Túbulos T, onde se localizam as terminações nervosas, formando a junção mioneural. Ao redor de cada miofibrila, existe o retículo sarcoplasmático, organela constituída por um conjunto de vesículas que regula a concentração de íons de cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) nessas fibras através do armazenamento em suas membranas e os impulsos nervosos, que, quando necessário, estimulam a liberação de grande quantidade de ( $\text{Ca}^{+2}$ ) para dar início à contração muscular (PARDI et al., 2001; REMEDIOS; MOENS, 1995).

O sarcoplasma é o citoplasma das fibras, no qual ficam suspensas as organelas como os lisossomos, vesículas limitadas por membrana, contendo diversas enzimas, dentre as quais as catepsinas, capazes de digerir componentes celulares, contribuindo para a maciez da carne (AOKI; UENO, 1997; PARDI et al., 2001).

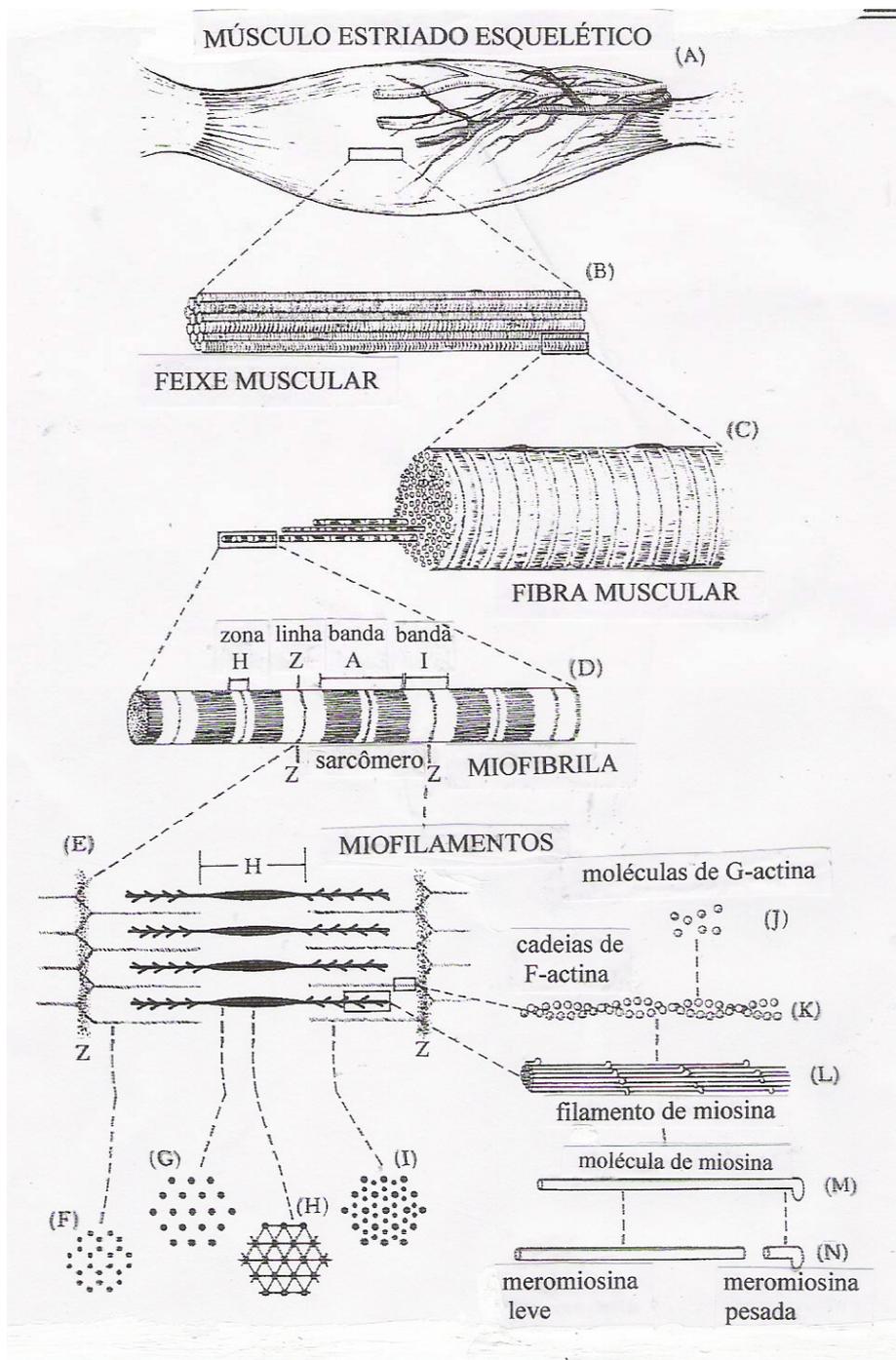
As fibrilas são elementos próprios do tecido muscular, por isso são conhecidas por miofibrilas, de estruturas cilíndricas, alongadas e delgadas (1 $\mu\text{m}$  a 2 $\mu\text{m}$  de diâmetro), orientadas no sentido longitudinal da fibra muscular. Um corte transversal dessa porção mostra um arranjo bem estruturado formado por dois filamentos principais: um mais espesso constituído basicamente pela miosina, proteína longa de estrutura  $\alpha$ -hélice, com duas regiões globulares na extremidade, chamadas cabeças da miosina; e o outro, filamento mais delgado, formado pela actina, por sua vez constituída por subunidades lobulares, as G-actina,

organizadas em dois filamentos denominadas F-actina, que se interagem em estrutura de super hélice caracterizando o filamento (PARDI et al., 2001; QUALI, 1992). Admite-se que a molécula de “Adenosine Diphosphate” (ADP), em português, adenosina difosfato, esteja presa a de G-actina, correspondendo aos sítios ativos, onde os filamentos de miosina interagem para causar a contração (GUYTON; HALL, 2002).

Apesar da miosina e actina serem as principais proteínas miofibrilares, outras são identificadas e desempenham importante papel no processo de *rigor mortis*. Destacam-se as proteínas regulatórias, como a tropomiosina, proteína fibrosa que envolve de forma espiralada a molécula de actina, a tropomiosina que possui três subunidades: C, que tem afinidade pelos íons cálcio; T, pela tropomiosina e I, pela actina. A troponina que se constitui em proteína presa na molécula de tropomiosina. Além das proteínas M e C, actininas  $\alpha$  e  $\beta$ , conectina, nebulina e desmina, que auxiliam na manutenção da estrutura do sarcômero, unidade estrutural da miofibrila (BERTHIER; BLAINEAU, 1997; GIL et al., 1998).

As miofibrilas alinham-se paralelamente e se recobrem em determinadas regiões ao longo do eixo longitudinal, conferindo o aspecto de bandas ou estrias, formando áreas que se alteram em densidade e coloração. A banda mais clara é chamada de I porque sob luz polarizada apresenta refração simples ou isotrópica. Essa banda também é separada por uma linha, denominada de Z ou disco Z (ABERLE et al., 2001). O espaço entre duas linhas Z representa a unidade estrutural da miofibrila, chamado sarcômero formado por uma banda A (área mais escura, sendo de refração dupla ou anizotrópica) e duas metades da banda I. O comprimento do sarcômero depende do estado de contração do músculo, além de ser um importante parâmetro para verificar a maciez da carne. A banda A apresenta uma região central menos densa, mais clara, a zona H, que é cortada ao centro por uma linha denominada de M que apresenta bilateralmente uma região de baixa densidade, a pseudozona H (REMEDIOS; MOENS, 1995; BERTHIER; BLAINEAU, 1997).

A Figura 1 apresenta um diagrama da organização do músculo esquelético até o nível molecular.



**Figura 1.** Diagrama da organização do músculo esquelético desde sua estrutura grossa (A) até o nível molecular (B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, M e N). Sendo: (A) músculo estriado esquelético, (B) feixe muscular, (C) fibra muscular, (D) miofibrila, (E) miofilamentos, (F-I) corte transversal mostrando a organização dos miofilamentos em vários locais do sarcômero, (J) moléculas de G-actina, (K) um filamento de actina composto por duas cadeias de F-actina, (L) filamento de miosina, mostrando a organização das cabeças do filamento, (M) filamento de miosina, mostrando as regiões da cabeça e da cauda, (N) a meromiosina leve (LMM) e a meromiosina pesada (HMM) das porções da molécula de miosina. Fonte ABERLE et al. (2001).

## 2.3 TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE – *Rigor mortis*

Nas primeiras 24 horas após o abate, inicia-se uma série de transformações bioquímicas e estruturais no tecido muscular, quando o músculo é convertido em carne. Este período é de grande relevância para a qualidade final da carne e dependente de vários fatores (ABERLE et al., 2001; PARDI et al., 2001).

### 2.3.1 *Rigor mortis* E FATORES RELACIONADOS À SUA RESOLUÇÃO

O início do processo de *rigor mortis* ocorre imediatamente após o abate do animal, em função da sangria que interrompe o fornecimento de oxigênio e nutrientes, além da quebra no sistema de eliminação dos metabólitos (SILVA, 2003; ORDÓÑHEZ et al., 2005). Porém, a atividade celular continua, na tentativa de adaptar-se às novas condições, inclusive a reserva energética representada pela taxa de “Adenosine Triphosphate” (ATP), em português, adenosina trifosfato, que é degradada pela ação das ATPases para a obtenção de energia, principalmente à associada às cabeças de miosina (ORDÓÑHEZ et al., 2005). Ao cessar a distribuição de nutrientes e oxigênio, o glicogênio através da glicólise anaeróbica torna-se última fonte de ATP disponível que, associado à incapacidade da fibra muscular para eliminar as substâncias resultantes do metabolismo, provoca alterações químicas importantes, como a redução da taxa de ATP e de glicogênio e o acúmulo de ácido láctico, promovendo o decréscimo gradativo do pH (SILVA et al., 1999; PRATES, 2000). O declínio do pH caracteriza-se como uma das alterações *post mortem* mais significativas durante a conversão do músculo em carne, além de ser proporcional ao acúmulo de ácido láctico e, inversamente proporcional à reserva de glicogênio da musculatura animal. O músculo de animais recém abatidos, apresenta pH em torno de 6,9 a 7,2 e reduções crescentes nas concentrações de ATP e fosfocreatina (ALVARADO; SAMS, 2000; ABERLE et al., 2001).

Antes do início da contração, as cabeças de moléculas de miosina unem-se ao ATP que é clivado em ADP e “Phosphate inorganic” (Pi), fosfato inorgânico, quando ocorre a ligação entre a cabeça de miosina e a de G-actina, até que ocorra a superposição máxima entre os filamentos conferindo a contração máxima (GYTON; HALL, 2002).

A concentração de ATP na fibra é suficiente para iniciar o *rigor mortis*, após o ATP ser fracionado formando o ADP, o mesmo é refosforilado (ORDÓÑHEZ et al., 2005). A

principal fonte de energia utilizada para reconstituir o ATP é a fosfocreatina, molécula que também possui ligação fosfato de alta energia, sendo clivada instantaneamente promovendo a fixação de um novo íon fosfato ao ADP. Porém a quantidade de fosfocreatina na fibra também é limitada, correspondendo ao quádruplo de ATP. A segunda fonte utilizada para reconstituir o ATP é o glicogênio muscular que, através de fracionamento enzimático rápido, é convertido em ácido pirúvico e ácido láctico, liberando energia. Por último, através do metabolismo oxidativo, que consiste na reação do oxigênio com vários nutrientes celulares com liberação de energia (QUALI, 1990; SILVA et al., 1999).

As reações químicas que ocorrem no músculo vivo durante a contração e após o abate, indicam a similaridade entre os processos. Essa contração começa através de impulsos nervosos à junção mioneural, despolarizando a sarcolema, chegando ao interior das fibras através dos túbulos T, liberando  $\text{Ca}^{+2}$  no retículo sarcoplasmático. Os íons de  $\text{Ca}^{+2}$  livres, em torno de  $10^{-5}$  moles/litro, se associam a troponina C, capaz de fixar até quatro íons (MATSUISHI; OKINATI, 1997; QUALI, 1992). O complexo troponina passa por alteração conformacional, deslocando a molécula de tropomiosina, que se localiza entre duas cadeias do filamento de actina, liberando sítios ativos deste filamento. Estes eventos permitem que ocorra a contração em função do atrito entre os filamentos de actina e miosina, movidos pelas cabeças de miosina dos filamentos aderidas aos sítios de ligação com a actina, ocorrendo a sobreposição que corresponde ao encurtamento do sarcômero, porque as duas linhas Z aproximam-se (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

A fase de rigor ocorre quando a maior parte das cabeças de miosina permanece aderida aos sítios de ligação da actina, devido à deficiência de moléculas de ATP para sua liberação, por ser necessária a presença de ATP para o relaxamento muscular, após a contração normal. Tais moléculas podem ser reconstituídas de molécula de ADP. Para tal, a energia responsável pela geração de ATP é fornecida pela glicólise ou fosfocreatina. As moléculas de ATP, fosfocreatina e de glicogênio são formas de reserva de energia e suas maiores concentrações são fatores básicos para adiar a fase de rigor (ROSS et al., 1993; PARDI et al., 2001).

O músculo durante a contração diminui até 1/3 de seu tamanho original, no entanto o comprimento dos filamentos finos e espessos permanece constante, enquanto o comprimento do sarcômero diminui, isso ocorre porque os filamentos não se encurtam, deslizam-se, caracterizando uma sobreposição. Segundo Christensen et al. (2004) após a contração, o  $\text{Ca}^{+2}$  liberado no sarcoplasma é rebombeado ao retículo sarcoplasmático, promovendo o relaxamento, para tanto ocorre a desfosforilação do ATP. No organismo morto não ocorre síntese, logo, acontece o *rigor mortis* (ORDÓÑHEZ et al., 2005; SILVA et al., 1999).

São reconhecidas três fases do processo de *rigor mortis*: pré-rigor, na qual o músculo conserva sua extensibilidade, enquanto os níveis de ATP e glicogênio muscular ainda são elevados; rigor, que está relacionada ao aumento gradativo da contração muscular, até seu grau máximo, obtido pelo deslizamento entre os filamentos de actina e miosina; e a *post rigor*, quando a dureza da carne diminui até valores próximos aos encontrados antes do abate, assim como a diminuição da capacidade de retenção de água e do pH (SWATLAND, 1984; PRATES, 2000).

Segundo Ordóñez et al. (2005) os músculos que apresentam maior quantidade de fibras brancas, aves e suínos, possuem alta atividade anaeróbica, portanto a glicólise e a degradação de ATP serão mais rápidas, quando comparados as fibras vermelhas. Em condições normais de processamento, o tempo de contração máxima do rigor depende da espécie de animal. Nos frangos ocorre em menos de 30 minutos, nos perus, em menos de uma hora, nos suínos entre 25 minutos e três horas, enquanto nos bovinos, de seis a doze horas.

A taxa de degradação protéica na tenderização de carne não parece ser resultado direto do tipo de fibra principal e sim devido às suas características, tais como, o potencial proteolítico, representado pela proporção de calpaínas e a taxa de declínio de pH (CHRISTENSEN et al., 2004).

Para Koohmaraie et al. (1987); Jaarsveld et al. (1997) as transformações *post mortem*, caracterizadas por degradação e fragmentação das miofibrilas, são imprescindíveis para conferir maciez à carne. Por isso, muitas pesquisas foram e são realizadas para elucidar essas alterações que ocorrem nas proteínas miofibrilares durante o armazenamento, suas causas e sua relação com a maciez da carne.

Destaca-se a ação das enzimas proteolíticas no processo de maciez da carne. A proteólise muscular parece ser o principal contribuinte nesse processo, que pode ser realizada pelas proteases endógenas e exógenas. Entre as endógenas, estão dois sistemas, as proteases  $\text{Ca}^{+2}$  dependentes (CDP), armazenadas no retículo sarcoplasmático, como as calpaínas (QUALI, 1992), e as catepsinas contidas nos lisossomos, responsáveis pelas alterações durante período de resolução do *rigor mortis*, sendo sugerida uma cooperação entre ambos os sistemas (MOELLER et al., 1976; SARGIANOS et al., 1996). Diversos estudos classificaram alguns tipos de catepsinas, de acordo com a densidade, em B, L e D, esta última responsável pela proteólise da F-actina, mais ativa em pH entre 3 e 4 e temperatura ótima elevada, em torno de 40 °C (KIRSCHKE et al., 1982; YAMASHITA; KONAGAYA, 1992). A atividade das catepsinas decresce no interior dos lisossomos e aumenta no sarcoplasma em músculos

mantidos a 0 °C, comprovando que são liberadas dessas organelas durante o armazenamento (TAKAHIKO; UENO, 1997).

Conforme Hwang et al.(2003) a variação no grau de proteólise é em grande parte devida ao sistema de calpaínas e ATPase miosina que necessitam de íons  $\text{Ca}^{+2}$  livres no citoplasma para sua atividade, pois foi demonstrado que quando as organelas celulares reservam mais esse cátion, tais enzimas perdem sua função mesmo em pH e temperatura favoráveis.

Embora o tipo de mecanismo responsável pelo processo de *rigor mortis* seja aceito como igual para todos os animais, existem diferenças qualitativas entre as espécies. O efeito de diferentes temperaturas sobre o processo de *rigor mortis* em dois músculos suínos foram analisados por Hwang et al. (2004) que relataram que quanto maior a temperatura fornecida ao músculo, maior a liberação de  $\text{Ca}^{+2}$  no sarcoplasma, e conseqüentemente, mais rápida a proteólise, comprovando a importância das calpaínas no processo de resolução do *rigor mortis* e na maciez da carne, além de demonstrarem uma relação linear entre diminuição de pH e aumento do cálcio livre. A atividade de calpaínas em músculo após o abate é influenciada por vários fatores como o declínio do pH, o pH final, a concentração de íons de  $\text{Ca}^{+2}$ , teor de seu inibidor endógeno específico, as calpastatinas, além de sua própria inativação por desnaturação, portanto a interação desses fatores determina a taxa de extensão de degradação da estrutura miofibrilar por esse grupo de enzimas (DELBARRE-LADRAT et al., 2004).

É comprovado que o armazenamento *post mortem* a temperaturas de refrigeração resultam na melhoria significativa na maciez proporcionada pela degradação das miofibrilas através de proteases endógenas do músculo. Essa maciez da carne depende de ação sinérgica entre as enzimas catepsinas e calpaínas (QUALI, 1992).

Hopkins e Thompson (2001) relataram que o envolvimento de catepsinas, proteínas lisossomais, tem sido questionado. Essas calpaínas atuam em pH elevado, em torno de 7,5 (CHRISTENSEN et al., 2000; CHRISTENSEN et al., 2004) sendo responsáveis pela degradação da estrutura miofibrilar no início do período *post mortem*, enquanto as catepsinas teriam menor participação por apresentarem como valor de pH ótimo 5,6, quando o processo de resolução do rigor já teria se iniciado. Koohmaraie (1992); Goll et al. (1992); Geesink e Koohmaraie (1999) enfatizaram que o sistema de calpaínas é o maior responsável pela degradação da estrutura da contração máxima do rigor, sendo responsável, em grande parte pelo desenvolvimento da maciez da carne. Dransfield (1993) afirmou que durante o *post*

*mortem* as calpaínas não são completamente ativadas até que o pH atinja valores em torno de 6,1, que coincide com o pH do início da resolução do processo. Hopkins e Thompson (2001) salientaram que isso não impede que proteólises ocorram antes que o pH atinja esse valor, mesmo com menor liberação de íons de cálcio e essas enzimas não estejam completamente ativas.

A mesma importância para as calpaínas foi dada por Jaarsveld et al. (1997) em relação ao processo de *rigor mortis* em carne de avestruz, por romperem as ligações intermiofibrilares, desestruturando a linha Z.

Cleys et al. (1994) reportaram que à medida em que o valor do pH se altera, ocorrem degradações de proteínas pelas enzimas calpaínas e catepsinas durante o *rigor mortis*. No pH 7,0 são preferencialmente hidrolisadas a titina, a nebulina e as cabeças da molécula de miosina; quando atinge o valor de 5,5 são mais fragmentadas as proteínas troponina e a tropomiosina.

A temperatura do músculo não diminui de forma brusca, mas gradativa, durante o *rigor mortis*, contribuindo para a liberação dos lisossomos e atividade das catepsinas, além de estimular sua atividade durante as primeiras horas desse processo. Esse efeito deve ser potencializado pelo baixo valor de pH, conferindo condições ótimas para sua ação (MOELLER et al., 1977; ZEECE; KATOH, 1989). Essa combinação de temperatura e pH, em carne suína, faz com que a contração máxima do rigor ocorra em temperatura da carne entre 15°C e 18°C e pH em torno de 6,0 com redução mínima do sarcômero, maior capacidade de retenção de água e maior maciez (HONIKEL et al., 1986).

A maior maciez da carne submetida ao frio após o *rigor mortis* é ocasionado por processos de degradações dos meios intra e extracelular das fibras. A separação da sarcolema da fibra e os espaços entre miofibrilas adjacentes começam a surgir acompanhados por degradação de proteínas esqueléticas e miofibrilares (DRANSFIELD, 1994; TAYLOR et al., 1995).

Os resultados encontrados por Koczak et al. (2003) confirmaram que a estrutura dos sarcômeros sofre alterações que progridem com o armazenamento, no qual ocorre aumento da faixa I acompanhada por desaparecimento parcial da linha M e degradação do disco Z e conseqüente formação de fragmentos de miofibrilas. Esses processos podem variar dependendo de fatores como espécie e raça de animais, estrutura e atividades fisiológicas dos músculos e a atividade proteolítica das enzimas. É importante mencionar que músculos com

grande proporção de fibras brancas estão submetidos a tais alterações antes que outros músculos com elevada proporção de fibras vermelhas.

As fibras vermelhas, por apresentarem grande quantidade de mioglobina, também são chamadas de fibras de contração lenta, por responderem lentamente ao estímulo da contração, são menores que as consideradas rápidas, inervadas por nervos menores, grande densidade de capilares e maior número de mitocôndrias, organelas responsáveis pelo metabolismo oxidativo (ABERLE et al., 2001; SILVA, 2003). As fibras brancas respondem de forma bem mais rápida ao estímulo que determina a contração, conferem maior força de contração por serem maiores apresentam extenso retículo sarcoplasmático para rápida liberação de  $Ca^{+2}$ , grande quantidade de enzimas glicolíticas, suprimento sanguíneo de menor intensidade e menos mitocôndrias. Existem também as fibras com características intermediárias (ABERLE et al., 2001; BYRNE et al., 2000; PARDI et al., 2001). Velloto e Crastro (2004) relataram em carne de avestruz a proporção de 58% de fibras vermelhas e 42% de fibras intermediárias, não sendo detectadas fibras brancas, provavelmente por terem se convertido em intermediárias, pois estas as características de cada tipo não são fixas, podendo ser transformadas em outro tipo como uma resposta adaptativa, sendo relacionada ao metabolismo e à tensão ambiental.

A desestruturação da faixa I pode ser causada pelo deslocamento de actina do complexo actomiosina, acompanhado pelo enfraquecimento dos vínculos das proteínas contráteis. A degradação das proteínas titina e nebulina, que conferem suporte para a miosina e actina, formando uma “rede” entre as linhas Z, ocasiona o aumento do sarcômero (O’HALLORAN et al., 1997). A titina corresponde a uma molécula gigante formada por 30.000 aminoácidos em forma de fio extensível que está incorporada no próprio sarcômero. Situada na região da banda A, junto ao filamento de miosina contribui para o posicionamento da miosina no centro do sarcômero na região da banda I como um cordão elástico molecular que se contrapõe ao estiramento passivo do músculo (ANDERSON; PARRISH Jr., 1989). A desmina forma estruturas atravessadas dentro dos sarcômeros e sofre degradação pelas calpaínas, caracterizando a degradação da linha Z, devido à quebra de suas proteínas (QUALI, 1992). Outro indicador utilizado é a taxa de fragmentação miofibrilar que avalia o grau de degradação das proteínas, proporcional ao aumento da maciez de carnes, podendo atingir até 80% de diferença quando comparado com seu tamanho durante a contração máxima, em carnes bovina e suína. Durante a resolução do *rigor mortis* foi identificado aumento de peptídeos com 30 kDa (1Da:  $1,67 \times 10^{-24}$  g) caracterizando a proteólise da troponina T pela ação das calpaínas, acompanhando o declínio da temperatura (GESSING et al., 1995). Também deve ser considerada durante o *rigor mortis*, a região da linha Z, constituindo a

principal estrutura a sofrer alterações, sendo fragmentada tanto longitudinal e transversalmente, estes fragmentos formados são sucessivamente quebrados, desintegrando gradualmente a organização dos sarcômeros (SLINDE; KRYVI, 1986). Nesse processo surgem os peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos livres acumulando-se no sarcoplasma, devido à ação das enzimas proteolíticas (NEGISHI et al., 1996).

Silva et al.(1999) analisaram as alterações em carne bovina resfriada a 0-2°C e armazenada por 13 dias e concluíram que, durante esse período, o tempo de armazenamento foi proporcional à melhoria de maciez, mostrando que com o decorrer da estocagem, há maior degradação de proteínas, comprovando o processo gradativo de tenderização.

As fibras musculares são responsáveis pela variação de textura em carnes, sendo influenciada pela susceptibilidade de proteólise em níveis variados de calpastatina entre os músculos. Podem ser classificadas em vermelhas, brancas e intermediárias e cada músculo distingue-se pela proporção de cada tipo de fibra (GEESING et al., 1999).

#### 2.3.1.1 Temperatura e pH

O resfriamento *post mortem* é um período importantíssimo para a microestrutura e características da carne, como a maciez, a capacidade de retenção de água e a cor (ZAMORA et al., 1996).

Durante o desenvolvimento do *rigor mortis*, a temperatura e pH iniciais das carcaças de animais de açougue diminuem gradativamente. Por isso, temperaturas e pH são utilizados como parâmetros para monitorar a qualidade de carnes. A velocidade do *rigor mortis* é controlada, principalmente, pela reserva de glicogênio, pH e temperatura do músculo. Temperaturas de resfriamento, aliadas ao declínio do pH, aceleram a liberação de  $Ca^{+2}$  do retículo sarcoplasmático (KANDA et al., 1977; BYRNE et al., 2000).

A taxa de resfriamento do músculo durante o *rigor mortis* influencia a glicólise e ação das proteases, além de proporcionar o declínio do pH e conseqüentemente a taxa de tenderização (ABERLE et al., 2001; MARSH et al., 1987). Para Yu et al. (2005) o pH final da carne depende do teor de glicogênio no músculo, além de ser importante fator influenciador da capacidade de retenção de água. O declínio muito acelerado do pH após a sangria poderia estar relacionado a desnaturação de proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, além de alterações de forças de repulsão eletrostática entre os filamentos de actina e miosina.

Temperaturas consideradas elevadas, em torno de 40 °C, aceleram as reações químicas que ocorrem durante o *rigor mortis*, proporcionando diminuição de pH, enquanto as baixas

temperaturas retardam esse decréscimo, sendo necessário maior tempo para atingir valor de pH de 5,8 (SILVA et al., 1999). Portanto, a perda de calor do músculo durante o processo de *rigor mortis* deve ser controlada, uma redução muito brusca minimiza a desnaturação protéica, inibe o crescimento de microrganismos, porém, quando é rápida demais ocasiona conseqüências indesejáveis, como o encurtamento pelo frio ou “cold shortening” e, quando o congelamento ocorre antes da resolução deste processo, ocorre o rigor do descongelamento ou “thaw rigor” (PEARSON; DUTSON, 1995; PARDI et al., 2001). O encurtamento pelo frio ocorre quando a temperatura do músculo oscila entre 0 e 5°C na primeira etapa do processo de conversão do músculo em carne, acarretando também redução do tamanho do sarcômero de 20% a 40%. Nessas condições, o retículo sarcoplasmático perde capacidade de reter  $Ca^{+2}$  fazendo com que haja excesso desse cátion no sarcoplasma, com conseqüente aceleração das reações bioquímicas e diminuição de 20 a 40% do sarcômero. Quando não ocorre o resfriamento em carcaças bovinas, mas o congelamento antes do processo do *rigor mortis*, ao ser descongelado ocorre o encurtamento físico das fibras entre 60% a 80% do tamanho normal (ABERLE et al., 2001; ORDÓÑEZ et al., 2005; PARDI et al., 2001).

No resfriamento de carcaças a temperatura da câmara deve oscilar entre 0 e 4°C por 18 h a 24 h para bovinos e de 12 h a 18 h para suínos, tempos necessários para promover a transferência de calor apropriada visando o desenvolvimento do *rigor mortis*, influenciado pelo metabolismo celular. Nessas condições ocorre o decréscimo gradual do pH sem promover o encurtamento das fibras pelo frio, mantendo ainda a qualidade microbiológica (GEESINK et al., 2001; PARDI et al., 2001). Para Lee (1986) a diminuição da temperatura do músculo é um fator importante para o desenvolvimento de maciez de carnes. Alterações dessa taxa em carcaças podem ser minimizadas pelo controle da temperatura ambiente, uma vez que as temperaturas elevadas dos músculos aceleram o declínio do pH, por permitir que reações enzimáticas se prolonguem.

Atualmente tem sido utilizado processo mais rápido de resfriamento por motivo de ordem econômica e para diminuir a quebra de peso e reduzir crescimento da microbiota inicial, neste caso são aplicadas temperaturas entre -5 e -8°C durante as primeiras duas horas e, a partir de então, é utilizada temperatura normal de resfriamento, entre 0 e 4°C, para impedir o encurtamento das fibras musculares pelo frio (PARDI et al., 2001).

A influência da temperatura sobre a qualidade de carne de cordeiro foi analisada por Redmond et al. (2001) em um experimento utilizando temperatura de -20°C nas primeiras 3,5 horas, seguidas por +4°C durante as demais 20,5 horas, comparando com o resfriamento convencional de +4°C por 24 horas. Comprovaram que não houve diferença significativa na

maciez das carnes de cordeiro entre os dois processos testados, pois, provavelmente, não tenha sido alterada a velocidade das reações proteolíticas responsáveis pelas modificações na textura.

Marsh (1954), um dos primeiros pesquisadores a investigar a relação entre temperatura e pH durante o *rigor mortis*, analisou a influência de diferentes temperaturas de armazenamento, entre 7°C e 43°C, em músculo *Longissimus dorsi* de bovino e concluiu que a taxa de glicólise e o decréscimo de pH foram mais rápidos em temperaturas mais elevadas.

A temperatura e o pH contribuem significativamente à maciez de carnes por seus efeitos no comprimento do sarcômero e proteólise (KOOHMARAIE et al., 1996). Temperaturas entre 1°C até 7°C são as melhores para que ocorra o *rigor mortis*, conferindo a carne melhor maciez (TORNBERG et al., 2000). Este atributo sensorial na carne bovina é muito influenciado pela temperatura do músculo nas primeiras três horas *post mortem*. Se, nesse período, for mantida a temperatura interna do músculo por volta de 37°C, através da espessa cobertura de gordura ou manipulação de carcaças a temperatura ambiente, resultaria em maior maciez, porém não seria viável devido ao desenvolvimento da microbiota (MARSH et al., 1981).

Sales e Mellett (1996) ao analisarem o declínio do pH de carcaças de avestruzes encontraram o estabelecimento de valores de pH final em 2h, 3h e 6h oscilando entre 5,85 e 6,12 para seis diferentes grupos musculares, não diferindo significativamente dos valores de 5,84 a 6,05 no final do resfriamento, sob temperatura entre 0°C e 4°C, com medições em 0,5h, 2,0h, 4,0h, 6,0h e 24,0h. Concluíram também que a taxa de resfriamento não diferiu entre os diferentes grupos musculares. Lambooij et al. (1999) relataram que aos 45 minutos e às 18 horas após sangria, músculos de avestruzes, apresentaram temperaturas de 24,6 °C e 4,3°C, enquanto o pH de 6,19 decresceu para 6,11, respectivamente. Paleari et al. (1998) citaram pH de 5,86 como valor final para carne de avestruz, sem especificação do grupo muscular, enquanto Allonso-Calleja et al. (2004) que, ao analisarem cortes de carne de avestruz embalados à vácuo, visando determinar, aliado a outros parâmetros, o prazo de vida comercial da carne, citaram o valor médio de pH de 5,95.

Fernandes e Tornberg (1994) determinaram, através de ensaios experimentais, a influência da variação da temperatura no *rigor mortis* da carne suína. Utilizaram duas temperaturas, 12 e 35°C e comprovaram que a contração máxima ocorreu em menor tempo a 35°C quando comparada com a 12°C. A resolução do rigor também foi mais rápida em função das maiores taxas de declínio do pH e de ATP.

De acordo com Honikel et al. (1980) e Pardi et al. (2001) a degradação anormal do glicogênio muscular pode ocorrer devido ao estresse pré-abate, causando a diminuição brusca do pH, antes da dissipação do calor inerente da massa muscular do animal e, como consequência, a desnaturação das proteínas musculares afetando propriedades bioquímicas e tecnológicas como a diminuição da capacidade de retenção de água, mudanças na aparência da cor normal da carne, e produção do fenômeno chamado carne “pale, soft and exudative” (PSE), que significa pálida, flácida e exsudativa. Segundo Aberle *et al.* 2001 em contrapartida, animais abatidos em condições de estresse por um período prolongado, animais fadigados, apresentam pouca variação do pH da massa muscular em relação a animais abatidos em condições normais, causada pela baixa concentração de glicogênio no momento do abate, por isso as proteínas apresentam maior capacidade de retenção de água, tornando-se pegajosa e escura, além de ser mais susceptível à contaminação microbiológica, fenômeno chamado de carne “dark, firm and dry” (DFD), significando, em português, escura, firme e seca.

Honikel et al. (1983) confirmaram que além da temperatura e pH, e um outro fator que interfere no processo de *rigor mortis* é a concentração de ATP, sendo quanto maior a temperatura de resfriamento durante este processo, menor o valor do pH e da concentração de ATP necessários para a etapa de contração máxima. Sales e Mellett (1996) de que a carne de avestruz possui valor de pH superior ao da carne bovina (pH < 5,8).

### 2.3.1.2 Comprimento de sarcômero

Devine et al. (2002) e Tornberg (1996) mostraram que a contração máxima do *rigor mortis* em músculos bovinos quando ocorre entre 10-18°C resulta em carne mais macia, sendo associada ao mínimo encurtamento e o máximo potencial de extensão na resolução do processo, pois a temperatura influencia o grau de sobreposição entre os filamentos de actina e miosina.

O comprimento do sarcômero apresenta uma correlação com o desenvolvimento do processo de *rigor mortis* e com a maciez da carne. Este parâmetro sofre alterações neste período, sendo observadas rupturas transversais nas miofibrilas na medida em que progride sua resolução (WHEELER; KOOHMARAIE, 1994).

Kanda et al. (1977) avaliaram a relação entre acúmulo de Ca<sup>+2</sup> no retículo sarcoplasmático e estado de contração muscular em carcaças de bovinos. Verificaram que, no

início do resfriamento , havia 51nmoles/mg de proteína de íons  $Ca^{+2}$  nessa organela, no entanto, durante a contração máxima, esta quantidade diminuiu para 39 nmoles/mg. Concluíram, assim que o aumento da concentração de  $Ca^{+2}$  no sarcoplasma é um dos fatores que proporciona a contração muscular.

Segundo CORNFORTH et al. (1980) na proporção em que o pH decresce o retículo sarcoplasmático e as mitocôndrias vão perdendo a capacidade de acumulação de íons cálcio, por alterações na permeabilidade de suas membranas. Hannula e Puolanne (2004) analisaram a relação entre pH e temperatura no resfriamento de carcaças bovinas e concluíram que, dependendo da localização do músculo, a interação entre tempo, temperatura e pH difere em músculos de mesma carcaça. O valor de pH de 5,7, quando a temperatura da carcaça atingiu 7°C, foi considerado como o fator mais importante para maior maciez da carne obtida.

Honikel et al.(1986) avaliaram a contração máxima do sarcômero do músculo bovino, submetendo-o a diferentes temperaturas de resfriamento industrial e encontraram menor redução, cerca de 10%, em temperaturas entre 6 °C e 18 °C, contrapondo reduções de 40% do sarcômero entre 20°C a e 38 °C e de 70%, quando resfriados a temperaturas inferiores a 6° C.

Outros pesquisadores como Devine et al. (2002) identificaram que a contração máxima do rigor a temperatura entre 10-18 °C resultou em carne mais macia, provavelmente em função do mínimo encurtamento e o máximo potencial de extensão na resolução do processo. Tornberg (1996) propôs que outro fator que influencia o rigor é o grau de sobreposição entre os filamentos de actina.

O efeito do comprimento do sarcômero na força de cisalhamento, mensura a maciez, depende do grau de proteólise e do potencial proteolítico das enzimas endógenas que podem compensar sarcômeros menores (HWANG et al., 2004).

Freitas (1992) comprovou a relação entre pH e o comprimento do sarcômero em músculo peitoral torácico de frangos, estabelecendo pH inicial de 6,39 e sarcômero de 1,64µm, enquanto na 24ª hora após abate, determinou valores de 5,88 e 1,58µm para as mesmas aferições. Lesiak et al.(1996) encontraram comprimento de sarcômero de carne de peru, relatando 1,63µm e 1,89µm para peito e coxa de peru, respectivamente.

Abreu (1984) analisou o desenvolvimento do processo de *rigor mortis* em dois músculos bovinos e estabeleceu uma relação entre tempo, temperatura, pH e comprimento de sarcômero. Os resultados permitiram concluir que quanto menor o pH, maior o encurtamento do sarcômero, além de determinar que a contração máxima ocorreu 15 horas *post mortem* e a temperatura atingia 11,6 °C, sendo que a temperatura inicial mensurada foi de 33,6 °C.

Silva et al. (1999) determinaram no músculo *Longissimus thoracicus et lumborum*, de bovinos, sarcômero de 1,77 $\mu$ m de comprimento em 24h *post mortem*. Pinheiro et al. (2001) que analisando dois músculos de suínos, *Longissimus dorsi* e *Semispinalis capitis*, em diferentes intervalos de tempo após abate, concluiu que declínio do pH acompanhou o desenvolvimento do processo de *rigor mortis* até 24 horas, os menores comprimentos dos sarcômeros de 1,39 $\mu$ m para *Longissimus dorsi* e 1,37 $\mu$ m para *Semispinalis capitis*, foram encontrados em 6,0h e 8,0h, respectivamente. Oliveira et al.(2004) determinaram que em músculos de ovinos, a contração máxima dos músculos *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii* ocorreu na 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> hora e o comprimento do sarcômero diminuiu de 2,25 para 1,70 e de 1,80 para 1,59 $\mu$ m, respectivamente. Tais resultados comprovaram, junto com análise sensorial, a relação diretamente proporcional entre comprimento de sarcômero e maciez da carne, além de evidenciarem que em diferentes cortes de mesma carcaça se convertem em carnes de diferentes graus de maciez. Rodrigues et al. (2004) estudando carne de eqüídeos, verificaram que não só o tipo de músculo, como também a idade do animal influenciava na maciez da carne.

#### 2.3.1.3 Textura da carne

A textura é a característica sensorial que mais afeta a aceitação da carne pelo consumidor (RILEYA et al., 2005). Segundo Dransfield (1993) e Sanchez (1996) a textura da carne envolve a maciez, coesividade, elasticidade, suculência, adesividade, viscosidade e consistência. Para Ordóñez et al. (2005); Pardi et al. (2001) a textura engloba todas as propriedades referentes à estrutura, portanto depende do diâmetro das fibras, quanto menor, melhor a textura da carne; do tamanho dos feixes de fibras que constituem o músculo, sendo divididos longitudinalmente pelos septos de tecido conjuntivo que formam o perimísio, caracterizando maior ou menor grau de resistência à mastigação. Lee e Ahn (2005) complementaram afirmando que a textura inclui a dureza, que corresponde à força necessária exercida pelos dentes no primeiro ciclo de compressão e elasticidade traduzido como intervalo de tempo entre a primeira compressão e a segunda.

Os fatores *ante mortem* que influenciam a textura de carne são a espécie animal, características genéticas, sexo, maturidade, acabamento de carcaça, composição da raça, fatores de ordem fisiológica, alimentação e manejo, além de fatores *post mortem* como a

velocidade de resfriamento, taxa de queda de pH, pH final e tempo de maturação (ABULARACH et al., 1998, RUBENSAM et al., 1998; PARDI et al., 2001).

Smith et al. (1976) demonstraram que a melhoria da textura da carne é normalmente alcançada por armazenamento *post mortem* adequado das carcaças a temperatura de refrigeração, por um período variável de 8 a 11 dias. Pois, neste período ocorre a tenderização envolvendo fenômenos físico-químicos (temperatura e pH) e bioquímicos (ação de enzimas proteolíticas) na qual a estrutura miofibrilar é suavizada e ocorrendo perda da integridade celular, apesar do mecanismo exato ainda ser obscuro.

Segundo Bouton et al. (1973) a alta capacidade de retenção de água aliada ao elevado pH final contribuem de forma significativa para a suculência da carne, conferindo melhor textura.

Conforme Rileya et al. (2005) a textura é influenciada principalmente pelo comprimento do sarcômero, conteúdo em tecido conjuntivo, gordura intramuscular (marmoreio) e capacidade de retenção de água. Os mesmos autores, ao analisarem a textura da carne de duas raças de bovinos, concluíram que esta era mais influenciada pela quantidade da porção de colágeno solúvel do que pelo seu teor total, bem como, enfatizaram que os fatores responsáveis pela solubilidade do colágeno são a espécie, a raça e a idade que o animal é abatido. Esses fatores contribuem para a formação de “crosslinks”, que não se solubilizam facilmente com a cocção. Rowe (1977) descreveu que a intensidade de formação de “crosslinks” que são cruzamentos entre as fibras colágenas presentes no tecido conjuntivo, aumenta sua resistência ao aquecimento, à tração mecânica e à reação enzimática, em parte, responsável pelo comprimento do sarcômero, influenciando na maciez da carne.

O termo maciez (“tenderness”) é utilizado quando se refere às medidas físicas de resistência de carne cozida à compressão ou cisalhamento e “sensory tenderness”, em português, maciez sensorial para denominar a resistência à mastigação detectada por provadores treinados ou não (DRANSFIELD, 1993).

De tão importante pelos consumidores, a maciez da carne atraiu a atenção de inúmeros pesquisadores que no decorrer dos anos tentaram desenvolver alternativas para evitar ou amenizar sua dureza. Segundo Ordóñez et al. (2005) a maciez da carne está relacionada com o estado de contração em que se encontram as fibras musculares, citando que as variações dependem fundamentalmente do grau de interação actina-miosina e da extensão da zona do sarcômero carente de interação. Para Koohmaraie (1992) que analisou a variação da maciez de diferentes cortes de carne bovina, atribuiu 15% da variação entre os cortes para a

quantidade de gordura intramuscular e espessura de tecido conjuntivo e os demais 85% para os fatores *post mortem*. Para Shimokomaki et al. (1972) a idade do animal também é responsável pela variação desta característica da carne. Animais mais velhos ocorre diminuição de solubilidade da proteína colágeno, resultando em carnes mais duras.

Herring et al.(1965) observaram que as alterações no comprimento dos sarcômeros durante período *post mortem* foi associada com a maciez do músculo bovino. E Olson et al. (1976) observaram que a força de cisalhamento diminuiu em carne bovina, assim como a taxa de fragmentação miofibrilar aumentou durante o armazenamento.

Para Wheller et al. (1997) a maciez é a característica sensorial mais apreciada na carne, sendo muitas vezes decisiva para sua aquisição.

O processo de *rigor mortis* e a maciez da carne de avestruzes são bem similares aos observados em carne bovina, uma vez que apresentam valores de pH final post mortem bem próximos (WHEELER; KOOHMARAIE, 1994).

Pesquisas têm sido realizadas carne de avestruzes, utilizando o equipamento “Bratzler Meat Shear” para avaliar a força de cisalhamento. Cooper e Horbañczuk (2002) analisaram as diferenças no grau de maciez entre músculos de elevado valor comercial da mesma carcaça, dentre os quais os *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*, sendo considerado o primeiro o mais macio, por exigir menor força para ser cisalhado. Sales (1996) realizou experimento semelhante, também concluindo, ser o *Gastrocnemius internus*, um dos que apresentou maior maciez entre seis músculos. Enquanto, Hoffman e Fisher (2001) citaram força de cisalhamento de 4,4Kg, para a carne de avestruz, sem especificação do músculo. A importância desta análise fez com que pesquisadores estabelecessem limites para a classificação de cortes de carnes, segundo sua maciez, como Jeremiah et al. (1991) que limitaram valor de 5Kg para carne macia e Harris et al. (1994) que estabeleceram uma classificação em três categorias, carne muito macia, para valores menores que 8Kg, para valores entre 8Kg e 10Kg representando textura aceitável e maiores que 10Kg, indicando carne dura.

#### 2.3.1.4 Perda de peso da carne por cozimento

Sá (2004) relatou que a perda de peso por cozimento corresponde à perda de água ou suco cárneo que ocorre durante a exposição da carne ao calor da cocção. É um fator

importante por afetar sua aceitação, visto que pode alterar significativamente sua cor e textura, além do valor nutritivo, pois no suco perdem-se proteínas solúveis, vitaminas e minerais. A menor suculência da carne deve-se à perda da água durante o cozimento, sendo menor, quanto maior a Capacidade de Retenção de Água (CRA). A CRA pode ser definida como a aptidão da carne para reter total ou parcialmente a própria água ou, eventualmente, a adicionada durante seu processamento, portanto trata-se da capacidade de manter o conteúdo aquoso mesmo durante a aplicação de forças externas, como a compressão, o impacto, o cisalhamento ou ainda, ao longo de um determinado processo como o congelamento e o cozimento (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A suculência, fator que contribui para a aceitação da textura da carne, trata-se da umidade durante as primeiras mordidas produzidas pela rápida liberação de fluidos. A suculência varia de acordo com a quantidade de perda de líquidos durante o cozimento caracterizando a intensidade da liberação do suco da carne (PRICE; SCWIEGERT, 1994).

Para Gessing et al. (2001); Ordóñez et al. (2005) a capacidade de retenção de água da carne influencia no desenvolvimento das características sensoriais, como a cor, a textura, a firmeza e, principalmente, a suculência, além do valor nutritivo e comercial. Desse modo, com a resolução do *rigor mortis* ocorre aumento da CRA quando comparada ao início do processo, devido à desorganização da estrutura miofibrilar. Esta capacidade é maior quanto mais lenta for a glicólise e mais alto for o pH final e quanto menor for a superfície de corte e quando estes são realizados no sentido longitudinal das fibras.

Para Honikel et al. (1986) quanto menor o comprimento do sarcômero, menor a capacidade de retenção de água, pois durante o *rigor mortis*, parte da água migra do meio intracelular para o espaço extracelular, devido à diminuição do espaço entre as fibras e rompimentos na membrana plasmática causados pelo declínio do pH, fazendo com que a água, seja direcionada ao interstício mesmo que de um meio hipertônico.

Segundo Huff-Lonergan e Lonergan (2005) dentro da estrutura muscular, existem inúmeros compartimentos, nos quais a água está presente, como os espaços intermiofibrilar, extramiofibrilar e extracelular e entre os feixes musculares.

A perda de água ocorre de formas diferentes dependendo da forma como está ligada. Quando a água é constituinte do espaço extracelular espera-se que seja perdida com muito mais facilidade que a contida entre as miofibrilas. Por ser uma molécula dipolar, a água possui afinidade por moléculas de proteínas, esta fração é definida como água fortemente ligada ou de constituição, apresentando mobilidade reduzida entre os compartimentos das fibras, correspondendo a 0,5g de água por grama de proteína. Por ser de 200mg/g, a proporção

de proteína no músculo, a água fortemente ligada corresponde a menos de 10% do total, sendo muito resistente a forças extremas. Essa fração aquosa é muito resistente e tem influência na temperatura de congelamento ou aquecimento (FENNEMA, 1993; HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

Sales (1996) e Van Schalkwyk et al. (2005) relataram valores médios entre 35,5% e 36% para perda por cozimento referente a seis músculos de avestruzes. Lanza et al. (2004) encontraram 24,95% para este parâmetro de qualidade da carne de avestruz.

Huallanco (2004) relatou perda de peso por cozimento dos músculos de coxa de frango, correspondente a 27,7% em 24 horas *post mortem*.

Em relação à carne bovina, os valores encontrados para a perda de peso por cozimento variaram entre 23,3% e 30,84% (DESTEFAINS et al., 2000; FIEMS et al., 2003; GESSING et al., 2001; KERTH et al., 2003; WALLACE et al., 1999).

## 2.4 IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

### 2.4.1 HISTÓRICO DA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

A irradiação é um processo físico que tem muitas aplicações industriais, sendo empregado na conservação de alimentos, transformações de polímeros, rações animais, ervas medicinais, sementes dentre outros. Durante o tratamento, o produto é submetido, de forma controlada, a um fluxo de radiação ionizante (DIEHL, 1990).

A irradiação de alimentos data o início do século XX, após a descoberta dos raios-X por Roentgen em 1895, e da radioatividade no ano seguinte, por Henri Becquerel. Na ocasião, os equipamentos utilizados não permitiram o sucesso desse processo em grande escala, pois eram primitivos. A partir de 1930, houve o reinício da irradiação com o desenvolvimento dos aceleradores de elétrons, até a II Guerra Mundial devido à construção dos reatores nucleares, que desencadeou uma grande produção com a disponibilidade de radioisótopos como Cobalto 60 e Césio 137. Uma sucessão de pesquisas sobre os efeitos biológicos da radiação ionizante em organismos vivos logo se seguiu a tais eventos, na busca por aplicações práticas para a radiação (IAEA, 1966; SATIN, 2002).

B. Schwartz, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, em 1921, sugeriu o uso dos raios-X para inativação da *Trichinae* em carne suína. Uma patente francesa foi concedida em 1930 ao engenheiro alemão O. Wüst, por uma invenção para eliminar bactérias

em alimentos embalados pelo tratamento com raios-X. Nenhuma dessas propostas, contudo, resultou numa aplicação prática viável porque as máquinas de raios-X ou os radioisótopos não possuíam potência suficiente para tratar alimentos em quantidades comerciais (DURANTE, 2002).

Após a II Guerra Mundial surgiu o programa “Átomos da Paz” uma campanha visando abrangência mundial para demonstrar os efeitos benéficos da energia atômica e fomentar pesquisas nessa área, sendo o Departamento Médico das Forças Armadas Americanas o pioneiro nessas pesquisas (SATIN, 2002).

Notícias sobre experimentos bem sucedidos com a nova tecnologia estimularam esforços similares em vários países. A partir do final de 1950, programas de pesquisa em irradiação de alimentos foram também organizados na Bélgica, Canadá, França, Alemanha, Países Baixos, Polônia, União Soviética e Reino Unido. A primeira experiência comercial ocorreu em 1957, na Alemanha, quando uma empresa fabricante de condimentos em Stuttgart decidiu melhorar a qualidade higiênica de seus produtos por irradiação com elétrons. No Canadá, a irradiação de batatas para inibir o brotamento foi autorizada em 1960 e realizada em 1965 (JOSEPHSON, 1983).

A Comissão de Energia Atômica dos Estados Unidos, após inúmeros testes sobre as aplicações da radiação autorizou a instalação de irradiadores de alimentos em várias universidades e indústrias, sendo sua aplicação em alimentos bastante incentivada, iniciando-se, provavelmente, em 1953 no tratamento de grãos e a partir da década de 60, como um método de conservação de carnes prevenindo a contaminação por microrganismos. Em 1963, o processo de irradiação foi aprovado pela FDA, para controle de insetos em trigo e farinha de trigo, e no ano seguinte, em batatas para inibir seu brotamento (NEWSOME, 1987; WHO, 1994).

No entanto, o desenvolvimento tecnológico ocorrido durante a Segunda Guerra Mundial produziu equipamentos que puderam ser adaptados para o aperfeiçoamento de irradiadores. “Tubos Klystron”, desenvolvidos para uso em radares, foram usados na construção de aceleradores de elétrons de alta potência, enquanto radioisótopos, produzidos em reatores nucleares tornaram-se fontes disponíveis de raios gama. Segundo Josephson (1983), no início das pesquisas de preservação de alimentos, tais fontes foram utilizadas com frequência.

O Primeiro Simpósio Internacional em Irradiação de Alimentos reuniu representantes de 28 países para revisar o progresso da irradiação em programas de pesquisas (IAEA, 1966). Autoridades de saúde desses países, contudo, hesitaram em conceder permissões para a

comercialização de alimentos irradiados. Questões sem respostas, sobre a segurança de alimentos irradiados para consumo humano, foram identificadas como o principal obstáculo para a comercialização do novo processo. Conseqüentemente, a “International Atomic Energy Agency” (IAEA), traduzindo, a Agência Internacional de Energia Atômica, a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a “Food Agriculture Organization” (FAO), em português, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura têm trabalhado juntas em uma iniciativa para pesquisar e divulgar a irradiação de alimentos desde o início de 1960. Tais instituições financiaram projetos de pesquisas internacionais sobre irradiação de alimentos em Karlsruhe, na Alemanha Ocidental, que se iniciou em 1970, e criaram um comitê conjunto IAEA/OMS/FAO, o qual produziu relatórios normativos em 1976 e 1980 sobre alimentos saudáveis irradiados. Tais relatórios serviram de base para o Comitê *Codex Alimentarius* da Organização das Nações Unidas (ONU) formular diretrizes internacionais para alimentos irradiados, recomendando que não deveria existir nenhuma preocupação quanto a sua segurança, desde que os alimentos fossem submetidos a doses de até 10 kGy (DIEHL, 2002).

Em 1999, baseado nos resultados de uma série de pesquisas realizadas com alimentos submetidos a altas doses, esse mesmo comitê de especialistas, sob uma nova denominação “International Consultative Group on Food Irradiation” (ICGFI), em português, Grupo Consultivo Internacional de Irradiação de Alimentos, concluiu que o processo de irradiação é seguro, mesmo em altas doses, não existindo, portanto a necessidade de impor-se limite máximo de dose. Após três décadas de pesquisas, a FDA aprovou o uso da irradiação de alimentos em carne bovina, por preservar a qualidade sem alterar o sabor, a aparência ou o aroma, além da possibilidade de irradiar o produto já embalado (ICGFI, 1999).

No Brasil, as pesquisas com irradiação de alimentos foram iniciadas em 1960, paralisadas em 1970 e, posteriormente, retomadas em 1984, quando começaram a ser proibidos os tratamentos quarentenários com agentes fumigantes, o que levou países como os Estados Unidos e Japão, a impedirem a importação de mamão e manga provenientes do Brasil (DIEHL, 1990).

Em 1969, no Exército Brasileiro, a irradiação de alimentos foi iniciada com uma parceria entre a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e um grupo Interministerial de Trabalho (MEx/MS/MA), elaborando a seguir o Plano Nacional de Irradiação de Alimentos, com a integração de laboratórios oficiais para preparação, irradiação, monitoração e análise dos alimentos. Em 1970, a Escola de Veterinária (EsVE), situada em São Cristóvão, tornou-se responsável por realizar as provas biológicas exigidas pela AIEA em batata inglesa e milho (FREITA, 2005).

A partir de 1992, as pesquisas em irradiação de alimentos passaram a ser realizadas no Instituto de Projetos Especiais do Centro Tecnológico do Exército (IPE/CTEx) em Guaratiba-RJ, com um irradiador gama de maior capacidade, utilizando como fonte o Césio137. Em 1999, o CTEx estabeleceu convênios para cooperação técnica, realização de cursos e trabalhos de pós-graduação com a Universidade Federal Fluminense (UFF) visando à divulgação da técnica, bem como a criação de um pólo de cultura em irradiação de alimentos no estado, além de um curso de Especialização de Irradiação de Alimentos (UFF, 2002).

#### 2.4.2 O PROCESSO DE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

A irradiação é considerada um eficiente processo de conservação de alimentos, quando comparado com outros, sendo ainda relativamente pouco divulgado. Este processo foi extensivamente investigado em relação à sua eficácia e segurança por mais de 500 trabalhos científicos, desenvolvidos em vários países por mais de 50 anos (ICGFI, 1999). Entretanto, para Vital (2000) há necessidade de mais pesquisa, divulgação e esforços multi-institucionais coordenados visando à implantação de um programa nacional de irradiação de alimentos adequado as reais condições e necessidades brasileiras, pois o processo é alvo de muitos preconceitos e ataques sem fundamentação científica ocasionados pelo desconhecimento.

Para Ordóñez et al.(2005) quando devidamente realizado, através de doses pré determinadas e em condições controladas, esse processo é o responsável pelo aumento do prazo de vida comercial de inúmeros produtos, tornando-os mais viáveis economicamente, sem ocasionar efeitos nocivos.

Importante aliada em potencial no combate ao desperdício e à fome, a irradiação constitui em atraente método alternativo, seguro e eficiente. É capaz de prolongar a vida útil e melhorar a qualidade de vários produtos, além de apresentar-se como opção para reduzir perdas pós-colheita e aumentar a qualidade higiênica e competitividade de muitos produtos alimentícios brasileiros no mercado internacional (FREITA, 2005).

A irradiação é comprovadamente eficaz na conservação de vários tipos de produtos alimentícios já embalados ou a granel, eliminando agentes patogênicos, insetos e parasitas e reduzindo a carga microbiana, constituída por bactérias e fungos, que contribui para a deterioração precoce de alimentos. A segurança dessa tecnologia, seja sob o ponto de vista toxicológico, físico, químico, biológico ou nutricional, tem sido assegurada há décadas pelas

IAEA, FAO e FDA e por mais de cinquenta outras instituições internacionais de controle alimentar (SATIN, 2002).

Para Farkas (1998) o processo é muitas vezes comparado à pasteurização, pois é capaz de eliminar patógenos sem aumentar significativamente a temperatura dos alimentos tratados. Assim como a pasteurização é um método amplamente utilizado e aceito para conservar alimentos líquidos, a irradiação é a alternativa viável e eficiente para alimentos de consistência sólida e condimentos diversos.

No entanto, deve ser ressaltado que, assim como ocorre com outros processos de inativação microbiana, como a pasteurização, a irradiação não reverte a deterioração do alimento. Portanto, faz-se necessária a adoção de boas práticas de manuseio em todas as etapas: antes, durante e após a irradiação, visando garantir a eficácia do tratamento e a qualidade higiênica dos alimentos irradiados (SATIN, 2002). Cabe ressaltar que somente alimentos saudáveis, portanto em boas condições para o consumo, podem ser irradiados, como prevêm as normas de boas práticas (VITAL, 2002).

Ao reduzir a ação de microrganismos e enzimas responsáveis pela deterioração precoce dos alimentos, o processo melhora a qualidade sanitária dos produtos, muitas vezes, prolongando significativamente sua vida útil. O alimento irradiado não se torna radioativo, pois não entra em contato com a fonte de radiação, tornando-se mais seguro para o consumo; e permanecendo saboroso, nutritivo e com boa aparência por um período, em geral, significativamente mais longo que aqueles tratados convencionalmente (HERNANDES et al., 2003).

Dentre as vantagens da irradiação sobre outros processos de conservação de alimentos, podem ser citadas: permite que o alimento seja tratado sua embalagem final; reduz ou mesmo elimina o uso de conservantes químicos; age uniformemente em todo o volume do alimento sem prejuízo de suas barreiras naturais de proteção; não produz resíduos tóxicos e não causa perdas nutricionais por elevação de temperatura (FREITA, 2005; URBAIN, 1986).

As temperaturas médias elevadas, típicas do clima tropical, favorecem uma degeneração mais rápida dos produtos alimentícios brasileiros, quando comparadas as temperaturas médias da maioria dos países frios do Hemisfério Norte e, mesmo assim observa-se que o processo da irradiação de alimentos ainda é pouco divulgado, compreendido e utilizado no Brasil, sendo ainda escassas as informações científicas. O conhecimento das possíveis alterações sensoriais e fisiológicas para diferentes tipos de alimentos e diferentes doses é especialmente relevante à aplicabilidade da irradiação de alimentos em consonância com a legislação para torná-los atraentes e saborosos (FREITA, 2005).

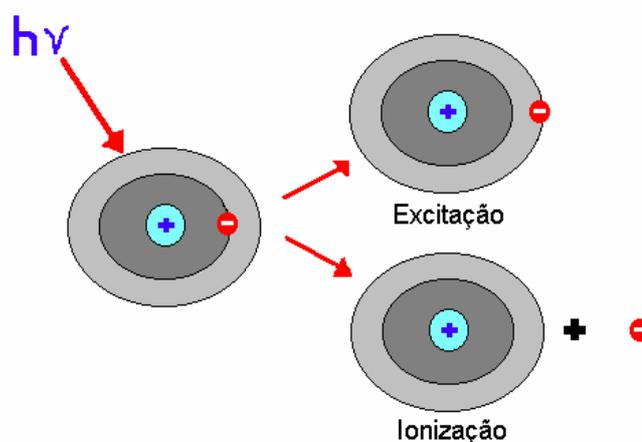
A legislação brasileira de irradiação de alimentos, Brasil (2001), exige que na rotulagem de alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos não irradiados, deve constar no painel principal: “ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO”, com letras de tamanho não inferior a um terço (1/3) da letra de maior tamanho dos outros dizeres da rotulagem. O símbolo utilizado na embalagem para identificar alimento submetido à radiação é a Radura (Figura 2).



**Figura 2.** Símbolo da Radura (BRASIL, 2001).

#### 2.4.3 RADIAÇÃO GAMA E DOSES DE IRRADIAÇÃO

A irradiação de alimentos emprega uma faixa particular de energia eletromagnética conhecida por radiações ionizantes que correspondem às partículas carregadas ou fótons que possuem energia suficiente para produzir partículas eletricamente carregadas (íons) nos materiais com os quais entram em contato, através da transferência de parte de sua energia, promovendo-os para níveis mais energéticos ou mesmo arrancando-os dos átomos (ionização), como ilustra a Figura 3 (HERNANDES et al., 2003).



**Figura 3.** Representação dos fenômenos de excitação e ionização (por radiação ionizante), num átomo (HERNANDES et al., 2003).

Na irradiação, os alimentos são submetidos a um campo de radiação ionizante, podendo ser de natureza eletromagnética (mais comumente, a radiação gama) ou corpuscular (elétrons de alta energia). A radiação eletromagnética é uma forma de energia que se propaga no espaço, normalmente em linha reta, com velocidade extremamente elevada (semelhante a velocidade da luz  $\approx 3 \times 10^8$  km.s<sup>-1</sup> no vácuo). Suas formas mais conhecidas são a luz visível e o calor radiante, que não possuem energia suficiente para ionizar átomos. Outros exemplos são os raios gama raios-X, microondas, a radiação ultravioleta e as ondas de rádio (DIEHL, 1990).

A energia de uma determinada radiação é dada pelo produto  $h.c.\lambda^{-1}$ , onde "h" é a constante universal de Planck ( $6,6 \times 10^{-27}$  erg.s); "c" é a velocidade da luz (igual a  $3,0 \times 10^8$  m.s<sup>-1</sup>) e " $\lambda$ " é o comprimento de onda (cm). Observa-se que uma radiação de curto comprimento de onda possui energia maior que outra de comprimento de onda longo. A unidade utilizada para quantificar a energia das radiações é o eV (elétron-Volt), onde 1eV (elétron-volt) é a energia cinética adquirida por um elétron submetido à diferença de potencial de 1 Volt - 1 MeV =  $1,6 \cdot 10^{-13}$  J (DIEHL, 1990). Na Tabela 1, estão listadas as regiões do espectro eletromagnético e suas faixas de comprimento de onda.

**Tabela 1.** Regiões do espectro eletromagnético e suas faixas de comprimento de onda

Regiões do Espectro Eletromagnético	Faixas de Comprimento de Onda
Raios Gama	0,005 - 1,4 Å
Raios-X	$10^{-2}$ - $10^2$ Å
Ultravioleta afastado	10 - 200 nm
Ultravioleta próximo	200 - 400 nm
Visível	400 - 750 nm
Infravermelho próximo	0,75 - 2,5 $\mu$
Infravermelho médio	2,5 - 50 $\mu$
Infravermelho afastado	50 - 1000 $\mu$
Microondas	0,1 - 100 cm
Ondas de rádio	1 - 1000 m

Fonte: HERNANDES et al. (2003).

Os raios X e gama são partes do espectro eletromagnético e possuem propriedades físicas e efeitos idênticos causados nas substâncias irradiadas, diferindo apenas em sua origem. Os raios X quando emitidos em baixa energia não possuem efeito penetrante suficiente para irradiar alimentos e, em altos níveis de energia, podem induzir radioatividade no alimento. Sua fonte é a máquina de raios X de porte comercial, produzindo radiação quando um feixe de elétrons bombardeia um anteparo metálico, com eficiência inferior a 10%

na conversão de elétrons em raios, por isso este tipo de irradiação não é normalmente utilizado em alimentos (DIEHL, 1990; KILCAST, 1994).

A energia das radiações dos raios  $\gamma$  depende do átomo emissor, sendo efetivamente empregados em pesquisas com alimentos. O Cobalto 60 e o Césio 137 são radioisótopos ou isótopos radioativos facilmente obtidos nos reatores nucleares (SATIN, 2002). O Césio137 é produzido através do reprocessamento de elementos combustíveis de urânio queimados em reatores nucleares, sua meia vida é de 30 anos, encapsulamento de aço inox da fonte de césio, absorvendo parte da radiação emitida, cerca de 70% dessa radiação gama está disponível ao processo de irradiação. Ambas as fontes de radiação  $\gamma$  emitem raios provenientes de seu decaimento natural e não entram em contato com as amostras irradiadas. Ao final de sua vida, o Cobalto 60 é convertido em níquel ( $^{60}\text{Ni}$ ) não radioativo e o Césio 137 em bário ( $^{137}\text{Ba}$ ) não radioativo (URBAIN, 1986; KILCAST, 1994; VITAL, 2000).

O uso do Césio 137 como fonte de irradiação foi muito difundido a partir dos anos 70, principalmente devido à grande disponibilidade, por ser produzido em reatores nucleares, por ser facilmente encontrado devido à atividade da indústria de reprocessamento de combustível (LAGUNAS-SOLAR, 1995).

As radiações ionizantes, como a gama, possuem propriedades para o tratamento de alimentos, constituindo radiações com comprimento de onda originadas da desintegração espontânea do núcleo atômico de certos elementos, sendo muito penetrantes e efetivos. Esse método de conservação pode ser utilizado complementando outros métodos como a refrigeração, a conservação através do calor, cura e adição de substâncias químicas, para prolongar a vida útil de alguns alimentos durante o período de armazenamento, refrigerado ou não. Isto não torna facultativo o envase perfeito para que o alimento não seja contaminado após a irradiação (FAO/IAEA/OMS, 1966).

São vários os tratamentos que podem ser realizados ao se expor um alimento a um campo de radiação ionizante, como a inibição do brotamento de bulbos e tubérculos, a desinfestação de grãos e farináceos infectados por insetos, o retardo de amadurecimento de frutas, a eliminação de fungos e de bactérias patogênicas (como *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, entre outras) ou, simplesmente, a redução da carga microbiana, melhorando a qualidade dos produtos (SATIN, 2002).

O maior receio por parte dos consumidores é que o alimento irradiado se torne radioativo. Isto seguramente não ocorre, pois a legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 2001 (BRASIL, 2001) é considerada a mais moderna do mundo por adotar as

recomendações de 1999 do ICGFI. Este grupo consultivo determina exigências para que o processo seja realizado de forma segura em relação aos requisitos de segurança radiológica, eficácia e boas práticas de manuseio, além de fontes que produzam radiações com energia inferior ao limiar da energia capaz de causar reações nucleares, o que poderia induzir radioatividade no alimento. As normas autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear são: a) Isótopos radioativos emissores de radiação gama: Cobalto-60 e Césio-137; b) Raios-X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV; c) Elétrons gerados por máquinas com energias de até 10 MeV”. Sendo “radiação ionizante” definida como "aquela capaz de ionizar (retirar elétrons) de átomos de materiais submetidos à mesma".

Além de autorizar o uso da radiação em alimentos, a Legislação brasileira também estabeleceu as normas de boas práticas aplicáveis, desde que o processo seja realizado em instalações licenciadas e supervisionadas pelos órgãos competentes e que à dose mínima absorvida (quantidade de energia absorvida por unidade de massa) seja suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a máxima seja inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001).

O homem diariamente fica exposto a radiações procedentes do meio ambiente e emitidas por elementos radioativos presentes de forma natural no solo, nas rochas e na atmosfera gasosa. Em abril de 1986, a FDA concluiu em seu relatório final que a irradiação não torna confere propriedades radioativas aos alimentos, o que poderia ocorrer caso fossem acidentalmente contaminados por substâncias radioativas, estas procedentes de testes com armas atômicas ou acidentes com reatores nucleares (OMS, 1995; SATIN, 2002).

Segundo Satin (2002) após três décadas de pesquisas, a FDA aprovou o uso da irradiação de alimentos em carne bovina, por preservar a qualidade sem alterar o sabor, a aparência ou o aroma, além do produto poder ser irradiado já embalado.

A unidade utilizada para representar a dose de radiação é o Gy (Gray). O Gray corresponde à unidade de dose de radiação ionizante absorvida e equivale a 1J (Joule) de energia absorvida por 1kg de alimento irradiado e a dose global absorvida por um alimento não deve exceder 10 kGy. O objetivo é assegurar a inocuidade dos alimentos irradiados, em relação aos aspectos toxicológico, nutricional e microbiológico (DIEHL, 1990; IAEA, 1992; OMS, 1995).

A radiação ionizante aplicada em alimentos pode ser classificada em três categorias de acordo com o alimento e os microrganismos deteriorantes presentes: a radurização, a radiciação e a radapertização.

A radurização consiste no tratamento do alimento com uma dose de radiação ionizante suficiente para manter ou aumentar a qualidade do alimento, causando uma redução substancial do número de microrganismos deteriorantes específicos e viáveis, normalmente doses de 1 a 5kGy para Urbain (1986) e entre 0,4 e 10kGy para Ordóñez et al.(2005). *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Moraxella* são destruídas com doses menores que 1kGy, leveduras são destruídas com 5kGy e esporos bacterianos não são eliminados.

A radiciação consiste na aplicação de doses com o objetivo da redução do número de células viáveis de bactérias patogênicas não formadoras de esporos. Doses entre 2 a 6,5 kGy são eficientes na redução do número de *Salmonella* e para *Shigella*, *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Escherichia*, *Proteus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus* podem ser inativadas com doses entre 5 e 8 kGy (Ordóñez et al., 2005).

Na radapertização são utilizadas doses capazes de inativar todos os microrganismos deteriorantes presentes no alimento, incluindo esporos resistentes, excluindo a destruição de toxinas bacterianas e enzimas. Doses até 50 kGy estão incluídas para assegurar a esterilidade do alimento, porém as alterações nos atributos sensoriais e na composição química determinam a dose máxima a ser utilizada. O maior interesse da radapertização está limitado a carnes e alguns produtos da pesca, visto que toleram doses mais elevadas quando aplicadas em alimentos congelados, sem as alterações sensoriais significantes (DIEHL, 1990; ORDÓÑHEZ et al., 2005; URBAIN, 1986).

Segundo Grégoire et al. (2003) a radiação ionizante é uma técnica mundial e eficiente para preservar os alimentos, ampliando o seu prazo de vida comercial por controlar o desenvolvimento de microrganismos patógenos. A estrutura química dos alimentos submetidos a radiação ionizante é menos alterada que os alimentos tratados pelo calor, além de evitar o uso de substâncias químicas potencialmente prejudiciais em excesso, os conservantes. Esse processo foi autorizado pelas OMS, FAO, FDA, “United States Department Agriculture” (USDA), o Departamento de Agricultura dos EUA, a Associação Médica Americana entre outros órgãos em mais de 40 países.

Satin (2002) comparou a aceitação de produtos submetidos à irradiação com a de produtos pasteurizados, que no início também encontraram objeções, sendo atualmente um método de conservação reconhecidamente aceito pelas autoridades médicas e comunidade científica como um método seguro, como no futuro, podem ser os alimentos irradiados.

#### 2.4.4 EFEITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS DA IRRADIAÇÃO

A dose de radiação absorvida pelo produto depende dos parâmetros de irradiação, do tempo de permanência e da densidade do material irradiado. A geometria do produto, distância entre o produto e a fonte e as medidas para o aumento de eficiência da utilização de irradiação influenciam na dose absorvida e na homogeneidade da dose de distribuição (CODEX ALIMENTARIUS, 1995).

Somente radiações com frequências iguais ou superiores à faixa mais energética do espectro ultravioleta são capazes de causar ionizações e quebrar a estrutura molecular do material (FREITA, 2005).

Por sua vez, a ionização pode acarretar a quebra ou dissociação de moléculas. Tal processo produz partículas carregadas positivamente ou negativamente, que são os "íons" ou "radicais livres", denominados "produtos radiolíticos" e que, com uma única exceção, as ciclobutanonas, são todos quimicamente iguais àqueles que se formam nos processos térmicos convencionais de tratamento, como os considerados produzidos por efeito do tratamento térmico, os termolíticos, além de ocasionar modificações biológicas, principalmente a nível de microrganismos. A irradiação não é considerada um processo térmico, pois o aquecimento do alimento é muito pequeno, geralmente inferior a 2° C, o que apresenta a vantagem de evitar perdas nutricionais oriundas da exposição a altas temperaturas (HERNANDES et al., 2003; NEWSOME, 1987).

Dihel (1990) distinguiu os efeitos diretos da radiação como sendo os íons e radicais livres e como produtos indiretos, os radiolíticos que correspondem às interações entre os mesmos radicais livres e as demais moléculas. Para Spinks e Woods (1976) a deposição de energia de radiação em um meio condensado conduz diretamente à formação de íons, moléculas excitadas e radicais livres que se distribuem irregularmente, podendo ser encontradas regiões de alta concentração de produtos radiolíticos nos alimentos. Estes, difundem-se para as imediações, alguns deles reagindo entre si e distribuindo-se mais uniformemente por todo o meio. Além disso, reações com outros compostos ocorrem, causando a formação indireta de radicais livres secundários e todas as espécies reativas, primárias ou secundárias, acabam produzindo compostos estáveis que correspondem ao produto final as mudanças químicas no sistema. Norberg (1986) afirmou que os produtos radiolíticos são produzidos em pequena escala e interagem entre si correspondendo ao somatório dos efeitos diretos e indiretos.

Os radicais livres, comumente são muito instáveis e reativos, reagindo constantemente com outras substâncias formando outros produtos considerados estáveis. Desse modo sua ingestão não corresponde a efeitos tóxicos. Uma das pesquisas cujo resultado confirma tal segurança foi realizada administrando-se a cobaias, por longo prazo, leite em pó irradiado com 45 kGy e não foram observados efeitos mutagênicos ou tumores nesses animais e nas nove gerações sucessivas (NEWSOME, 1987).

Em geral, os produtos radiolíticos são quimicamente muito reativos e rapidamente recombinam-se ou iniciam reações químicas com o material circundante, conseqüentemente, a radiação ionizante pode alterar a estrutura química do material e produzir efeitos biológicos nos microrganismos presentes nos alimentos irradiados. A dose de irradiação ideal para cada tipo de alimento depende de uma série de fatores, como o tratamento pretendido, as características físicas e químicas do alimento, atmosfera envolvente, taxa de decomposição, carga microbiana inicial (DORFMAN; ADAMS, 1973; WHO, 1994).

Para Diehl (1990) a dose efetivamente absorvida pode ser determinada com o uso de dosímetros que são irradiados com os produtos. A radiólise, mesmo de moléculas mais simples, como o metano e a água que pode produzir grande número de produtos radiolíticos diferentes. A quantidade de átomos do alimento que realmente interage, direta ou indiretamente, é relativamente muito pequena, gerando concentrações finais de produtos na ordem de ppb (em baixas doses de radiação) ou ppm (em altas doses), as quais geralmente exigem técnicas sofisticadas, como a cromatografia gasosa para identificação.

O efeito da radiação é geralmente mais intenso em moléculas maiores, como os ácidos nucléicos, por exemplo, que são moléculas muito longas e complexas, apresentando elevada possibilidade de interagir diretamente com a radiação e sofrer danos (WHO, 1994).

Em contraste, o efeito da irradiação sobre aminoácidos e enzimas é relativamente bem menor, porque são moléculas menores, interagindo com freqüência muito baixa, seja direta ou indiretamente, durante a radiólise (DIEHL, 1990).

A água constitui a principal fonte de produtos radiolíticos em alimentos, em virtude de sua alta concentração nos mesmos. Durante a irradiação, as moléculas de água podem originar radicais livres com caráter oxidante ou redutor, alguns, altamente instáveis e reativos, como o radical hidroxil  $\text{-OH}^\bullet$  (AIEA, 1991).

Durante a radiólise, a água sofre reações que levam à formação de  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{e}_s^-$  (elétron solvatado),  $\text{H}^\bullet$  (hidrogênio atômico),  $\text{H}_2$  (hidrogênio molecular) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (peróxido de hidrogênio) que podem interagir com constituintes de alimentos como os aminoácidos livres,

sais, vitaminas, peptídeos, carboidratos em reações de abstração de hidrogênio, adição de cadeias duplas e redoxes, as quais envolvem preferencialmente os radicais  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{e}_s^-$  e  $\text{H}^\bullet$  (SPINKS; WOODS, 1976).

Quando a água apresenta-se congelada como um sólido cristalino, policristalino ou amorfo, os radicais primários são formados próximos uns dos outros e o processo subsequente de difusão é impedido pela alta viscosidade dessas matrizes rígidas. Assim sendo, os valores de energia livre para o gelo são inferiores àqueles relativos aos da água no estado líquido. Por essa razão, os radicais livres se tornam aprisionados nas proximidades de onde são criados (TAUB; EIBEN, 1968).

Os efeitos indesejáveis da radiação resultam principalmente da interação de radicais livres com os constituintes do alimento, sendo que a temperatura pode influenciar nas taxas dessas reações, alterando sua energia de ativação. A própria radiação também afeta a mobilidade dos radicais livres e outros reagentes, modificando a viscosidade do meio, por exemplo no estado congelado, como citado, espécies reativas são virtualmente imobilizadas por redução do grau de interação entre elas ou com o substrato (DIEHL, 1990).

O desenvolvimento de métodos de identificação de radiação em alimentos permite controlar as doses utilizadas, verificando o cumprimento dos níveis mínimos de exigência microbiológica, além de contribuir para o controle do mercado internacional de alimentos irradiados (BÖGL, 1989). A falta de informações sobre métodos confiáveis de detecção de elementos formados a partir do uso da radiação é uma das razões que motiva a desconfiança dos consumidores em relação aos alimentos assim tratados (LEAL et al., 2004).

Para Romanyuka ; Regulla (1996) em partes sólidas não-comestíveis como ossos de aves ou mamíferos, a formação de radicais livres é geralmente proporcional à dose da radiação absorvida. A hidroxiapatita  $-\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  é o principal componente da fase mineral dos tecidos calcificados, constituindo 60-70% dos ossos e quando irradiada é formado, principalmente, o radical  $\text{CO}_2^-$  (Carboxil).

Conforme Desrosiers (1996) e Pereira et al. (2005) esses radicais livres ficam aprisionados na camada cortical dos ossos e, por serem moléculas que possuem elétrons desemparelhados, podem ser detectados pela Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). Uma estimativa de dose de radiação em osso pode ser obtida através de nova irradiação de dose conhecida e, através da regressão linear, ser definida a dose inicial. Além de poder determinar a dose inicial este método é aplicado para distinguir quando os alimentos são irradiados, comparando com o resultado de amostras não irradiadas.

Merritt et al. (1975) verificaram que o odor desagradável em carne bovina irradiada com doses de 30-60 kGy, reduziu-se significativamente quando a temperatura durante a irradiação foi alterada de 80°C para 0°C, além disso, o uso de baixas temperaturas ajudou a preservar o valor nutricional dessas carnes irradiadas.

Produtos cárneos de boa qualidade sanitária, por exemplo, podem ser tratadas com o uso combinado de baixas temperaturas de armazenagem e irradiação (DIEHL, 1990). Pelo fato de que em alimentos congelados, os radicais livres estão distribuídos de forma heterogênea e a concentração de solutos é relativamente muito alta, faz com que a taxa de dose desempenhe um papel pouco significativo em relação à radiólise, porque a distribuição heterogênea dos radicais livres determina um complexo padrão de reação, independente das concentrações dos radicais (TAUB et al., 1974).

Como exemplo da complexidade dos efeitos químicos da radiação em alimentos, pode ser citada a radiação de carne bovina com 45 kGy a 20°C. Ela produz apenas 1 ppm de um composto predominantemente que contém mais de 65 substâncias voláteis identificáveis, sendo 90% do peso e 70% do número de moléculas, correspondentes a hidrocarbonetos, entre outros compostos predominantes como os derivados de enxofre, carbeto e alquil benzenos. Enquanto, os hidrocarbonetos se originam de lipídios, os compostos aromáticos e de enxofre são formados pela ação da radiação em proteínas (DIEHL, 1990).

No entanto, outro efeito indesejável precisa ser considerado, a redução da mobilidade dos íons e radicais livres, por efeito da temperatura durante a radiação, diminui a intensidade da condição desfavorável para o crescimento da microbiota. Devido a isso, aumenta a dose necessária para causar a mesma redução na carga microbiana. No congelamento, esse efeito é ainda mais intenso. Como exemplo, pode ser citado o tratamento da carne de frango com dose de 4 kGy, recomendada para a radiação do produto resfriado, bem inferior à de 7 kGy comumente aplicada à carne de frango congelada (FREITA, 2005).

#### 2.4.5 EFEITOS DA RADIAÇÃO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E NOS ATRIBUTOS SENSORIAIS DOS ALIMENTOS

A irradiação pode causar alterações na composição química do alimento e, conseqüentemente, afetar seu valor nutricional. A natureza e a extensão de tais alterações dependem da dose aplicada, da composição do alimento e de sua embalagem, de fatores ambientais durante o processo, como temperatura e oxigênio e das condições pós-irradiação,

como temperatura e atmosfera (DURANTE, 2002; WHO, 1988). Como mencionado, a água é o componente mais sensível à radiólise, sendo os radicais livres reagentes com a própria água ou com outros componentes, além disso, em presença de oxigênio, as reações com os radicais precisam levar em consideração a formação do radical hidroperóxido (DIEHL, 1990).

De acordo com Rela (2000) macronutrientes como as proteínas, carboidratos e gorduras são estáveis ao processo de irradiação, enquanto para Jay (1994) e Thomas (1996) análises químicas comprovaram que os macronutrientes sofrem pequenas alterações quando utilizadas doses de até 50 kGy, pela razão principal de aumento da dose. Germano e Germano (2001) destacam que em baixas doses, até 1kGy, a perda nutricional é insignificante e em doses intermediárias, de 1 a 10 kGy, não existem perdas significativas até 3kGy, acima desse nível recomenda-se que a irradiação seja realizada a baixas temperaturas (-20°C a -40°C) e/ou com exclusão de ar.

Urbain (1986) relatou que a dose de 50 kGy afeta aproximadamente 0,01% das ligações químicas de um alimento, enquanto Friedman (1991) concluiu que, pelas alterações inexpressivas nesses nutrientes, a radiação não produz alteração no valor calórico.

Entretanto, micronutrientes como vitaminas, podem ser significativamente afetados, por serem particularmente susceptíveis à ação de radicais livres formados pela radiação. Dessa forma, a irradiação de alimentos que se constituem em importantes fontes de vitaminas, exige atenção especial de forma a evitar possíveis perdas nutricionais. A sensibilidade relativa de diferentes vitaminas à irradiação é influenciada por diversos fatores, como a dose de radiação, a origem do alimento, as espécies e variedades de plantas, o tempo decorrido entre a radiação, a análise, a temperatura durante a radiação e as condições de armazenamento dos alimentos irradiados (DIEHL, 1991).

Em geral, os nutrientes mais sensíveis ao tratamento por calor, como as vitaminas B<sub>1</sub>, A, E, e C, são também sensíveis à radiação (ADA REPORTS, 1996; URBAIN, 1986; WHO, 1994). As perdas vitamínicas ocasionadas pela radiação são comparáveis àquelas acarretadas pelos métodos tradicionais de conservação de alimentos, sendo que em soluções puras, tais perdas são maiores do que no próprio alimento, devido ao efeito de proteção mútua proporcionada pela presença das outras substâncias presentes no alimento (DIEHL, 1991; THORNE, 1991).

Freqüentemente ocorre uma superestimativa de perda vitamínica por radiação, pois utilizam como base os resultados obtidos a partir de soluções puras, onde as vitaminas são freqüentemente encontradas em maior índice que no substrato de alimentos irradiados. Outras

vezes, ocorre o inverso, uma subestimativa, porque suas análises são realizadas imediatamente após a irradiação, não levando em conta as perdas vitamínicas que ocorrem durante o período de armazenamento do alimento irradiado, especialmente em presença de oxigênio (DIEHL, 1990; WHO, 1994).

Com algumas exceções, a destruição de vitaminas causada pelo processo de irradiação é relativamente menor que nos processos térmicos convencionais, em geral produzindo apenas reduzidas perdas de valor nutricional (WHO, 1994). Além disso, essas perdas podem ser minimizadas, irradiando-se o alimento, resfriado ou congelado, ou em atmosfera isenta de oxigênio (DIEHL, 1990; THORNE, 1991).

Pesquisadores concluíram que o processo de irradiação não acarreta perdas significativas em sais minerais e elementos traços, sendo dessa forma, improvável que o tratamento afete a biodisponibilidade destes micronutrientes, independentemente da dose aplicada (DIEHL, 1991; WHO, 1994).

Em relação aos atributos sensoriais, os efeitos colaterais como alterações indesejáveis ou inesperadas de sabor, aroma e cor são fatores que devem limitar a comercialização da carne irradiada, visto que alterações de cor são decisivas no ato de compra do produto (MILLAR et al., 2000a). Entretanto, vários trabalhos científicos enfocam as análises físico-químicas e microbiológicas de alimentos irradiados, enquanto ignoram possíveis alterações sensoriais produzidas pelo processo, as quais poderiam levar à adoção de doses impróprias e prejudicar a aceitação pelo consumidor do produto irradiado (FREITA, 2005).

Como ocorre com outros métodos de conservação, a irradiação pode ocasionar alterações nas propriedades sensoriais de um alimento, podendo comprometer sua aceitação. Justamente para evitar esse risco, a legislação brasileira preconiza que a dose aplicada não comprometa os atributos sensoriais. Por isso, a irradiação deve ser conduzida em condições apropriadas, utilizando dose ótima para que o objetivo sanitário seja alcançado sem ocasionar danos à qualidade do produto (DIEHL, 1990).

Para cada alimento há uma dose limite a ser aplicada, acima da qual, as diferenças nas características sensoriais inviabilizariam o processo. Alguns alimentos são considerados mais sensíveis a tais alterações como as carnes e peixes, desse modo devem ser submetidos à irradiação em baixas temperaturas, resfriados ou congelados ou em atmosfera modificada, visando minimizá-las. Alimentos ricos em lipídios, por exemplo, devem ser irradiados em baixas doses, preferencialmente à vácuo ou mantendo-se a temperatura de congelamento durante o processo e armazenamento (DIEHL, 1990; URBAIN, 1986).

Urbain (1986) estabeleceu uma lista com doses limites de radiação em alguns alimentos, pois acima desses valores detectou o aparecimento de um conjunto de substâncias estranhas, o “off-flavor”, componente que influencia no sabor e odor, típicos de produtos irradiados, em alimentos protéicos quando irradiados a temperatura entre 5 e 10°C, enfatizando que tais valores limites aumentam gradativamente com a redução da temperatura. Nessa lista encontram-se carnes de bovino, de frango, suína e de peru, correspondendo respectivamente, às doses limites de 2,5; 2,5; 1,75 e 1,5 kGy.

Farkas (1998) concluiu que quando o alimento é irradiado e mantido a temperatura de congelamento, a dose aplicada pode ser bem superior, sem ocasionar “off-flavor”. A carne de frango congelada, por exemplo, pode ser tratada com o dobro da dose que a mesma carne resfriada. Para carnes de bovinos e de frangos irradiadas a 5-10°C, a dose limitada pelo “off-flavor” é de 2,5 kGy.

Farkas (1998) também divulgou uma tabela listando as doses limites autorizadas por legislações de vários países para alguns alimentos, entre os quais os EUA com o limite de 3kGy para carne de frango fresca ou congelada, aprovado em 1992 e em 1997 foi aprovado o limite de 4,5 kGy para carne vermelha fresca e de 7kGy para carne vermelha congelada.

Giroux e Lacroix (1998) verificaram que a irradiação promove alterações de desaminação, descarboxilação, rompimento de ligações peptídicas e oxidação de grupos sulfúricos. Essas alterações são catalisadas por radicais livres formados pela hidrólise. O radical heme está inserido na molécula de hemoglobina por ligações sulfúricas e como a alteração da conformação da molécula é possível, credita-se ser o processo de irradiação uma das possíveis causas de transformação do radical heme. Como exemplo de uma destas alterações, Nam e Ahn (2003) relataram que a radiação em carnes induz a maior produção de substâncias, dentre os quais o CO (monóxido de carbono) que se destacou, principalmente em condições aeróbias, sendo o provável ligante do radical heme, responsável pela coloração mais vermelha (CO-mioglobina), porém não deve ser o único pigmento formado neste processo, promovendo diferença de cor na carne submetida à radiação.

Para Yoon (2003) vários experimentos têm sido conduzidos objetivando verificar os efeitos da irradiação no controle microbiológico, além dos parâmetros sensoriais apresentando efeitos benéficos para a qualidade microbiológica, contudo sem o comprometimento dos atributos sensoriais e das propriedades nutricionais. Enfatizou também que há necessidade de pesquisar a influência da radiação gama na microestrutura e textura de carne avícola durante o armazenamento no mercado varejista.

#### 2.4.6 IRRADIAÇÃO DE CARNES

Apesar de conter aproximadamente 75% de água, constituindo um excelente substrato para o crescimento de inúmeros microrganismos (SATIN, 2002), a carne vermelha, assim como de aves e suínos são produtos a serem submetidos à radiação, em função da crescente demanda, visando a maior oferta de alimentos de alta qualidade. Por isso, a irradiação surge em combinação com outros processos de conservação, como uma promessa de aumentar o prazo de vida comercial de carnes vermelhas, peixes, alimentos minimamente processados e condimentos desidratados (FARKAS, 1998).

Para Lacroix et al. (2002) aumentar o prazo de vida comercial de carnes frescas para quatro a oito semanas é possível com embalagens de atmosfera modificada, incluindo o vácuo ou combinação de gases.

Para Lee e Ahn (2005) na proporção em que ocorre aumento de dose de irradiação, a quantidade de hidrocarbonetos e compostos sulfurosos voláteis também aumentam durante a armazenagem sendo responsáveis pelo aroma desagradável chamado “off-odor.”

A dose de radiação de carnes deve ser limitada, devido o teor de lipídios, que por efeito da radiação ionizante forma componentes diferentes percebidos no sabor, chamado “off-flavor” (LACROIX et al. 2002).

A comercialização de alimentos irradiados, incluindo as carnes frescas pode ser estabelecida, porém o receio por parte dos consumidores em relação à segurança do processo vem se tornando um fator limitante para a comercialização desses produtos, apesar da preocupação infundada, pois há mais de 50 anos são realizadas pesquisas em relação ao processo e aos produtos irradiados, concluindo ser um método seguro e inócua para o homem, ganhando a aprovação de vários órgãos de saúde, como a ANVISA, OMS e o FDA (FREITA, 2005; DIEHL, 2002).

De acordo com Girox e Lacroix (1998) o uso da radiação gama em carne fresca objetiva elevar o prazo de vida comercial, por minimizar contaminação por bactérias patogênicas. Segundo os mesmos, lipídios, proteínas ou vitaminas quando expostos à radiação sofrem efeitos desprezíveis na maioria dos casos.

No entanto, a irradiação de filés e carne moída bovina com 1,5 e 2,5 kGy em temperatura ambiente causou alterações em vários atributos sensoriais, como odor, sabor e cor, elevando os danos de forma proporcional a dose de radiação, além de intensificar a

coloração dos alimentos (DESMONTS; CARTIER, 1990; THAKUR; ARYA, 1993). Os precursores de aroma de carne são hidrossolúveis, as proteínas sarcoplasmáticas e fibrilares intactas não contribuem para o aroma de carne, enquanto os precursores de sabor de carne incluem compostos não-voláteis, como os peptídeos, alguns ácidos orgânicos, açúcares, metabólicos de nucleotídeos, tiamina, lipídios e alguns voláteis como os hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, álcoois e sulfetos. Contudo, foi atribuída às substâncias voláteis originados da oxidação lipídica, a responsabilidade de conferir aroma característico de carnes irradiadas de bovinos, suínos e ovinos (ORDÓÑEZ et al., 2005; PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

#### 2.4.7 IRRADIAÇÃO X MICRORGANISMOS

Apesar de inúmeros esforços para minimizar a contaminação de alimentos, há uma tendência ao aumento do número de casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) causadas por diversas bactérias. A radiação ionizante nas doses de 2 a 7kGy, dependendo do tipo de alimento, pode eliminar efetivamente bactérias potencialmente patogênicas elevando o prazo de vida comercial dos alimentos (FARKAS, 1998).

Ao absorver a radiação ionizante, os componentes celulares sofrem alterações que podem comprometer sua atividade. Dentre essas alterações, as mais importantes são as relacionadas à membrana celular, afetando a transferência de substâncias entre os meios intra e extracelular como danos às enzimas, efeitos na síntese de DNA e RNA, alterações no metabolismo energético através da redução da fosforilação e na composição do DNA afetando suas funções, notadamente a reprodução celular. O elemento mais sensível à radiação é o DNA cromossômico, principalmente devido a seu tamanho e grande nível de complexidade (URBAIN, 1986).

A série de fenômenos que podem acarretar tais alterações biológicas e a morte celular é iniciada pela excitação ou ionização do ácido nucléico, rompendo ligações químicas e dissociando moléculas de suas bases nitrogenadas, constituindo os efeitos diretos da radiação (DIEHL, 1990; URBAIN, 1986).

Em alguns casos, a radiação pode não causar a destruição celular e sim alterar seu conteúdo de forma que, ao se reproduzirem, surjam células diferentes das normais, com isso a resistência, característica de algumas células à irradiação e a outros tratamentos de conservação, relaciona-se com sua capacidade de auto-regeneração, isto é, reparação dos danos sofridos (DIEHL, 1990; WHO, 1988).

Diehl (1990) complementou mencionando que a sensibilidade de um organismo à radiação ionizante está diretamente relacionada com o peso molecular do DNA, porém a energia considerada suficiente para inativar microrganismos é, geralmente, insuficiente para causar alterações significativas no alimento. Portanto, a radiação pode ser considerada como seletiva, por apresentar efeito danoso sobre a desestruturação de células microbianas, sem ocasionar danos equivalentes no alimento (URBAIN, 1986).

Pollard (1966) mencionou que para microrganismos uma dose de 0,1 kGy produz danos na ordem de 2,8% do DNA, porcentagem considerada letal para a maioria das bactérias (uma pequena parte sobreviveria), 0,14% de alterações nas enzimas, algo dificilmente detectado por análises delicadas e 0,005% dos aminoácidos, alteração que de tão pequena é considerada indetectável.

A sensibilidade bacteriana à radiação é medida através da dose  $D_{10}$ , correspondente a dose necessária para matar 90% da população. Geralmente, doses intermediárias (entre 3 e 7 kGy) são utilizadas para eliminação de bactérias patogênicas não esporuladas em produtos de origem animal, além disso, bactérias Gram-negativas, geralmente são mais sensíveis à radiação que as Gram-positivas e os esporos ainda mais resistentes, pois são mais primitivos e apresentam menor teor de água, praticamente não sofrendo os efeitos do processo (DIEHL, 1990; OLSON, 1998).

Segundo Hutzler (1997) a radiação ionizante age sobre as bactérias através da lesão de seus ácidos nucléicos, estando sua eliminação relacionada à intensidade da dose empregada. As mais sensíveis já são destruídas a 2kGy, enquanto para os mais resistentes, são exigidas doses maiores como de 50 kGy para serem inativadas.

Para Farkas (1998) e Patterson et al.(1993) a radiação promove o aumento do prazo de vida comercial dos alimentos, não só por eliminar parte da contaminação bacteriológica, como por causar danos nas células sobreviventes aumentando sua sensibilidade para outros fatores utilizados na conservação, fazendo com que sejam destruídas com mais facilidade até que tenham condições de retomarem sua fase de multiplicação, isto é, atuando em sinergismo. Como por exemplo, a *Salmonella* capaz de sobreviver em carne irradiada com doses de radiação entre 1 a 3kGy, contudo foi eliminada rapidamente quando submetidas a temperatura de 0-2°C e apresentou menor taxa de multiplicação quando exposta a temperatura de 8-10°C durante armazenamento, Por isso, foram sugeridas combinações de radiação com congelamento ou com embalagem de atmosfera modificada ou com tratamentos térmicos. Enquanto para Lacroix e Quatara (2000) baixas doses de radiação, entre 2 e 3kGy, são

extremamente efetivas para a redução de *Salmonella* em carne e produtos avícolas, pois quando presente, ocorre em baixos níveis. Para Lamulka et al. (1992) a dose de 2,5kGy conferiu a eliminação completa desta bactéria em carcaças de frango. Para Javanmard et al. (no prelo) a *E. coli* pode ser eliminada com dose de 2kGy, não apresentando recuperação das células danificadas pela radiação na carne de frango. Enquanto para Kanatt et al. (no prelo) *Staphylococcus* spp. são completamente eliminados a 2kGy.

Farkas (1998) enfatizou que a irradiação não apresenta efeito persistente devendo ser prevenidas todas as formas de contaminação posterior à aplicação do processo.

#### 2.4.7.1 Bactérias psicotróficas e *Enterococcus* spp. em carnes

A estimativa do prazo de vida comercial de alimentos frescos é baseada na enumeração de microrganismos responsáveis pelas alterações típicas de deterioração, como odor característico, limosidade e descoloração (COUSIM et al., 2001).

Em torno de 1960 surgiu o termo psicotrófico (*psycros*= frio; *trophein*= nutrição) para classificar os microrganismos que são capazes de crescer a 5 °C ou temperaturas inferiores. As temperaturas de congelamento, -18 °C e inferiores, inibem o crescimento de todos os microrganismos, porém alguns são capazes de crescer mesmo em ritmo bem mais lento (JAY, 1994). Cousim et al. (2001) e Franco e Landgraf (1996) complementaram definindo psicotróficos como microrganismos capazes de crescer em alimentos mantidos sob refrigeração (entre 0 °C e 7°C), porém sua temperatura ótima é superior a 20 °C. Estes, visíveis quando incubados por 7-10 dias a  $\pm 7$  °C, desconsiderando a temperatura ótima de crescimento.

Em relação à influência da temperatura sobre o crescimento, os microrganismos são classificados em três grupos, os termófilos, quando se multiplicam em temperaturas superiores a 45 °C, tendo como faixa ótima entre 45 °C e 55 °C, mesófilos, quando se multiplicam entre 20 °C e 45 °C, tendo como ótimas, temperaturas entre 30 °C e 45 °C e psicotróficos, como um sub-grupo de mesófilos, apresentando temperaturas ótimas de crescimento, entre 20 °C e 30 °C.

Segundo Alvarez-Astorga et al. (2002) os psicotróficos são bactérias predominantes em carne de frango refrigerada e sua contagem confere a melhor estimativa para avaliar a qualidade deste produto. Miyagusku et al. (2003) e Cousim et al. (2001) citaram que entre

estas bactérias encontram-se as espécies responsáveis pela deterioração do produto, razão pela qual apresenta grande importância na diminuição da vida útil de alimentos refrigerados.

As bactérias psicrófilas deterioram os alimentos através de suas reações metabólicas utilizando como substratos os carboidratos, as proteínas e os lipídios quando submetidos a temperaturas de até 7°C. Tais alterações que culminam na deterioração dos alimentos podem ocorrer durante a fase de crescimento destas bactérias, porém vários dias ou semanas podem ser necessárias para ocasionar alterações sensoriais (Cousim et al., 2001).

No código sanitário do Estado de São Paulo foram definidos limites para microrganismos em alimentos para parâmetros de fiscalização, determina como limite de contaminação por estas bactérias a contagem de  $6,48 \log_{10} \text{ufc/g}$  de bactérias psicrófilas para que um alimento esteja viável ao consumo (São Paulo, 1992).

De acordo com Cousim et al.(2001) a enumeração de psicrófilos é de interesse para vários alimentos, por isso numerosas tentativas foram realizadas para desenvolver metodologias seletivas que permitiriam crescimento mais rápido destes microrganismos sob temperaturas de incubação, como forma de prevenção e controle do crescimento de outras bactérias de maior patogenicidade, como as mesófilas. A maioria das bactérias psicrófilas é Gram-negativa e normalmente desenvolvem-se em temperaturas constantes, entretanto, também são identificados quando alimentos são submetidos a temperaturas flutuantes, sendo os gêneros mais encontrados *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Vibrio*. Algumas bactérias Gram-positivas também se enquadram neste grupo, como *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* e *Micrococcus*.

As bactérias Gram-positivas são mais resistentes à irradiação que as Gram-negativas. Uma das espécies extraordinariamente resistente à radiação está o *Enterococcus faecium*, tal resistência é maior na ausência de oxigênio (JAY, 1994).

Na Espanha, amostras de carne de avestruz embaladas a vácuo e resfriadas apresentaram contagens de bactérias psicrófilas consideradas baixas devido ao prazo de armazenamento de sete dias, considerado curto para que houvesse elevada contagem (ALONSO-CALLEJA et al., 2004). Em amostras de carne de avestruz embaladas a vácuo, congeladas a -40 °C por cinco dias e mantidas sob temperatura de refrigeração, em torno de 0 °C, por até 28 dias, em relação às psicrófilas, dentre os microrganismos pesquisados, a carne tornou-se imprópria para o consumo aos 21 dias de armazenamento. Ao término de 28 dias o número de psicrófilos em cortes inteiros e em carne moída de avestruz armazenados

sob refrigeração foi de  $4,8 \times 10^6$  UFC (Unidade Formadora de Colônia)/g e  $1,7 \times 10^7$  UFC/g, respectivamente (OTREMBA et al., 1999). Allonso-Calleja et al.(2004) relataram a correlação entre pH e contaminações bacterianas, afirmando que se o pH da carne de avestruz for igual ou inferior a 5,95, a qualidade microbiológica melhora.

Prachasitthisakdi et al.(1983) analisaram carne de frango congelada e irradiada com doses de 1, 2, 3 e 4 kGy para a verificação da eficiência da radiação na destruição e/ ou inativação de bactérias psicrotróficas e concluíram que as reduções da contaminação foram proporcionais ao aumento da dose aplicada.

No decorrer dos últimos anos, visando maiores esclarecimentos sobre o efeito da radiação na conservação de carnes, pesquisas foram desenvolvidas em carnes de outras espécies, verificando o efeito da radiação no controle da contaminação microbiana. Miyagusku et al. (2003) determinaram o término da vida útil de cortes de frango refrigerados entre o 5º e 8º dias de estocagem quando as contagens de psicrotróficas atingiram entre 6,6 e 8,4 logUFC/g resultando na formação de limosidade e odor repugnante, enquanto as amostras irradiadas a 2,5 e 3 kGy atingiram tais índices somente no 15º e 22º dia de armazenamento respectivamente, também observando limosidade e odor desagradável. Esta diferença comprovou a eficácia do processo de irradiação para prolongar o prazo de vida comercial de carnes.

Badr (2004) e Kanatt et al. (2005) ao analisarem, respectivamente, produtos cárneos de frango, irradiados com 1, 2 e 3 kGy e carne de coelho refrigerada e irradiada com doses de 1,5 e 3kGy também observaram o efeito benéfico da radiação na conservação de carnes. Gomes et al. (2003) com o objetivo de verificarem o efeito da radiação gama sobre a conservação da carne mecanicamente separada, estocada por até 12 dias sob temperatura de 2°C, concluíram que as amostras não irradiadas foram analisadas somente até o 6º dia em virtude do elevado grau de deterioração, enquanto nas amostras irradiadas, a mesma contagem foi estabelecida em um prazo bem maior, no 12º dia de estocagem. Contudo, Alvarez-Astorga et al. (2002) ao analisarem a contaminação por psicrotróficas em cortes de frango armazenados a 2 °C, relataram contagens superiores em amostras de coxas e asas de frango e, mesmo assim, não detectaram alterações no aroma.

Para Lucht et al.(1998) afim de minimizar alterações de qualidade da carne irradiada, como alterações de cor, oxidação lipídica e contaminação microbiana devem ser administradas baixas doses aliadas ao controle de temperatura, evitando oscilações, pois mesmo com os danos causados no DNA microbiano, quando as bactérias resistem, podem

encontrar condições apropriadas para o reparo do dano e se multiplicarem, principalmente entre 14 °C e 21 °C, considerada a faixa ótima de temperatura para que isto ocorra.

Os *Enterococcus* spp. são anaeróbios facultativos, Gram-positivos de cadeias curtas ou células isoladas, crescem em condições adversas com meios contendo 6,5% de NaCl, temperaturas entre 10 e 45 °C, sobrevivem a 60 °C por 30 minutos, são tolerantes a 40% de sais biliares e vêm se destacando como microrganismos patógenos oportunistas, além de, atualmente, serem conhecidas mais de 20 espécies, sendo as de maior frequência encontradas na microbiota do trato intestinal de seres humanos, de outros animais e no ambiente (TEIXEIRA; TRABULSI, 2005). São normalmente isolados das fezes, por comporem o trato intestinal dos mamíferos, na terra e na água (GIRAFFA, 2002).

As bactérias do gênero *Enterococcus* foram consideradas por Frazier e Westoff (1993) e MERCK (1996) como onipresentes e, por sua resistência às condições adversas, possuem habilidade para colonizar diferentes nichos ecológicos. São utilizados como indicadores de contaminação fecal dos alimentos, sendo mais resistentes que as bactérias do grupo coliformes, como *E. coli*, também utilizadas como indicadoras de contaminação fecal, podendo contaminar a carne durante o abate do animal, constituindo-se em um excelente indicador de condições higiênico-sanitárias, portanto de grande importância na saúde pública.

Segundo Teixeira e Trabulsi (2005) a espécie mais frequente de *Enterococcus* spp., correspondendo cerca de 80 a 85% das amostras isoladas de material clínico, corresponde ao *Enterococcus faecalis*, capaz de crescer em condições variadas de temperatura e pH, encontrado no intestino grosso, perfazendo  $10^7$  células por grama de fezes, apresenta grande resistência à maioria dos antibióticos, como exemplo, a vancomicina. O *Enterococcus faecium* é semelhante à espécie anteriormente citada quanto às características bioquímicas e de resistência, porém encontrado com menor frequência.

Segundo Murray et al. (2004) a terapia tradicional é constituída por ação sinérgica de um aminoglicosídeo com outro antibiótico que atua na parede celular, como ampicilina e vancomicina, porém a resistência tem sido relatada de forma crescente atingindo proporções de 25% dos *Enterococcus* spp. resistentes aos aminoglicosídeos, mais de 50% de algumas espécies como *E. faecium*, resistentes à ampicilina e, muitos pesquisadores, referem-se a mais de 20% destes microrganismos como resistentes à vancomicina.

Os *Enterococcus* spp. são bactérias de importância em alimentos, podendo deteriorar carnes, mas também sendo utilizadas tecnologicamente na fabricação de queijos e produtos cárneos fermentados, por desenvolverem sabor agradável e elevação do prazo de vida

comercial. Também são usadas, ocasionalmente, como probióticos para humanos, por inibirem o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, fortalecendo a barreira da mucosa entérica, inibindo atividade mutagênica, excitando o sistema imune (HOLZAPFEL et al., 1998; FRANZ, et al., 1999).

Por outro lado, sua atuação probiótica, tem sido discutida pela identificação destas bactérias em muitos casos de endocardites e infecções abdominais e do trato urinário, principalmente em pessoas imunocomprometidas, notadamente as hospitalizadas, pois possuem capacidade de penetração no epitélio intestinal, atingindo o sistema cardiovascular (HOLZAPFEL et al., 1998; FRANZ et al., 1999).

Para Giraffa (2002) os *Enterococcus* spp. podem causar toxinfecções alimentares devido à produção de aminas biogênicas que determinam vários sintomas de complexidade variada, incluindo enxaqueca, vômito, hipertensão e, até mesmo, reações alérgicas de forte intensidade. As aminas biogênicas são metabólitos bacterianos formados a partir da descarboxilação enzimática dos aminoácidos livres presentes nos alimentos, além disso, a carne constitui-se num alimento suscetível a alterações químicas e físicas. Segundo Stratton et al., 1991 as aminas ocasionam odor pútrido e “off- flavor” na carne, afetando facilmente sua aceitação, além de sua ingestão de altos níveis, principalmente os tipos histamina e tiramina, constituem um risco para a saúde, principalmente associada a outros fatores como a ingestão de álcool e uma infecção intestinal.

Para Hugas (2003) os *Enterococcus* spp. apresentam potencial de patogenicidade muito baixo quando veiculados por alimentos, em contraposição são utilizados para inibição da microbiota patogênica em alimentos fermentados. Atribui-se esta patogenicidade recente de algumas espécies do grupo *Enterococcus* spp. ao desenvolvimento de resistência a uma grande variedade de antibióticos amplamente utilizados, portanto o organismo poderia não responder adequadamente ao tratamento convencional (FRANZ et al., 1999). Um dos fatores que, provavelmente contribuiu para tal resistência, foi o intenso uso de fármacos promotores de crescimento em animais de açougue, tendo se difundido neste grupo de animais (KUHN et al., 2003).

Toda a controvérsia relacionada à ação probiótica e patogenicidade dos *Enterococcus* spp. foi resumida por Moreno et al. (no prelo), descrevendo que pelo fato de ter sido comprovada a virulência em potencial, além do número de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina, a seleção das cepas e quantidades destes microrganismos para ação probiótica deve ser de interesse da ciência e da indústria, com o intuito de eliminar qualquer fator que

cause patogenicidade ou transferência de genes resistentes. Portanto, técnicas de análises atuais e eficientes devem ser desenvolvidas e utilizadas para o emprego dos *Enterococcus* spp. que confere características importantes aos alimentos, notadamente queijos e produtos cárneos fermentados produzidos de forma artesanal em países mediterrâneos.

Conforme Trabulsi (1989) e Franco e Landgraf (1996) o período de incubação das enfermidades causadas por *Enterococcus* spp. varia de 2 a 20 horas, os sintomas são vômitos, dor abdominal e diarreia, entre as infecções estão endocardite e infecção urinária. Segundo Murray et al. (2004) o papel destes microrganismos nas doenças é mediado por um conjunto de fatores, como por exemplo, fatores adesivos de origem protéica e glicídica que regulam a aderência aos enterócitos e podem produzir bactericinas protéicas chamadas enterocinas, destacando-se nesta atividade espécies *E. faecium* e *E. faecalis*. Para Hugas et al., 2003 as enterocinas foram utilizadas com êxito em produtos cárneos fermentados para a inibição de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e bactérias lácticas produtoras de limo, atuando como uma alternativa para os conservantes químicos tradicionais nestes produtos.

Valente (2004) ao analisar duas doses de radiação gama para a conservação da carne de mexilhão, comprovou a resistência de *Enterococcus* spp. a doses de 3 e 5kGy. Huhtanen (1990) verificou a radioresistência de *E. faecalis* e *E. faecium* a diferentes doses de radiação gama e concluiu que, essas bactérias, podem resistir doses superiores a 40kGy.

Alonso-Calleja et al. (2004) detectaram contagem média de 0,86 log<sub>10</sub>ufc/g em carne de avestruz embalada a vácuo, não irradiada e resfriada, comercializada na Espanha, como um das análises microbiológicas importantes para a determinação do prazo de vida comercial desta carne, enquanto Prachasitthisakdi et al. (1983) analisaram carne congelada de frango e encontraram reduções significativas na contagem *Enterobacteriaceae* de acordo com o aumento da dose de radiação gama, concluindo que para esta família, do qual pertencem os *Enterococcus* spp. à radiação atingiu o objetivo. Para Badr (2004) tanto bactérias psicrotróficas quanto *Enterococcus* spp. apresentaram aumento nas contagens durante o armazenamento, sendo maiores na carne de coelho não irradiada, que nas amostras submetidas a 1,5 kGy e 3kGy.

#### 2.4.8 ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa)

Atividade de água é o termo usado para indicar a intensidade de forças que unem a molécula de água com outros componentes não-aquosos, sendo assim se constitui como água disponível para o crescimento de microrganismos através de reações químicas e bioquímicas (PARDI et al., 2001).

A maioria dos microrganismos cresce otimamente a valores de atividade hídrica de 0,98 a 0,995. A carne possui Aa superior a 0,98 assim, como a maioria dos produtos frescos, portanto para sua conservação é imprescindível a diminuição da temperatura, correspondendo ao resfriamento até o consumo ou congelamento para a estocagem (ORÓÑHEZ et al., 2005).

A carne contém aproximadamente 75% de água que está associada de formas diferentes a seus demais componentes, sendo o elemento protéico principal responsável por sua retenção. Pequena proporção desse total encontra-se fortemente ligada à constituição estrutural, que não está disponível como solvente ou reativo, se encontrando unida aos grupos hidrofóbicos e assim como não podendo ser congelada (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

Água de hidratação ou ligada constitui camadas de moléculas de água que, juntas, se organizam em torno das proteínas e não formam cristais durante o decréscimo de temperatura, mesmo disponível como solvente ou como reativo, totalizando entre 0,3 e 0,5g de água/g de proteína. O restante, cerca de 95%, corresponde à água livre que pode ser liberada pelo tecido quando ocorrem danos físicos ou quando é aplicada energia variável, essa água corresponde à fração que pode ser congelada, age como solvente ou reativo, correspondendo à soma de água extracelular, de espaço sarcoplasmático e a retida nos capilares e microcapilares (ABERLE et al., 2001; PARDI et al., 2001). Para Yu et al. (2005) a água presente no músculo (88% a 95%) compreende a do meio intracelular, entre as miofibrilas e os filamentos espessos e delgados. Pequena porção, entre 5% a 12%, está localizada no meio extracelular. O pH, o comprimento do sarcômero, a força iônica e o desenvolvimento do *rigor mortis* influenciam na habilidade das fibras em reter água.

O congelamento é indiscutivelmente um dos melhores métodos de conservação de alimentos, pois quando adequadamente conduzido, diminui a velocidade de deterioração microbiológica, reduz a velocidade de reações químicas, como a atividade enzimática e a oxidação lipídica, ao mesmo tempo em que mantém o sabor, aroma, cor e o valor nutritivo dos alimentos e pouco altera a textura após o descongelamento lento. O método consiste em reduzir a temperatura do alimento (geralmente a -18 °C), com a conseqüente cristalização de

uma parte da água e alguns solutos. Durante este processo, a água da solução passa para o estado sólido, o que resulta na concentração de quase todos os constituintes não aquosos e uma quantidade muito pequena de água não congelada, além da conseqüente redução da atividade de água (PARDI et al., 2001; ROBERTSON, 1992).

Segundo Sarantópoulos et al. (2001) o congelamento não destrói completamente a microbiota do produto, mas o número de células viáveis é reduzido durante o período de armazenamento. Imediatamente após o congelamento, a eficiência da eliminação de microrganismos depende da espécie, enquanto as células que sobrevivem, gradualmente, tornam-se inviáveis na medida em que se mantém a temperatura ao longo do tempo.

#### 2.4.9 IRRADIAÇÃO X OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica promove perdas de qualidade durante e após o processo de conversão do músculo em carnes, alterações bioquímicas que acompanham o metabolismo post mortem promovendo condições para que o processo de oxidação se inicie, como a disponibilidade de oxigênio (MORRISSEY et al., 1996).

As radiações ionizantes podem agir de forma negativa nos lipídios que se oxidam rapidamente e os ácidos graxos poli-insaturados geram peróxidos de ácidos graxos que se degradam em aldeídos e cetonas voláteis, porém tal efeito é similar às alterações resultantes do emprego de calor (AL-KAHTANI et al., 1996; HUTZIER, 1997; SGARBIERI, 1996). Esses problemas podem ser minimizados com a exclusão do oxigênio atmosférico das embalagens utilizadas para o acondicionamento do alimento a ser irradiado (AL-KAHTANI et al., 1996; HUTZIER, 1997; JAY, 1994).

Na fase inicial do processo de oxidação, nas reações de iniciação, as cadeias de ácidos graxos insaturados formam radicais livres que se associam ao oxigênio produzindo peróxidos. Nas reações de propagação, os peróxidos se acumulam e oxidam a maioria dos ácidos graxos insaturados e nas reações de terminação, nas quais os radicais provenientes da decomposição dos peróxidos associam-se formando compostos como os álcoois, aldeídos, ésteres de aldeído, hidrocarbonetos, cetonas, lactonas e ácidos graxos de cadeia curta, que são responsáveis pelo odor de ranço (BOBBIO; BOBBIO, 2001; LASLO et al., 1986; ORDÓÑEZ et al., 2005; PEARSON et al., 1983).

Várias pesquisas reportaram que as alterações dos lipídios resultam em carbonilas e outros produtos de oxidação, como os peróxidos, especialmente se a irradiação e/ ou

estocagem forem realizadas em presença de oxigênio, acelerando o processo de rancificação (JAY, 1994). Segundo Giroux e Lacroix (1998) a oxidação de lipídios é um dos principais processos de degradação da perda de qualidade da carne, pois conduz o desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e, quando intensificadas pela radiação, é igual a que ocorre naturalmente e/ou em outros processos que utilizam calor.

Os hidroperóxidos, produtos iniciais do processo de oxidação lipídica são compostos que não apresentam odor desagradável, porém os demais compostos originados de sua decomposição, em parte pelo menos, são voláteis, conferindo um odor característico. Os aldeídos são os principais responsáveis pela perda do odor ideal, sendo formados muito rapidamente. O odor desenvolvido durante o armazenamento de carnes sob refrigeração deve-se em grande parte ao “mascaramento” de seu aroma natural por aumento de compostos voláteis durante a rancificação do que pela própria degradação do aroma original (GRAY et al., 1996).

Alterações lipídicas devido à irradiação envolvem a descarboxilação e polimerização, dentre esses produtos radiolíticos estão o CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, hidrocarbonetos e aldeídos. Deste modo, têm sido amplamente estudadas, pois os produtos da oxidação lipídica vêm sendo relacionados, não somente com a deterioração da carne, mas com os efeitos maléficos a saúde do consumidor, principalmente o malonaldeído, para o qual há estudos consistentes sobre sua ação cancerígena e mutagênica (ADDIS, 1986; FERRARI, 1999).

Diehl (1990) relatou que a irradiação induz, em alimentos com elevado teor de água, a formação de peróxido de hidrogênio, principalmente na presença de oxigênio e durante o armazenamento do alimento outros componentes do sistema são oxidados. Tais oxidações podem não ser imediatas, porém dias ou horas após irradiação podem se intensificar.

O único produto radiolítico verdadeiro, pois todos os outros podem ser encontrados em alimentos processados convencionalmente é o 2-alkil-ciclobutanona, que somente ocorre durante a radiólise de lipídios, na concentração de 0,3 µg/kg de lipídeo por kGy. Esse produto é tóxico para o homem e animais, mas essa toxicidade torna-se insignificante, considerando-se as reduzidas concentrações encontradas em alimentos irradiados (VITAL, 2002).

Segundo Kim et al. (2002) a oxidação de lipídios está entre as principais preocupações referentes ao processo de irradiação. Este processo promoveu aumento na proporção de malonaldeído em carnes bovina, de peru e suína submetidas à irradiação entre 2,983 e 3,699 kGy, além de ter sido detectado substâncias voláteis diferentes das encontradas no grupo controle.

Para Hampson et al. (1996) através da determinação do número de “Thiobarbituric acid reactive substances”(TBARS), o número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, e do índice de peróxido em amostras de carne suína, de cordeiro, bovina, peito e coxa de peru irradiadas com até 10 kGy, encontraram aumento significativo proporcional à dose de radiação referente ao número de TBARS, permanecendo constante o índice de peróxido. Javanmard et al. (no prelo) encontraram valores crescentes de índice de peróxido em carne de frango estocada durante nove meses sob congelamento.

Segundo Gruiz e Kiss (1987) e Kanatt et al. (1997) que analisaram a oxidação lipídica em carne de frango irradiada, relacionaram a diminuição da estabilidade lipídica com o aumento da dose de radiação. Kanatt et al. (2005) relataram que a carne de frango quando submetida à dose de 3kGy apresentou maior grau de rancificação de acordo com a análise de TBARS, mas a diferença não foi percebida pelos provadores na análise sensorial. Davis et al. (2004) e Kanatt (no prelo) verificaram que a irradiação com 4,4 kGy em carne suína e 5kGy em carne de cordeiro, potencializou a oxidação lipídica dessas carnes.

Segundo Kim et al. (2002) a embalagem permeável ao O<sub>2</sub> e a dose de radiação foram responsáveis pelo aumento gradativo do valor de TBARS com o maior prazo de estocagem. Para Jo e Ahn (1999) o teor de lipídios e a proporção de ácidos graxos insaturados são fatores determinantes no processo de oxidação lipídica em carnes irradiadas. Para Gomes et al. (2003) o valor do número de TBARS, o avanço do tempo de estocagem e o processo de irradiação a 3 kGy e 4 kGy potencializaram a rancificação lipídica em carne mecanicamente separada de frango. Javanmard et al. (no prelo), ao analisarem carne de frango irradiada, comprovaram o efeito benéfico da radiação com doses de 0,75 kGy, 3 kGy e 5kGy associada a temperatura de congelamento na redução de cargas microbianas sem comprometer a estabilidade lipídica e atributos sensoriais como odor, sabor e cor.

Gracey et al.(1999) estabeleceram valores limites de índice de peróxido como aceitáveis para a estabilidade lipídica, inferiores a 5meq/Kg, superiores a este, indicam o início da rancificação.

Há muitas controvérsias em relação ao limite do valor de TBARS, para considerar a carne aceitável para o consumo. Xavier e Beraquet (1994) consideraram aceitável para o consumo, carne mecanicamente separada de frango, utilizando também a análise sensorial, quando TBARS atingiram valores entre 1 e 3 mgMal(Malonaldeído)/Kg, enquanto Kanatt et al. (1997) consideraram aceitável a carne de frango irradiada a 2,5 kGy até o valor de 4,34 mgMal/Kg. Dhilon e Maurer (1975) limitaram 3,9mgMal (Malonaldeído)/Kg o valor de

TBARS encontrado em carne de frango mecanicamente separada de frango. Para Schormuller (1968) o limite foi de 5mgMal/Kg para que um alimento seja sensorialmente comestível.

## 2.5 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial pode ser definida como uma técnica científica utilizada para evocar, medir e analisar as características dos alimentos como são percebidas pelos órgãos dos sentidos. É considerada subjetiva, por depender das percepções causadas por estímulos captados pelos órgãos dos sentidos, capacidade de julgamento do analista, sendo a resposta influenciada por fatores externos de avaliação como o estado emocional e de saúde do provador, assim como ações anteriores próximas ao momento da análise (ABNT, 1993).

Segundo Freitas (2005) embora a análise sensorial apresente fundamentos que a fazem merecer classificação de ciência, também deve ser considerada como tecnologia devido a sua grande utilização prática. Ao contrário do que ocorre normalmente, a tecnologia originar-se de preceitos científicos, com a análise sensorial a ciência evoluiu a partir da necessidade de formulação de novas técnicas para solucionarem inúmeros questionamentos existentes muito antes do embasamento científico.

Segundo Della Modesta (1994) a avaliação sensorial foi desenvolvida durante a 2ª Guerra Mundial na tentativa de elucidar as razões pelas quais as tropas rejeitavam um grande volume de ração da campanha. O fato não era compreendido, pois as dietas estavam perfeitamente balanceadas e atendiam as necessidades nutricionais dos soldados. Para descobrir o motivo dessa rejeição foram realizadas entrevistas que, após análise detalhada, permitiram concluir que o motivo era a deterioração, em diferentes graus, de algumas ou todas as características ou atributos de qualidade. Como resultado, foram postuladas hipóteses para determinar as causas dessas alterações, originadas na própria matéria-prima, durante o processamento, enlatamento ou armazenamento.

No Brasil, assim como ocorre com outros países ibero-americanos, a análise sensorial tem recebido grande importância nos últimos anos e a maioria das publicações atuais relacionadas com alimentos já a incluem. A crescente economia proporcionou também o desenvolvimento das indústrias processadoras de alimentos, elevando as vendas e acirrando a competitividade, além de incrementar a diversidade de produtos. Porém, a aceitação por parte do mercado consumidor não cresceu na mesma proporção, praticamente obrigando as

indústrias a investirem em um programa de análise sensorial mais agressivo objetivando o sucesso de vendas dos produtos. Portanto, a análise sensorial exerce importância vital no monitoramento da qualidade em todas as etapas de processamento, sendo aplicada desde a escolha de matéria-prima até a supervisão do produto final. Os testes sensoriais podem ser aplicados em controle de qualidade, otimização de produtos e correlações entre medidas sensoriais e instrumentais, também merecem ênfase os métodos sensoriais descritivos, destacando-se o tema de desenvolvimento de produtos (DAMÁSIO, 1999; PAL et al., 1995).

Em 1993, Stone e Sidel classificaram os métodos de análise sensorial em três grupos: testes discriminativos, para a determinação de diferença entre dois produtos; testes afetivos, responsáveis por avaliar atitudes subjetivas como a aceitação do produto pelo consumidor e os métodos descritivos de avaliação sensorial, que selecionam e treinam julgadores para identificar, descrever e quantificar os atributos sensoriais de um produto.

Della Modesta (1994) cita como exemplo de testes afetivos, o teste de aceitação e o teste de preferência, no primeiro, o objetivo é o de determinar o “status afetivo” do alimento ou o quanto o mesmo é apreciado pelos consumidores, fornecendo uma indicação da provável reação dos consumidores quanto a um novo produto, assim como alteração realizada em produto conhecido, como a substituição de um aditivo. O teste de preferência, por exemplo, quanto à ordenação objetiva selecionar as amostras preferidas em detrimento das menos preferidas ou rejeitadas. A mesma autora cita ainda que um exemplo de teste discriminativo é a comparação múltipla que apresenta dois objetivos, determinar se existe diferença entre duas ou mais amostras e um controle, além de estimar o tamanho de tal diferença, sendo utilizado quando a diferença entre amostras pode ser detectável e a intensidade da diferença influencia na decisão do consumidor.

A qualidade sensorial de um produto refere-se às percepções causadas no consumidor, não somente uma característica própria do alimento, mas sim uma resposta que varia entre indivíduos em função de diferentes fatores como as experiências anteriores, expectativas, grupo étnico, regionalidade e idade. Neste sentido, o analista sensorial deve testar um produto frente ao mercado consumidor alvo do mesmo (FREITAS, 2005).

Segundo De Penna (1999) muitas pesquisas relacionadas com a perecibilidade de alimentos baseiam suas recomendações sobre vida útil na análise sensorial de diferentes atributos como um dos parâmetros de qualidade que se modificam com o tempo. Essas respostas, complementadas com análises microbiológicas, físicas e químicas realizadas paralelamente, constituem a base para definir o período de tempo que um alimento pode

permanecer armazenado ou exposto no ponto de venda, assegurando ao consumidor uma qualidade dentro de especificações técnicas e sanitárias que caracterizam cada alimento.

### 2.5.1 SABORE AROMA

O sabor e o aroma são sensações complexas extremamente relacionadas, correspondendo às características sensoriais que mais causam satisfações durante o consumo de um alimento, inclusive de carnes. Sob o ponto de vista fisiológico, desempenham importante papel na nutrição, pois estimulam a secreção das glândulas salivares e gástricas contribuindo assim para a digestão (ORDÓÑEZ et al., 2005). Denomina-se sabor a sensação percebida através das terminações nervosas dos sentidos do olfato e gosto, sem desconsiderar o estímulo simultâneo dos receptores sensoriais de pressão, além dos cutâneos de calor e frio (DELLA MODESTA, 1994; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Para Guyton; Hall, 2002 o sabor é considerado uma sensação complexa, pois são admitidas combinações dos quatro sabores básicos ou sensações sápidas primárias: doce, salgado, amargo e ácido, contudo admite-se que possam existir outras classes ou subclasses de sensações primárias menos evidentes.

O odor se caracteriza pela percepção durante a inspiração do ar, através do qual são captadas partículas voláteis pelo epitélio olfativo, enquanto o aroma é produzido pela mastigação e pelo calor da cavidade bucal, liberando substâncias voláteis que ascendem para as narinas, onde são captadas, portanto é a sensação causada pela interpretação cerebral das substâncias voláteis que passam pela boca, não somente na cavidade retronasal (GUYTON; HALL, 2002).

Della Modesta (1994) enfatiza que o odor é a sensação produzida ao se estimular o olfato, sendo aroma o odor de um alimento, por isso na linguagem comum estes termos são confundidos.

Conforme Hughes et al. (2001) os peptídeos, resultantes das proteólises, que se iniciam no decorrer do processo de *rigor mortis*, desempenham um importante papel no desenvolvimento do aroma da carne, sendo a maioria formada por oito a treze aminoácidos, originada pela ação da catepsina D.

O termo “off-odor” é empregado para caracterizar um grupo de substâncias voláteis relacionadas ao processo de irradiação em carnes. Kim et al. (2002) sugeriram que a produção desses voláteis aumenta em carnes bovina, suína e de peru com a irradiação, sendo

proporcional à dose, devido à radiólise de proteínas e de lipídios, indicando para minimizar tal efeito, uma combinação de doses menores e embalagem à vácuo. Nam e Ahn (2003) relataram que as substâncias relacionadas ao “off-odor” também são formadas pela degradação radiolítica dos aminoácidos, como dimetil sulfúrico, além dos formados através da oxidação lipídica estimulada pela radiação, como propanal, butanal, 3-metil butanal pentanal, do grupo dos aldeídos e 2-propanona e 2-butanona. Jo e Ahn (1999) sugerem que a irradiação promova a combinação entre tais hidrocarbonetos e compostos sulfurosos, apoiando a idéia de que este processo pode ocasionar odor característico por causa da oxidação lipídica e radiólise de aminoácidos como metionina e cisteína.

Nam e Ahn (2003) verificaram a influência do período e condições de estocagem em carne de peito de peru irradiada com 3 kGy por 10 dias, sob refrigeração e em condições aeróbias e anaeróbias, concluíram que tais voláteis relacionados ao “off-odor” em condições aeróbias se dissipam no ar, por isso, quando as amostras são embaladas à vácuo são encontradas em muito maior quantidade. Contudo, em relação à oxidação lipídica, o inverso prevalece, sendo mais indicada embalagem a vácuo, sugerindo uma combinação de condições aeróbias no início da estocagem e após, a embalagem a vácuo.

Para Zhu et al. (2004) as substâncias voláteis responsáveis pelo “off-odor” são quase indetectáveis nas amostras não irradiadas de carne suína, alcançando valores em torno de 1,5 em escala de 10, porém nas amostras irradiadas a 2,5 kGy, aumentaram muito, em torno de 6,0 logo após a irradiação.

Miyagusku et al. (2003) detectaram odor em carne de frango, semelhante ao odor de pena ou pelo queimado em amostras irradiadas, sendo mais intenso de acordo com o aumento da dose de 1,5kGy a 7kGy.

A irradiação das amostras de carne de coelho resfriada com doses de 1,5 e 3 kGy ocasionou aumento da oxidação lipídica, entretanto não influenciou nos atributos sensoriais de sabor, aroma, cor e textura (BADR, 2004).

Conforme Al-Bachir e Mehio (2001) as doses de 1, 2, 3 e 4 kGy, em diversos produtos cárneos resfriados, não foram suficientes para ocasionar diferenças significativas em relação ao sabor e aroma. Assim como para Alur et al. (1998) a dose de 4kGy não ocasionou alterações de aroma, cor ou textura em produtos de carne suína.

É importante enfatizar que as substâncias radiolíticas voláteis, no decorrer da estocagem, podem se estabilizar através de recombinações, como ocorreu no experimento

Gomes et al.(2003), no qual foi utilizada carne de frango mecanicamente separada irradiada com 3kGy e 4kGy. No início, as amostras apresentaram aroma identificado com “tipo pele queimada”, diminuindo a partir do 4º dia de estocagem e se equivalendo às amostras não irradiadas, pois as substâncias voláteis produzidas pela irradiação se dissiparam durante este período.

Para Miyagusku et al. (2003) o odor de irradiado em carne de frango, caracterizado como “semelhante à pena ou pelo queimado”, foi proporcional à dose utilizada. Para Zhu et al. (2004) as substâncias voláteis responsáveis pelo “off-odor” aumentaram muito em amostras de carne suína irradiadas a 2,5 kGy, sendo praticamente indetectável em amostras não irradiadas. Porém, o efeito benéfico da radiação foi detectado por Lacroix et al. (2002) que irradiaram carne suína crua embalada a vácuo com 6kGy e aos 43 dias, não observaram alteração quanto a análise sensorial em relação ao sabor e aroma, enquanto nas amostras controle, a avaliação sensorial teve que ser interrompida ao 28º dia de armazenamento devido ao estado de deterioração.

#### 2.5.2. COR

A percepção de cor corresponde à luz de uma certa frequência de onda refletida por um objeto. O tom é determinado pela quantidade de luz refletida que está diretamente relacionada e depende da concentração de substâncias coloridas (pigmentos) no objeto. Entretanto, o brilho depende da quantidade de luz que é refletida pelo objeto, em comparação com a luz que incide sobre o mesmo (FREITAS, 2005).

A cor é a primeira característica sensorial apreciada pelo consumidor. É a impressão óptica relacionada de imediato com diversos aspectos ligados à qualidade e ao grau de frescor, portanto, o aspecto exterior pode ser associado à vida útil, à dureza, à suculência e ao tempo de armazenamento, durante o qual ocorrem alterações na superfície, influenciando a aceitação dos consumidores (FELDHUSEN et al., 1995; ORDÓÑEZ et al., 2005). A cor interfere em outros atributos sensoriais, como o sabor e a textura, portanto deve ser eliminada sua influência em uma análise sensorial relacionada às demais propriedades (FREITAS, 2005; MILLAR et al., 2000a).

Segundo Pardi et al. (2001) a cor da carne é definida principalmente pela quantidade de mioglobina e, em menor grau, pela hemoglobina que em sua maioria foi retirada durante a etapa de sangria.

A quantidade de mioglobina varia de acordo com a espécie, a idade, o sexo, o músculo e a atividade física. Outro fator importante que influencia no conteúdo de mioglobina da carne de diferentes espécies é a proporção entre os três tipos de fibras: vermelhas, intermediárias ou brancas, ocorrendo variações inclusive entre músculos da mesma carcaça (ABERLE et al., 2001).

Walshe e Kerry (2001) avaliaram a cor vermelha de 13 músculos da coxa de avestruzes, dentre os quais, *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* e concluíram que não houve alterações de cor entre carnes obtidas de avestruzes machos e fêmeas.

A mioglobina armazena oxigênio para a contração muscular, a molécula formada por uma porção protéica, a globina é dobrada em oito segmentos helicoidais em torno do grupo heme, de natureza não protéica, tendo como um dos constituintes o átomo de ferro ligado com os de hidrogênio. O ferro pode encontrar-se em estado reduzido ( $Fe^{2+}$  ou ferroso) ou oxidado ( $Fe^{3+}$  ou férrico). O  $Fe^{3+}$  está presente na molécula da metamioglobina (MetMb), de tom pardo, podendo o átomo de ferro combinar-se com outras moléculas, dentre elas, a da água, originando a mioglobina (Mb) ou ferromioglobina, de tonalidade púrpura, ou ainda, pode compartilhar elétrons com o oxigênio molecular formando a oximioglobina ( $MbO_2$ ) de espectro de absorção correspondendo ao vermelho vivo (ORDÓÑEZ et al., 2005). Para Huidobro et al. (2003) a cor da carne depende da concentração e estado de oxidação da mioglobina e da estrutura da carne.

Essas três formas podem ser reversíveis entre si. A mioglobina pode se converter em oximioglobina é que fixação de oxigênio e, o inverso, por desoxigenação (MARTINEZ et al., 1999).

O grau de profundidade com que o oxigênio reage com a mioglobina formando a oximioglobina que influencia a cor das carnes. Em muitos casos, principalmente quando fica exposta à venda, a oxigenação é desejável, pois confere um tom mais agradável ao consumidor, em relação aos cortes embaladas a vácuo (MARTINEZ et al., 1999). Nesse caso, além de tornar o ambiente anaeróbio inibindo o crescimento de inúmeras bactérias, retarda autooxidação da fração lipídica elevando a vida comercial, além de influenciar diretamente na cor da carne, onde oximioglobina converte-se em metamioglobina, normalmente causando certa rejeição (JOHN et al., 2005).

A cor da carne de avestruz, através de métodos de avaliações sensorial e instrumental, pode ser considerada tão vermelha quanto ou mais escura que a carne bovina, sendo normalmente comparada com este mamífero, mesmo sendo uma ave, além das comparações

com a cor das carnes de frango e de peru (COOPER; HORBAÑCZUK, 2002; HARRIS et al., 1994; LAMBOOIJ et al., 1999; MORRIS et al., 1995; PALEARI et al., 1995; SALES; MELLETT, 1996; SANTOS, 1999). Isso se deve ao fato da cor vermelha estar diretamente relacionada à quantidade de mioglobina no músculo e esta, ser formada por radical heme.

Hoffman e Fisher (2001) compararam a cor da carne de avestruz com a bovina, suína, emu e frango, além verificar a influência da idade de abate neste parâmetro.

A influência do processo de irradiação na cor da carne, bem como o valor da dose necessária para surtir tal efeito, foi investigada por alguns pesquisadores como Millar et al. (2000a) e Millar et al. (2000b) que analisaram alterações de cor em carnes bovina, de cordeiro e de frango submetidas a 5kGy.

Nam e Ahn (2003) comprovaram que a irradiação a 3kGy em peito de peru tornou a carne mais escura. Gomes et al. (2003) avaliando o efeito do processo de irradiação a 3kGy e 4kGy e verificaram que a radiação tornou a carne mecanicamente separada de frango mais avermelhada. Lacroix et al. (2002), bem como Davis et al. (2004) e Zhu et al. (2004) verificaram alterações referentes à cor da carne suína devido à irradiação e ao tempo de estocagem, tornando-as mais escuras quanto maior a dose e o tempo de estocagem. Berge et al. (1997) concluíram que a cor da carne de emu é influenciada pelo tipo de embalagem e o período de estocagem. Em contrapartida, Toledo et al. (2003) afirmaram que o tratamento de irradiação não interfere na biodisponibilidade do ferro em carnes de frango em doses de 2 kGy, 4 kGy, 6 kGy e 8kGy, logo não interferindo na coloração da carne.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIAL**

##### **3.1.1 ANIMAIS**

Utilizaram-se 06 avestruzes machos, híbridos das raças “Blue neck” e “Red neck”, entre 12 e 13 meses de idade, com 89 a 100Kg de peso vivo. Estes animais foram criados e submetidos ao mesmo manejo de alimentação e sanidade, originados de uma propriedade situada no município de Corumbataí-SP, aproximadamente 50Km de distância do matadouro frigorífico.

##### **3.1.2 REAGENTES**

Foram utilizados reagentes em grau de pureza analítica Sigma-Aldrich e Merck.

##### **3.1.3 EQUIPAMENTOS**

- Termômetro digital com haste metálica (-30 a + 150 °C), marca Checktemp;
- pHmetro, marca Handylab 1-Scott;

- Medidor de atividade hídrica, Pawkit Water activity meter, marca Decagon;
- Máquina serra-fita;
- Máquina de embalagem a vácuo;
- Fogão da marca Dako, modelo Mille;
- Texturômetro Warner Bratzler Meat Shear, modelo 3000;
- Banho-maria com termostato de controle digital da marca Poly Science;
- Banho-maria histológico;
- Estufa histológica;
- Micrótomo Spencer da American Optical Company modelo 820;
- Microscópio Olympus BH-2 com ocular milimetrada Nikon CFWE 10x/18;
- Microscópio óptico Olympus MX 500;
- Máquina Olympus acoplada em microscópio óptico Olympus MX 500,;
- Freezer vertical Practice 240, marca Cònsul;
- Irradiador gama, com fonte de <sup>137</sup>Césio, do CTEEx (Centro Tecnológico do Exército);
- Irradiador Gammacell 220, com fonte de Cobalto 60;
- Autoclave;
- Câmara Asséptica;
- Estufa para esterilização;
- Estufa para incubação a 35-37 °C;
- Refrigerador a 2°C;
- Espectrômetro de Ressonância Paramagnética-EPR, modelo Analyser SEM 104, marca Bruker;
- Espectrofotômetro UV-Visible Recording / UV-160A marca Shimadzu;
- Colorímetro fotoelétrico SEM Colour Computer, modelo S & M-4-CH da Suga.

## 3.2 MÉTODOS

As análises foram realizadas nos laboratórios de Tecnologia de Carnes e Derivados, de Análise Sensorial, de Controle Físico-Químico, de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal e de Anatomia Patológica na Faculdade de Veterinária da UFF (Universidade Federal Fluminense), no Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro), no Centro Tecnológico do Exército (CTEx), no laboratório de Instrumentação Nuclear da COPPE (Coordenação dos Programas de Pós-graduação em Engenharia da UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro) e na Embrapa Agroindústria de Alimentos- CTAA (Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos).

### 3.2.1 ABATE E CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*

Foram escolhidos, aleatoriamente, seis avestruzes machos inteiros dentre um lote de 25 animais, em um curral de matança do Matadouro Frigorífico Marchiori Ltda (SIF 1504) em Amparo-SP, após um período de descanso e dieta hídrica de 12 horas. Estes animais foram pesados antes do abate.

Após a seleção e pesagem, a cabeça de cada avestruz foi coberta para seu trajeto na rampa de acesso, a seringa e ao box de atordoamento, evitando assim um maior estresse. Colocou-se a cabeça de cada avestruz abaixo da régua inferior do box e a insensibilização foi realizada com uma pistola de dardo cativo penetrativo da marca GIL, respeitando as normas do Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue (BRASIL, 2000). O abate foi realizado conforme as normas descritas no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 1997). O início da sangria foi considerado o tempo zero de todos os tratamentos. Após a sangria, foi realizada a remoção de penas e plumas (depenagem manual), esfolagem, evisceração, serragem, lavagem, pesagem e resfriamento das carcaças em câmara de resfriamento industrial com umidade relativa média de 82,2%.

### 3.2.1.1 Aferição das temperaturas da câmara de resfriamento e dos músculos

Após a evisceração, as carcaças foram serradas ao meio e as coxas dos seis avestruzes identificadas (Figura 4). Durante o resfriamento industrial, em intervalos de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h e 24,0h após sangria foram mensuradas as temperaturas da câmara e dos músculos *Gastrocnemius internus* (músculo longo com extremidades ovais, que recobre a parte traseira da tíbia) e *Fibularis longus* (músculo longo externo, que recobre a parte frontal da tíbia). Utilizou-se para as aferições um termômetro digital com haste metálica. Para a mensuração dos músculos, introduziu-se a haste a uma profundidade de 4cm em três pontos distintos de cada músculo e calculou-se a média aritmética dos valores encontrados.



**Figura 4.** Meias carcaças de avestruzes

### 3.2.1.2 Determinação do pH

Nos mesmos intervalos de tempo, foram coletadas amostras e pesados 10g do músculo *Gastrocnemius internus* e 10g do músculo *Fibularis longus* (Figuras 5 e 6). A determinação do pH foi realizada com o potenciômetro Handylab 1- Schott, utilizando solução homogeneizada com 10 g da amostra em 100mL de água destilada, conforme (BRASIL, 1999), sendo o potenciômetro calibrado, anteriormente para cada etapa, com soluções padrão de pH 7,0 e 4,0.



**Figura 5.** Coxa de avestruz após a coleta de amostras do músculo *Gastrocnemius internus* para as determinações de pH e do comprimento de sarcômero.



**Figura 6.** Coxa de avestruz após a coleta de amostras do músculo *Fibularis longus* para as determinações de pH e do comprimento de sarcômero.

### 3.2.1.3 Determinação do comprimento de sarcômero

Nos intervalos de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h e 24,0h após sangria e com o auxílio de pinça e bisturi, foram colidas amostras de cada músculo *Gastrocnemius internus* e *Fibularis*

*longus*, de dimensões de aproximadamente 2,5cm de comprimento por 1,5cm de largura e 0,5cm de espessura, previamente fixados em garras duplas metálicas. Tais garras foram utilizadas para a manutenção do comprimento do sarcômero no tempo referente a coleta das amostras, evitando contração ou distensão das fibras após a remoção dos cortes. As amostras foram colidas e identificadas quanto ao período da coleta e nome do músculo. Imediatamente, colocadas em frascos plásticos de boca larga, contendo para fixação das amostras, 100mL de formalina tamponada a 10% e acrescentados de 4g de fosfato monossódico e 1,5g de fosfato bi-sódico para tamponar a solução, segundo Behmer et al. (1976). Os frascos foram fechados e transportados ao Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Após o período de fixação, as garras metálicas foram removidas, cortando-se as amostras com bisturi na parte adjacente à inserção das garras. As amostras foram lavadas em água corrente durante 20 minutos e uniformizadas quanto ao tamanho, em aproximadamente 2cm<sup>2</sup> com auxílio de pinça e bisturi. Os fragmentos de músculos, devidamente identificados, foram colocados em grades plásticas apropriadas para o processamento histológico. As grades com amostras, submetidas à etapa de desidratação, foram imersas quantitativamente em álcool etílico a 70%, 80% e álcool absoluto, cada imersão de uma hora. Posteriormente, as amostras foram clarificadas utilizando-se Xilol puro em quatro imersões sucessivas de uma hora cada.

No Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense foi realizada a inclusão dos fragmentos em parafina, através de dois banhos, de 40 minutos cada, em parafina líquida a 60°C. Após a inclusão as amostras foram removidas das grades plásticas e acondicionadas em “caixinhas” de papel preenchidas com parafina com ponto de fusão a 58 °C. Com a solidificação da parafina, as amostras foram removidas do “molde” e realizou-se a microtomia em cortes de 5µm de espessura. Os cortes foram distendidos em banho-maria histológico a 45 °C e transferidos para lâminas identificadas de acordo com a amostra incluída. As lâminas foram colocadas em um suporte de aço inoxidável e incubadas a 60°C por 24 horas, para conferir a aderência entre a parafina do corte e a lâmina.

O corante utilizado foi a Hematoxilina Fosfotúngstica de Mallory preparado com 10mL de solução aquosa de ácido fosfotúngstico a 10% adicionado de 0,5g de hematoxilina e 1mL de água oxigenada, completando com água destilada até o volume de 500mL, acondicionado em frasco âmbar e estabilizando dois a três dias antes do uso.

Após desparafinar em banho-maria com temperatura controlada a 60°C, as amostras foram lavadas em água corrente por dois minutos e tratadas com solução aquosa de permanganato de potássio 0,25% por 10 minutos, lavando em água corrente por mais três minutos. Imersas em ácido oxálico por cinco minutos, retiradas e lavadas, em água corrente novamente por três minutos e coradas com Hematoxilina Fosfotúngstica de Mallory por 24 horas. Após, os cortes foram gradualmente desidratados ao serem imersos em álcool 70%, álcool 80% e álcool absoluto, além de clarificadas em imersão, novamente, em xilol puro. As lâminas foram montadas em Bálsamo de Canadá, para conferir a aderência entre a lâmina e a lamínula. Como resultado da coloração, a cromatina corou-se em azul escuro, o sarcoplasma em azul violáceo, o colágeno, de vermelho púrpura e as estrias apresentam-se bem diferenciadas (BEHMER et al., 1976).

Posteriormente, seguindo a técnica de Sloss e Kemp (1978) fez-se a leitura das lâminas, correspondendo a contagem de 10 sarcômeros de 25 miofibrilas distintas escolhidas ao acaso, com a medição através de uma régua dentro de uma ocular milimetrada Nikon de 10 µm acoplada ao microscópio óptico Olympus de luz visível em objetiva de imersão, utilizando-se óleo de cedro como óleo de imersão. A média dos valores encontrados foi multiplicada pelo fator de correção da objetiva de imersão de 0,8 µm, sendo o valor final expresso em micrômetros (µm).

Os cortes histológicos preparados para a determinação do comprimento do sarcômero foram fotografados ao Microscópio óptico Olympus MX 500 com máquina fotográfica Olympus acoplada, em objetiva de imersão com aumento de 1000x. Seguiu-se a revelação tradicional do filme.

#### 3.2.1.4 Determinações da força de cisalhamento (maciez) e da perda de peso por cozimento

Acompanhando o processo de *rigor mortis*, foram colhidas amostras de, aproximadamente, 150g dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*, nos intervalos de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h e 24,0h após sangria. As amostras foram pesadas, colocadas individualmente em embalagem plástica termorresistente e identificadas quanto ao músculo e quanto ao intervalo de coleta. Foram cozidas imediatamente em banho-maria termostático com circulação de água e controle de temperatura digital, mantendo-se a temperatura em 85 °C, até a temperatura interna de 70 °C e, posteriormente, foram resfriados a temperatura ambiente, drenados e pesados. O cálculo da perda de peso por cozimento foi

realizado pelo registro dos pesos das amostras antes e após o cozimento, nos respectivos intervalos de tempo. A diferença entre o peso inicial e final correspondeu à perda de peso por cozimento, sendo expresso em porcentagem. As amostras resfriadas na câmara fria entre 0°C e 2°C, foram colocadas individualmente em novas embalagens plásticas identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. Seguiu-se o transporte até o Laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Procedeu-se a remoção de sete cilindros de 1,27 cm de diâmetro de carne de cada amostra, cozida e resfriada, foi cisalhada ao meio no equipamento “Warner- Bratzler Shear Force” modelo 3000 (Figura 7), para a obtenção dos valores referentes a força de cisalhamento ou maciez da carne, conforme metodologia de Kerth et al. (1995).



**Figura 7.** Equipamento “Warner- Bratzler Meat Shear ”

### 3.2.2 PROCESSO DE IRRADIAÇÃO E CONSERVAÇÃO DA CARNE CONGELADA

#### 3.2.2.1 Preparo das amostras e processo de irradiação

Após o resfriamento das carcaças, as coxas foram removidas, congeladas por 24 horas e serradas transversalmente em cortes com osso (Figura 8). Os cortes foram embalados a vácuo, devidamente identificado, como demonstrado na Figura 9, e acondicionado em caixas isotérmicas com gelo e transportado diretamente para o laboratório de Tecnologia de Carnes e Derivados da Universidade Federal Fluminense (UFF) e mantidos à temperatura de congelamento (-18 °C). Foram separados 48 cortes, sendo 16, irradiados com 1kGy e 16 cortes foram irradiados com 3kGy, no Instituto de Projetos Especiais do Centro Tecnológico do Exército (CTEX) em Guaratiba – RJ para aplicação da radiação gama com fonte de <sup>137</sup>Cs

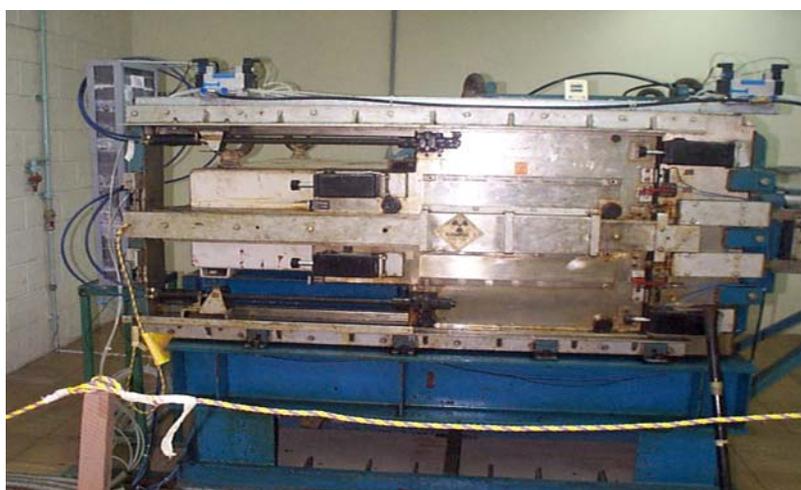
(Césio 137) e outras 16 amostras utilizadas como controle. As amostras foram inseridas na gaveta metálica do irradiador (Figura 10), com camadas inferior e superior de bolsas de gelo reciclável para a manutenção da temperatura. A taxa da dose de radiação apresenta valor médio de 2,0 kGy/h. O tempo de irradiação das amostras foi calculado através de um programa específico para esta finalidade, no qual são considerados o decaimento natural da fonte, altura, geometria e densidade das amostras. Em cada etapa foram analisadas 12 amostras, subdividido em quatro repetições de cada um dos três tratamentos (carne congelada, carne congelada irradiada com 1 kGy e carne congelada e irradiada com 3 kGy). As análises foram realizadas após o primeiro dia do processo de irradiação, correspondendo ao 5º dia após a sangria, 120 dias, 240 dias e 360 dias de estocagem, portanto descontando-se o período entre o abate e o processo de irradiação, os tempos foram de 1 dia, 115 dias, 235 dias e 355 dias após o tratamento de irradiação. Antes das determinações, as 12 amostras destinadas a cada etapa, foram mantidas a 2-4 °C em refrigerador durante 12 horas para descongelamento lento.



**Figura 8.** Serragem das coxas de avestruzes.



**Figura 9.** Corte transversal da coxa de avestruzes identificado e embalado a vácuo



**Figura 10.** Irradiador gama de pesquisa do CTEEx - Centro Tecnológico do Exército em Guaratiba-RJ.

### 3.2.2.2 Análises Bacteriológicas

As embalagens a vácuo de cada corte foram assepticamente abertas e retiradas alíquotas em cinco pontos diferentes, totalizando 25g, homogeneizadas em embalagens plásticas esterilizadas, no equipamento “stomacher” com 225mL de solução salina peptonada a 0,1%, obtendo-se assim a diluição  $10^{-1}$ , a partir desta diluição foram transferidas alíquotas de 100 $\mu$ L diluídas em “eppendorfs” com 900 $\mu$ L de solução salina peptonada a 0,1%, formando assim a diluição  $10^{-2}$  e assim sucessivamente até diluição  $10^{-9}$ .

3.2.2.2.1 *Contagem de bactérias psicrotóficas*: para a contagem de bactérias aeróbias psicrotóficas, adotou-se metodologia de Swanson et al. (2001) na qual 100 $\mu$ L de cada diluição foi distribuída em placas de Petri, em duplicata e homogeneizados com 20mL do meio de cultura Agar Padrão de Contagem (MERCK n°1.05463) e incubadas a 2 °C por sete dias. As placas referentes à diluição que aprestavam número de colônias entre 30 e 300 foram selecionadas para o resultado. Sendo o número de colônias multiplicado pelo fator de diluição da placa e por 10, pois a metodologia refere-se a transferência para o meio de cultura de alíquota de 100 $\mu$ L. O resultado final foi a média das duas placas de diluição escolhida.

3.2.2.2.2 *Enumeração (Número Mais Provável - NMP) de Enterococcus spp.*: para Isolamento e enumeração de *Enterococcus* spp. seguiu-se a metodologia de MERCK (1996). Cada diluição foi inoculada em séries de três “eppendorfs” contendo o meio de cultura “Chromocult”(MERCK no 1.10294) no volume de 1000 $\mu$ L e incubação a 35/37 °C por 24-48horas. A concentração de azida sódica presente no meio inibe o crescimento da microbiota competitiva e o substrato X-GLU (%-bromo-4-cloro-3indol- $\beta$ -D-glucopyroside) é degradado pela enzima enterocócica b-D-glucosidase resultando na coloração azul das colônias, indicando a presença de *Enterococcus* spp. A partir da combinação dos tubos positivos em cada série, considerando sua diluição, calculou-se o Número Mais Provável, com base na Tabela de MacCrady.

### 3.2.2.3 Determinação da Atividade de água

Determinada através do medidor de atividade hídrica Pawkit Water activity meter, marca Decagon, nos respectivos tempos de estocagem de 5 dias, 120 dias, 240 dias e 360 dias. As amostras foram resfriadas, separadas alíquotas de 20g e submetidas à análise, seguindo as instruções do fabricante do aparelho. Para evitar interferência da temperatura no resultado, a temperatura das amostras foi mantida entre 23 °C e 25°C.

### 3.2.2.5 Avaliação da oxidação lipídica

Foram realizadas duas análises para a verificação da estabilidade lipídica: Índice de Peróxido, de acordo com a metodologia de Brasil (1999) e Teste para a determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme Tarladgis (1960).

*3.2.2.4.1 Determinação do Índice de Peróxido:* devido à sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo, que será titulado com tiosulfato de sódio em presença de amido como indicador. A metodologia consistiu no corte em pedaços de 100g de carne e triturou-se em processador com 250mL de clorofórmio por dois a três minutos. Filtrou-se imediatamente o conteúdo do processador em papel de filtro. Realizou-se a refiltração em papel de filtro com pequena quantidade de sulfato de sódio anidro, utilizando 100mL de clorofórmio para lavar o recipiente. Transferiu-se, volumetricamente, 25mL de filtrado obtido para erlenmeyer de 250mL, adicionou-se 37mL de ácido acético e 1mL de solução saturada de iodeto de potássio. Após um minuto sob agitação, acrescentou-se 30mL de água. Foi realizada a titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N usando solução de amido a 1% como indicador.

Para a determinação da massa na alíquota, necessária para o cálculo, pipetou-se, volumetricamente, 25mL do extrato clorofórmico para uma cápsula previamente seca e tarada. O solvente foi evaporado em banho-maria a 60°C e a cápsula, seca em estufa a 105°C por 30 minutos. Esfriou-se em dessecador e pesou-se.

Fórmula para Índice de peróxidos em mEq/kg =  $\frac{(V-V') \times N \times f \times 1000}{m}$

Onde: V =mL da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gastos na titulação;

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N;

V'=mL da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gastos na titulação do branco;

p = massa da amostra na alíquota;

f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N.

#### 3.2.2.4.2 *Determinação do número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico*

(TBARS): o ácido 2-tiobarbitúrico combinado com ácido acético glacial foi usado para desenvolver a cor da alíquota de carne que estabeleceu o número de TBARS, definido como malonaldeídos, determinando o nível de rancificação.

Pesou-se 25 g da amostra, adicionou-se 25mL de água destilada e homogeneizou-se por 2 minutos. Quantitativamente, foram transferidos para frasco de Kjeldahl usando 23,75mL de água destilada para lavar. Adicionou-se 1,25mL de solução de ácido clorídrico (1:2) pérolas de vidro para evitar a formação de espuma. Houve a destilação para a coleta de 50mL do destilado em um Becker, sendo 5mL destes acrescidos de 2,5mL do reagente de “Thiobarbituric Acid” (TBA), utilizado para a determinação de valores referentes à curva padrão. Os tubos de vidro foram tampados e aquecidos em banho-maria por 35 minutos. Foi preparado um branco com 5 mL de água destilada e 2,5 do reagente de TBA. Esfriou-se e realizou-se a leitura por espectrofotometria à 538nm de absorbância, sendo antes, calibrado com o branco. O valor da absorbância foi multiplicado por 7,8 para converter mg de malonaldeído por 1Kg de carne (mgMal/Kg).

#### 3.2.2.5 Controle da sanidade

Os testes de sanidade foram realizados com quatro amostras referentes aos cortes transversais da coxa, com quatro repetições cada, nos quatro tempos de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias de estocagem), segundo metodologia de BRASIL (1999).

3.2.2.5.1 *Prova de cocção*: fundamenta-se na cocção da amostra para avaliar odor, sabor e consistência. Adicionou-se 30g de amostra em becker de 250 mL e completou-se com água, homogeneizadas com bastão de vidro e coberto com vidro de relógio. Com o aquecimento

em placas aquecedoras, foram avaliados os primeiros odores liberados. Neste teste, os odores amoniacal, sulfídricos ou de ranço são facilmente identificados. Ferveu-se por mais cinco minutos e observou-se o aspecto do caldo e da carne. A consistência da carne deve ser firme e o sabor próprio, para ser considerada como apta para o consumo.

*3.2.2.5.2 Determinação de pH (método do potenciômetro):* foram adicionadas em um becker 10g de amostra homogeneizada com 50 mL de água destilada recentemente para possibilitar a penetração do eletrodo. O pHmetro foi ajustado com solução tampão pH 7 e realizada a leitura da amostra. A interpretação referiu-se aos seguintes valores: pH de 5,8 a 6,2 para carne boa para consumo; pH de 6,4 corresponde à carne apta apenas para consumo imediato e pH > 6,4, característico do início de decomposição, sendo imprópria para consumo.

#### *3.2.2.5.3 Pesquisa de amoníaco e do gás sulfídrico*

a) Reação de Éber: consistiu na identificação de amoníaco, característico do início da decomposição de carne que, ao reagir com o cloro volatinizado do reagente de Éber, origina a formação de uma fumaça esbranquiçada. Transferiu-se 5 mL do reagente de Éber para o tubo de ensaio. Fixado um pedaço da amostra na extremidade do arame e introduzindo no tubo de ensaio de modo que não tocasse nas paredes do tubo ou na superfície do reagente. O aparecimento de uma fumaça branca e espessa indicará que o produto está em início de decomposição. Repetir a prova com diferentes porções da amostra.

b) Prova de Nessler: baseou-se na reação do reagente de Nessler (solução alcalina de tetraiodomercurato de potássio) com o radical amônio forma um complexo de coloração amarelada. Alíquotas de 10g de cada amostra foram colocadas em “erlenmeyer”, com boca esmerilhada, adicionados 100 mL de água destilada, fechados e agitados vigorosamente por 15 min. Com intervalos de repouso. Filtrou-se, utilizando-se papel de filtro e funil, transferidas 10 gotas do filtrado para um tubo de ensaio. Adicionou-se 2 mL do reagente, misturou-se e a coloração observada. Resultado negativo foi caracterizado pela coloração amarelo-esverdeado e positivo, coloração de amarela até alaranjada.

c) Prova do gás sulfídrico: fundamentou-se na decomposição dos aminoácidos sulfurados com liberação de enxofre. Este, em meio ácido, transforma-se em H<sub>2</sub>S e quando combinado com acetato de chumbo produz sulfeto de chumbo, que enegrece o papel.

O Procedimento consistiu em transferir 10g de amostra homogeneizada e 25 mL de água destilada para um “erlenmeyer” de 125 mL com rolha esmerilhada. Colocada uma tira de papel de acetato de chumbo ou plumbito de sódio de maneira que a mesma ficasse pendente na parte interna do frasco, vedado e aquecido em banho-maria por 10 min.

Em outro “erlenmeyer”, adicionados 10 mL de solução-padrão contendo 0,1 mg/mL de sulfeto de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ), que corresponde a 0,014 mg de  $\text{H}_2\text{S}$  nas condições do método adotado. Acidificado com 1 mL de ácido acético glacial. Vedado, prendendo uma tira de papel de acetato de chumbo e aqueceu-se em banho-maria por 10 min. Na comparação com as manchas a amostra não deve ser mais escura que a do padrão.

### 3.2.2.6 Análise instrumental de cor

Realizada por reflectância no Colorímetro fotoelétrico S & M Colour Computer modelo SM - 4 - CH da Suga (Figura 11), no sistema Hunter com abertura de 30 mm de diâmetro (Figura 11). Os parâmetros de cor medidos em relação à placa branca ( $L = 90,20$ ;  $a = -2,34$  e  $b = 1,38$ ) foram: L = luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho); b (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo).

Foram realizadas quatro repetições para cada amostra disposta em placa de Petri com 05 cm de diâmetro e 02 cm de altura, nos intervalos de 005 dias e 360 dias de estocagem.



**Figura 11.** Colorímetro fotoelétrico S & M Colour Computer

### 3.2.2.7 Análise Sensorial

3.2.2.7.1 *Ordenação da Preferência Quanto à Cor*: esta técnica fornece informações quanto à diferença e sua direção (FREITAS, 2005). A cada um dos 30 julgadores foram apresentadas três amostras codificadas para serem ordenadas de acordo com a preferência em relação à cor: (1) para a preferida; (2) para a intermediária e (3) para a menos preferida (Figura 12). Esta análise foi realizada com amostras estocadas por 360 dias.

Nome: ..... Sexo: ..... Idade:.....

Nº da amostra: .....

As duas amostras codificadas devem ser comparadas quanto à INTENSIDADE DA COR VERMELHA com a amostra Referência (**R**). Por favor, determine se cada amostra codificada apresenta a cor vermelha em tom mais intenso ou menos intenso que **R** e, na escala abaixo, na mesma coluna de cada código, classifique o quanto cada amostra é diferente de **R**.

Código da Amostra		
	<b>367</b>	<b>182</b>
Vermelho <b>mais</b> intenso que R		
Vermelho <b>Igual</b> a R		
Vermelho <b>menos</b> intenso que R		
Grau de diferença		
Nenhuma		
Pequena		
Moderada		
Grande		
Extrema		

Ordene as três amostras, incluindo a R, de acordo com sua preferência em relação à COR: **(1)** para a preferida; **(2)** para a intermediária; **(3)** para a última em preferência.

( ) R                      ( ) 182                      ( ) 367

Comentários:.....

.....

**Figura 12.** Ficha modelo utilizada para a comparação múltipla da diferença quanto à cor vermelha (parte superior) e para a ordenação da preferência quanto à cor (parte inferior).

3.2.2.7.2 *Comparação Múltipla da Diferença Quanto à Cor Vermelha*: a cada julgador, totalizando 30 julgadores, foi apresentada uma amostra padrão ou referência devidamente identificada, correspondendo a uma amostra de carne não irradiada, junto com outras duas amostras codificadas. Ao julgador foi solicitado que identificasse se havia alguma diferença da tonalidade da cor vermelha entre cada amostra codificada (irradiada com 1kGy e irradiada

com 3kGy) quando comparada com a referência. Se detectada alguma diferença, deveria ser identificada como para o vermelho mais ou menos intenso além da magnitude da diferença, variando de pequena a extrema. No caso de não ser encontrada diferença deveria marcar o item “igual a R” e grau de diferença “nenhuma”, como na Figura 12 (CHAVES, 1993). Assim como a anterior, esta análise foi realizada com amostras estocadas por 360 dias.

3.2.2.7.3 *Teste de Aceitação*: após as análises microbiológicas, as amostras estocadas por 5, 120, 240 e 360 dias foram cortadas em pedaços de 3cm<sup>2</sup>, aproximadamente, separados três cortes de 5 cm<sup>2</sup> de cada amostra para o teste sensorial. As amostras, de 3cm<sup>2</sup>, foram temperadas com 1% de sal e submetidas a temperatura de 80 °C por 30 minutos, retiradas e revolvidas e mais 30 minutos a mesma temperatura em forno elétrico, as demais cruas, foram utilizadas para a aceitação do atributo cor. Foram escolhidos, aleatoriamente, os provadores entre os alunos graduandos e pós-graduandos, professores e funcionários técnico-administrativos da Universidade Federal Fluminense, de ambos os sexos e faixa etária entre 18 e 56 anos. Cada amostra foi codificada com três dígitos sem referência ao tipo de tratamento, organizada em bandeja branca, da seguinte forma, para o atributo sabor, o corte de carne cozida servida em copo plástico com um palito, em vidro de relógio, o corte maior e cru para a percepção da cor, e para o aroma, em um becker de 250mL tampado com papel alumínio para evitar perda por volatinização, além de um copo com água fresca para a limpeza bucal entre as degustações. Cada provador julgou os atributos de aroma, sabor, cor e impressão global das amostras de carnes dos três tratamentos. Para cada amostra o provador identificou sua aceitação de acordo com uma escala hedônica, mostrada na Figura 13, de nove pontos, variando entre 1= desgostei extremamente até 9= gostei extremamente segundo Della Modesta (1994).

Nome: ..... Sexo: ..... Idade:.....

Nº da amostra: .....

Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo. Marque a opção que melhor refletir seu julgamento em relação à característica discriminada no alto de cada escala.

AROMA (no becker)		SABOR		COR (carne crua)		Impressão global	
<input type="checkbox"/>	Gostei Extremamente						
<input type="checkbox"/>	Gostei Muito						
<input type="checkbox"/>	Gostei Moderadamente						
<input type="checkbox"/>	Gostei Ligeiramente						
<input type="checkbox"/>	Indiferente						
<input type="checkbox"/>	Desgostei Ligeiramente						
<input type="checkbox"/>	Desgostei Moderadamente						
<input type="checkbox"/>	Desgostei Muito						
<input type="checkbox"/>	Desgostei Extremamente						

Comentários:.....  
.....  
.....

**Figura 13.** Modelo de ficha utilizada no Teste de Aceitação para os quatro atributos.

### 3.2.2.8 Controle da dose da radiação absorvida

Para a identificação da radiação aplicada foi utilizada a técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), apresentado na Figura 14, aplicando o método descrito por Desrosiers *et al.* (1991). O objetivo desta técnica é quantificar os radicais livres carboxil ( $\text{CO}_2^-$ ), originados nos produtos irradiados e retidos na matriz cristalina óssea, na proporção da dose da radiação absorvida, como segue a reação:  $\text{RCOOH} + \gamma \text{ radiação} \rightarrow \text{RCO}_2^- + e^-$  (elétron). Fragmentos de ossos foram devidamente preparados removendo-se substâncias orgânicas e a medula óssea através de raspagem, lavagem em água corrente, imersos por 30 minutos em água oxigenada de 10 volumes e lavados em água corrente. Posteriormente foram liofilizados, triturados em partes de  $\pm 1\text{mm}$ , separados em alíquotas de 100mg. Os fragmentos

de camada cortical dos ossos foram novamente irradiados no irradiador Gammacell 220, com fonte de Cobalto 60, com doses pré-estabelecidas de  $\pm 250$ Gy para testar a dose inicial de 1kGy e com  $\pm 420$ Gy para as amostras de 3kGy, obtendo-se seis sinais diferentes de RPE analisados por regressão linear para maior confiabilidade da determinação da dose inicial. O espectrômetro foi calibrado em amplitude de modulação de 2,85G, potência de microondas de 25mW e frequência de 9,7GHz



**Figura 14.** Espectrômetro de Ressonância Paramagnética Eletrônica- “RPE”

### 3.2.3 Tratamento estatístico

Em relação ao processo de *rigor mortis* foi analisado o comportamento das medidas de temperatura da câmara de resfriamento, temperatura dos músculos, pH, comprimento de sarcômero, força de cisalhamento e perda por cocção, ao longo do tempo (0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h e 24h após a sangria) separadamente por músculo (*Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*) através da Análise de Variância para medidas repetidas em fatorial  $2^6$ , considerando os músculos como primeiro fator e os intervalos de medições como o segundo. O teste de comparações múltiplas de Bonferroni (para medidas repetidas) foi adotado com o nível de significância de 5% (SAS, 1999). Para verificar se a curva ao longo do tempo é diferente entre os dois músculos foi realizada a Análise de Variância para medidas repetidas com um fator - tipo de músculo (SAS, 1999).

Os resultados das análises bacteriológicas (bactérias Psicotróficas e *Enterococcus* spp.), sensorial (teste de aceitação), químicas (substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico, índice de peróxido), físicas (análise instrumental de cor; atividade hídrica e pH) foram

tratados pela ANOVA em fatorial  $3^4$  (três tratamentos e quatro tempos de estocagem) para testar o efeito da radiação (tratamento), da estocagem e da interação entre estes. Em seguida, os resultados que apresentaram efeito do processo de irradiação e/ ou estocagem significativos foram testados pela ANOVA segundo delineamento inteiramente casualizado (DIC) por tempo e músculo em separados, seguido do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (SAS, 1999).

Quanto ao teste de comparação múltipla da diferença em relação à cor vermelha, a classificação de diferença da cor conferida pelos julgadores foi transformada em escores numéricos, posteriormente analisados através da análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e teste de média de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (SAS, 1999). Para a análise dos resultados do teste de ordenação de preferência quanto à cor, foi utilizada a Tabela de Friedman para a determinação do valor da D. M. S. (Diferença Mínima Significativa) utilizada após a soma de ordens para Comparação de Tratamentos entre si a 5% de probabilidade (Freitas, 2005).

Os resultados obtidos no controle da dose da radiação absorvida foram submetidos a análise de regressão linear.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE *rigor mortis*

As médias de peso dos avestruzes e das carcaças obtidas foram de  $92,6 \pm 4,21$  Kg e  $56,2 \pm 2,47$  Kg, respectivamente.

O processo de abate e as alterações físicas e bioquímicas que ocorrem logo após a sangria, caracterizando o processo de *rigor mortis* e sua resolução, são decisivos para a qualidade da carne de avestruz, incluindo sua aceitação e prazo de vida comercial.

#### 4.1.1 VALORES DE TEMPERATURA E pH

Na Tabela 2 estão apresentados os valores relativos as medidas de temperatura da câmara de resfriamento, temperatura dos músculos e pH que influenciam no desenvolvimento do processo de *rigor mortis* de avestruz dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*.

**Tabela 2.** Valores médios e desvio padrão ( $\pm$ s) das medidas de temperatura da câmara de resfriamento (TCâmara-°C), temperatura do músculo (TMusc-°C) e pH dos músculos *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibularis longus* (Fl) em 06 (n) avesstruzes nos 06 diferentes intervalos de tempo (h) após sangria no Matadouro Frigorífico Marchiori Ltda. (Amparo-SP).

Medidas	Amostras	Tempo após sangria (horas)						
		n	0,5	3	6	9	12	24
Temperatura (°C)	Câmara	6	11,5 <sup>a</sup> (±0,06)	1,5 <sup>b</sup> (±0,11)	0,90 <sup>c</sup> (±0,06)	-0,50 <sup>d</sup> (±0,09)	-0,20 <sup>e</sup> (±0,06)	-2,00 <sup>f</sup> (±0,06)
Temperatura (°C)	Gi (X± s)	6	40,67 <sup>a</sup> (±0,96)	17,43 <sup>b</sup> (±1,63)	9,57 <sup>c</sup> (±1,25)	5,45 <sup>d</sup> (±0,36)	2,98 <sup>e</sup> (±0,22)	0,27 <sup>f</sup> (±0,05)
	Fl (X± s)	6	40,62 <sup>a</sup> (±0,94)	17,32 <sup>b</sup> (±1,54)	9,53 <sup>c</sup> (±1,22)	5,42 <sup>d</sup> (±0,33)	2,95 <sup>e</sup> (±0,96)	0,23 <sup>f</sup> (±0,05)
pH	Gi (X± s)	6	7,05 <sup>a</sup> (±0,07)	6,51 <sup>b</sup> (±0,08)	6,14 <sup>c</sup> (±0,07)	6,08 <sup>c</sup> (±0,09)	6,07 <sup>c</sup> (±0,05)	5,97 <sup>c</sup> (±0,12)
	Fl (X± s)	6	7,26 <sup>a</sup> (±0,12)	6,74 <sup>b</sup> (±0,06)	6,28 <sup>c</sup> (±0,04)	6,21 <sup>c</sup> (±0,05)	6,17 <sup>c</sup> (±0,07)	6,14 <sup>c</sup> (±0,07)

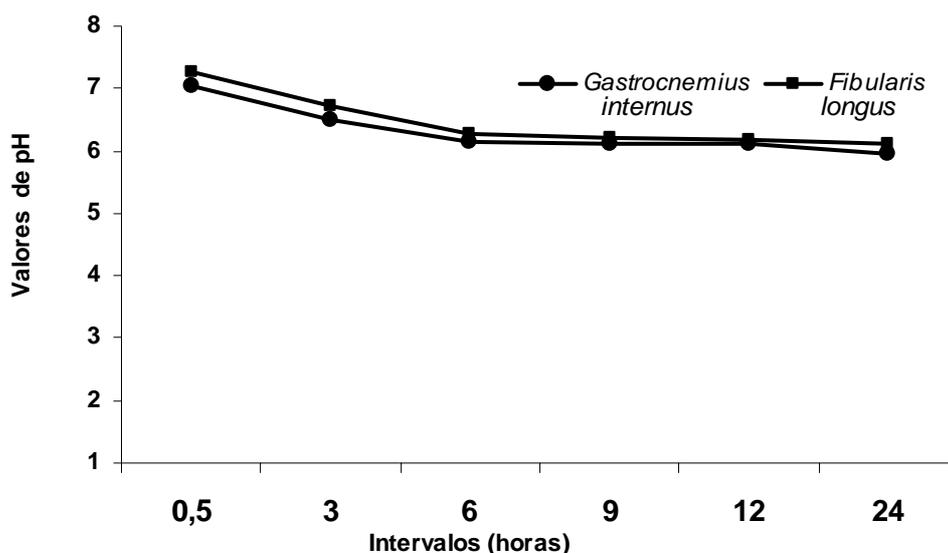
<sup>a, b, c, d, e, f</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

A temperatura da câmara foi estabilizada em torno de -2 °C e constatou-se que decresceu gradativamente, durante o resfriamento de todas as meias carcaças de avesstruzes, de 11,5 °C para retornar a -2,0 °C no período de 24 horas, mantendo a temperatura ideal para o desenvolvimento do *rigor mortis*. As temperaturas dos músculos de 40,67°C e 40,62 °C, no início do resfriamento e 0,27°C e 0,23 °C em 24 horas no *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*, nessa ordem, não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) em nenhum dos intervalos entre músculos, provavelmente devido à pouca gordura de cobertura em toda extensão dos dois cortes. Resultados estes concordantes com os encontrados por Morris *et al.* (1995) de 40,39°C e 3,02 °C como valores de temperatura inicial e final do músculo *Gastrocnemius internus* durante esse processo, não diferindo dos valores de outros quatro músculos da coxa (*Iliofibularis*, *Iliofemoralis externus*, *Obturatorius medialis*). Os resultados caracterizam a perda de calor para o meio também de forma gradual. O decréscimo de temperatura contribuiu para a qualidade da carne, na medida em que promoveu a remoção de calor da carcaça, fazendo com que ocorresse a diminuição gradual da temperatura dos músculos,

proporcionando condição básica para que as enzimas proteolíticas atuassem, sem o risco de desnaturação das proteínas miofibrilares (quando o pH decresce rapidamente em temperatura da carcaça ainda elevada) ou resfriamento do músculo antes da resolução do processo de *rigor mortis*, que acarretaria reações bioquímicas e características tecnológicas indesejáveis na carne, como alterações de cor, além de potencializar a multiplicação microbiana corroborando os achados de Hwang et al. (2004); Zeece e Katoh (1989).

A taxa de decréscimo da temperatura e do pH, bem como seus valores finais são parâmetros importantes que influenciam o processo de *rigor mortis*. As alterações de pH correspondem à produção de ácido lático decorrente da glicólise anaeróbia, como a última fonte para a obtenção de energia, após a interrupção da aquisição e de transporte de oxigênio e glicose devido à sangria do animal, culminando para o valor final por ser limitado pelo término do glicogênio muscular disponível. O declínio do pH ativa os sistemas das enzimas proteases cálcio-dependentes (calpaínas) e das lisossomais (catepsinas) na conversão do músculo para carne, influenciando na qualidade sensorial e microbiológica, caracterizando sua importância no processo de *rigor mortis* em carcaças de todos os animais de açougue, resultados corroborados por Christensen et al. (2004); Ordóñez et al. (2005); Prates (2000).

No Gráfico 1, estão representadas as curvas de declínio do valor do pH, ao longo do processo de conversão dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* em carne de avestruz.



**Gráfico 1.** Valores médios de pH dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas).

No Gráfico 1, observa-se que o pH inicial de 7,05 ( $\pm 0,07$ ) em *Gastrocnemius internus* diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) até as 6 horas (6,14 $\pm 0,07$ ), não havendo diferença significativa até as 24 horas após sangria, quando se estabeleceu a resolução do *rigor mortis* (5,97 $\pm 0,12$ ). Em relação ao *Fibularis longus*, a queda do pH foi significativa até as seis horas (6,28 $\pm 0,04$ ) e 6,14 ( $\pm 0,07$ ) às 24 horas, portanto se estabeleceu também em torno de seis horas após a sangria, correspondendo a valores significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) nos mesmos intervalos de tempo comparando-o ao *Gastrocnemius internus*. Nos mesmos intervalos (6 e 24 horas *post mortem*) Sales e Mellett (1996) encontraram valores de 6,12 e 6,05 para *Gastrocnemius internus*. Os valores finais de pH encontrados para os dois músculos estão em concordância com os citados por Paleari et al. (1995) que afirmaram ser o pH da carne de avestruz realmente maior que da carne bovina (5,8), podendo influenciar a redução no prazo de vida comercial, devido ao favorecimento ao crescimento bacteriano e maior capacidade de retenção de água. Este resultado está concordante também com o de Cooper e Horbañczuk (2002) ao mencionarem que o estabelecimento do pH final dos diferentes músculos que compõem a carcaça de avestruz ocorreu entre 2 e 6h, comparando-o com o que ocorreu na carcaça bovina (24-36 horas) e na suína (8 a 12 horas) *post mortem*. Da mesma forma, Allonso-Calleja et al. (2004) encontraram valor de pH de 5,95, como a média para cortes de carne de avestruz embalados a vácuo, enquanto Paleari et al. (1998) citaram 5,86. Lambooij et al. (1999) em procedimentos analíticos semelhantes obtiveram em 45 minutos e em 18 horas, valores de pH, de 6,19 e 6,11, respectivamente, enquanto que, no intervalo de tempo igual ao determinado nesta pesquisa, 30 minutos após sangria, encontraram pH 7,15 e em 24 horas, pH de 6,13. Todos os resultados obtidos nesta pesquisa, bem como os da literatura consultada revelaram que o pH da carne de avestruz é maior que o da bovina, porém foi estabelecido em menor tempo durante o processo de *rigor mortis*, por se tratar de uma ave. Foi observado o decréscimo gradativo da temperatura da câmara ( $p < 0,05$ ), induzindo a mesma resposta da temperatura dos músculos, são fatores decisivos para que ocorra o declínio gradativo do valor do pH até seu estabelecimento. Nesses resultados o pH em 6 horas após sangria se estabeleceu a temperatura muscular de 9,57 °C e 9,53 °C, comprovando a interação entre a temperatura e o pH no processo de *rigor mortis*, diferindo também entre músculos da mesma carcaça.

Os valores de pH encontrados nesta pesquisa e os citados por Sales e Mellett (1996) classificam a carne de avestruz como carne de pH mais elevado que o da bovina (pH 5,8), porém não sendo classificada como “DFD” (pH > 6,2).

Como na literatura científica, encontra-se uma série de experimentos utilizando como matéria-prima carnes de outras espécies mais usualmente consumidas, justifica-se a comparação, principalmente com carnes de frango e peru, além da comparação com a bovina, por ser a de avestruz, considerada como uma opção mais saudável de carne vermelha, de acordo com os resultados relacionados à composição química, conforme citado por et al. (1998); Sales et al. (1996).

Pesquisadores que analisaram o processo de *rigor mortis* em carcaças de outras espécies revelaram similaridades com os dados encontrados no presente estudo, como os de Alvarado e Sams (2000) que encontraram em carne de peru valor final de pH de 5,91. Freitas (1992) em músculo peitoral de frangos encontrou pH inicial de 6,39 e final de 5,88. Um dos primeiros estudos deste processo, realizado em carne bovina foi de Marsh (1954) analisando o músculo dorsal de bovino, estocado após o abate em diferentes temperaturas (variando de 7°C a 43°C ) e concluiu que a taxa de glicólise foi maior em temperaturas mais elevadas e, por conseguinte, maior declínio de pH. Esse resultado caracterizou a influência do controle da temperatura no declínio do pH, também comprovada nesta pesquisa. Geesink et al. (1999) encontraram em músculos *Longissimus dorsi* de bovinos médias de pH de 6,63; 6,31 e 5,65 a 45 minutos, 3 horas e 24 horas após sangria, com temperaturas de 36,3 °C; 20,6 °C e 0,5 °C nos mesmos intervalos de tempo. Enquanto Huidobro et al. (2003) analisaram as alterações das características de músculo *Longissimus thoracicus et lumbarum* de bovinos encontrando pH 6,5 aos 45 min após sangria e 5,5 em 24horas permanecendo estável até o 6° dia de estocagem a 4 °C.

#### 4.1.2 VALORES DE COMPRIMENTO DE SARCÔMERO, FORÇA DE CISALHAMENTO E PERDA DE PESO POR COZIMENTO

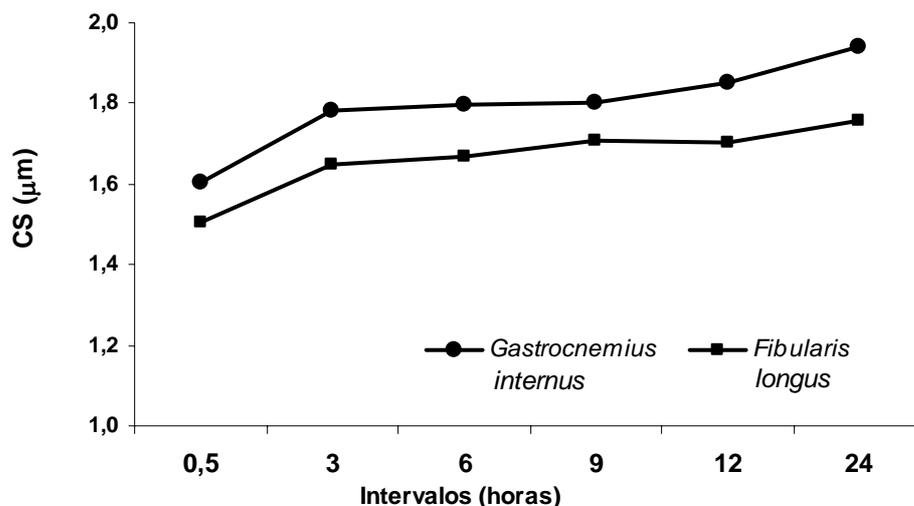
Na Tabela 3 são mostrados os valores médios referentes aos parâmetros que interagem para evidenciar as etapas do processo de *rigor mortis*: comprimento de sarcômero, força de cisalhamento e perda de peso por cozimento.

**Tabela 3.** Valores médios e desvio padrão ( $\pm$ s) das medidas de comprimento de sarcômero (CS- $\mu$ m), força de cisalhamento (FC-Kg) e perda de peso por cozimento (PC-%) dos músculos *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibulares longus* (Fl) encontrados em 06 (n) avestruzes nos 06 diferentes intervalos de tempo (h) após sangria no Matadouro Frigorífico Marchiori Ltda. (Amparo-SP).

Medidas	Amostras	Tempo após sangria (h)						
		n	0,5	3	6	9	12	24
CS ( $\mu$ m)	Gi ( $X \pm s$ )	6	1,60 <sup>a</sup> (0,02)	1,78 <sup>b</sup> (0,02)	1,80 <sup>c</sup> (0,01)	1,80 <sup>c</sup> (0,02)	1,85 <sup>d</sup> (0,03)	1,94 <sup>e</sup> (0,03)
	Fl ( $X \pm s$ )	6	1,50 <sup>a</sup> (0,01)	1,65 <sup>b</sup> (0,02)	1,67 <sup>c</sup> (0,02)	1,71 <sup>c</sup> (0,02)	1,70 <sup>c</sup> (0,02)	1,76 <sup>c</sup> (0,02)
FC (Kg)	Gi ( $X \pm s$ )	6	10,78 <sup>a</sup> (0,60)	6,75 <sup>b</sup> (0,75)	4,91 <sup>b</sup> (0,53)	4,18 <sup>b</sup> (0,55)	3,62 <sup>c</sup> (0,50)	2,78 <sup>d</sup> (0,57)
	Fl ( $X \pm s$ )	6	13,14 <sup>a</sup> (0,88)	8,54 <sup>b</sup> (0,59)	6,00 <sup>b</sup> (0,58)	5,20 <sup>b</sup> (0,69)	4,49 <sup>c</sup> (0,54)	3,52 <sup>d</sup> (0,57)
PC (%)	Gi ( $X \pm s$ )	6	30,33 <sup>a</sup> (0,36)	26,47 <sup>b</sup> (0,38)	26,07 <sup>c</sup> (0,21)	25,70 <sup>d</sup> (0,47)	25,27 <sup>d</sup> (0,38)	24,83 <sup>e</sup> (0,28)
	Fl ( $X \pm s$ )	6	34,22 <sup>a</sup> (0,23)	29,28 <sup>b</sup> (0,28)	28,93 <sup>b</sup> (0,38)	28,33 <sup>c</sup> (0,29)	28,12 <sup>d</sup> (0,23)	26,83 <sup>d</sup> (0,26)

<sup>a, b, c, d, e, f</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Observa-se no Gráfico 2, a relação entre as medidas de comprimento de sarcômero nos diferentes intervalos entre si, durante o processo de *rigor mortis*, bem como entre os dois músculos analisados.

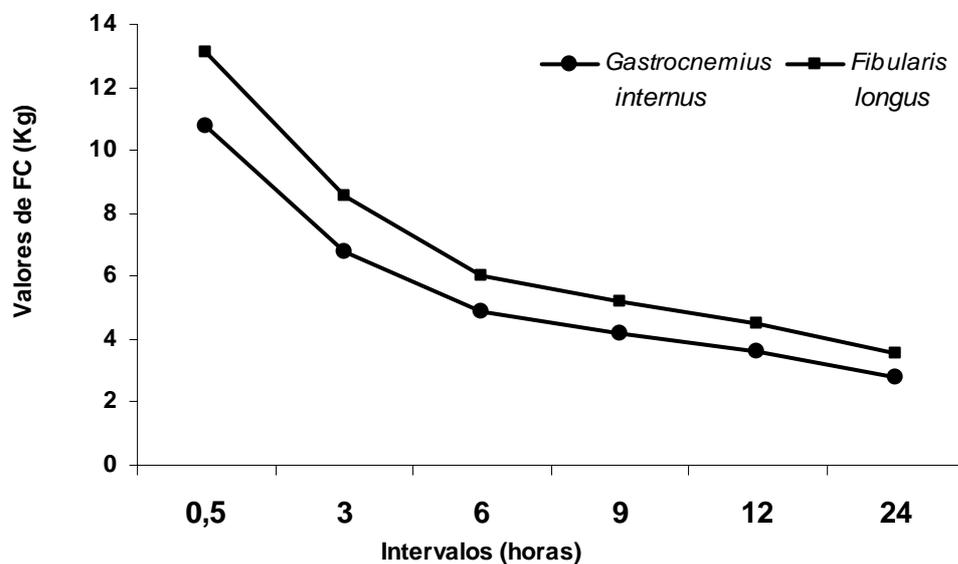


**Gráfico 2.** Valores médios de comprimento de sarcômero (CS) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas).

De acordo com os valores de comprimento de sarcômero (Tabela 3 e Gráfico 2), constatou-se que a contração máxima do sarcômero ocorreu em 30 minutos (1,60µm), diferindo significativamente do intervalo de 3 horas e a resolução, às 24 horas após sangria, quando atingiu 1,94µm em *Gastrocnemius internus* e de 1,50µm para 1,76µm, nos mesmos intervalos em *Fibularis longus*. Os valores encontrados a partir da 3ª hora *post mortem*, mostraram que após a contração máxima, houve aumento gradativo do comprimento de sarcômero ( $p < 0,05$ ) até o final da etapa de resolução. Com a temperatura das carcaças em torno de 10 °C às 6 horas *post mortem*, enquanto a contração máxima do sarcômero em 30 minutos, pode-se deduzir que seria muito improvável a ocorrência do encurtamento pelo frio em carcaças de avestruzes, fato preocupante em resfriamento de carcaças de bovinos por se constituir em perda de qualidade, e conseqüentemente, consideráveis perdas econômicas da carne obtida. O comportamento da curva não diferiu entre os músculos, porém em todos os intervalos, os valores desta medida foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) no *Gastrocnemius internus*. Entretanto, Sales (1996) encontrou valor de 2,34µm para comprimento de sarcômero de *Gastrocnemius internus* e média de 2,04µm em seis músculos de avestruzes (*Gastrocnemius internus*, *Femorotibialis medius*, *Ambiens*, *Iliotibialis lateralis*, *Iliofibularis*, *Iliofemoralis*) às 24 horas *post mortem*, resultados são superiores aos mensurados deste estudo. Esta diferença deve-se, provavelmente, ao tipo de microscopia utilizada por esse autor, a de contraste de fase, portanto sem fixar ou corar os fragmentos de amostras.

Silva *et al.* (1999) encontraram em carne bovina (músculo *Longissimus thoracis et lumborum*), sarcômero de 1,7 $\mu$ m de comprimento em 24 horas *post mortem*, enquanto Oliveira *et al.*(2004) analisando músculos de ovinos, encontraram a contração máxima de *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii* nas 12<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> hora e o comprimento do sarcômero final (24 horas) diminuiu de 1,70 $\mu$ m para 1,59 $\mu$ m, respectivamente.

No Gráfico 3 estão apresentados valores médios de força de cisalhamento nos intervalos de tempo em cada músculo, durante o processo de *rigor mortis*, assim como a relação dos intervalos entre os músculos.



**Gráfico 3.** Valores médios de força de cisalhamento (FC) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas).

Ao comparar os valores da força de cisalhamento e o comprimento do sarcômero, observou-se que a contração máxima do sarcômero e a maior força de cisalhamento ocorreram no mesmo estágio de *rigor mortis*, portanto, 0,5 hora *post mortem*, em ambos os músculos, concordando com a influência do comprimento de sarcômero na maciez da carne. De acordo com os resultados encontrados, o músculo *Gastrocnemius internus* originou, ao final do processo de resfriamento, carne mais macia que o *Fibularis longus*. Os valores de força de cisalhamento foram de 2,78 kg e 3,52 kg para *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*, respectivamente. Diferença concordante com valores encontrados por Cooper e Horbañczuk (2002) de 2 kg e 3,5 kg para *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus*, nesta ordem, enquanto Sales (1996) encontrou 2,97 kg para *Gastrocnemius internus* e média de 3,35 kg para a força de cisalhamento de seis músculos de avestruz. Complementando,

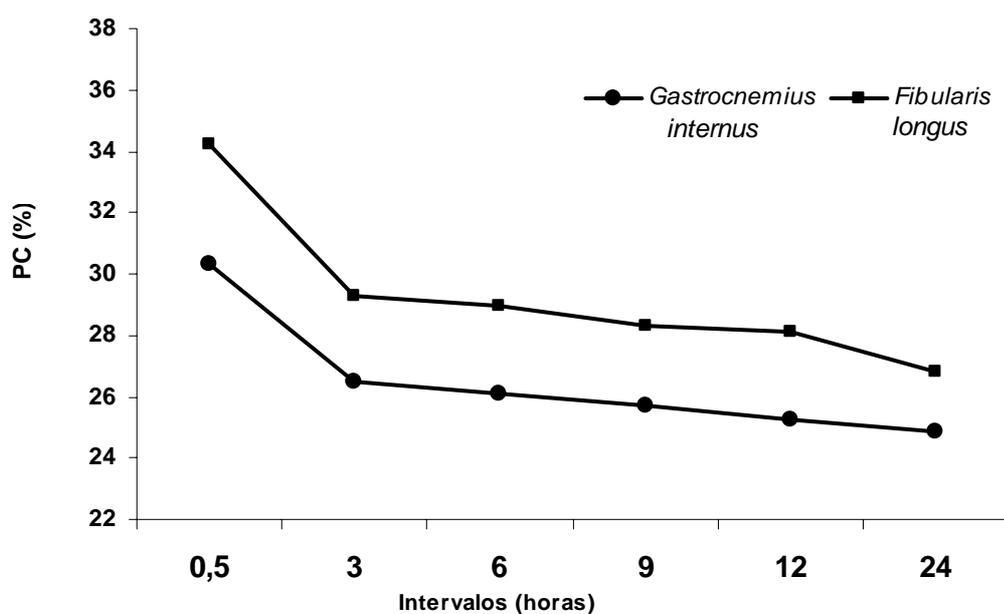
Hoffman e Fisher (2001) citaram força de cisalhamento de 4,4 kg, para a carne de avestruz, sem distinção do corte ou músculo. De acordo com outras classificações estabelecidas por Jeremiah et al. (1991) que limitaram o valor de 5 kg para que a carne bovina possa ser considerada macia e Harris et al. (1994) apresentarem valores inferiores a 8 kg, poderiam ser consideradas muito macias e tornando-se carne inaceitável para o consumo quando apresentar valores superiores a 10 kg.

Alvarado e Sams (2000) também avaliaram a relação entre comprimento de sarcômero e maciez de peito de peru durante o desenvolvimento da conversão do músculo para carne, determinando a contração máxima em 25 minutos, de 1,65 $\mu$ m, coincidindo com o maior valor de força de cisalhamento, 16,22kg e, ao final de 24 horas, valores de 1,91 $\mu$ m e 7,19 kg, respectivamente. Esses valores de força de cisalhamento são maiores que os dos músculos de avestruz analisados e estão discordantes do trabalho de Paleari et al.(1995) que consideraram a carne de avestruz com maciez similar à carne de peru. Lesiak et al.(1996) encontraram comprimento de sarcômero de 1,63 $\mu$ m e 1,89 $\mu$ m para cortes de peito e coxa de peru, respectivamente, sendo este último, um dos maiores valores relatados para comprimento de sarcômero entre as espécies citadas. Enquanto Freitas (1992) relatou 1,58 $\mu$ m de comprimento final de sarcômero em músculo peitoral de frango.

Com base nos resultados de comprimento de sarcômero e força de cisalhamento constatou-se que o primeiro é um dos fatores que interferem na maciez da carne, sendo quanto maior, mais macia a carne, portanto, menor a força de cisalhamento. Correlacionando o comprimento do sarcômero com o pH e atividade enzimática, os resultados deste estudo, além de pesquisas realizadas por Christensen et al.(2004) e Geesink e Koohmaraie (1999) comprovaram a importância da queda gradativa do valor de pH como um fator que influencia a atividade das principais enzimas citadas como responsáveis pela resolução do *rigor mortis* e, conseqüentemente, aumento do sarcômero. As calpaínas, por atuarem principalmente em pH considerados elevados, iniciam o processo de resolução, como as responsáveis pela hidrólise das proteínas titina, nebulina e, em menor proporção, das cabeças de miosina. As catepsinas, liberadas para o sarcoplasma após a desestruturação da membrana lisossomal devido ao pH mais ácido, fragmentam as proteínas troponina e a tropomiosina. Actina e miosina, principais proteínas miofibrilares, são pouco degradadas, porém as proteínas que conferem sustentação para maior contração são muito fragmentadas, diminuindo a justaposição entre as mesmas.

Através das medições do comprimento de sarcômero em intervalos determinados durante o *rigor mortis*, torna-se possível o conhecimento do estágio deste processo como a de contração máxima, a partir da qual inicia-se a resolução. Portanto, quanto maior a justaposição entre os miofilamentos, mais próximas ficam duas linhas Z adjacentes, caracterizando a diminuição do comprimento do sarcômero até o limite em que, pelo declínio da temperatura e do pH, esgotamento das fontes de energia e atuação das proteases endógenas, ocorrerá o deslizamento dos miofilamentos entre si, tornando assim, o sarcômero gradativamente maior até que não haja mais variação significativa.

No Gráfico 4 estão representados os valores referentes à perda por cocção, outro parâmetro analisado para o controle e determinação da força de cisalhamento, ao longo da conversão do músculo em carne e a comparação dos resultados entre os músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* de avestruz.



**Gráfico 4.** Valores médios de perda por cocção (PC) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* nos seis intervalos de tempo após a sangria (horas).

A perda de peso por cocção nos diferentes intervalos de tempo caracterizou-se como significativamente maior na primeira verificação (0,5 hora) para ambos os músculos, sendo 30,33% para *Gastrocnemius internus* e 34,22% *Fibularis longus*, diminuindo até o final do processo de *rigor mortis*, atingindo 24,83% e 26,83%, na mesma ordem. Estes resultados são inferiores aos citados por Sales (1996) que determinou média de perda por cozimento em seis músculos de avestruzes de 35,5%, correspondente ao *Gastrocnemius internus* 35,8% e 36% no músculo *Iliofibularis* (músculo da coxa). Enquanto Van Schalkwyk et al. (2005), para

*Gastrocnemius internus* relataram perda de peso por cocção de 30,8% e média de 35,5% referente a seis músculos analisados. Entretanto, Lanza et al. (2004) encontraram 24,95%, valores próximos aos encontrados no presente estudo. Em relação a outros animais, Huallanco (2004) relatou valores médios para perda de peso por cocção em músculos de coxa de frango, correspondente a 26% em cinco horas e 27,7% em 24 horas após a sangria, não diferindo significativamente entre si. Em relação à carne bovina, os valores encontrados foram de 25,39% por Wallace et al. (1999); 30,84% por Destefains et al. (2000); 20,7% por Gessing et al. (2001); 23,6% por Fiems et al. (2003) e 23,3% por Kerth et al. (2003).

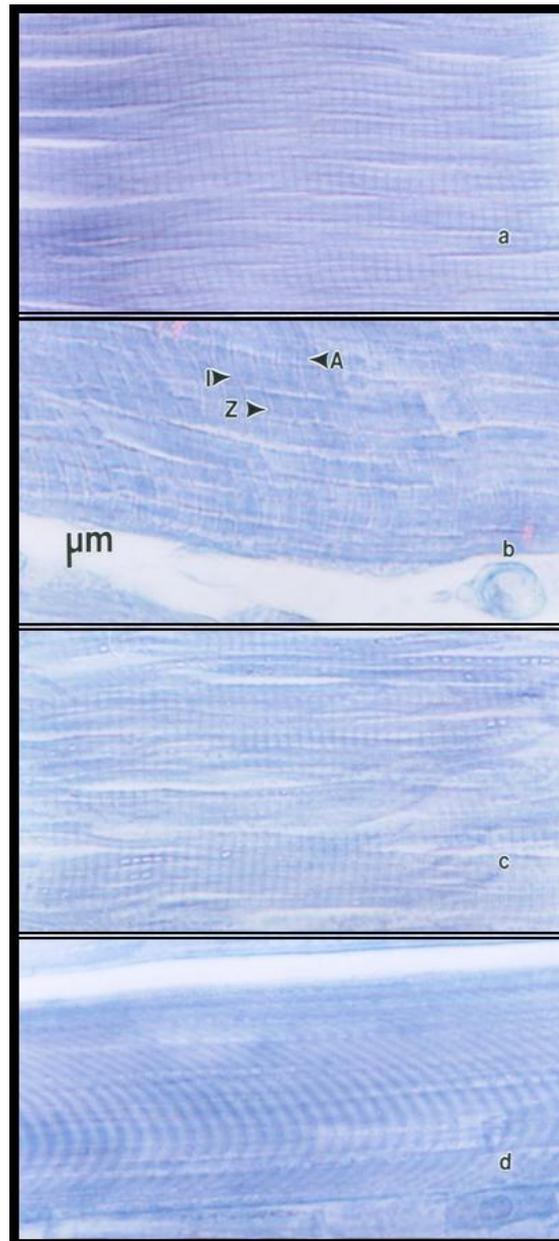
Entre os dois músculos analisados nesta pesquisa, o *Fibularis longus* apresentou maior valor de perda de peso por cozimento ( $p < 0,05$ ) em todos os intervalos determinados. Esse parâmetro compreende a perda de água livre do músculo ou carne quando submetida à elevada temperatura, influenciando, por sua vez, diretamente a suculência e a cor da carne.

Relacionando a perda de peso por cocção, o comprimento de sarcômero e a força de cisalhamento entre os músculos, o *Fibularis longus* que apresentou o menor comprimento de sarcômero e maior força de cisalhamento, também, maior perda de peso por cozimento, logo, são fatores que podem se interagir, influenciando esta perda. A suculência está associada à textura da carne, logo quanto maior a perda por cocção, menor a suculência e maior a força de cisalhamento. A maior taxa de perda de peso por cocção ocorreu no mesmo período (30 minutos) nos dois músculos, intervalo correspondente à menor dimensão do sarcômero e maior força de cisalhamento. Portanto, esses fatores interagem no músculo para conferir a qualidade da carne obtida.

Os Apêndices 7.1; 7.2; 7.3; 7.4 apresentam os valores referentes às Análises de Variância e de comparações múltiplas de Bonferroni.

#### 4.1.3 CONTROLE DO PROCESSO DE *rigor mortis* POR MICROSCOPIA ÓPTICA

A Figura 15 ilustra as diferenças ocorridas na microestrutura muscular desde o início do processo de *rigor mortis*.



**Figura 15.** Fotomicrografias ópticas do músculo *Gastrocnemius internus* (Gi) e *Fibularis longus* (Fl) durante o resfriamento industrial mostrando as bandas A, I e disco Z (aumento de 1000 vezes), fixado com formalina tamponada neutra e corado com hematoxilina fosfotúngsta de Mallory: a) músculo Gi aos 30 minutos após a sangria e b) na 24<sup>a</sup> hora após a sangria; c) músculo Fl aos 30 minutos após a sangria e d) na 24<sup>a</sup> hora após a sangria.

No início das medidas (30 minutos após sangria) observou-se a integridade e proximidade entre duas linhas Z (Figura 15a, b), correspondendo ao menor comprimento de sarcômero (Tabela 3; Gráfico 2), significativamente maior ao final de 24 horas (Figura 15c, d). Portanto, torna-se nítido o resultado da ação das enzimas proteolíticas, as calpaínas e catepsinas, determinando a resolução deste processo bioquímico. Além da degradação das proteínas titina e nebulina, que conferem suporte para as principais proteínas miofibrilares: actina e miosina. Estes resultados estão em concordância com os observados por Jaarsveld et

al. (1997). A microscopia óptica também foi utilizada como um instrumento de avaliação do processo de *rigor mortis*, em intervalos de tempos pré-determinados até as 24 horas, em carcaças de outras espécies como de bovino por Abreu (1984); de suíno por Pinheiro et al. (2001); de eqüino por Rodrigues et al. (2004) e cordeiro por Oliveira et al. (2004). Nessas pesquisas, os resultados evidenciaram as alterações específicas que ocorrem no sarcômero no início e no final do processo, concordando com os encontrados neste estudo.

## 4.2 IRRADIAÇÃO E CONSERVAÇÃO DA CARNE CONGELADA DE AVESTRUZ

### 4.2.1 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

Os valores das contagens de bactérias psicrotróficas das amostras da carne de avestruz, segundo os diferentes métodos de conservação e tempos de estocagem, estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Contagens de bactérias psicrotróficas ( $\log_{10}$  UFC/cm<sup>2</sup>) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	3,44 <sup>cA</sup> ( $\pm 0,33$ )	6,95 <sup>bA</sup> ( $\pm 0,35$ )	7,68 <sup>aA</sup> ( $\pm 0,40$ )	6,64 <sup>bB</sup> ( $\pm 0,48$ )
1kGy	1,34 <sup>cB</sup> ( $\pm 0,67$ )	5,47 <sup>bB</sup> ( $\pm 0,67$ )	6,87 <sup>aB</sup> ( $\pm 0,30$ )	5,32 <sup>bA</sup> ( $\pm 0,45$ )
3 kGy	1,11 <sup>cB</sup> ( $\pm 0,35$ )	4,33 <sup>bC</sup> ( $\pm 0,52$ )	5,12 <sup>aC</sup> ( $\pm 0,55$ )	4,37 <sup>bC</sup> ( $\pm 0,57$ )

estocagem (005 dias, 120 dias, 240 dias e 360 dias).

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Em relação à contagem de bactérias psicrotróficas, pode-se observar que o processo de radiação foi considerado um método de conservação eficiente, pois diminuiu significativamente a microbiota presente na amostra submetida a dose de 1kGy. Nas amostras irradiadas com 3kGy a microbiota tornou-se ainda menor, em três dos quatro períodos de estocagem analisados (120, 240 e 360 dias). Comparando o início e o final da estocagem, a contaminação por bactérias psicrotróficas aumentou significativamente nos três tratamentos,

porém, comparando o efeito do tempo entre os três tratamentos, nas amostras irradiadas com 3kGy, a contagem foi inferior.

No Brasil, não há limite para a dose da radiação, porém a ICGFI (1999) autorizou a dose máxima de 3kGy em carne de aves, o que deixa claro que esta pesquisa foi apoiada em instrumento científico. Além disso, no grupo controle a contagem resultante da contaminação aos 120 dias, não apresentou diferença significativa em relação ao período de 360 dias. Este fato deve-se, provavelmente, por se tratar de bactérias psicrotróficas que são capazes de permanecer viáveis a -18 °C, porém esta temperatura de congelamento é considerada desfavorável ao crescimento da microbiota psicrotrófica, podendo ter ocorrido adaptação bacteriana que, mesmo após as injúrias celulares ocasionadas pelo congelamento, causou divisões celulares mais lentas (JAY, 1992; COUSIM et al., 2001).

A contagem de bactérias psicrotróficas na carne de avestruz congelada não irradiada foi similar em 120 dias de estocagem ao valor de 6,62 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> encontrado por Alonso-Calleja et al. (2004) em amostras de carne de avestruz embaladas a vácuo, resfriadas e armazenadas por sete dias. Enquanto, Otremba et al. (1999) relataram que em carne de avestruz embalada a vácuo, inicialmente congelada por cinco dias e mantida sob refrigeração até o 28º dia de estocagem, a contagem de bactérias psicrotróficas tornou imprópria para o consumo aos 21 dias e em 28 dias, foram detectadas contagens na ordem de 4,8 x 10<sup>6</sup> UFC/cm<sup>2</sup> e 1,7 x 10<sup>7</sup> UFC/cm<sup>2</sup> para a carne moída e em cortes, respectivamente. Os resultados desta pesquisa estão de acordo com o Alonso-Calleja et al. (2004) que em carne de avestruz resfriada relataram valor de 6,74 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup>, equivalente ao valor da carne congelada em 120 dias de estocagem. Os mesmos autores também enfatizam que o elevado pH final, típico desta carne, pode contribuir para maior contagem bacteriana, devendo ser no máximo de 5,95 para melhorar a qualidade microbiológica da carne.

No presente estudo, os resultados também estão de acordo com as contagens bacteriológicas encontradas em carne de frango congelada. A contagem no grupo controle (carne congelada e não irradiada), aos 360 dias de estocagem, foi similar ao valor de 5,8 log<sub>10</sub> UFC/g encontrado por Prachasitthisakdi et al. (1983).

Quando se menciona os valores encontrados nas amostras irradiadas, houve também redução significativa nas contagens, proporcional ao aumento da dose, sendo de 5,32 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> e 4,37 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> referentes a 1 kGy e 3kGy ao final da estocagem. Prachasitthisakdi et al. (1983) comprovaram o efeito benéfico da radiação no controle da contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas, pois em amostras irradiadas com 1, 2, 3 e 4kGy

quantificaram valores de 5,7 log<sub>10</sub> UFC/g; 4,0 log<sub>10</sub> UFC/g; < 2,8 log<sub>10</sub> UFC/g e < 1,8 log<sub>10</sub> UFC/g, respectivamente. Enquanto para Miyagusku et al. (2003) contagens destas bactérias entre 6,6 log<sub>10</sub> UFC/g e 8,4 log<sub>10</sub> UFC/g em cortes refrigerados de frango, foram suficientes para formação de limosidade e odor repugnante entre o 5° e 8° dias de estocagem, enquanto as amostras irradiadas a 2,5 e 3,0 kGy atingiram tais índices no 15° e 22° dia de armazenamento respectivamente. Todos esses experimentos comparam resultados encontrados em amostras de carnes subdivididas em grupos controle e irradiadas com diferentes doses, concordando que a irradiação, em relação às bactérias psicrotróficas, consegue atingir o objetivo, retardando o processo de deterioração da carne de forma proporcional ao aumento da dose.

Kanatt et al. (2005) observaram que produtos cárneos de frangos irradiados com 1, 2 e 3 kGy apresentaram prazo de vida comercial superior em duas semanas em relação às amostras não irradiadas. Ao expandir as comparações dos resultados deste experimento com carnes de outras espécies, como a carne de coelho refrigerada e irradiada com doses de 1,5 kGy e 3kGy, também apresentou a extensão do prazo de vida comercial em 12 e 21 dias, respectivamente, enquanto da carne não irradiada foi de somente de 6 dias, de acordo com resultados encontrados por Badr (2004). Em carne mecanicamente separada, Gomes et al. (2003) observaram contaminação da ordem de 6,68 log<sub>10</sub> UFC/g, suficiente para causar elevado grau de deterioração, atingido no 6° dia de estocagem sob temperatura de 2°C, enquanto nas amostras irradiadas com doses de 3kGy e 4kGy, no 12° dia as contagens foram de 7,04 log<sub>10</sub> UFC/g e 6,61 log<sub>10</sub> UFC/g, respectivamente. Discordando dos achados de Alvarez-Astorga et al. (2002) que analisaram a contaminação por bactérias psicrotróficas em amostras de coxas e asas de frango armazenadas a 2 °C, relatando contagens de 7,07 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> e 7,21 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> e, mesmo assim, não detectaram alterações no aroma.

O código sanitário do Estado de São Paulo – São Paulo (1992) estabelece o limite de 6,48 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> para bactérias psicrotróficas como a viabilidade do alimento. Considerando esse limite, os resultados, encontrados neste experimento, não inviabilizariam o seu consumo, principalmente quando irradiada, em até 360 dias de estocagem com embalagem a vácuo e sob temperatura de congelamento, mantendo-se também sensorialmente apta para o consumo durante todo período estudado.

Comparando as três combinações de tratamentos e os períodos de estocagem, comprovou-se que a higiene durante todas as etapas de abate, manipulação da carne, embalagem a vácuo e o controle da temperatura de resfriamento e, posteriormente de congelamento (-18°C) durante todo tempo de estocagem, foram fatores decisivos para a

manutenção da vida útil da carne de avestruz por até 360 dias, sob o ponto de vista de contaminação por bactérias psicrotróficas. A irradiação contribuiu para significativas reduções deste tipo de microbiota.

A Tabela 5 apresenta os resultados da enumeração de *Enterococcus* spp. de acordo com os diferentes métodos de conservação e o tempo de estocagem.

**Tabela 5.** Enumeração de bactérias do gênero *Enterococcus* spp. (log<sub>10</sub>NMP/g) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 dias, 120 dias, 240 dias e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	2,03 <sup>dB</sup> (±0,49)	3,37 <sup>cC</sup> (±0,28)	5,88 <sup>bC</sup> (±0,87)	8,39 <sup>aB</sup> (±0,20)
1kGy	4,38 <sup>dA</sup> (±1,11)	6,33 <sup>cB</sup> (±0,33)	7,42 <sup>bB</sup> (±0,33)	9,04 <sup>aA</sup> (±0,00)
3 kGy	5,56 <sup>dA</sup> (±0,67)	8,18 <sup>cA</sup> (±1,11)	9,20 <sup>bA</sup> (±0,31)	9,04 <sup>aA</sup> (±0,00)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Em relação à análise quantitativa de *Enterococcus* spp., o processo de irradiação e o tempo de estocagem ocasionaram aumento significativo das contagens. No Brasil, não há legislação estipulando limites para estas bactérias em produto algum, mesmo porque sua veiculação como possíveis agentes patogênicos transmitidos por alimentos é relativamente recente. O maior grau de contaminação ( $p < 0,05$ ) nas amostras irradiadas pode ser explicado por diminuições das contagens ou destruição de microrganismos competitivos, a capacidade de produção de enterocinas, aliadas a radioresistência dos *Enterococcus* spp., portanto desenvolvendo um meio mais favorável para sua multiplicação. Essa resistência à radiação foi também comprovada por Valente (2004) que ao irradiar carne de mexilhão, concluiu que *Enterococcus* spp. resistiram às doses de 3 e 5 kGy e Huhtanen (1990) que detectou que, para a destruição de 90% da população de *E. faecalis* são necessárias doses entre 3,5 e 21 kGy, enquanto para *E. faecium* são necessárias doses entre 5 e 47 kGy referentes ao mesmo grau de destruição.

Nesta pesquisa, a enumeração de *Enterococcus* spp. aumentaram de acordo com a dose de radiação somente nas amostras estocadas por 120 e 240 dias. Os valores corresponderam a 2,03 log<sub>10</sub> NMP/g, 4,38 log<sub>10</sub> NMP/g e 5,56 log<sub>10</sub> NMP/g encontrados

nas amostras de carnes de avestruz congeladas (controle), congeladas e irradiadas com 1kGy e 3kGy, respectivamente, no início da estocagem. Valores superiores ao encontrado por Alonso-Calleja et al. (2004) de 0,86 log<sub>10</sub> UFC/g em carne de avestruz também embalada a vácuo, porém resfriada, comercializada na Espanha.

Estes resultados são contrários aos encontrados por Prachasitthisakdi et al. (1983) em carne de frango congelada, valores de 5,5 log<sub>10</sub> UFC/g de *Enterobacteriaceae* para o grupo controle, reduzindo para < 2,8 log<sub>10</sub> UFC/g; 1,0 log<sub>10</sub> UFC/g; 0,4 log<sub>10</sub> UFC/g e 0,4 log<sub>10</sub> UFC/g em amostras irradiadas a 1, 2, 3 e 4kGy, respectivamente. Também discordantes de Badr (2004) tanto para bactérias psicrófilas como para *Enterococcus* spp. que mesmo apresentando aumento nas contagens durante o armazenamento, foram superiores nas amostras não irradiadas de carne de coelho, que nas amostras submetidas a 1,5 kGy e 3kGy.

É importante destacar que as amostras, após a cocção realizada para a análise sensorial, foram submetidas a novas análises quantitativas de *Enterococcus* spp. e, nos três grupos, não foram detectados, comprovando a viabilidade da análise sensorial até o final do experimento, sem risco para os julgadores.

Os *Enterococcus* spp., contaminantes em maior grau nas amostras irradiadas, notadamente com 3kGy, foram destruídos pela temperatura de cocção (80 °C) por 60 minutos. Sugere-se que estas amostras poderiam ser submetidas a temperatura inferior ou cocção mais rápida, pois mesmo sendo elevada a carga bacteriana, a irradiação provavelmente gerou danos em seu DNA, não capazes de destruir as células, porém tornando-as mais sensíveis para outra condição desfavorável ao crescimento. Ressaltando que os *Enterococcus* spp. são capazes de sobreviver a temperaturas de 60 °C por 30 minutos.

#### 4.2.2 ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa)

Através da Tabela 6, podem ser observados os valores da determinação da atividade de água em amostras de carne de avestruz submetida a diferentes métodos de conservação em relação ao tempo de estocagem.

**Tabela 6.** Resultados da análise de determinação da Aa (atividade de água) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e carne de avestruz congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) e em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	0,98 <sup>aA</sup> (±0,005)	0,97 <sup>aA</sup> (±0,013)	0,97 <sup>aA</sup> (±0,013)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,005)
1kGy	0,98 <sup>aA</sup> (±0,009)	0,97 <sup>aA</sup> (±0,013)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,009)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,005)
3 kGy	0,98 <sup>aA</sup> (±0,008)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,009)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,013)	0,98 <sup>aA</sup> (±0,008)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Foi constatado que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os intervalos de tempo de estocagem, bem como em relação ao processo de irradiação, independente da dose, na atividade de água da carne de avestruz, apresentando valor médio de 0,98. Portanto, além do processo de irradiação não ter ocasionado alteração significativa na estrutura na carne de avestruz, o processo de congelamento, a embalagem a vácuo e a temperatura de congelamento mantida constante durante os 360 dias de estocagem foram bem conduzidos, pois caso contrário, seria esperado que durante este período, ocorresse perda de água por evaporação na ausência de acondicionamento correto, ocasionando redução da atividade de água da carne. O grau de contaminação, independente dos três grupos de métodos de conservação, também não foi suficiente para alterar este parâmetro. Resultado concordante com o de Allonso-Calleja et al. (2004) correspondente ao valor médio de 0,995 em carne de avestruz resfriada e embalada a vácuo. De acordo com Ordóñez et al. (2005) e Pardi et al. (2001) a carne fresca apresenta atividade de água em torno de 0,98, compreendendo a faixa mais elevada deste parâmetro para alimentos, necessitando para sua maior conservação de um número maior de condições adversas para o controle da contaminação microbiana.

#### 4.2.3 ANÁLISES DA ESTABILIDADE LIPÍDICA

Para a avaliação da estabilidade lipídica foram realizadas duas análises que objetivam quantificar substâncias produzidas durante o processo de oxidação lipídica, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e índice de peróxido.

Nas Tabelas 7 e 8 estão representados os valores da análise de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico – TBARS (mgMal/ Kg) e determinação do índice de peróxido – IP (mEq/Kg) em amostras de avestruz divididas em três grupos de diferentes tratamentos de conservação em diferentes tempos de estocagem.

**Tabela 7.** Resultados das análises de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (mg Mal/ Kg ) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	0,51 <sup>dC</sup> (±0,01)	0,74 <sup>cC</sup> (±0,01)	0,92 <sup>bC</sup> (±0,08)	1,12 <sup>aC</sup> (±0,07)
1kGy	0,61 <sup>dB</sup> (±0,09)	0,86 <sup>cB</sup> (±0,01)	0,98 <sup>bB</sup> (±0,04)	1,28 <sup>aB</sup> (±0,01)
3 kGy	0,98 <sup>dA</sup> (±0,04)	1,29 <sup>cA</sup> (±0,03)	1,62 <sup>bA</sup> (±0,05)	1,87 <sup>aA</sup> (±0,02)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento (p< 0,05).

<sup>A,B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem (p< 0,05).

**Tabela 8.** Resultados determinação do índice de peróxido - IP (mg Mal/ Kg) em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	1,15 <sup>dC</sup> (±0,06)	1,48 <sup>cC</sup> (±0,04)	1,92 <sup>bC</sup> (±0,03)	2,47 <sup>aC</sup> (±0,05)
1kGy	1,43 <sup>dB</sup> (±0,04)	1,82 <sup>cB</sup> (±0,03)	2,20 <sup>bB</sup> (±0,03)	2,60 <sup>aB</sup> (±0,03)
3 kGy	1,72 <sup>dA</sup> (±0,03)	2,19 <sup>cA</sup> (±0,03)	2,61 <sup>bA</sup> (±0,04)	2,92 <sup>aA</sup> (±0,07)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento (p< 0,05).

<sup>A,B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem (p< 0,05).

Os resultados da presente pesquisa mostraram que a irradiação intensificou a oxidação lipídica de forma significativa e de forma diretamente proporcional à dose (p<0,05). O tempo de estocagem também interferiu no grau de oxidação lipídica, contribuindo para seu aumento,

apresentando valores diferentes ( $p < 0,05$ ) entre os quatro períodos de estocagem analisados, tanto em relação ao TBARS quanto ao índice de peróxido. Estes resultados sugerem que devem ser realizadas mais pesquisas para a verificação das alterações na estabilidade lipídica ocasionadas pela radiação, devendo ser estabelecida uma dose que concilie sua eficiência em inibir o crescimento da microbiota da carne, porém sem intensificar processo de oxidação lipídica, que limita o prazo de vida comercial e influencia negativamente nos atributos sensoriais.

Os valores encontrados neste experimento concordaram com os de outros tipos de carnes, como os divulgados por Kanatt et al. (1997) para carne de frango irradiada com 3kGy que apresentou aumento significativo, atingindo 1,5 mg Mal/ Kg em termos de TBARS, comparada com amostras não irradiadas, cerca de 0,5 mg Mal/ Kg. Hampson et al. (1996) avaliaram a influência da irradiação, com doses de até 10 kGy na oxidação lipídica de amostras de carnes suína, de cordeiro, bovina, peito e coxa de peru detectaram valores crescentes para análise de TBARS, de acordo com o aumento da dose, para os cortes de coxa de peru, não diferindo nas demais, além de não terem observado diferenças significativas no índice de peróxido independente da dose irradiação e do tipo de carne. Gruiz et al. (1987) analisaram as alterações ocorridas na fração lipídica de carne de frango irradiada com elevadas doses, aplicando até 50kGy, e constataram reações significativas de oxidação lipídica somente em doses superiores a 4kGy, enquanto para doses mais baixas, não ocorreram alterações detectadas pela análise de TBARS. Para Davis et al. (2004), assim como neste experimento, a irradiação potencializou a oxidação lipídica em carne suína com 4,4kGy, encontrando valores de TBARS de 0,13 mgMal/Kg em amostras no início da estocagem, tempo 0 (zero) e 0,19 aos 35 dias sob refrigeração.

Os resultados da presente pesquisa também foram observados por Hampson et al. (1996) que concluíram que a dose de 2,83kGy elevou significativamente o índice de peróxido, sendo encontrados valores de 4,75, 2,41, 4,5, 2,57 e 8,07 mEq/1000g em amostras de carne suína, de cordeiro, bovina, coxa de peru e peito de peru, respectivamente. Javanmard et al. (no prelo) encontraram valores de 0,72; 0,55; 0,303 e 1,20 mEq/Kg de índice de peróxido, logo após a irradiação e aos 3, 6 e 9 meses de estocagem, respectivamente, em carne de frango congelada.

Associando o tempo de estocagem ao processo de irradiação em carne suína, os resultados de Davis et al. (2004) discordaram dos resultados desta pesquisa em carne de avestruz, pois encontraram 0,09 mgMal/Kg na carne submetida a 4,4kGy aos 35 dias de

estocagem, não diferindo significativamente do valor de 0,08 mgMal/Kg, detectado no início da estocagem. Porém, Kim et al. (2002) ao analisarem carnes de outras espécies submetidas a doses entre 2,983 e 3,699kGy em embalagens permeáveis ao O<sub>2</sub>, observaram valores de TBARS superiores ao final do armazenamento de 7 dias a 4°C, comparando com o início, logo após a irradiação. Essas carnes quando irradiadas com 3kGy e acondicionadas em filmes permeáveis apresentaram valores de TBARS de 0,82, 0,29, 2,84 mgMal/Kg (para amostras de carne de peru, suína e bovina) e quando irradiadas a mesma dose, porém acondicionadas a vácuo, apresentaram valores significativamente inferiores, correspondentes a 0,31, 0,18, 0,83 mgMal/Kg, respectivamente. Observaram também que quando as amostras foram submetidas à mesma dose e embaladas a vácuo, não apresentavam diferença significativa em relação aos valores de TBARS, entre o início e o final da estocagem. Portanto sugere-se que a ausência de O<sub>2</sub>, contribuiu para retardar o desenvolvimento do “off-flavor” causado por oxidação lipídica, principalmente, em carnes irradiadas.

Relacionando a irradiação com a temperatura de estocagem, Javanmard et al. (no prelo) analisando carne de frango submetida a 0,75kGy, 3 kGy e 5kGy de radiação, concluíram a eficiência desse processo, para a redução de cargas microbianas, quando associada à temperatura de congelamento. Além de não comprometer a estabilidade lipídica e atributos sensoriais, como odor, sabor e cor, pois, nessas condições, a carne de frango apresentou extensão do prazo de vida comercial de até nove meses referente à maior dose.

Para Gomes et al.(2003) os resultados da determinação de TBARS ratificaram a análise sensorial, sendo menores ( $p < 0,05$ ) para as amostras controle do 4º ao 10º dia de estocagem. Portanto, os provadores detectaram diferença significativa entre os valores de 0,9 mgMal/Kg para as amostras não irradiadas e 3,87 mgMal/Kg e 5,87 mgMal/Kg encontrados nas amostras submetidas às doses de 3kGy e 4kGy, respectivamente, sendo este último valor o limite para a determinação do prazo de vida comercial referente à estabilidade oxidativa.

Kim et al. (2002); Jo e Ahn (1999) afirmaram que o grau de oxidação lipídica difere entre os tipos de carnes submetidas às mesmas condições de estocagem, devido à quantidade de lipídios e ao teor de ácidos graxos insaturados por serem mais sensíveis a este tipo de alteração. Vale ressaltar que, quando comparada com outras carnes, a de avestruz apresenta, baixo teor de lipídios e elevada proporção de ácidos graxos insaturados, como citados por Santos (1999) que encontrou 2,09% de lipídios e 62,1% de ácidos graxos insaturados (mono e polinsaturados) e Paleari et al. (1998) que relataram 1,1% e 46,3%, para os mesmos teores, nessa ordem. Confirmando esta tendência, Kanatt (no prelo), ao analisarem carne de cordeiro irradiada com 5kGy, verificaram aumento da oxidação lipídica em 40% ocasionado pela

irradiação em cortes da coxa e aumento de 70% em costela, por possuir maior quantidade de lipídios. Portanto, o maior teor em ácidos graxos insaturados na carne de avestruz, pode ter influenciado, nos resultados encontrados neste experimento, para o aumento do grau de oxidação lipídica, notadamente sob efeito da radiação gama.

Há muitas controvérsias em relação ao valor da análise de TBARS como limite, para considerar a carne aceitável para o consumo. Como exemplos, podem ser citados Schormuller (1968) que o limitou em 5mgMal/Kg, para considerar um produto como de qualidade e apto consumo, em relação a este parâmetro, contudo valores entre 7 e 8 mgMal/Kg tornariam o produto sensorialmente não comestível. Concordando, Xavier e Beraquet (1994) que determinaram o prazo de vida comercial da carne mecanicamente separada de frango mantida sob refrigeração, concluíram que o odor da rancificação não foi o fator crítico em relação à análise sensorial, pois os julgadores não o identificaram até o 7º dia de armazenamento (1 mg Mal/Kg a 3 mg Mal/Kg). Kanatt et al. (1997) consideraram aceitável a carne de frango irradiada a 2,5 kGy, mantida por quatro semanas sob refrigeração, quando os valores atingiram 4,34 mgMal/Kg. Dhilon e Maurer (1975) limitaram em seis meses o prazo de vida comercial referente à estabilidade lipídica da carne mecanicamente separada de frango, congelada, quando atingiu o valor de 3,9 mgMal/Kg.

Para Gracey et al. (1999) valores de índice de peróxido inferiores a 5meq/Kg são aceitáveis para a estabilidade lipídica de carne, enquanto valores superiores a este indicariam grau de oxidação lipídica inaceitável.

Todos os valores de TBARS e de índice de peróxido encontrados nesta pesquisa, mesmo se apresentando crescentes ( $p < 0,05$ ) tanto em relação à dose de radiação quanto ao tempo de estocagem, encontram-se abaixo dos limites estipulados por Dhilon e Maurer (1975); Gracey et al. (1999); Kanatt et al. (1997); Schormuller (1968) e Xavier e Beraquet (1994) indicando que mesmo os índices mais elevados não inviabilizaram o consumo de carne de avestruz irradiada com até 3kGy e estocada pelo prazo de 360 dias.

Mesmo influenciando de forma negativa na estabilidade lipídica, relacionando-a com contaminação por bactérias psicrótróficas e análise sensorial para os atributos de sabor, cor e a impressão global o processo de irradiação, a embalagem a vácuo e a temperatura de congelamento aumentaram o prazo de vida comercial desta carne.

#### 4.2.4 ANÁLISES DE SANIDADE

Os resultados da determinação do pH das amostras de carne de avestruz de acordo com o método de conservação e durante os quatro intervalos de tempo até 360 dias de estocagem estão representados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Valores médios de pH de carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005 , 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	5,94 <sup>cA</sup> (±0,09)	5,98 <sup>bA</sup> (±0,08)	6,01 <sup>bA</sup> (±0,08)	6,12 <sup>aA</sup> (±0,08)
1kGy	5,94 <sup>aA</sup> (±0,08)	5,84 <sup>bB</sup> (±0,01)	5,83 <sup>bB</sup> (±0,01)	5,81 <sup>bB</sup> (±0,01)
3 kGy	5,94 <sup>aA</sup> (±0,08)	5,83 <sup>bB</sup> (±0,08)	5,82 <sup>bC</sup> (±0,08)	5,80 <sup>cC</sup> (±0,08)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A,B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Pode-se observar na Tabela 9 que ocorreu alteração de pH da carne de avestruz de acordo com o tratamento, nos períodos de 120, 240 e 360 dias de estocagem, pois as amostras submetidas à radiação apresentaram valores inferiores ( $p < 0,05$ ) ao controle. Fato que pode ser justificado pelo aumento das contagens de *Enterococcus* spp. nesses grupos de amostras, pois são bactérias que, através de seu metabolismo, produzem ácido, diminuindo o pH gradativamente, de acordo com seu potencial de crescimento da população. Essa alteração é compatível com a encontrada por Otremba et al. (1999) que relataram diminuição de pH 6,4 a 5,7 em três dias de estocagem sob refrigeração, atribuída à produção de ácido lático por bactérias ácido-lácticas. Foram encontrados valores de pH de 6,4 e 6,2 no início do armazenamento sob refrigeração e, ao final de 28 dias, 6,4 e 5,7 para amostras de cortes inteiros e carne moída de avestruz, respectivamente. Entretanto, o valor alterado de pH encontrado na carne irradiada com a maior dose, de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 1999) não torna a carne imprópria para o consumo, de acordo com este parâmetro.

De acordo com o tempo de estocagem o valor do pH aumentou desde o início (5 dias) até o período final de realização das análises (360 dias) no grupo controle, no entanto este valor final ainda corresponde à faixa de oscilação de pH que caracteriza a carne própria para o consumo, quando observado somente este parâmetro (Brasil, 1999).

As demais análises referentes ao controle de qualidade conferem respostas diretas positivas ou negativas em relação à presença de substâncias que caracterizam a deterioração da carne. Nesta pesquisa, durante os 360 dias de estocagem, as análises periódicas conferiram respostas qualitativas negativas, portanto não foram detectadas alterações características do início do processo de deterioração, através da prova de cocção, reação de Éber, prova de Nessler e prova do gás sulfídrico. Estas respostas atestam a sanidade da carne de avestruz para o consumo mesmo quando estocada por 360 dias, embalada a vácuo, sob temperatura de congelamento, independente da radiação ou da dose de 1kGy ou 3kGy.

#### 4.2.5 ANÁLISE INSTRUMENTAL DE COR

A Tabela 10 representa a variação da cor de acordo com o tratamento de irradiação e tempo de estocagem

**Tabela 10.** Valores dos parâmetros de L\*, a\* e b\* relativos à análise instrumental de cor em carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de estocagem	
	005 dias	360 dias
Controle	<b>L*</b> 18,55 <sup>aA</sup> (±2,80) <b>a*</b> 9,75 <sup>bC</sup> (±1,04) <b>b*</b> 7,65 <sup>aA</sup> (±0,30)	<b>L*</b> 19,76 <sup>aA</sup> (±2,29) <b>a*</b> 14,46 <sup>aB</sup> (±1,28) <b>b*</b> 7,79 <sup>aA</sup> (±0,70)
1kGy	<b>L*</b> 16,90 <sup>aB</sup> (±1,58) <b>a*</b> 10,60 <sup>bB</sup> (±1,89) <b>b*</b> 7,93 <sup>aA</sup> (±1,09)	<b>L*</b> 14,63 <sup>bB</sup> (±2,69) <b>a*</b> 15,26 <sup>aA</sup> (±1,38) <b>b*</b> 7,69 <sup>aA</sup> (±1,59)
3kGy	<b>L*</b> 16,89 <sup>aB</sup> (±1,08) <b>a*</b> 12,20 <sup>bA</sup> (±1,59) <b>b*</b> 7,45 <sup>aA</sup> (±0,55)	<b>L*</b> 14,63 <sup>bB</sup> (±0,69) <b>a*</b> 15,63 <sup>aA</sup> (±0,67) <b>b*</b> 6,91 <sup>aA</sup> (±1,24)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A,B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Nesta análise os resultados são obtidos na forma de valores numéricos para três parâmetros: valor de  $L^*$ , que representa a luminosidade da cor, escala de zero a 100 (0 = preto e 100 = branco). O valor de  $a^*$  representa uma escala de -80 até zero para a cor verde e de zero até +100, corresponde à cor vermelha. Enquanto  $b^*$ , escala de -100 a zero correspondente a azul e valores positivos até +70, amarelo.

O valor de  $L^*$  diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) nos grupos de carne irradiada, sem diferença significativa entre as doses de 1kGy e 3kGy ( $p > 0,05$ ), portanto de acordo com os resultados expressos nesta pesquisa, o processo de irradiação alterou a luminosidade da cor da carne de avestruz. O valor de  $a^*$  também foi alterado devido à radiação, notadamente a dose maior que tornou a carne mais vermelha, tendendo para uma cor mais escura. Este resultado, provavelmente, deve-se ao aumento de reações químicas ocasionado pela radiação gama, capaz de alterar a mioglobina, fazendo com que um dos produtos seja um pigmento que enegrece a carne irradiada, sendo sua formação proporcional à dose administrada. Segundo alguns autores esse pigmento pode ser a carboxiemoglobina ou monóxido de carbono-heme mioglobina, conforme relataram Millar et al. (2000a); Millar et al. (2000b) e Nam e Ahn (2003). Os valores de  $b^*$  para os três tratamentos de conservação, não diferiram significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

A análise instrumental de cor da carne de avestruz foi realizada em duas etapas, no início da estocagem (005 dias) e ao final (360 dias) e pôde ser verificado através do valor de  $L^*$ , que a luminosidade permaneceu constante, no grupo controle e diminuiu nas amostras submetidas à radiação, mas o valor de  $a^*$  aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ), nos três grupos de amostras e de  $b^*$ , permaneceu constante. Portanto, o tempo de estocagem ocasionou alteração na cor, principalmente na superfície analisada, convertendo-a para cor próxima da “cor amarronzada escura”, como consequência da formação do pigmento metamioglobina, devido à condição de anaerobiose prolongada durante a estocagem, como citada por John et al. (2005) e Pardi et al. (2001), pois todos os cortes foram, anteriormente ao congelamento, embalados a vácuo.

Estes resultados caracterizaram que tanto dose maior (3kGy) quanto o tempo de estocagem interferem na cor da carne de avestruz, tornando-a mais escura. Estes resultados são semelhantes aos resultados encontrados em outras pesquisas com outros tipos de carne como a de Millar et al. (2000a), ao analisarem carne bovina irradiada com 5kGy e armazenada por sete dias a 4 °C, encontraram valores decrescentes de  $L^*$ , crescentes de  $a^*$ , porém decrescentes de  $b^*$  na carne irradiada enquanto para as amostras controle, os valores de  $L^*$

permaneceram constantes, enquanto os de  $a^*$  aumentaram e  $b^*$ , permaneceram constantes. Destacando-se os valores de  $a^*$ , significativamente maiores na carne irradiada, durante todo período de armazenamento. No mesmo ano, os mesmos autores Millar et al.(2000b) analisando carne de coxa de frango, armazenada a 4 °C durante sete dias, observaram os efeitos da dose de 5kGy de radiação e concluíram que após a irradiação, realizada em 48 horas *post mortem*, os valores de  $L^*$  não apresentaram diferença significativa entre as amostras irradiadas e controle, enquanto os valores de  $a^*$  foram significativamente maiores nas amostras irradiadas, em 2, 5, 6 e 7 dias de análises, em relação ao grupo controle. Os valores de  $b^*$  foram crescentes e significativamente maiores nas amostras irradiadas que nas controle, discordando dos resultados deste estudo. Comprovando, portanto que a irradiação promove alteração de cor na carne de frango tornando-a mais avermelhada, sugerindo como explicação a maior formação do pigmento carboxiemoglobina, através da reação entre o CO (monóxido de carbono), formado em maior quantidade devido à radiólise, com a mioglobina, além da sugestão de mais experimentos que comprovem a origem desse pigmento.

Nam e Ahn (2003) comprovaram que a irradiação em peito de peru ocasionou esse mesmo tipo de alteração de cor, encontrando valor de  $a^*$  de 2,5 para as amostras controle e de 3,5 para amostras irradiadas a 3kGy. Outra pesquisa que comprovou esta tendência foi realizada por Gomes et al. (2003) na qual valores de  $a^*$  mais elevados em carne mecanicamente separada de frango irradiada com 3kGy e 4kGy no 4º dia de estocagem a 2 °C, valores de 15 e 16, respectivamente e de 12 para as amostras não irradiadas. Na mesma pesquisa os valores de  $L^*$ , em torno de 56 e  $b^*$  no valor de 17 permaneceram constantes nos três grupos durante os 12 dias de estocagem. Entretanto, para Lacroix et al. (2002) não ocorreu alteração significativa na cor da carne suína, resfriada, embalada a vácuo e irradiada a 6kGy durante os primeiros 20 dias de armazenamento, porém no intervalo entre 20 e 40 dias, as amostras também apresentaram coloração mais intensa., concordando com os resultados da presente pesquisa, em relação à influência do tempo de estocagem. Para Davis et al.(2004) a dose de 2,2kGy em carne suína não conferiu diferença quanto aos valores de  $L^*$ , variando de 56,12 e 59,88 logo após da irradiação. Porém, aos 35 dias de estocagem detectaram valores significativamente maiores de  $a^*$ , correspondendo a 3,97 e 4,50 e de  $b^*$ , 15,11 e 18,06 no início e no final do mesmo período de estocagem.

Para Zhu et al. (2004) as doses de 1,5 e 2,5 kGy não influenciaram nos valores de  $L^*$  e  $b^*$  para a cor de carne suína, porém os valores de  $a^*$  aumentaram significativamente, variando de 15,2 no início para 15,9; 16,1 e 16,2 em 14, 28 e 42 dias de estocagem. Em oposição, Toledo e Arthur (2003) afirmaram que o tratamento de irradiação não interfere na

biodisponibilidade do ferro em carnes de frango em doses de 2, 4, 6 e 8 kGy, não alterando o tipo de pigmento.

Com o objetivo de caracterizar a carne de avestruz, independente de algum tratamento de conservação ou tempo de estocagem Paleari et al.(1998) registraram valores médios de  $L^*$  de 33,74 para carne bovina e 46,43 para carne de peru resfriadas e 36,74 para carne de avestruz, portanto superior ao encontrado nesta pesquisa. Lambooiij et al.(1999) encontraram para carne de avestruz, os valores médios de 35 para  $L^*$ , 20 de  $a^*$  e 8 de  $b^*$  para cor, em comparação com a presente pesquisa, superiores em relação aos valores de  $L^*$  e  $a^*$  e o de  $b^*$ , similar. Para Sales e Mallet (1996) a carne de avestruz apresenta um tom de vermelho mais escuro que a carne bovina, portanto justifica-se mesmo sendo uma ave, afirmar que sua carne é vermelha.

Hoffman e Fisher (2001) encontraram em aves abatidas com oito anos de idade, carne com valores de  $L^*$  e de  $a^*$  menores e de  $b^*$  similares, comparados com os encontrados em carnes de aves abatidas com 14 meses, indicando que assim como as carnes bovina, suína, de emu e de frango, tornam-se mais escuras com o aumento da idade de abate, principalmente devido a maior concentração de mioglobina, conferindo à cor vermelha mais intensa, característica da carne de avestruzes e de outras ratitas. No mesmo experimento foram encontrados valores de  $L^*$  de 29,42,  $a^*$  de 5,48 e  $b^*$ , 3,51, em aves abatidas com 14 meses de idade, sendo estes valores, quando comparados com os deste estudo, superior de  $L^*$ , inferior de  $a^*$  e inferior de  $b^*$ , ressaltando que a faixa etária de abate, normalmente, encontra-se entre 12 e 14 meses de idade.

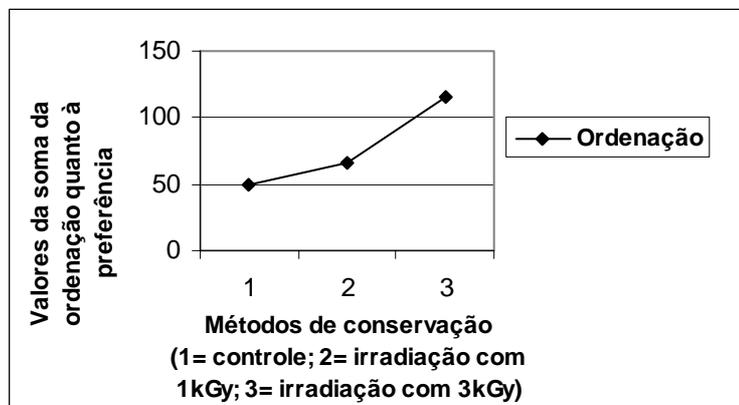
Walshe e Kerry (2001) encontraram valores próximos relativos à cor da carne de avestruz aos citados nesta pesquisa, encontrando valor de  $a^*$  de 12,1 para *Fibularis longus* e 10,84 para *Gastrocnemius internus* resfriados a 4 °C, além de não detectarem diferença significativa na cor de carnes obtidas de animais de gêneros diferentes, ao utilizarem amostragens de seis machos e seis fêmeas.

#### 4.2.6 ANÁLISE SENSORIAL

##### 4.2.6.1 Ordenação da Preferência Quanto à Cor

Esta análise sensorial realizada aos 360 dias de estocagem da carne de avestruz, objetivou, através da comparação entre as amostras de carne de avestruz submetidas aos três tratamentos de conservação, determinar a preferência quanto à cor. Os julgadores

preencheram a ficha ordenando de 1 a 3 as amostras mais e menos preferidas, respectivamente, portanto a que apresentou maior pontuação correspondeu a menos preferida entre as três amostras analisadas (Gráfico 5).



**Gráfico 5.** Resultados do teste de ordenação da preferência quanto à cor de acordo com o método de conservação: carne de avestruz congelada (controle), irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy).

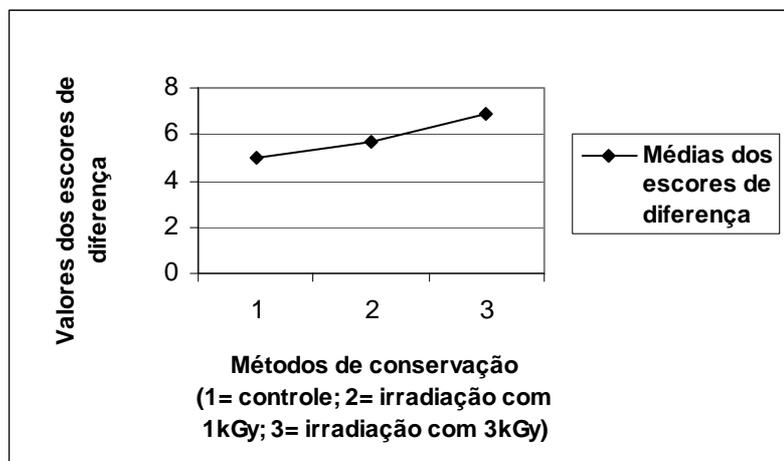
De acordo com a tabela de valores absolutos críticos de diferenças de soma de ordens para comparação a 5% de probabilidade, baseados no teste de soma de ordens de Friedman, para três amostras distintas e 33 julgadores, a diferença mínima significativa corresponde a 20. Portanto, a amostra preferida quanto à cor foi a não irradiada (soma da pontuação igual a 50), que não diferiu da amostra de carne de avestruz congelada e irradiada com 1kGy, que somou 66 pontos. Foi considerada a menos preferida, com 116 pontos, correspondendo a diferença significativa comparada com as duas anteriores, a amostra de carne congelada e irradiada com 3kGy.

Os resultados desta análise confirmam parcialmente os da análise instrumental de cor, pois havendo preferência em relação à cor, constata-se que, nesta análise sensorial, foi detectada diferença significativa entre a carne irradiada com a maior dose, quando comparada com as amostras não irradiada e irradiada com 1kGy.

#### 4.2.6.2 Comparação Múltipla da Diferença Quanto à Cor Vermelha

Esta análise foi realizada aos 360 dias de estocagem das amostras e, através das classificações marcadas por cada julgador, mediu o grau de diferença. Esta diferença, quando encontrada, variou de nenhuma, pequena, grande, moderada e extrema para a cor vermelha considerada menos intensa, igual ou mais intensa que a referência. As classificações foram

transformadas em escores de diferença, segundo Freitas (2005) na faixa da pontuação de 1 a 9. As médias dos escores estão representadas no Gráfico 6.



**Gráfico 6.** Valores médios dos escores convertidos em valores numéricos referentes ao teste de comparação múltipla da diferença quanto à cor vermelha de carne de avestruz congelada (controle) e congelada e irradiada com 1kGy (1kGy) e com 3kGy (3kGy).

Os resultados deste teste sensorial concordaram com a análise de cor, pois foi encontrada diferença entre dois dos três tratamentos de conservação, caracterizando a carne submetida a 3kGy de radiação como significativamente mais escura ( $p < 0,05$ ) que a controle e que a irradiada com 1kGy que, por sua vez, não apresentou diferença em relação à amostra controle ( $p > 0,05$ ), com pontuação intermediária definida como 5, enquanto as demais amostras obtiveram valores de 5,64 e 6,9 para a carne tratada com 1kGy e 3kGy, respectivamente. Portanto, de acordo com esta análise o grau de intensidade da diferença da carne irradiada com 3kGy, comparada com a referência, foi “moderadamente mais escura” que a referência, em uma escala de pequena a extrema diferença.

#### 4.2.6.3 Teste de Aceitação

Com o objetivo de medir o “status afetivo” do produto, foi realizado o teste de aceitação referente a diferentes atributos sensoriais para verificar quais amostras são mais aceitas ou menos aceitas. Para tanto foi utilizada a escala hedônica de nove pontos, correspondendo ao número nove a expressão “gostei extremamente” e a mínima, igual a um, “desgostei extremamente”.

#### 4.2.6.3.1 Aroma e Sabor

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados atribuídos ao aroma da carne de avestruz.

**Tabela 11.** Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo aroma da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	6,17 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,15$ )	6,43 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,99$ )	6,43 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,81$ )	6,57 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,33$ )
1kGy	5,57 <sup>bB</sup> ( $\pm 1,45$ )	6,43 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,78$ )	6,50 <sup>aA</sup> ( $\pm 2,06$ )	6,40 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,85$ )
3kGy	5,67 <sup>bB</sup> ( $\pm 1,22$ )	6,80 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,46$ )	6,52 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,69$ )	6,43 <sup>aA</sup> ( $\pm 1,72$ )

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Observa-se que a radiação, independente da dose, diminuiu a aceitação da carne em relação ao aroma somente no início da estocagem (cinco dias), nos demais intervalos de tempo, a aceitação deste atributo não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ). A pontuação das amostras irradiadas, analisadas em cinco dias de estocagem, correspondeu à aceitação interpretada pelos termos “indiferente” e “gostei ligeiramente”, enquanto no grupo controle durante toda a estocagem e demais amostras irradiadas, corresponderam à aceitação entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Pode-se concluir que a irradiação ocasionou o “off-odor” ou odor característico de carne submetida à radiação, por estimular a liberação de substâncias como hidrocarbonetos diversos responsáveis pela percepção desse odor, como resultado da radiólise de lipídeos, principalmente, conforme Kim et al. (2002); Miyagusku et al. (2003). Com o decorrer do tempo, através da recombinação dessas substâncias esse odor foi se tornando menos evidente. Tal diferença não poderia ser atribuída à volatinização destas substâncias, pois as amostras de carne de avestruz foram mantidas embaladas a vácuo.

Os resultados encontrados nesta pesquisa concordam com os citados por Gomes et al.(2003) ao enfatizarem que as substâncias radiolíticas voláteis, no decorrer da estocagem,

podem se estabilizar através de recombinações, pois em carne de frango mecanicamente separada irradiada com 3kGy e 4kGy, armazenada por 12 dias, apresentou, no início, aroma tipo “tipo pele queimada” atingindo 4,9 e 5,9, respectivamente de acordo com a dose, em uma escala de 10, porém a partir do 4º dia, o aroma atingiu a pontuação equivalente aos outros dois grupos de amostras. Para Miyagusku et al. (2003) o odor de irradiado em carne de frango foi caracterizado como semelhante à “pena ou pêlo queimado” e proporcional à dose utilizada, atingindo notas de 2,5 a 0,8, para amostras irradiadas com 1,5kGy e 3kGy e notas 3,4 a 0,5 para amostras submetidas a 7kGy em uma escala não estruturada de 9cm, com marcação simples apenas nos extremos. Para Zhu et al. (2004) as substâncias voláteis responsáveis pelo “off-odor” aumentaram muito nas amostras de carne suína irradiadas a 2,5kGy, sendo praticamente indetectável em amostras não irradiadas. Porém, o efeito benéfico da radiação foi detectado por Lacroix et al. (2002) que irradiaram carne suína crua embalada a vácuo com 6kGy onde aos 43 dias não observaram alteração nos atributos de sabor e aroma, enquanto nas amostras controle, a avaliação sensorial teve que ser interrompida com 28 dias de armazenamento devido ao avançado estado de deterioração. De acordo também com os resultados encontrados por Gomes et al.(2003) que, no período de oito a 10 dias de estocagem da carne mecanicamente separada de frango irradiada a 3kGy e 4kGy, detectaram o odor de oxidação nas amostras irradiadas ( $p < 0,05$ ), atingindo valor 4 em uma escala crescente de 0 a 10, diferindo entre as doses no 12º dia, sendo maior para 4kGy, enquanto que para amostras controle, os valores estabilizaram em torno de 2, durante a estocagem.

Para Al-Bachir e Mehio (2001) a irradiação com doses de até 4kGy não foram suficientes para determinar alteração sensorial, quanto ao sabor e aroma, entre amostras de produtos cárneos.

Otremba et al. (1999) ao analisarem carne de avestruz embalada a vácuo e congelada a -40 °C por 5 dias e, posteriormente, armazenada a 0 °C, o aroma tornou-se mais intenso no decorrer de 28 dias, porém a carne foi considerada inaceitável para o consumo no 14 ° dia de estocagem. Complementando, Dainty e Mackey (1992) consideraram a contaminação por bactérias psicotróficas como uma das principais causas para o surgimento de odor desagradável, típico de carne em progressivo estágio de deterioração, indicando que contagens entre 6-8 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> são suficientes para tal efeito, entretanto, na presente pesquisa mesmo sendo encontrado o valor de 7,68 log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> para estas bactérias aos 240 dias de estocagem, não foi percebida alteração no aroma característico da deterioração de carne.

Para Harris et al. (1994) que analisaram sensorialmente os atributos de cor, textura, aroma e sabor, com provadores não treinados, detectaram diferenças leves entre a carne de avestruz e a bovina, porém essas diferenças não afetaram a aceitação global desta carne.

Alur et al. (1998) relataram que não houve diferença em termos de cor, aroma e textura em produtos cárneos irradiados com 4kGy, sendo considerada ótima dose para tais produtos. Embora neste experimento tenham sido aplicadas doses de 1kGy e 3kGy, inferiores ao mencionado por esses autores, também não foram detectadas diferenças significativas nos atributos sensoriais citados em relação à carne de avestruz, no presente estudo.

Na Tabela 12, estão os valores referentes às pontuações da escala hedônica do teste de aceitação sensorial para os mesmos atributos em relação aos tempos de estocagem.

**Tabela 12.** Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo sabor da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	6,53 <sup>bA</sup> (±1,43)	7,20 <sup>aA</sup> (±1,56)	7,57 <sup>aA</sup> (±1,30)	7,33 <sup>aA</sup> (±1,24)
1kGy	6,40 <sup>bA</sup> (±1,35)	7,57 <sup>aA</sup> (±1,30)	7,20 <sup>aA</sup> (±1,83)	7,67 <sup>aA</sup> (±0,99)
3kGy	6,90 <sup>bA</sup> (±1,47)	7,53 <sup>aA</sup> (±1,33)	7,37 <sup>aA</sup> (±1,21)	7,34 <sup>aA</sup> (±1,32)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A,B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

De acordo com a pontuação da escala hedônica de nove pontos, o processo de irradiação, tanto com 1kGy, quanto com 3kGy de doses, não interferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) na aceitação do sabor da carne de avestruz. Sabendo-se que a pontuação máxima, correspondente ao número 9 (nove) que significa “gostei extremamente” e a mínima, igual a 1(um), correspondendo a “desgostei extremamente”, os três tipos de tratamentos de conservação das amostras de carne de avestruz, obtiveram aceitação quanto ao sabor entre “gostei ligeiramente” e “gostei muito”. Pode-se concluir também que o acondicionamento em embalagem a vácuo e a manutenção da temperatura de congelamento durante todo o período, foram realizados e monitorados de forma apropriada.

Marks et al. (1998) analisaram sensorialmente carne de avestruz, utilizando a carne bovina para comparação e, através de uma escala igual a deste experimento, encontraram valores de 6,24 para o grau de aceitação do sabor da carne de avestruz, sendo maior significativamente que a média 6,00 para a carne bovina.

A aceitação da carne de avestruz quanto ao sabor aumentou no decorrer da estocagem, em 120, 240 e 360 dias. Sugere-se que a menor aceitação do sabor no início da estocagem para amostras irradiadas tenha sido influenciada pela também menor aceitação do aroma no mesmo devido à formação do “off-flavor”, pois sabe-se que o sabor pode ser definido como uma experiência complexa que envolve sensações olfativas, gustativas e táteis percebida durante a degustação.

#### 4.2.6.3.2 Cor e Impressão Global

Na Tabela 13 os resultados das médias dos valores da escala hedônica em relação ao teste de aceitação referente à cor para os três tratamentos (controle, irradiada com 1kGy e irradiada com 3kGy) nos quatro períodos de estocagem.

**Tabela 13.** Resultados do teste de aceitação sensorial referentes ao atributo cor da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	7,44 <sup>aa</sup> (±0,97)	7,38 <sup>aa</sup> (±1,14)	7,43 <sup>aa</sup> (±1,56)	7,33 <sup>aa</sup> (±1,24)
1kGy	7,49 <sup>aa</sup> (±1,78)	7,53 <sup>aa</sup> (±1,10)	7,60 <sup>aa</sup> (±1,82)	7,50 <sup>aa</sup> (±1,46)
3kGy	7,43 <sup>aa</sup> (±1,20)	7,57 <sup>aa</sup> (±1,03)	7,15 <sup>ab</sup> (±1,92)	7,13 <sup>ab</sup> (±1,35)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

Para o atributo cor, houve diminuição significativa da aceitação da carne de avestruz, irradiada com 3kGy e armazenada por mais tempo (240 e 360 dias). Esta alteração foi confirmada pela análise instrumental de cor, pois aliando a maior dose com o maior tempo de

estocagem, verificou-se a cor mais escura da carne, sendo, então, percebido pelos provadores, mesmo não treinados ou realizando comparações. A aceitação da cor da carne de avestruz de acordo com as médias, corresponde aos termos “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Para Paleari et al. (1995) a cor da carne de avestruz, crua ou após cocção é comparável com a cor da carne bovina. Para Sales e Mellett (1996) a carne de avestruz apresenta coloração mais intensa que a carne bovina, concordando com Harris et al. (1994) que, através de uma escala de 8 pontos, variando de vermelho muito escuro até vermelho cereja luminoso, encontraram valores entre 4,44 e 5,59, sendo a carne de avestruz caracterizada entre “vermelho ligeiramente escuro” e “vermelho ligeiramente cereja”, enquanto a carne bovina, em mesma análise, obteve classificação correspondente a “vermelho cereja moderadamente intenso”. Para Cooper e Horbañczuk (2002) a cor mais intensa da carne de avestruz pode ser atribuída em parte, por seu elevado pH final e conteúdo relativamente alto do mineral ferro, aumentando proporcionalmente, a quantidade do radical heme, contribuindo para a formação de mais mioglobina. A carne de avestruz contém cerca de 2,3 mg de ferro/100g de carne, a bovina, 2,2 mg de ferro/100g e frango, 0,9 mg de ferro/100g, enquanto para Santos (1999) esse valor é superior, 3,43 mg de ferro/100g. Também de acordo com Otremba et al.(1999), a carne de avestruz foi considerada mais escura, através de análise instrumental (CIE Lab), quando comparada com carne bovina e, sensorialmente, tornou-se mais escura no decorrer de 28 dias estocada sob refrigeração. A carne de avestruz embalada a vácuo e armazenada a 0 °C apresentou aroma inaceitável aos 14 dias, portanto recomendou-se que, quando submetida às mesmas condições deve ser armazenada até o prazo máximo de dez dias.

Para Morris et al.(1995) músculos de avestruzes da mesma carcaça podem apresentar diferenças de cor, pois analisando sensorialmente a cor de dez músculos, encontraram médias diferentes entre si, variando de 4,44 a 5,59, obtidas através de uma escala variando de 1 para vermelho escuro até 8, representando vermelho cereja.

Na Tabela 14, estão citados os valores referentes ao teste de aceitação da impressão global da carne de avestruz submetida a diferentes métodos de conservação e em diferentes tempos de estocagem.

**Tabela 14.** Resultados do teste de aceitação sensorial referentes à impressão global da carne de avestruz congelada (controle), congelada e irradiada com 1kGy (1kGy), congelada e irradiada com 3kGy (3kGy) em relação ao tempo de estocagem (005, 120, 240 e 360 dias).

Tratamento	Tempo de Estocagem			
	005 dias	120 dias	240 dias	360 dias
Controle	6,77 <sup>ba</sup> (±1,13)	7,23 <sup>aA</sup> (±1,45)	7,23 <sup>aA</sup> (±1,22)	7,33 <sup>aA</sup> (±0,88)
1kGy	6,57 <sup>ba</sup> (±1,09)	7,20 <sup>aA</sup> (±1,21)	7,00 <sup>aA</sup> (±1,84)	7,40 <sup>aA</sup> (±0,89)
3kGy	6,87 <sup>ba</sup> (±1,14)	7,43 <sup>aA</sup> (±1,19)	6,97 <sup>aA</sup> (±1,21)	7,20 <sup>aA</sup> (±0,96)

<sup>a, b, c</sup> Médias na mesma linha seguidas de diferentes letras minúsculas diferem significativamente em relação ao tratamento ( $p < 0,05$ ).

<sup>A, B, C, D</sup> Médias na mesma coluna seguidas de diferentes letras maiúsculas diferem significativamente em relação ao tempo de estocagem ( $p < 0,05$ ).

A impressão global, qualidade conferida pela a ação conjunta dos atributos sensoriais citados anteriormente e pela textura, não sofreu influência significativa ( $p > 0,05$ ) pelo tratamento de irradiação, mantendo-se com aceitação caracterizada como “gostei ligeiramente” a “gostei muito”.

Quando verificada a interferência do tempo de estocagem, percebe-se que no início, cinco dias, houve menor aceitação quanto à impressão global ( $p > 0,05$ ), comparando-se com os demais períodos até 360 dias. Sugere-se que esta menor aceitação logo após a irradiação tenha ocorrido devido à formação do “off-flavor”, enquanto na amostra controle, pode ter se manifestado a subjetividade do teste.

#### 4.2.7 DOSE DE RADIAÇÃO APLICADA NAS AMOSTRAS ANALISADAS

Nos dados obtidos por regressão linear, através da ressonância paramagnética eletrônica, para detecção da dose de 1kGy de radiação nas amostras de osso de avestruz, foram encontrados valores de 868,8Gy, 331,9Gy e 179,8Gy para as amostras estocadas por 5, 240 e 360 dias, respectivamente. Enquanto os dados obtidos através de mesma análise para detecção da dose de 3kGy corresponderam a 826,7Gy, 1469,7Gy e 2222,0Gy estocadas nos mesmos intervalos de tempo e sob temperatura de congelamento (APÊNDICES 7.5; 7.6).

Ao verificar a discussão dos resultados das análises anteriores, pode-se observar que houve diferenças proporcionais, em relação aos três tratamentos (controle e amostras

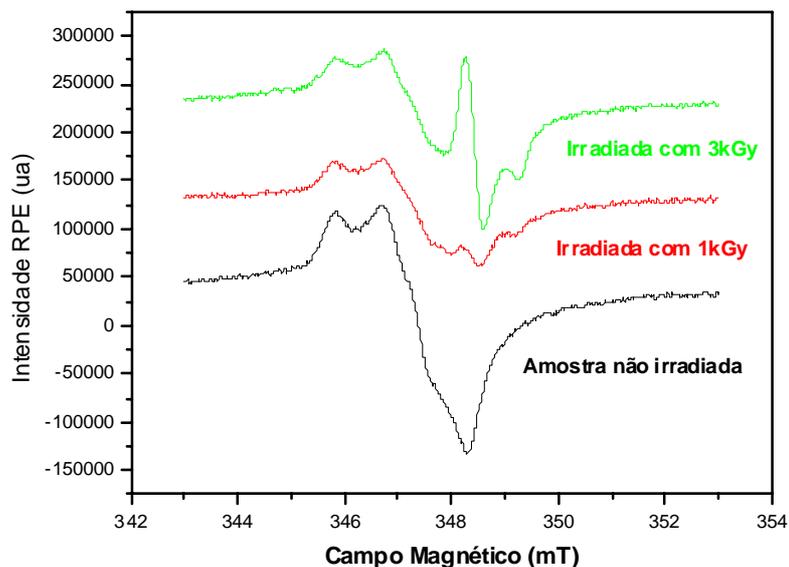
submetidas a duas doses: 1kGy e 3kGy). Este fato sugere que, no mínimo, as doses absorvidas foram próximas às aplicadas.

Ao analisar os valores de dose absorvida pelas amostras, devem ser considerados alguns fatores. O processo de irradiação não pode ser facilmente identificado, pois envolvem alterações consideradas mínimas e existem poucas técnicas que conseguem realizar esta identificação. É considerada muito mais difícil a determinação da dose aplicada e, neste caso, a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) é uma das raras ou talvez mesmo, a única capaz de conferir um resultado razoável.

Medidas em amostras de osso de avestruz, utilizando esta ou outra técnica para determinação da dose de radiação, não foram encontradas na literatura consultada. Agrega-se o fato do osso da coxa de avestruz (tíbia) ser de camada cortical muito mais espessa na região mediana (diáfise) que nas extremidades (epífises) ou em regiões próximas e as amostras, cortes transversais da coxa, possuíam partes aleatórias deste osso. Este método baseia-se na quantificação das moléculas do radical  $\text{CO}_2^-$  (carboxil) na camada óssea cortical, onde ficam retidas. Considerando diferenças de espessura das amostras de osso, pode-se prever que dependendo da disponibilidade de tecido mineralizado, pode haver variação quanto à formação do radical  $\text{CO}_2^-$ , logo, na medida de dose absorvida.

Outro fator que pode ter influenciado neste resultado é que o sinal do osso é muito intenso, o que contribui para dificultar a determinação da dose, pois os sinais são superpostos.

A Figura 16 apresenta três sinais de espectros de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) das amostras de osso de avestruz: amostras não irradiada, irradiada com 1kGy e irradiada com 3kGy. Estes espectros foram realizados com as amostras que confirmaram as doses absorvidas próximas às aplicadas. Vale destacar que valores aproximados devem ser considerados, pois a metodologia dificilmente confere valores exatos aos das doses utilizadas.



**Figura 16.** Espectros de RPE das amostras não irradiada, irradiada com 1kGy e irradiada com 3kGy, de osso de avestruz .

A molécula de hidroxiapatita -  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  é a principal constituinte da fase mineral dos ossos, a partir da qual sob efeito da radiação são formados os radicais identificados e quantificados nesta análise.

Comparando os espectros, pode-se observar a diferença entre a curva da amostra não irradiada, correspondente ao sinal natural da hidroxiapatita e a amostra irradiada com 1kGy, com um pequeno sinal na região inferior do espectro devido ao radical  $\text{CO}_2^-$ , que aparece muito mais intenso no espectro relativo à dose de 3kGy.

A metodologia utilizada identificou de forma clara quando as amostras foram irradiadas (1kGy e 3kGy), mesmo não conferindo o resultado referente ao valor da dose neste caso específico.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados experimentais do presente estudo permitiram concluir que:

- O declínio da temperatura das carcaças de aves durante o resfriamento industrial ocorreu dentro dos padrões pré-estabelecidos; não diferindo entre os dois músculos;
- O valor do pH diminuiu, estabelecendo-se em 6 horas após a sangria até as 24,0 horas, sendo significativamente maior no músculo *Fibularis longus*;
- A contração máxima do *rigor mortis*, caracterizado pelo menor comprimento de sarcômero e maior força de cisalhamento, se estabeleceu em 30 minutos após a sangria; sendo maior no músculo *Fibularis longus*;
- Pelo fato da Temperatura dos músculos ter alcançado cerca de 10 °C às 6h após sangria, enquanto a contração máxima do sarcômero em 30 min., diminuiu a possibilidade do encurtamento pelo frio, que caracteriza grandes perdas econômicas durante o resfriamento de bovinos;
- A força de cisalhamento foi inversamente proporcional ao comprimento de sarcômero, sendo maior no músculo *Fibularis longus*, portanto o *Gastrocnemius internus* foi considerado o mais macio;
- A perda de peso por cocção foi proporcional à força de cisalhamento, comprovando a importância da capacidade de retenção de água na textura da carne, sendo maior no *Fibularis longus*.
- A irradiação foi eficiente para a inativação das bactérias psicrotróficas, de forma proporcional ao aumento da dosagem (1kGy e 3kGy);
- Bactérias psicrotróficas apresentaram contagens crescentes em todas as amostras durante o período de estocagem, porém nas amostras irradiadas a contagem foi inferior;

- Bactérias do gênero *Enterococcus* apresentaram aumento na enumeração, principalmente quando as amostras foram irradiadas com dosagem de 3kGy, provavelmente devido a destruição da microbiota competitiva;
- As contagens de bactérias e *Enterococcus* spp. apresentaram aumento de contagens no decorrer do tempo de estocagem;
- A atividade de água não apresentou diferença significativa com a dosagem de irradiação ou tempo de estocagem;
- Os lipídios apresentaram maior teor de oxidação proporcional à dosagem de radiação e ao tempo de estocagem;
- A análise instrumental de cor revelou que o processo de irradiação e o tempo de estocagem influenciaram na cor da carne de avestruz, tornando-a mais escura;
- Os testes de sanidade revelaram que as amostras dos três grupos de tratamentos (carne congelada, congelada e irradiada com 1kGy, congelada e irradiada com 3kGy) apresentaram-se apropriadas para o consumo até o prazo máximo de análises deste experimento, de 360 dias.
- A carne de avestruz irradiada com 3kGy foi a menos preferida, quando comparada com a carne não irradiada ou irradiada com 1kGy;
- De acordo com teste de aceitação, as dosagens de radiação de 1kGy ou 3kGy não interferiram nos atributos sensoriais de sabor, cor e a impressão global, diminuindo a aceitação do aroma da carne;
- Conforme o teste de aceitação, a carne de avestruz permaneceu apta para o consumo durante todo o período de estocagem, correspondente a 360 dias, deste experimento.
- Confirmou-se a absorção de radiação nas amostras através da Ressonância Paramagnética Eletrônica, porém sem identificação do valor da dosagem.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; GERRARD, D.E.; EDWAR, W. M. *Principles of meat science*. 4 ed. Iowa: Kendall//Hunt Publishing Company, 2001, 354p.

ABREU, R. L. *Correlação entre tempo, temperatura e pH com comprimento de sarcômero no rigor mortis de carcaça frigorificada de bovino*. Niterói, 1984. 81p. Tese (mestrado de Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) Universidade Federal Fluminense.

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Análise sensorial dos alimentos e bebidas – terminologia* - NBR 12806. São Paulo: ABNT, 1993.

ABULARACH, M. L. S.; CARLOS, E.; FELÍCIO, P. E. Características de Qualidade do Contra-filé (*Longissimus dorsi*) de Touros jovens da raça Nelore. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 1, n. 2, p. 205-210, 1998.

ADA REPORTS – American Dietetic Association. *Position of the american dietetic assoaon: food irradiation*. Journal of the American Dietetic Assoaon. USA., v. 96, n. 1, p. 69-72, 1996.

ADDIS, P. B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food Chemistry Toxicological*, v. 24, p. 1021-1025, 1986.

AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA ATÔMICA - IEA. *Irradiação de alimentos: ficção e realidade*. Tradução por Comissão Nacional de Energia Nuclear – Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear & Governo do Estado de Minas Gerais – Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Tradução de: *Facts about Food Irradiation*. Minas Gerais, Lê, 1991. 38p.

AL -BACHIR, M.; MEHIO. Irradiated luncheon meat: microbiological, chemical e sensory characteristics during storage. *Food Chemistry*, v. 75, n. 2, p. 169-175, 2001.

AL-KAHTANI, H. A.; ABU-TARBOUSH, H. M.; BAJABER, A. S.; Chemical changes alter irradiation and post irradiation storage in tilapia and Spanish Mackerel. *Journal of Food Science*, v. 61, n. 4, p. 729-733, 1996.

ALLONSO-CALLEJA, C.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, B.; PRIETO, M.; CAPITA, R. Microbiological quality of vacuum-packed retail ostrich meat in Spain. *Food Microbiology*, v. 21, n. 2, p. 241-246, 2004.

ALUR, M.D.; KAMAT, A.S.; DOKE, S.N.; NAIR, P.M. Development of radication process for eradicating *Salmonella* and *Staphylococcus* from pork meat products. *Journal of Food Science and Technology*, v. 35, n. 1, p. 15-20, 1998.

ALVARADO, C. Z.; SAMS, A. *Rigor mortis* development in turkey breast muscle and the effect of electrical stunning. *Poultry Science*, v. 79, p. 1694-1698, 2000.

ÁLVAREZ-ASTORGA, M. CAPITA, R.; ALLONSO-CALLEJA, C.; MORENO, B.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M. C. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Science*, v. 62, p. 45-50, 2002.

ANDERSON, T. J.; PARRISH JR., F. C. *Postmortem* degradation of titin and nebulin of beef steaks varying in tenderness. *Journal of Food Science*, v. 54, p. 748-749, 1989.

AOKI, T.; UENO, R. Involvement of cathepsins B and L in the post-mortem autolysis of mackerel muscle. *Food Research International*, v. 30, n. 8, p. 585-591, 1997.

BADR, H. M. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Science*, v. 67, n. 4, p. 541-548, 2004.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. *Manual de Técnicas para Histología Normal e Patológica*. São Paulo: EDART-Editora USP, 1976, 236p.

BERGE, P.; LEPETIT, J.; RENERRE, M.; TOURAILLE, C. Meat quality in the emu (*Dromaius novaehollandiae*) as affected by muscle type and animal age. *Meat Science*, v. 45, n. 2, p. 209-221, 1997.

BERTHIER, C.; BLAINEAU, S. Supramolecular organization of the subsarcolemmal cytoskeleton of adult skeletal muscle fibers. A review. *Biology of the Cell*, n. 89, p. 413-434, 1997.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à Química de Alimentos*. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 1989, 222p.

BÖGL, K.W. Identification of irradiated foods - methods, development and concepts. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 40, n. 10-12, p. 1203-1210, 1989.

BOUTON, P. E.; CARROL, F. D.; HARRIS, P. V. SHORTHOSE, W. R. Influence of pH and fibre contraction state factors affecting the tenderness of bovine muscle. *Journal of Food Science*, v. 38, 404-407p. 1973.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. *Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal* (Aprovado pelo Decreto nº 30.691 de 29-03-52, alterado pelos Decretos nºs 1,255 de

25-06-62, 1.236 de 02-09-94, nº 1.812 de 08-02-96 e nº 2.244 de 05-06-97). DIPOA-MAPA, Brasília-DF, 1997, 241p.

\_\_\_\_\_. *Métodos Analíticos Físico-químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura* - SDA. Instrução Normativa nº 20, de 21/07/99, publicada no Diário Oficial da União, de 09/09/99. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Defesa Agropecuária. *Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de animais de açougue*. Instrução Normativa nº 3, de 17 de janeiro de 2000 (aprovado pela portaria ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, processo nº 21000.003895/99-17), 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 21 de 26 de Janeiro de 2001. *Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos*. Diário Oficial de 29-01-2001.

BYRNE, C. E.; TROY, D. J.; BUCKLEY, D. J. *Post mortem* changes in muscle electrical properties of bovine *M. longissimus dorsi* and their relationship to meat quality attributes and pH fall. *Meat Science*, v. 54, n. 1, p. 23-34, 2000.

CHAVES, J. B. P. *Manual de diferença em Avaliação sensorial de alimentos*. Viçosa/ Minas Gerais: Imprensa Universitária- Universidade Federal de Viçosa, 1993. 91p.

CHISTENSEN, M.; LARSEN, L. M.; PURSLOV, P. P The effect of exogenously added m-calpain on the mechanical properties of single muscle fibres extended to fracture. In *Proceedings 46<sup>th</sup> international congress of meat science and technology*, v. 27, p. 460-461, 2000.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. CHISTENSEN, M.; LARSEN, L. M.; PURSLOV, P. P. Effect of proteolytic enzyme activity and heating on the mechanical properties of bovine single muscle fibres. *Meat Science*, v. 66, p. 361-369, 2004.

CLEYS, E.; UYTTERHAEGEN, L., DEMEYER, D., DDE SMET, S. Beef myofibrillar protein salt solubility in relation to tenderness and proteolysis. In: *Proceedings of 40<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*. The Hague, The Netherlands, 1994.

CODEX ALIMENTARIUS. 2 ed. v. IA, CAC/RCP: *Recommended International Code of Practice for the operation of irradiation facilities used for the treatment of foods*. FAO/WHO, Rome, 1995.

CONFORTH, D.P.; PEARSON, A.M.; MERKEL, R.A., Relationship of mitochondria and sarcoplasmic reticulum to cold shortening. *Meat Science*, n. 4, p. 103–12, 1980.

COOPER, G. R.; HORBAŃCZUK, J. O. Anatomical and physiological characteristics of ostrich(*Struthio camelus* var. *domesticus*) meat determine its nutritional importance for man. *Animal Science Journal*, v. 73, p. 1667-173, 2002.

COUSIM, M. A.; JAY, J.M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic Microorganisms in DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. American Public Health Association (APHA), Washington, 2001. 676p. Cap. 13, p. 159-166.

DAINTY, R. H.; MACKEY, B. M. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of applied Bacteriology Symposium Supplement*, n. 73, p. 103S, 1992.

DAMÁSIO, M. H. Métodos sensoriales y sus aplicaciones. In: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. A. P. *Avances en análisis sensorial*. São Paulo: Varela, 1999. 286 p. cap 3, p. 35-48.

DAVIS, K. J.; SEBRANEK, J. G.; HUFF-LONERGAN, E.; AHN, D.; LONERGAN, S. M. The effects of irradiation on quality for injected fresh pork loins. *Meat Science*, v. 67, n.3, p. 395-401, 2004.

DE PENNA, E. W. Métodos sensoriales y sus aplicaciones. In: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. A. P. *Avances en análisis sensorial*. São Paulo: Varela, 1999. 286 p. cap 1, p. 13-20.

DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNEIS V.; NOEL, J., FLEURENCE, J. Proteolytic potential in white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) during *post mortem* storage on ice: time-dependent changes in the activity of the components of the calpain system. *Food Chemistry*, v. 64, n. 3, p. 441-446, 2004.

DELLA MODESTA, R. C. Manual de Análise sensorial de alimentos e bebidas. Tomo I, Tomo II e Tomo III. Rio de Janeiro: EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)- CTAA, 1994, 245p.

DESMONTS, M. H.; CARTIER, P. Méthodologie de contrôle de la qualité hygiénique d'un avant de bovines. *Viandes Production Carnes*, v. 11, p. 169-175, 1990.

DESROSIERS, M. F.; WILSON, G. L.; HUNTER, C. R.; HUTTON, D. R. Estimation of the absorbed dose in radiation-processed food-1. test of the EPR response function by a linear regression analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 42, n. 7, p. 613-616, 1991.

\_\_\_\_\_. Current status of the EPR method to detect irradiated food. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 47, n. 11-12, p. 1621-1628, 1996.

DESTEFAINS, G. BARGE, M. T.; BRUGIAPAGLIA, A.; TASSONE, S. The use of principal component analysis (PCA) to characterize beef. *Meat Science*, v. 56, n. 3, p. 255-259, 2000.

DEVINE, C.E., PAYNE, S.R., PEACHEY, B.M., LOWE, T.E., INGRAM, J.R. AND COOK, C.J. High and low *rigor* temperature effects on sheep meat tenderness and ageing. *Meat Science*, v. 60, p. 141-146, 2002.

DHILON, A. S.; MAURER, A. J. Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. *Poultry Science*, v. 54, p. 1407-1414, 1975.

DIEHL, J. F. *Safety of irradiated food*. New York: Marcel Dekker Inc, New York, 345p. 1990.

\_\_\_\_\_. Nutritional effects of combining irradiation with other treatments. *Food Control*, v. 2, p. 20-25, 1991.

\_\_\_\_\_. Food Irradiation: past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, p. 211-215, 2002.

DORFMAN, L. M.; ADAMS, G. E. *Reactivity of hydroxyl radical in aqueous solution*. Nat. Bur. Stand. (U.S.) Rep. NSRDS-NBS, v. 46, 1973.

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

\_\_\_\_\_. Optimisation of tenderization, ageing and tenderness. *Meat Science*, v. 36, p. 105-121, 1994.

DURANTE, W. D. Food Processors requirements met by radiation processing. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, n. 3-6, p.289-294, 2002.

FAO/ AIEA/OMS. Food Agriculture Organization/International Atomic Energy Agency/ Organização Mundial da Saúde. Bases Tecnicas para la Legislación Referente a los Alimentos Irradiados, Roma, 1966, 62p.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food- A review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 44, n. 3, 189-204, 1998.

FELDHUSEN, F.; WARNATZ, A.; ERDMANN, R.; WENZEL. Influence of storage time on parameters of colour stability of beef. *Meat Science*, v. 40, p. 235-243, 1995.

FENNEMA, O. R. *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, 1993. 1095p.

FERNANDES, X.; TORNBERG, E. The influence of high temperature and differing ultimate pH on the course of rigor and ageing in pig *Longissimus dorsi* muscle. *Meat Science*, v. 36, n. 3, p. 345-363, 1994.

FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. *Revista Nutrição*, v. 11, p. 3-14, 1999.

FIEMS, O. L.; DE CAMPENEERE, S.; VAN CAELENBERG, W.; DE BOEVER, J. L.; VANACKER, J. M. Carcass and meta quality in double- muscled belgian blue bulls and cows. *Meat Science*, v. 63, n. 3, p. 545-552, 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Livraria Atheneu, 1996. 128p.

FRANZ, C. M. A. P.; HOLZAPFEL, W. H.; STILES, M. E. Enterococci at the crossroads of food safety? *International Journal of Food Microbiology*, v. 47, n. 1-2, p. 1-24, 1999.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. *Microbiologia de los alimentos*. 4 ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

FREITA, R.M. *Preservação de Alimentos por Irradiação em baixas doses*. Dissertação. Rio de Janeiro, 2003. 118p. (Mestrado em Ciência de Engenharia Nuclear). 118p. Secretaria de Ciência e Tecnologia, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2005.

FREITAS, M. Q. *Análise Sensorial de Alimentos*. Centro de Ciências Médicas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2005, 81p.

\_\_\_\_\_. *Correlação entre pH e comprimento de sarcômero em músculos de aves (Gallus domesticus) durante o processamento industrial para obtenção de carcaças resfriadas*. Niterói,. 1990. 68p. Dissertação (Mestrado de Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)- Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1992.

FRIEDMAN, M. *Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing*. Plenum Press. New York, p. 11-31, 1991.

GEESINK, G. H.; KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by  $\mu$ - calpain under *post mortem* conditions. *Journal of Animal Science*, v. 77, p. 26855- 2692, 1999.

\_\_\_\_\_. KOOLMEES, P. A.; VAN LAACK, H. L. J. M.; SMULDES, F. J. M. Determinants of tenderization in beef *Longissimus dorsi* and *Triceps brachii* Muscles. *Meat Science*, v. 41, n. 1, p. 7-17, 1995.

\_\_\_\_\_. MAREKO, M. H. D.; MORTON, J. D.; BICKERSTAFFE, R. Electrical stimulation- when more is less. *Meat Science*, v. 57, n. 2, p.145-151, 2001.

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. *Higiene e vigilância Sanitária de alimentos*. São Paulo: Editora Varela, 2001, p.421- 442.

GIANONNI, M. L. Criação de avestruzes: a situação brasileira. *Conferência Apinco 96 de Ciência e Tecnologia Avícolas*, p. 7-16, 1996.

GIL, M.; HORTÓS, M.; SÁRRAGA, C. Calpain and cathepsin activities and protein extractability during ageing of *Longissimus* porcine muscle from normal and PSE meat. *Food Chemistry*, v. 63, n. 3, p. 385-390, 1998.

GIRAFFA, G. *Enterococci* from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 26, n. 2, p. 163-171, 2002.

GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat- a review. *Food Research International*, v. 31, n. 4, 257-264 p., 1998.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; TAYLOR, R.G.; CHRISTIANSEN, J.A. Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie*, v. 74, p. 225–237, 1992.

GOMES, H. A.; SILVA, E. N.; CARDELLO, H. M. A.B.; CIPOLLI, K. M. V. A. Effect of gamma radiation on refrigerated mechanically deboned chicken meat quality. *Meat Science*, v. 65, n. 2, p. 919-926, 2003.

GRACEY, J. COLLIMS, D. S.; HUEY, R. *Meat hygiene saunders*. 10 ed. 407p, 1999.

GRAY, J. I.; GOMMA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, v. 43, S111-S113p. Supplement1, 1996.

GRÉGOIRE, O.; CLELAND, M. R.; MITTENDORFER, J.; DABABNED, S.; EHLERMANN, D. A. E.; FAN, X.; KAPPELER, F.; LOGAR, J.; MEISSNER, J.; MULLIER, B.; STICHELBAUT, F.; THAYER, D. W. Radiological safety of food irradiation with high energy X-rays: theoretical expectations and experimental evidence. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 67, n. 2, p. 169-183, 2003.

GRUIZ, K; KISS, I. Effect of ionizing radiation on the lipids in frozen poultry. *Acta Alimentaria*, v. 6, n. 2, p.111-127, 1987.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973p.

HAMPSON, J.W.; FOX, J. B.; LAKRITZ, L.; THAYER, D. W. Effect of low dose gamma radiation on lipids in five different meats. *Meat Science*, v. 42, n. 3, 271-276 p., 1996.

HANNULA, T.; PUOLANNE, E. The effect of cooling rate on beef tenderness: the significance of pH at 7 °C. *Meat Science*, v. 67, n. 3, p. 403-408, 2004.

HARRIS, S. D.; MORRIS, C. A.; JACSON, T. C.; MAY, S.G.; LUCIA, L. M.; HALE, D. S.; MILLER, R. K.; KEETON, J. T.; SAVELL, J. W.; ACUFF, G. R. Ostrich Meat Industry Development. *American Ostrich Association*, 40p. 1994.

HERNANDES, N. K, VITAL, H. C, SABAA-SRUR, A. U. O. *Irradiação de alimentos: Vantagens e Limitações* – Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos - SBCTA , Campinas, v.37, n.2, p. 154-159, 2003.

HERRING, H. K.; CASSENS, R.G. AND BRISKEY, E.J. Sarcomere length of free and restrained bovine muscle at low temperature as related to tenderness. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 16, p. 379-385, 1965.

HOFFMAN, L. C.; FISHER, P. Comparison of meat quality characteristics between young and old ostriches. *Meat Science*, v. 59, n. 3, p. 35-337, 2001.

HOLZAPFEL, W. H; HABERER, P.,J.; SNEL, J.; SCHILLINGER, U.; HUIS, J. H. J. Huis in't velt, overview of gut flora and probiotics. *International Journal Food Microbiolog* , v. 41, p. 85-101, 1998.

HONIKEL, K. O.; FISCHER, C.; HAMM, R. Characteristics and utilization of pre rigor meat. *Annais Technology Agriculture*, v. 9, n. 4, p. 589-602, 1980.

\_\_\_\_\_. RONCALES, 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.

\_\_\_\_\_. KIM, C.J.; HAMM, R.; RONCALES, P. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, v. 16, n. 4, p. 267-282, 1986.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, J. M. Inibition of protease activity 2: Degradation of myofibrillar proteins, myofibril examination and determination of free calcium levels. *Meat Science*, v. 59, p. 199-209, 2001.

HUALLANCO, M. B. A. *Aplicação de um sistema de classificação de carcaças e cortes e efeito pós abate da qualidade de cortes de frango criados no sistema alternativo*, Piracicaba-SP, 2002. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Piracicaba-SP. Dezembro, 2004.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of post mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, v. 71, n. 1, p. 194-204, 2005.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; AYMERICH, M. T. Functionalty of *Enterococci* in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, v. 88, n. 2-3, p. 223-233, 2003.

HUGHES, M. C.; GEARY, S.; DRANSFIELD, E.; MESWEENEY, P. L. H.; O'NEILL, E. E. Characterization of peptides realized from rabbit skeletal muscle and light ionic strength. *Meat Science*, v. 59, p. 61-69, 2001.

HUHTANEN, C. N. Gamma Radiation Inactivation of Enterococci. *Journal of Food Protection*, v. 53, n. 4, p. 302-305, 1990.

HUIDOBRO, F. R.; MIGUEL, E.; ONEGA, E.; BLÁZQUEZ, B. Changes in meat quality characteristics of bovine meat during the first 6 days post mortem. *Meat Science*, v. 65, p. 1439-1446, 2003.

HUTZIER, R. U. Utilização de irradiação em carnes de aves e produtos derivados. *Revista Nacional da Carne*, n. 250, p. 34-37, 1997.

HWANG, H. I. PARK, B. Y.; CHO, S. H.; LEE, J. M. Effects of muscle shortening and proteolysis on warner-bratzler shear force in beef *Longissimus* and *Semitendinosus*. *Meat Science*, v. 68, p. 497-505, 2004.

\_\_\_\_\_. DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*, v. 65, p. 677-691, 2003.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY - IAEA. *Proceedings of the International Symposium of Food Irradiation*, Vienna, 1966.

\_\_\_\_\_. *Use of Irradiation as a Quarantine treatment of Food and Agricultural Commodities*. Vienna, 1992. Não paginado.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION - ICGFI. *Facts about food irradiation*. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency, 1999. Não paginado.

JAASRSVELD, F. P.V.; NAUDÉ, R. J.; OELOFSEN, W. The effects of Ca ions, EGTA and storage time on myofibrillar protein degradation, levels of Ca<sup>+2</sup>-dependent proteases and cathepsins B, H, L and D of ostrich skeletal muscle. *Meat Science*, v. 45, n. 4, p. 517-529, 1997.

JAVANMARD, M.; ROKNI, N.; BOKAIE, S.; SHAHHOSSEINI, G. Effects of gamma irradiation and frozen storage on microbial, chemical and sensory quality of chicken meat in Iran. *Food Control*, (no prelo).

JAY, J. M. *Microbiologia Moderna de los Alimentos*. 3ed., Zaragoza: Acribia, 1994. 1094p.

JEREMIAH, L. E.; TONG, A. K. Y.; GIBSON, L. L. The ineffectiveness of muscle color and pH for segregating beef carcasses into tenderness groups. *Meat Science*, v. 30, p. 97-114, 1991.

JO, C.; AHN, D. Fat reduces volatiles production in oil emulsion system analyzed by purge-and-trap dynamic headspace/gas chromatography. *Journal of Food Science*, v. 64, p. 641-643, 1999.

JOHN, L.; CORNFORT, D.; CARPENTER, C. E.; SORHEIM, O.; PETTEE, C. B.; WHITTIER, D. R. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0,4% carbon monoxide or vacuum. *Meat Science*, v. 69, n. 3, p. 441-449, 2005.

JOSEPHSON, E. S. An historical review of food irradiation. *Journal of Food Safety*, v. 5, p. 161-190, 1983.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of radiation processing of lamb meat on its lipids. *Food Chemistry* (no prelo).

\_\_\_\_\_. Effect of radiation processing on the quality of chilled meat products. *Meat Science*, v. 69, n. 2, p. 269-275, 2005.

\_\_\_\_\_. PAUL, P.; D'SOUZA, S.F.; THOMAS, P. Effect of gamma irradiation on the lipid peroxidation in chicken, lamb and buffalo meat during chilled storage. *Food Safety*, v.17, p. 283–294, 1997.

KANDA, T.; PEARSON, A. M., MERKEL, R. A. Influence of pH and temperature upon calcium accumulation and release by bovine sarcoplasmic reticulum. *Food Chemistry*, v.2, n. 4, p. 253-266, 1977.

KERTH, C. R.; MILLER, M. F.; RANSEY, C. B. Improvement of beef tenderness and quality with calcium chloride injection in beef loins 48 hours *post mortem*. *Journal of Food Science*, v. 73, p. 750-756, 1995.

\_\_\_\_\_. BLAIR-KERTH, L. K.; JONES, W.R. Warner-Bratzler shear force repeatability in beef *Longissimus* steaks cooked with a convection oven, broiler, or clam-shell grill. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 2, 2003.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. *Food Chemistry*, v. 49, p. 157-164, 1994.

KIM, Y. H.; NAM, K. C. AHN, D. U. Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science*, v. 61, n. 3, p. 257-265, 2002.

KIRSCHKE, H., KENBHAVI, A. A. BOHLEY, P. ; BARRETT, A. J. Action of rat liver cathepsin L on collagen and others substrates. *Biochemical Journal*, v. 201, p. 367-372, 1982.

KOCZAK, T.; POSPIECH, E.; PALKA, K.; LACHIA, J. Changes in structure of *Psoas major* and *minor* and *semitendinosus* muscles of calves, heifers and cows during post-mortem ageing. *Meat Science*, v. 64, n. 1. p. 77-83, 2003.

KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S. C.; SCHOLLMAYER, J. E.; DUSTON, T. R.; CROUSE, J. D. Effect of *post mortem* storage on Ca<sup>+2</sup>-depend proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Science*, v. 19, p. 187-196, 1987.

\_\_\_\_\_. The role of Ca<sup>2+</sup>-dependent proteases (calpains) in *post mortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, n. 74, p. 239–245, 1992.

\_\_\_\_\_. DOUMIT, M.E.; WHEELER, T.L. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. *Journal of Animal Science*, v. 74, p. 2935–2942, 1996.

KUHN, I. IVERSEN, C.; BURMAN, L. G.; OLSSON-LIJEEQUIST, FRANKLIN, A.; FINN, M.; AERESTRUP, F.; SEYFARTH, A. M.; BLANCH, A. R.; VILANOVA, X.; TAYLOR, H.; CAPLIN, J.; MORENO, M. A.; DOMINGUEZ, L.; HERRERO, I. A.; MOLBY, R. Comparison of enterococcal populations in animals, humans and the environment- a European study. *International Journal of Food Microbiology*, v. 88, n. 2-3, p. 133-145, 2003.

LACROIX, M. L.; SMORAGIEWICZ, W.; JOBIN, M.; LATTREILLE, B.; KRZYSTYNIAK, K. The effect of irradiation of fresh pork loins on the protein quality and microbiological changes in aerobically- or vacuum-packaged. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, n. 3-6, 317-322, 2002.

\_\_\_\_\_. QUATARA, B. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products – a review. *Food Research International*, v. 33, p. 719-724, 2000.

LAGUNAS-SOLAR, M. C. Radiation processing of foods: an overview of scientific principles and current status. *Journal of Food Protection*, v. 58, n. 2, p. 186-192, 1995.

LAMBOOIJ, E.; POTGIETER, C. M.; BRITZ, C. M.; NORTJÉ, G. L.; PIETERSE, C. Effects of electrical and mechanical stunning methods on meta quality in ostriches. *Meat Science*, v. 52, p.331-337, 1999.

LAMULKA, P.O.; SUNK, G. R.; CHAWAN, D. R.; RAO, D. R.; SHACCKELFORD, L. A. Bacteriological quality of freshly processed broiler chickens as affected carcass pretreatment and gamma irradiation. *Journal of Food Science*, v. 57, p.330-332, 1992.

LANZA, M.; FASOME, V.; GALOFARO, V.; BARBAGALLO, D.; BELLA, M.; PENNISI, P. Citrus pulp and ingredient in ostrich diet: effects on meat quality. *Meat Science*, v. 68, n. 2, p. 269-275, 2004.

LASLO, H.; BASSO, L.; COELHO, M. C. *Química de Alimentos e Alterações dos Componentes Orgânicos*. São Paulo, Nobel, 1986, 98p.

LEAL, A. S.; KRAMBROCK, K.; GUEDES, K.; RODRIGUES, R. R. Ressonância Paramagnética eletrônica –RPE aplicada à análise de especiarias irradiadas (com radiação gama). *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 24, n. 3, p. 427-430, 2004.

LEE, E. J.; AHN, D. U. Quality characteristics of irradiated turkey breast rolls formulated with plum extract. *Meat Science*, v. 7, n. 2, p.300-305, 2005.

LEE, Y. B. Early *post mortem* measurements and conditioning in assessing and enhancing meat quality. *Journal of Animal Science*, v. 63, p. 622-630, 1986.

LESIAK, M. T.; OLSON, D. G.; LESIAK, C. A.; AHN, D. U. Effects of *post mortem* temperature and time on the water-holding capacity of hot-boned turkey breast and thigh muscle. *Meat Science*, v.43, p. 51-60, 1996.

LUCHINI, L.; COSTA, M. A hora é do avestruz. *A Lavoura*, ano 100, n. 624, p. 17-28, 1998.

LUCHT, L.;BLANK, G.; BORSA, J. Recovery of foodborne microorganisms from potentially lethal irradiation damage. *Journal of Food Protection*, v. 61, p. 586–690, 1998.

MARKS, J.; STADELMAN, W.; LINTON, R.; SCHMIEDER, H.; ADAMS, R. Tenderness analysis and consumer sensory evaluation of ostrich meat from different muscles and different aging times. *Journal of Food Quality*, v. 21, p. 369-381, 1998.

MARSH, B. B. *Rigor mortis* in beef. *Journal Science Food Agriculture*, v. 5, p. 70-75, 1954.

\_\_\_\_\_. LOCHNER, J. V.; TAKAHASHI, G.; KRAGNESS, D. D. Effects of early *post mortem* pH and temperature on beef tenderness. *Meat Science*, v. 5, n. 6, p. 479-483, 1981.

\_\_\_\_\_. RINGKOB, T.P.; RUSSELL, R.L.; SWARTZ, D.R.; PAGEL, L.A., Effects of early *post mortem* glycolytic rate on beef tenderness. *Meat Science*, v. 21, p. 241-248, 1987.

MARTINEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M. J. ET AL. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. *Archivos Latino Americanos de Nutrición*, v. 49, n. 2, p. 106-113, 1999.

MATSUISHI, M.; OKINATI, A. Proteasome from rabbit skeletal muscle: some properties and effects on muscle proteins. *Meat Science*, v. 45, p. 451-462, 1997.

MERCK. *Microbiology Manual Cultura Media*. Darmstadt. Germany, 405 p., 1996

MERRITT, C. J. R., ANGELINI, P., WIERBICKI, E., SHULTS, G. W. Chemical changes associated with flavor in irradiated meat. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 23, p. 1037-1041, 1975.

MILLAR, S. J., MOSS, B. W.; STEVENSON, M. H. The effect of ionizing radiation on the colour of beef, pork and lamb. *Meat Science*, v. 55, n. 5, p. 349-360, 2000a.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. The effect of ionizing radiation on the colour of leg and breast of poultry meat. *Meat Science*, v. 55, n. 3, p. 361-370, 2000b.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, p.7-16, 2003.

MOELLER, P. W.; FIELDS, P. A.; DUTSON, T. R., LANDMANN, W. A. CARPENTER, Z. L. Effect of high temperature conditioning on subcellular distribution and levels of lysosomal enzymes. *Journal of Food Science*, v. 41, p. 216-217, 1976.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. High temperature effects on lysosomal enzyme distribution and fragmentation of bovine muscle. *Journal of Food Science*, v. 42, p. 510-512, 1977.

MORENO, M. R. F.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*. (no prelo).

MORRIS, C. A.; HARRIS, S. D.; MAY, S. G.; JACKSON, T. C.; HALE, D. S.; MILLER, R. K.; KEETON, J. T.; ACUFF, G. R.; LUCIA, L. M.; SAVELL, J. W. Ostrich slaughter and fabrication: 1. slaughter yields of carcasses and effects of electrical stimulation on post mortem pH. *Poultry Science*, v. 74, p. 1683-1687, 1995.

MORRISSEY, P. A.; SHEEHY, K. G.; KERRY, J. P.; BUCKLEY, D. J. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, v. 49, n. 1, p. 573- 586, 1998.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYAASHI, G. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia Médica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 220- 223, 2004.

NAM, K. C.; AHN, D. U. Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. *Meat Science*, v. 63, n. 3, p. 389-395, 2003.

NEGISHI, H.; YAMAMOTO, E.; KUWATA, T. The origin of the 30 kDa component appearing during post mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*, v. 42, p. 289-3003, 1996.

NEWSOME, R. L. Perspective on food irradiation. *Food Technology*, v. 41, p. 100-102, 1987.

NORBERG, A. N. *Resistência da Salmonella Enteritidis Variedade Typhimurium e Staphylococcus Aureus a Radiação Gama*. Itaguaí, 1984, 84p. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1986.

O'HALLORAN, G. R.; TROY, D. J.; BUCKLEY, D. J.; The relationship between early *post mortem* pH and the tenderization of beef muscles. *Meat Science*, v. 45, n. 2, p. 239-251, 1997.

OLIVEIRA, I.; SILVA, T. J. P.; FREITAS, M. Q.; TORTELLY, R.; PAULINO, F. O. Caracterização do processo de *rigor mortis* em músculos de cordeiro e carneiro da raça Santa Inês e avaliação da maciez da carne. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 32, n. 1, p. 25-31, 2004.

OLSON, D. G.; PARRISH Jr., F.C.; STOROMER, M. H. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *Journal of Food Science*, v. 41, p.1036-1041, 1976.

\_\_\_\_\_. Irradiation of Food. *Food Technology*, v. 52, n. 11, p. 56-60, 1998.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L.; CORTECERO, M. D. S. *Alimentos de Origem Animal*. Porto Alegre-RS: Artmed. v.2, 2005. 279p.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Wholesomeness of Irradiated Food: (TRS 659)*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1995.

OTREMBA, M. M.; DIKEMAN, M. E.; BOYLE, E. A. E. Refrigerated shelf life of vacuum-packaged, previously frozen ostrich meat. *Meat Science*, v. 52, n. 3, p. 279-283, 1999.

PAL, D.; SACHDEVA, S.; SINGH, S. Methods of determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. *Journal Food Science Technology*, v. 32, n. 5, p. 357-367, 1995.

PALEARI, M. A.; CAMISASCA, S.; BERETTA, G.; RENON, P.; CORSICO, P.; BERTOLO, G.; CRIVELLI, G. Ostrich Meat: Physico-chemical characteristics and comparison with turkey and bovine meat. *Meat Science*, v. 48, n. 3-4, p.205-210, 1998.

\_\_\_\_\_. CORSICO, P.; BERETTA, G. A. The ostrich: breeding, reproduction, slaughtering and nutritional value of the meat. *Fleischwirtsch International*, v. 4, p. 18-233, 1995.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne*. 2 ed: Goiânia: GEGRAF-Universidade Federal de Goiás, v. 1, 2001. 623p.

PATTERSON, M. F.; DAMOUGLOU, A. P.; BUICK, R. K. Effect of irradiation on poultry meat and in phosphate-buffered saline. *Letters in Applied Microbiology*, v. 8, n. 5, p.181-184, 1993.

PEARSON, A. M.; DUTSON, T.R. *Advances in Meat Research: Electrical stimulation*, v. 1 Connecticut: AVI Publishing Company, p. 1-40, 1995.

\_\_\_\_\_. GRAY, J. I.; WOLZAK, A. M.; HORENSTEIN, N. A. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology*, v. 37, n. 7, p. 121-129, 1983.

PEREIRA, F. A.; RODRIGUES JÚNIOR, O.; CAMPOS, L. L. Padronização da técnica de dosimetria retrospectiva por RPE utilizando esmalte dentário. *Revista Brasileira de Física Médica*, v. 1, n. 1, 2005.

PINHEIRO, R. M. K; SILVA, T. P. J.; CARVALHO, E. C. Q; COSTA, F. Temperatura, pH e comprimento de sarcômero durante o *rigor mortis* em carcaça frigorificada de suínos abatidos em São Gonçalo-RJ. *Higiene Alimentar*, v. 15, n. 82, p. 39-46, 2001.

POLLARD, E. C. *Phenomenology of radiation effects on microorganisms*. Handbook of Medical radiology, L. Diethelm. Springer editors. New York, p. 1, v. 2, 1966.

PRACHASITTHISAKDI, Y.; MOSSEL, D. A. A.; VRIES, J.; VAN NETTEN, P.; WILLIAMS, J. L.; STEGEMAN, H.; FARKAS, J. Lethality and flora shift of the psychrotrophic and mesophilic bacterial association of frozen shrimps and chicken after radication. *International Facility for Food Irradiation Technology*, Wageningen (Netherlands), August, 1983, 12p.

PRATES, J. M. M. Maturação da carne dos mamíferos: 1. caracterização geral e modificações físicas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. XCV, n. 533, p. 34-41, 2000.

PRICE, M. C.; SCHWIGERT, B. S. *Ciencia de La Carne y de Los Productos Carneos*. Zaragoza: Editora Acribia, 1994, 581p.

QUALI, A. Meat tenderization: possible causes and mechanisms. A review. *Journal Muscle Foods*, v. 1, p. 129-165, 1990.

\_\_\_\_\_. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meat texture development. *Biochemie*, v. 74, p. 251-265, 1992.

REDMOND, G. A.; MCGEEHIN, B.; SHERIDAN, J. J. BUTLER, F. The effect of ultra-rapid chilling and subsequent ageing on the calpain/calpastatin system and myofibrillar degradation in lamb M. *Longissimus thoracis et lumborum*. *Meat Science*, v. 59, n. 3, p. 293-301, 2001.

RELA, P. R. Cresce uso de irradiação para conservação de alimentos. *Engenharia de Alimentos*, v. 6, n. 29, p. 26 - 29, 2000.

REMEDIOS, C. G.; MOENS, P. D. J. Actin and the atomyosin interface: a review. *Biochimica et Biophysica Acta*, n. 1228, p. 99-124, 1995.

RILEYA, D. G.; JOHNSONB, D. D.; PERSIGA, C. C.; WESTB, R. L.; COLEMANA, S. W.; OLSONA, T. A.; HAMMONDA, A. C. Factors influencing tenderness in steaks from Brahman cattle. *Meat Science*, v. 70, n. 2, p. 347-356, 2005.

ROBERTSON, G. L. *Food Packaging: principles and practice*. New York: Marcel Decker, 1992, 676p.

RODRIGUES, T. P; SILVA, T. J. P.; CARVALHO, E. C. Q.; FREITAS, M. Q.; PAULINO, F. O . Caracterização do processo de *rigor mortis* em músculos de equinos e maciez da carne. *Ciência Rural, Santa Maria*, v. 34, n. 4, p. 1225-1230, 2004.

ROMANYUKA, A. A.; REGULLA, D. F. EPR dosimetry with different biological and synthetic carbonated materials. *Radiation Protection Dosimetry*, v. 65, p. 389-392, 1996.

ROSS, M. H.; ROMPELL, L. J.; REITH, E. J. *Histologia: Texto e Atlas*. 2ed. São Paulo: Panamericana, Cap.10, p. 203-209, 1993.

ROWE, R.W.D. The effect of pre-rigor stretch and contraction on the post-rigor geometry of meat samples in relation to meat toughness. *Meat Science*, v.1, p. 205–218, 1977.

RUBENSAM, J. M.; FELÍCIO, P. E.; TERMIGNIONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade da calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no Sul do Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, p. 405-409, 1998.

SÁ, E. M. F. A Influência da Água nas Propriedades da Carne- Parte II. *Revista Nacional da Carne*. Ed. Dipemar, n. 325, 2004.

SALES, J. Histological, biophysical, physical and chemical characteristics of different ostrich muscles. *Journal of Food Agriculture*, v. 70, p. 109-114, 1996.

\_\_\_\_\_. MELLETT, F. D. *Post mortem* pH Decline in Different Ostrich Muscles. *Meat Science*, v. 42, n. 2, p. 235-238, 1996.

SALGADO, L. F; SALGADO, L. T. *Avestruz como alternativa para a avicultura*. Preços Agrícolas, p.16-20, 1997.

SANCHEZ, M. T. Food texture: concept and measurement. *Alimentaria*, n. 72, p. 29-34, 1996.

SANTOS, E. R. *Avaliação físico-química da carne de avestruz (Struthio camelus) jovem e adulto criados no Estado de São Paulo, Brasil*. Seropédica,1997, 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, 1999.

SÃO PAULO, *Código Sanitário*: Decreto nº 12.342 de 27 de setembro de 1978. Imprensa Oficial do Estado, 1992.

SARANTÓPOULOS, C. I.G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. *Requisitos de Conservação de Alimentos em Embalagens Flexíveis*. Campinas - CETEA/ITAL, 2001, 213p.

SARGIANOS, N.; GAITANAKI, C.; DIMITRIADIS, B.; BEIS, I. Proteolytic degradation of isolated myofibrils and myofibrillar proteins by m-calpain from the skeletal muscle of the amphibian *Rana ridibunda*. *Journal of Experimental Zoology*, n. 276, p. 30-42, 1996.

SAS Institute. *SAS<sup>R</sup> User's Guide*. 6.04 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1999.

SATIN, M. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. *Meat Science*, v. 62, 277-283p, 2002.

SCHORMULLER, J. Handbuch der Lebensmittelchemie. In: *Band III 12 Teil Tierische Lebensmittel Eier, Fleisch, Buttermilch*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 1561-1584, 1968.

SGARBIERI, V. C. *Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações*. São Paulo: Varela, 1996. 357p.

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

SILVA, J. A., PATARATA, L.; MARTINS, C. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, v. 52, n. 4, p. 453-459, 1999.

SILVA, T. J. P. *Ciência da Carne*- Apostila. Universidade Federal Fluminense. Faculdade de Veterinária. Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. 70p., 2003.

\_\_\_\_\_. ORCUTT, M.W.; FORREST, J. C.; BRACKER, J. C.; JUDGE, M. D. Effect of heating rate on shortening, ultrastructure and fracture behavior of prerigor beef muscle. *Meat science*, v. 33, p. 1-27, 1993.

SLINDE, E.; KRYVI, H. Z-disc digestion of isolated bovine myofibrils by an endogenous calcium activated neutral proteinase. *Meat Science*, v. 16, n. 1, p. 45-55, 1986.

SLOSS, M. W. B. S.; KEMP, R. L. A. B. *Veterinary clinical parasitology*. 5 ed. Ames: Iowa State University Press, 1978. 247p.

SMITH, G. C.; DUTSON, T. R.; HOSTETLER, R. L.; CARPENTER, Z. L. Fatness, rate of chilling and tenderness of lamb. *Journal of Food Science*, v. 41, p. 748-756, 1976.

SPINKS, J. W. T.; WOODS, R. J. *An Introduction to radiation Chemistry*. J. Wiley & Sons. New York, 2 ed., 1976.

STONE, H. SIDEL, J. L. *Sensory evaluation practices*. 2 ed. Orlando, Florida, Academic Press, 1993. 337p.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and future. *Food Technology*, v. 5, n. 8, p. 48-52, 1998.

STRATTON, J. E.; HUTKINS, R. W. TAYLOR, S. L. Biogenic amines in cheese and other fermented foods. *Journal of Food Protection*, v. 54, p. 460-470, 1991.

SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. Culture Methods for Enumeration of Microorganisms. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4 ed. Washington. APHA, 2001. 676p. Cap 6, p. 53-62.

SWATLAND, H. J. *Estrutura y desarrollo de animais de abasto*. Espanha: Ed. Acribia. 443p. 1984.

TAKAHIKO, A.; UENO, R. Involvement of cathepsins B and L in the post mortem autolysis of mackerel muscle. *Food Research International*, v. 30, n. 8, p. 585-591, 1997.

TARLADGIS, B.G., WATTS, B.M., YOUNATHAN, M.S. AND DUGAN, L.J. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 37, p. 44-48, 1960.

TAUB, I. A.; EIBEN, K. Transient solvated electron, hydroxyl, and hydroperoxy radicals in pulse-irradiated crystalline ice. *Journal. Chemistry Physical*, v. 49, p. 2499-2513, 1968.

\_\_\_\_\_. HURWITZ, P. A.; TOCCI, J. *Yield and reactivity of electrons in viscous ethanediol – water solutions between -90° and 130° C*. Abstracts, 5th Int. Congress Radiation Research, Seattle. 1974. 196 p

TAYLOR, R. G.; GEESING, V. F.; THOMPSON, M.; GOLL, D. E. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization?. *Journal of Animal Science*, v. 73, p. 1351-1358, 1995.

TEIXEIRA, L. M; TRABULSI, L. R. *Enterococcus faecalis*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 4 ed. São Paulo- rio de Janeiro- Ribeirão Preto-Belo Horizonte.: Atheneu, 2005. 585p. Cap. 26, p. 213-216.

THAKUR, B. R.; ARYA, S. S. Effect of sorbic acid on irradiation induced sensory and chemical changes in sweetened orange juice and mango pulp. *International Journal Food Science Technology*, v. 28, p. 371-376, 1993.

THOMAS, P.; BRUSHAN, M. R. RAMAMURTHY, M. S. Comparative studies on the efficacy of gamma irradiation, heat, refrigeration and combined treatments as a quarantine treatment for mango fruit. IAEA-TEC DIC 871, Vienna, Áustria, p. 299-314, 1996.

THORNE, S. *Food irradiation*. Elsevier Science Publishers, New York, 1991, 57p.

TOLEDO, T.C. F.; CANNIATTI-BRAZAKA, S. G.; ARTHUR, V. *Effect of gamma irradiation in heme and nonheme iron of poultry meat*. 49<sup>th</sup> International Congress of Meat

Science and Technology. 2<sup>nd</sup> Brazilian Congress of Meat Science and Technology. ICoMST,: Piracicaba-Brasil, p. 287-288, 2003.

TORNBERG, E.; WAHLGREN M.; BRONDUM; ENGELSEN, S.B. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature- and pH-falls studied with rigometer, NMR and NIR. *Food Chemistry*, v. 69, p. 407–418, 2000.

\_\_\_\_\_. Biophysical aspects of meat tenderness. *Meat Science* v. 43, p. S175–S191, 1996.

TRABULSI, L. R. *Microbiologia*. 3 ed. Rio de Janeiro - São Paulo: Livraria Atheneu, 386 p. 1989.

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE - UFF. *Exigências técnicas e legais para Irradiação de Alimentos - Histórico da irradiação de alimentos no exército brasileiro*- Apostila do Curso de especialização em Irradiação de Alimentos. Instituto de Veterinária, 2002.

URBAIN, W. *Food Irradiation*. Academic Press, 1986. Não paginado.

VALENTE, A. M. Efeito da irradiação sobre mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758): Coliformes termotolerantes e *Enterococcus*: ação antimicrobiana e análise sensorial das amostras. Niterói, 2002. 81p. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Niterói, 2004.

VAN SCHALKWYK, S. J.; HOFFMAN, L. C.; CLOETE, S. W. P.; MELLETT, F. D. The effect of feed withdrawal during lairage on meat quality characteristics in ostriches. *Meat Science*, v. 69, n. 4, p. 647-651, 2005.

VELOTTO, S.; CRASTO, A. Histochemical and morphometrical characterization and distribution of fibre types in four muscles of ostrich (*Struthio camelus*). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 33, n. 5, p. 251, 2004.

VITAL, H. C. *Experimentos Dosimétricos no Irradiador Gama do IPE*. V Encontro Nacional de Aplicações Nucleares (ENAN), Rio de Janeiro, RJ, p. 15 – 20, Outubro, 2000.

\_\_\_\_\_. *Mapeamento Dosimétrico do Irradiador Gama do IPE*. Nota Técnica Interna do IPE, 2000. Notas do Curso de Irradiação de Alimentos, IPE, 2002.

WALLACE, C. D.; MORGAN, J. B.; GUENTHER, L. L.; NOVOTNY, K. K. DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Effect of freezing method and calcium chloride injection on beef *Longissimus* muscle tenderness. *Animal Science Research Report*, p. 72-77, 1999.

WALSHE, B. E.; KERRY, J. P. *Colour measurement of ostrich muscles*. Department of Food and Nutritional Sciences. University College Cork-National University of Ireland Cork, Ireland, p. 102, 2001.

WARRIS, P. D.; BEVIS E. A.; EKINS, P. J. The relationship between glycogen stores and muscle ultimate pH in commercially pigs. *Journal British Veterinary*, v. 145, p. 378-383, 1986.

WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Prerigor and *post rigor* changes in tenderness of ovine *Longissimus* muscle. *Journal of Animal Science*, v. 72, p.1232-1238, 1994.

\_\_\_\_\_. SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Standardizing collection and interpretation of warner-bratzler shear force and sensory tenderness. *Reciprocal meat Conference*, Kansas City, n. 50, p. 68-77, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. *Safety and nutritional adequacy of irradiated food*. Geneva, 1994. 161p.

\_\_\_\_\_. *Food irradiation: A technique for preserving and improving the safety of food*. Geneva. WHO/FAO. WHO Technical Reports Series, n. 705, 1988, 83p.

XAVIER, C. V. A.; BERAQUET, N. J. Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 24, p. 91-104, 1994.

YAMASHITA, M.; KONAGAYA, S. Differentiation and localization of cathepsin proteinases responsible for extensive autolysis of mature chum salmon muscle (*Oncorhynchus keta*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, n. 103B, p. 999-1003. 1992.

YOON, K. S. Effect of gamma irradiation on the texture and microstructure of chicken breast meat. *Meat Science*, v. 63, n. 2, p. 273-277, 2003.

YU, L. H.; LEE, E. S.; JEONG, H. D.; PAIK, H. D.; CHOI, J. H.; KIM, C.J. Effects of thawing temperature on the physicochemical properties of pre-rigor frozen chicken breast and leg muscles. *Meat Science*, v. 71, n. 2, p. 375-382, 2005.

ZAMORA, F.; DEBITON, E.; LEPETIT, J.; LEBERT, A.; DRANS.ELD, E.; OUALI, A. Predicting variability of ageing and toughness in beef M. *longissimus lumborum et thoracis*. *Meat Science*, v. 43, p. 321-333, 1996.

ZEECE, M.G.; KATOH; K. Cathepsin D and its effects on myofibrillar proteins: a review. *Journal of Food Biochemistry*, v. 13, p. 157-178, 1989.

ZHU, M. J.; MENDONCA, A.; AHN, D. U. Temperature abuse affects the quality of irradiated pork loins. *Meat Science*, v. 67, n. 4, p. 643-649, 2004.

## 7 APÊNDICES

APÊNDICE 7.1 Análise de Variância executada em fatorial  $2^6$  (fator 1= músculo; fator 2= intervalos de tempo para medições) dos resultados obtidos nas medidas relacionadas ao processo de *rigor mortis*: temperatura da câmara (TC), temperatura dos músculos (TM), pH, comprimento de sarcômero (CS), força de cisalhamento (FC) e perda de peso por cozimento (PPC) de músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* de avestruz em intervalos de tempos de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h, 24,0h após sangria. Esta análise foi seguida de teste de comparações múltiplas de Bonferroni, ao nível de 5% de significância.

Probabilidade > F (Fisher)

<i>Fonte de Variação</i>	<i>TC</i>	<i>TM</i>	<i>pH</i>	<i>CS</i>	<i>FC</i>	<i>PPC</i>
Músculo (1)	1,0	0,85	0,005*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
Tempo (2)	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
Interação 1*2	1,0	1,0	0,12	0,0001*	0,007*	0,0001*

\* Significativo ao nível de 5% de significância.

APÊNDICE 7.2 Análise de Variância executada em fatorial  $3^4$  (fator 1= tratamento; fator 2= tempo de estocagem) dos resultados obtidos no teste de aceitação sensorial, quanto aos atributos de aroma, sabor, cor e impressão global em relação aos diferentes tratamentos (carne de avestruz congelada, congelada e irradiada com 1kGy e congelada e irradiada com 3kGy) em diferentes tempos de estocagem (5, 120, 240 e 360 dias). Esta análise foi seguida de teste de comparação entre médias Teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Probabilidade > F (Fisher)

<i>Fonte de Variação</i>	<i>GL</i>	<i>Aroma</i>	<i>Sabor</i>	<i>Cor</i>	<i>Impressão Global</i>
Tratamento (1)	2	0,0495*	0,8959	0,0271*	0,4970
Tempo de estocagem (2)	3	0,0215*	0,0001*	0,7165	0,0005*
Interação 1*2	6	0,0482*	0,3660	0,0830	0,5834

\* Significativo ao nível de 5% de significância.

APÊNDICE 7.3 Análise de Variância executada delineamento de tratamento em fatorial 3<sup>4</sup> (fator 1= tratamento; fator 2= tempo de estocagem) dos resultados obtidos nas análises de contagens de Psicotróficos (Psic) e *Enterococcus* spp. e determinação das substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), índice de peróxido (IP) e atividade de água (Aa) em relação aos diferentes tratamentos (carne de avestruz congelada, congelada e irradiada com 1kGy e congelada e irradiada com 3kGy) em diferentes tempos de estocagem (5, 120, 240 e 360 dias). Esta análise foi seguida de teste de comparação entre médias Teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte	de	GL	Psic.	Enterococcus spp.	TBA	Probabilidade > F (Fisher)		
						IP	Aa	pH
<i>Variação</i>								
Tratamento		2	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,4248	0,0125
(1)								
Tempo de estocagem	de	3	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,2463	0,0482
(2)								
Interação 1*2		6	0,0017*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,3245	0,0327

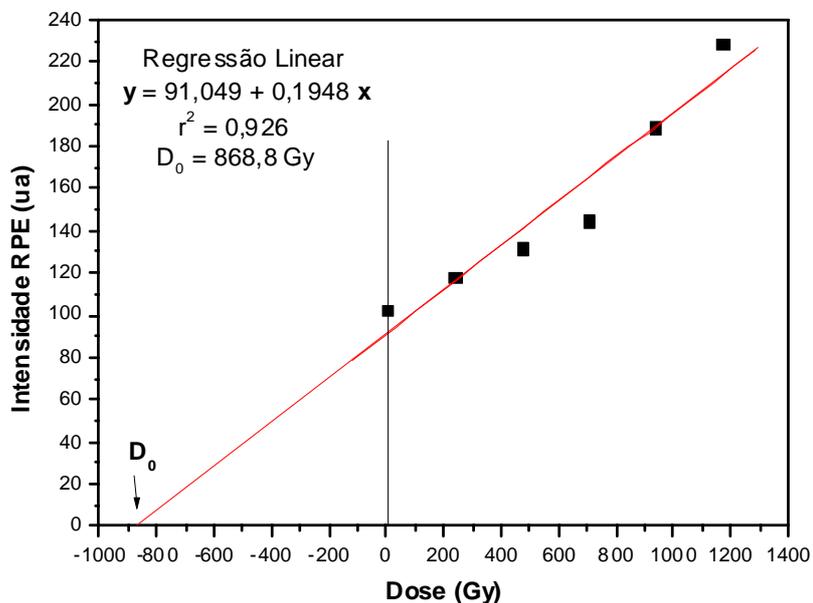
\*Significativo ao nível de 5% de significância.

APÊNDICE 7.4 Resultados do teste de comparações múltiplas de Bonferroni, ao nível de 5% de significância, referentes às medidas de temperatura da câmara (Tcâmara); temperatura da carcaça (Tcarc), pH, Comprimento de sarcômero (CS), força de cisalhamento (FC) e perda por cozimento (PC) dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* de avestruzes nos intervalos de tempo de 0,5h, 3,0h, 6,0h, 9,0h, 12,0h, 24,0h após sangria.

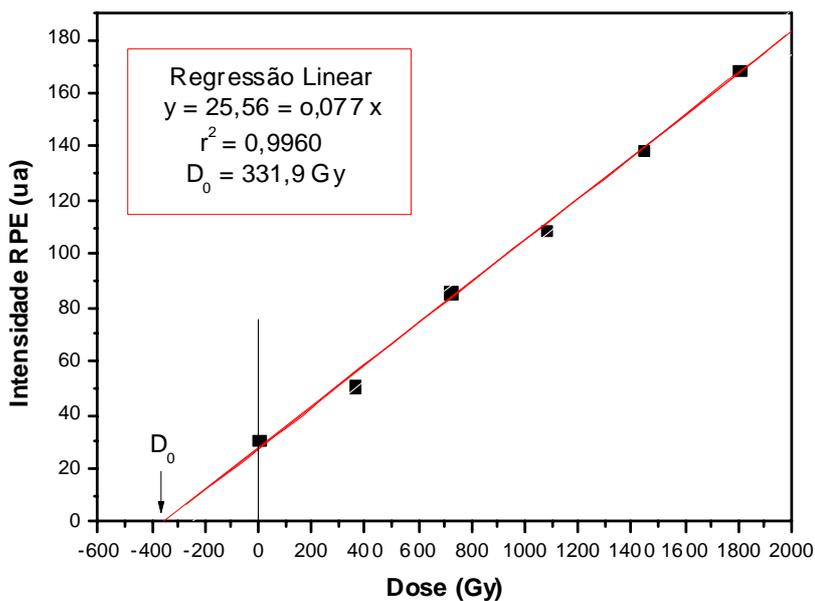
Medida	Intervalos	<i>Gastrocnemius internus</i>					<i>Fibularis longus</i>				
		2	3	4	5	6	2	3	4	5	6
		3h	6h	9h	12h	24h	3h	6h	9h	12h	24h
Tcâmara (°C)	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h			X	X	X	X	X	X	
	4	9 h				X	X		X	X	
	5	12 h					X			X	
	6	24 h									X
Tcarc (°C)	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h			X	X	X	X	X	X	
	4	9 h				X	X		X	X	
	5	12 h					X			X	
	6	24 h									X
pH	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h									
	4	9 h									
	5	12 h									
	6	24 h									
CS (µm)	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h				X	X	X	X	X	
	4	9 h				X	X			X	
	5	12 h					X			X	
	6	24 h									X
FC (Kg)	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h				X	X		X	X	
	4	9 h					X			X	
	5	12 h									
	6	24 h									
PC (%)	1	1/2 h	X	X	X	X	X	X	X	X	
	2	3 h		X	X	X	X	X	X	X	
	3	6 h			X	X	X		X	X	
	4	9 h					X		X	X	
	5	12 h					X			X	
	6	24 h									X

"X" expressa o intervalo significativo ao nível de 5%.

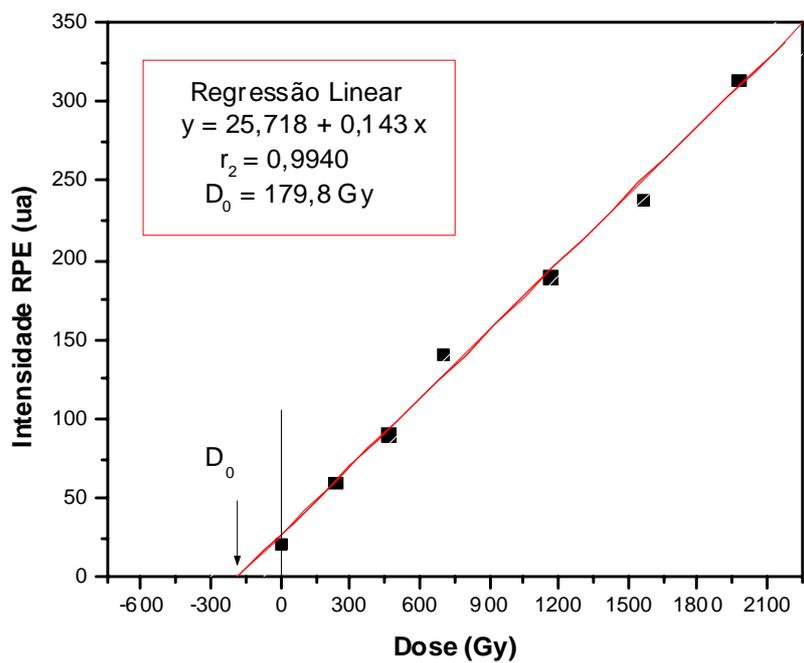
APÊNDICE 7.5 Cálculos matemáticos por regressão linear dos dados de RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica) relativo à absorção da dose de 1kGy nas amostras estocadas por 5 dias, 240 dias e 360 dias sob temperatura de congelamento (-18 °C).



**Gráfico 7.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 5 dias. Dose calculada de 868,8 Gy.

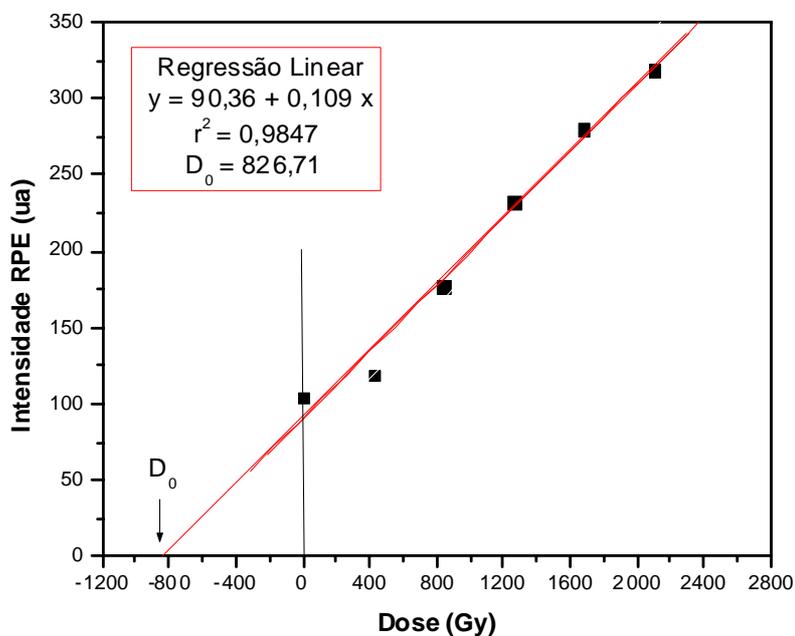


**Gráfico 8.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 240 dias. Dose calculada de 331,9 Gy.

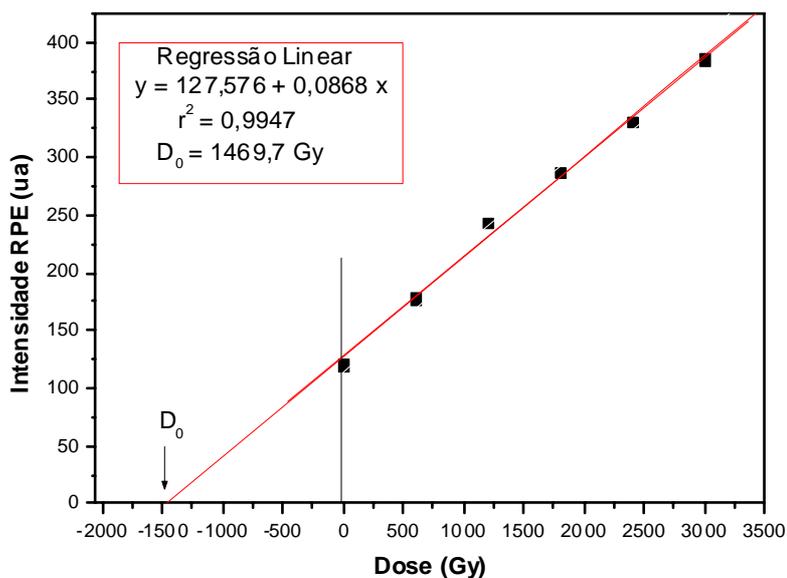


**Gráfico 9.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 1kGy estocada por 360 dias. Dose calculada de 179,8 Gy.

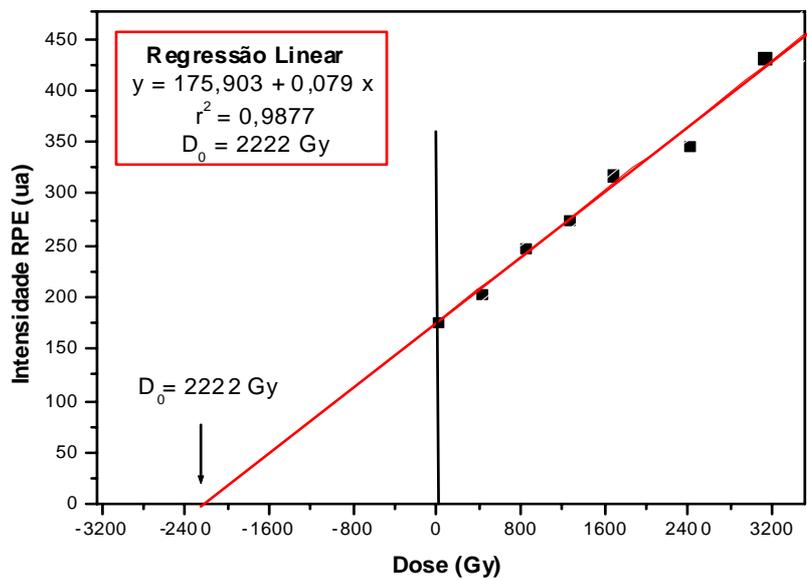
APÊNDICE 7.6 Cálculos matemáticos por regressão linear dos dados de RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica) relativo à absorção da dose de 3kGy nas amostras estocadas por 5 dias, 240 dias e 360 dias sob temperatura de congelamento (-18 °C).



**Gráfico 10.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 5 dias. Dose calculada de 826,7 Gy.



**Gráfico 11.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 240 dias. Dose calculada de 1469,7 Gy.



**Gráfico 13.** Regressão linear dos dados de RPE relativos à amostra irradiada com 3kGy estocada por 360 dias. Dose calculada de 2222,0 Gy.