



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



"PROLONGAMENTO DA VIDA-DE-PRATELEIRA DA CARNE BOVINA PELO TRATAMENTO PRÉ-ABATE COM DESTILADO DA DESODORIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA (DDOS)"

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **José Ricardo Zebende Borher** aprovada pela Comissão Julgadora em 13 de dezembro de 2002.

Campinas, 13 de dezembro de 2002.


Prof. Dr. Carlos Alberto R. Anjos
Presidente da Banca

José Ricardo Zebende Borher
Médico Veterinário

Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos
Orientador

Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos

Campinas, 2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	TI UNICAMP
	B644p
V	EX
TOMBO BCI	52189
PROC.	124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	13/02/03
Nº CPD	



CM001B0070-1

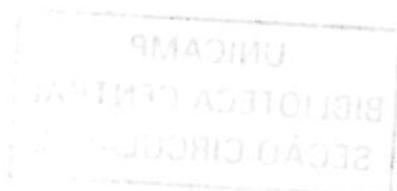
BIBID-283801

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

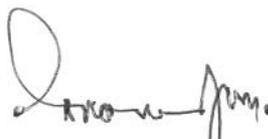
B644p Borher, José Ricardo Zebende
Prolongamento da vida-de-prateleira da carne bovina pelo
tratamento pré-abate com destilado da desodorização do óleo de
soja (DDOS) / José Ricardo Zebende Borher. - Campinas, SP:
[s.n.], 2002.

Orientador: Carlos Alberto Rodrigues Anjos
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Vitamina E. 2. Carne bovina. 3. Estabilidade. I. Anjos,
Carlos Alberto Rodrigues. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

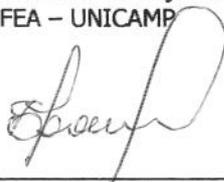


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos (Orientador)
FEA - UNICAMP

Profa. Dra Lireny Guaraldo Gonçalves (Membro).
FEA - UNICAMP



Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva (Membro)
FEA/UNICAMP

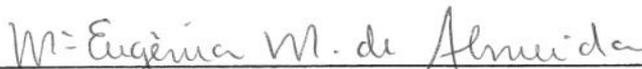


Dr. Geraldo Maria da Cruz (Membro)
EMBRAPA Pecuária Sudeste



Nelcindo Nascimento Terra (Membro)
Universidade Federal de Santa Maria - Santa Maria

Dr. Nelson José Beraquet (Membro)
ITAL - Campinas



Dra. Maria Eugenia Marques de Almeida (Membro)
ITAL - Campinas

Campinas _____ de _____ de 2002

627408002

"Toda jornada deve ter uma meta
a ser alcançada no fim,
mas no final o importante foi ter realizado a
jornada."

Dedico esta tese à

Minha esposa **Ana Maria**

Minhas amadas filhas **Mariana, Livia** e **Luisa**

À minha mãe – **Ide**, meu pai - **Hermes**, minha avó - **Conceição**

E aos meus avós que faleceram durante o período de realização desta

Mario e Amélia.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Carlos Anjos que mais que um orientador foi um grande amigo durante todo o período que estive na UNICAMP.

A Maria Aparecida Dias do Mercado das Carnes em Itatiba-SP e ao Sr. José Setti de Socorro-SP, que permitiram a utilização de animais e instalações para realização desta.

As Engenheiras Nadia de Biasi e Clarisse da Oliveira-RS que me forneceram muito gentilmente o DDOS que foi utilizado nos experimentos.

Ao Dr. Geraldo Maria da Cruz e a EMBRAPA Pecuária Sudeste, pela colaboração.

Aos grandes amigos da Pós-graduação da FEA que viveram este tempo junto comigo... Leonard, Jane Ourique, Maria Eugenia, Walter Cuba, Nonato, Niurka, Carminha, Ivan, Rodrigo, Laura, Paulo Tavares, Romildo (in memoriam) e muitos outros que trocaram comigo seus conhecimentos, apoio e amizade.

A Marlene, Marçal, Cosme e Jaime da secretaria do DTA, Alice do Laboratório de Embalagens, José Roberto do Laboratório de Carnes e Edinho da Manutenção que sempre e gentilmente nos atenderam.

Aos Professores do DTA em especial aos Drs. Horácio, Lireny, Assis e Pedro Felício que transmitiram sua experiência e conhecimentos e foram amigos.

Aos meus Irmãos Giovani e Leonardo e todos os meus familiares.

A Professores da Escola Estadual Augusto Spinelli, do Colégio Estadual de Nova Friburgo, da UFRRJ que participaram da minha formação até então.

A FAPESP pelo financiamento do projeto de pesquisa, sem o qual não poderia ter realizado este trabalho.

A CAPES pela bolsa de doutorado.

Muito Obrigado por existirem!!!!

O AUTOR

RESUMO

Esta pesquisa avaliou a aplicação intra-ruminal de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) em bovinos nelore (*Bos taurus indicus*), em relação à absorção e incorporação de vitamina E em diferentes tecidos. Aplicou-se DDOS contendo 11,79 % de tocoferóis totais em dose única 48 horas antes do abate.

Após o abate analisaram-se amostras de plasma, músculo *Longissimus dorsi*, *Gluteus medius*, *Psoas major*, *Gluteus biceps*, fígado e gordura de cobertura do *Gluteus biceps* quanto ao teor de tocoferóis, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os teores médios de α -tocoferol encontrados nos animais tratados foram de aproximadamente 4,43 para *Longissimus dorsi*, 4,36 para *Psoas major*, 4,01 para *Gluteus medius*, 4,17 para *Gluteus biceps*, 11,74 para fígado 12,96 para gordura de cobertura do *Gluteus biceps* e 4,18 para plasma. Nos animais não tratados os níveis médios foram de 1,87; 2,31; 2,03; 2,32; 3,37; 3,31; 2,29 $\mu\text{g/g}$ respectivamente para os mesmos tecidos.

Os teores médios de γ -tocoferol encontrados foram de aproximadamente 0,16 para *Longissimus dorsi*, 0,43 para *Psoas major*, 0,22 para *Gluteus medius*, 0,23 para *Gluteus biceps*, 4,56 para fígado 0,38 para gordura de cobertura do *Gluteus biceps* e 1,04 para plasma nos animais tratados contra 0,00 $\mu\text{g/g}$ respectivamente para os tecidos provenientes de animais controle.

Acompanhou-se as alterações de cor dos cortes bovinos de contra-filé (*Longissimus dorsi*), alcatra (*Gluteus medius*),

filé mignon (*Psoas major*), picanha (*Gluteus biceps*), acondicionados em bandejas de poliestireno expandido (PS) e envolvidas com filme esticável de policloreto de vinila (PVC), mantidas sob refrigeração (4 °C) em geladeira expositora sob duas condições, ausência de iluminação e iluminação fluorescente contínua de 520 a 560 lux.

A gordura de cobertura do músculo *Gluteus biceps* foi submetida a avaliação da estabilidade oxidativa através da determinação do índice de estabilidade oxidativa (OSI - Oil Stability Index). O valor médio de OSI a 110 °C foi de 19 horas e 27 minutos para gordura de animais tratados e 13 horas 46 minutos para a gordura dos animais controle.

Avaliou-se ainda a influência do conteúdo ruminal no momento da aplicação do DDOS em bovinos sobre a absorção e incorporação de tocoferóis, concluindo-se que o nível de incorporação depende do processo digestivo e do tipo de alimentação a que o animal foi submetido no momento da aplicação.

SUMMARY

This research evaluated the intra-ruminal application of soybean oil deodorizer distillate (SODD) made in Nelore bovine cattle (*Bos taurus indicus*) in relation to absorption and incorporation of vitamin E in different tissues. The SODD, containing 11,79 % of total Tocopherols, had been applied as a unique dose 48 hours before the cattle butchering.

After the butchering, samples of plasma, *Longissimus dorsi*, *Gluteus medius*, *Psoas major*, *Gluteus biceps* muscle, liver and covering fat of *Gluteus biceps* muscle were analyzed as to Tocopherol contents, made by means of high performance liquid chromatography (HPLC). The finding of middle contents of α -tocopherol were, approximately, 4.43 for *Longissimus dorsi*, 4.36 for *Psoas major*, 4.01 for *Gluteus medius*, 4.17 for *Gluteus biceps*, 11.74 for liver, 12.96 for covering fat of *Gluteus biceps*, and 4,18 for plasma in treated animals in contrast with 1.87, 2.31, 2.03, 2.32, 3.37, 3.31, 2.29 $\mu\text{g/g}$, respectively, for tissues originated from control animals.

The finding of middle contents of γ -tocopherol were, approximately, 0.16 for *Longissimus dorsi*, 0.43 for *Psoas major*, 0.22 for *Gluteus medius*, 0.23 for *Gluteus biceps*, 4.56 for liver 0.38 for covering fat of *Gluteus biceps*, and 1.04 for plasma in treated animals, against 0.00 $\mu\text{g/g}$, respectively, for tissues from control animals.

There have been observed colour alterations on cuts of meat from bovine cattle as "contra-filé" (*Longissimus dorsi*), "alcatra" (*Gluteus medius*), "filé mignon" (*Psoas major*) and "picanha" (*Gluteus biceps*), which were packed in trays of

polystyrene stretched (PS). These trays were wrapped in polyvinyl chloride film (PVC) and exposed in refrigerator at 4 °C under two conditions: without common illumination or with continuous illumination at 520 to 560 lux.

The covering fat of gluteus biceps muscle was submitted to an evaluation of oxidizing stability through determination of Oil Stability Index (OSI). The OSI middle value at 110 °C was 19 hours and 27 minutes for fat of treated animals and 13 hours and 46 minutes for fat of control animals.

The influence of rumen content was evaluated at the moment of SODD application in bovine cattle as to absorption and incorporation of tocopherols. It was observed that incorporation level depends on digestible process and on type of food to which the animals is submitted at the moment of application.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	3
A qualidade da carne bovina, embalagem e o aumento da vida-de-prateleira da carne fresca refrigerada, com ênfase ao emprego da vitamina E (artigo de revisão).....	3
1. Introdução.....	3
2. A carne bovina fresca.....	4
2.1 Qualidade da carne.....	5
2.2 Sistema de cor da carne e oxidação de gorduras.....	8
3. Sistemas de embalagens mais utilizados para carne fresca.....	10
3.1. Bandejas envolvidas por filme de alta permeabilidade ao O ₂	10
3.2. Sistema de embalagem com atmosfera modificada.....	12
3.3. Sistema de embalagem a vácuo.....	14
4. Outras tecnologias para prolongamento da vida-de-prateleira da carne fresca.....	16
4.1. Coberturas superficiais.....	16
4.2. Irradiação.....	19
4.2.1. Doses requeridas para o processo de irradiação dos alimentos.....	20
4.2.2. Limitações da irradiação de alimentos.....	22
4.3. Uso de antioxidantes endógenos (Vitamina E).....	24
4.3.1 A suplementação da dieta com vitamina E e a qualidade da carne.....	29
4.3.1.1. Inibição da oxidação lipídica.....	29
4.3.1.2. Redução da perda por gotejamento.....	30
4.3.1.3. Efeito sobre a carne cozida.....	31
4.3.1.4. Efeito sobre a cor.....	31
4.3.1.5. Redução da ingestão de colesterol oxidado.....	32
4.3.2. Entraves à aplicação da tecnologia.....	33
4.3.3. A vitamina E natural em dose única elevada.....	35
5. BIBLIOGRAFIA	38
CAPÍTULO II	47
Níveis de α e γ -tocoferol em tecidos bovinos de animais tratados com uma dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal, 48 horas antes do abate..	47
Resumo	47
1. Introdução	48
2. Material e Métodos	51
2.1. MATERIAL	51
2.2. MÉTODOS	53
2.2.1. Experimentação:.....	53

2.2.2. Método de análise:.....	54
3. Resultados e Discussão	54
4. Conclusões	58
5. Agradecimentos	59
6. Referências	60
CAPÍTULO III	62
Índice de estabilidade Oxidativa (OSI) de gordura bovina incorporada de vitamina E, através da aplicação em dose única de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), via intra-ruminal, 48 horas antes do abate.....	62
Resumo	62
1. Introdução	63
2. Material e Métodos	66
2.1. MATERIAL	66
2.2. MÉTODOS	68
3. Resultados e Discussão	69
4. Conclusões	73
5. Agradecimentos	73
6. Referências	74
CAPÍTULO IV	76
Influência do conteúdo ruminal de bovinos sobre a absorção de tocoferóis após a aplicação de única dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal.....	76
Resumo	76
1. Introdução	77
2. Material e Métodos	79
3. Resultados e Discussão	82
4. Conclusões	88
5. Agradecimentos	89
6. Referências	90
CAPÍTULO V	92
Alterações de cor em cortes bovinos refrigerados, de animais tratados com uma dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal.....	92
Resumo	92
1. Introdução	93
2. Material e Métodos	96
2.1. MATERIAL	96
2.2. MÉTODOS	98
2.2.1. Determinação de tocoferóis.....	99
2.2.2. Obtenção dos valores de ΔE^* , C^* e H	99
3. Resultados e Discussão	100
4. Conclusões	112
5. Agradecimentos	113
6. Referências	114
ANEXOS	116
1. Introdução.....	116

2. Teste piloto	118
2.1. Análise de tocoferóis	122
2.1.1. Método de extração para plasma	123
2.1.2. Método de extração com saponificação	124
2.2. Medidas de cor da carne	125
2.3. Análise sensorial	125
2.4. Resultados obtidos a partir do teste piloto	128
2.4.1. Teor de tocoferóis do plasma e alguns tecidos após tratamento com DDOS	128
2.4.2. Variações da cor da carne durante estocagem	129
2.4.3. Análise sensorial	133
2.4.4. Avaliação da dose	133
2.4.5. Avaliação da via de administração	133
3. O processo digestivo e a relação com a absorção de tocoferóis	135
4. Análises sensoriais	136
4.1. Teste de diferença do controle - escala estruturada	137
4.2. Teste de diferença do controle - escala não estruturada	138
4.3. Teste de intenção de compra	139
4.4. Resultados e discussão	140
4.5. Conclusões	142
5. Bibliografia	143

INTRODUÇÃO

Para facilitar a divulgação dos resultados desta pesquisa optou-se por dividi-la em cinco artigos (cinco capítulos). O primeiro visou levantar os problemas e o estado atual da tecnologia. Trata-se de uma revisão sobre a qualidade da carne bovina, a interação com os sistemas de embalagem e o aumento da estabilidade da carne fresca refrigerada, enfatizando o uso da vitamina E, objetivo principal desta pesquisa.

Os quatro capítulos seguintes apresentam os resultados obtidos no experimento a partir da aplicação em bovinos de uma única dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal, 48 horas antes do abate, consistindo de:

1. Capítulo II - Relata os níveis de α e γ -tocoferol incorporados pelos tecidos bovinos, provenientes dos animais tratados, a partir da análise de plasma, músculos (*Longissimus dorsi*, *Gluteus medius*, *Psoas major* e *Gluteus bíceps*), fígado e gordura de cobertura do *Gluteus bíceps*.
2. Capítulo III - Apresenta o aumento da estabilidade oxidativa da gordura bovina dos animais tratados, medida através de um aparelho OSI (Oxygen Stability Index).
3. Capítulo IV - Discute através dos resultados a influência do conteúdo ruminal no momento da aplicação do DDOS, sobre a absorção de tocoferóis.
4. Capítulo V - Alterações da cor da carne dos animais tratados acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido (PS), envolvidas com filme esticável de

policloreto de vinila (PVC) e submetidos à refrigeração (4 °C) em geladeira expositora na ausência de iluminação e iluminação fluorescente contínua de 520 a 560 lux.

Na seção "Anexos", detalha-se o método de análise de vitamina E, os resultados da avaliação sensorial e a discussão sobre o método de aplicação da vitamina E através da via intraruminal.

CAPÍTULO I

A qualidade da carne bovina, embalagem e o aumento da vida-de-prateleira da carne fresca refrigerada, com ênfase ao emprego da vitamina E (artigo de revisão).

1. Introdução

O presente artigo visa rever o conceito de qualidade da carne fresca e discutir as tecnologias empregadas na sua comercialização, atualizando alguns tratamentos importantes na conservação, com ênfase no uso da vitamina E.

A cor vermelha brilhante ou vermelha cereja é uma das mais importantes características de qualidade da carne e que influenciam na decisão de compra pelo consumidor, sendo associada ao frescor do produto. A percepção do frescor é que determina a validade da carne fresca e conseqüentemente o período em que é comercializável (Gatellier, Hamelin, Durand & Renerre, 2001).

Fatores externos influenciam indiretamente a percepção da cor como a fonte de iluminação, a transparência e o tipo de embalagem. Outras influenciam diretamente as características físico-químicas da carne, como a composição de gases da atmosfera que envolve a carne, a temperatura de conservação, a presença de pró-oxidantes ou antioxidantes. Estes últimos quando presentes, em maiores quantidades, têm a capacidade de agir no pigmento "heme" da mioglobina retardando reações de oxidação.

À medida que a carne é exposta ao oxigênio do ar a mioglobina assume a forma de oximioglobina, um pigmento vermelho brilhante. Com o tempo esse pigmento se oxida formando a metamioglobina que é de cor marrom. A presença de antioxidantes retarda a transformação da oximioglobina em metamioglobina, mantendo a cor vermelha brilhante por um período maior de tempo. A carne exposta nos estabelecimentos varejistas tem como um parâmetro de qualidade a descoloração e o escurecimento, mesmo antes da degradação microbiológica. A carne que escurece na prateleira é rejeitada pelo consumidor e é submetida então a outro aproveitamento de menor valor comercial. A incorporação de tocoferóis (vitamina E) à carne prolonga o tempo e a manutenção da cor vermelha brilhante e reduz as perdas no varejo.

2. A carne bovina fresca.

Diferente do que ocorre com carne suína que é principalmente utilizada para industrialização, a carne bovina é comercializada na sua grande maioria na forma fresca ou "in natura".

A legislação brasileira começa a caminhar no sentido de estabelecer critérios mais rigorosos de embalagens para comercialização de carne fresca. Um exemplo é a publicação das Portarias do Ministério da Agricultura de número 89 e 90 de 15 de julho de 1996, que exigem a embalagem e identificação de meias carcaças e a rotulagem de cortes. Esses itens incluem a identificação do animal, espécie, sexo, se o animal é castrado ou inteiro (no caso de macho), origem, estabelecimento produtor, data de embalagem, de validade etc.

Estas novas exigências trazem benefícios para o consumidor e o varejista, tanto na melhoria e garantia higiênica e sanitária, como também na economia em transporte e sistemas de frio, melhor qualidade na cadeia de frio (controle e variações na temperatura), menores perdas, redução da mão-de-obra especializada nos pontos de venda, assegura a procedência e prazo de validade, facilita a implantação de marketing de venda (marca, propaganda etc.).

2.1 Qualidade da carne.

O que é qualidade da carne? Segundo Yang, Lanari, Brewster & Tume (2002) esta questão tem contribuído para o aparecimento de muitas definições na literatura científica, incluindo: ser saudável ou apropriada para consumo; ser capaz de satisfazer as necessidades ou expectativas do consumidor; reunir quesitos que atendam a uma demanda específica do consumidor; possuir um grau de qualidade a um preço razoável e uma totalidade de qualidades e características de um produto que reúne todas as habilidades de satisfazer uma expectativa ou atender uma necessidade.

Qualquer que seja a resposta, algumas características de qualidade apresentam-se como mais relevantes à maioria dos consumidores, incluindo a higiene, fisiologia do alimento, tecnologia e atributos sensoriais tais como a palatabilidade. Isso influencia a aceitabilidade dos diferentes tipos de carne e produtos cárneos de diferentes espécies animais considerando-se diferentes características como cor, sabor, aroma, suculência, e/ou capacidade de retenção ou ligação de água, maciez, qualidade microbiológica, presença de aditivos e

resíduos, além da nutrição humana. (Gray, Goma, & Buckley, 1996).

As principais características sensoriais que o consumidor considera para julgar a qualidade da carne são a aparência, textura, sabor e aroma. (Liu, Lanari & Schaefer, 1995). A mais importante é a aparência visual, pois é ela que mais influencia a decisão de compra (Faustman & Cassens, 1990).

O consumidor discrimina nos cortes a perda de aparência e cor fresca, e quando a carne começa a perder a cor característica, é freqüentemente aproveitada como carne moída, ou carne industrial, perdendo seu valor comercial.

Os produtos de carnes bovina, suína, aves e peixes são normalmente muito desejáveis pelo sabor e aroma. Alterações nessas características naturais, embora não sejam incomuns, resultam em baixa aceitabilidade e às vezes rejeição pelo consumidor. A presença de aromas e sabores desagradáveis pode influenciar o consumidor e afetar negativamente o consumo destes produtos. Alterações na carne podem ser classificadas como graves, quando se formam sabores e aromas desagradáveis. As alterações, descritas a seguir, podem estar intimamente relacionadas ao produto e às vezes ser consequência de fatores externos conforme descrito por Gray, Pearson & Monahan, (1994) citados por Gray, Goma & Buckley, (1996):

1. Rancidez oxidativa ou sabor e aroma de ranço;
2. Sabores e aromas específicos da espécie animal;
3. Sabores e aromas derivados da alimentação a que foi submetido o animal (regime dietético);
4. Sabores e aromas alterados induzidos pelo processamento;

5. Sabores e aromas desagradáveis associados à condição sexual ou idade do animal;
6. Sabores e aromas provenientes de animais não castrados (macho inteiro) ou de animal silvestre;
7. Sabores e aromas advindos de microorganismos contaminantes;
8. Sabores e aromas indesejáveis, de contaminantes ambientais.

Segundo Gatellier, Hamelin, Durand & Renerre, (2001) a cor da carne é dependente de muitos fatores, como a concentração de pigmentos hematínicos (mioglobina e hemoglobina), das características físicas da carne (principalmente pH), do tipo de músculo envolvido, da oxidação lipídica e dos pigmentos heme, que são muito importantes para a carne bovina. A mioglobina é o principal pigmento envolvido nas reações de oxirredução e quando reduzida é denominada deoximioglobina (cor púrpura). Está presente no interior do músculo ou na superfície da carne acondicionada a vácuo. Quando exposta ao ar a mioglobina combina-se com o oxigênio e forma a oximioglobina que é vermelha brilhante e que é associada com um indicativo de carne fresca e considerada atrativa para o consumidor. Com o passar do tempo e o contato com o ar, ocorre uma descoloração resultante da conversão da oximioglobina em metamioglobina que é marrom e repulsiva ao consumidor (Renerre, 1990). A cor observada na carne é conseqüente do balanço entre oxidação da oximioglobina e redução da metamioglobina. (Gatellier, Hamelin, Durand & Renerre, 2001). Em geral é o estado físico-químico da mioglobina: púrpura (mioglobina reduzida), vermelha (oximioglobina) e marrom (metamioglobina) que determina a cor

da carne fresca (Strange, Benedict, Gugger, Metzger & Swift, 1974).

O grau de descoloração da carne está relacionado à efetividade do processo de oxidação e a eficiência do sistema de redução enzimática em controlar os níveis de metamioglobina na carne (Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, Williams & Scheller, 1989).

A fonte de iluminação influencia a percepção da cor. Segundo Barbut (2001) uma equipe sensorial treinada preferiu a aparência da carne fresca exposta sob luz incandescente quando comparada com uma fonte de luz fluorescente ou a uma alógena. A cor da carne bovina foi preferida sob luz incandescente devido a maior atratividade da cor vermelha percebida. A região da luz vermelha está acima de 570 nm, a medida da reflexão da luz em amostras de carne a partir de três fontes diferentes revela uma maior intensidade do espectro luminoso acima de 570 nm para a lâmpada incandescente, enquanto as outras lâmpadas apresentam espectros que decaem nessa região. Apesar da preferência a opção de compra não foi afetada pela fonte de iluminação.

2.2 Sistema de cor da carne e oxidação de gorduras.

Um dos sistemas utilizados para medir as alterações da cor da carne fresca durante o condicionamento sob refrigeração é a medida objetiva de cor Hunter L^* a^* b^* , ou valores CIELAB, que consiste basicamente em determinar a intensidade da luminosidade (L^*) variando de claro a escuro, a intensidade de vermelho (a^*) variando do verde (-) ao vermelho (+) e a intensidade do amarelo (b^*) variando de azul (-) ao amarelo

(+). A partir desses dados pode-se calcular o índice de saturação e o ângulo de cor (Little, 1975).

A carne fresca após o corte normalmente apresenta maior intensidade de mioglobina reduzida quando se expõe a carne à presença do oxigênio do ar a mioglobina combina-se ao oxigênio formando a oximioglobina que possui cor vermelha brilhante. Com o passar do tempo e à medida que o oxigênio vai difundindo na carne, a mioglobina presente nas camadas mais internas vai formando maiores quantidades de oximioglobina, o que torna maior a intensidade da cor vermelha brilhante.

Inicialmente, após a exposição ao ar, os valores de L^* , a^* e b^* da superfície aumentam e tornam-se estáveis por algumas horas. A duração destes valores depende das condições de embalagem e estocagem, principalmente do oxigênio disponível, luz, temperatura, pH da carne, etc (Jakobsen & Grete, 2000).

A partir de certo tempo o pigmento começa a oxidar-se e formar uma cor marrom escura, em consequência da formação de metamioglobina, a partir de então os valores de L^* , a^* e b^* decrescem sensivelmente e mantêm-se em declínio, pois a carne começa a escurecer.

A oxidação lipídica é um dos mecanismos primários de deterioração da qualidade de alimentos, principalmente carne. As mudanças na qualidade se manifestam por alterações diversas no sabor, aroma, cor, textura e valor nutritivo. A oxidação lipídica nos sistemas musculares é iniciada em nível de membrana nas frações fosfolipídicas intracelulares. O mecanismo dessas reações ainda não está bem elucidado, mas geralmente está relacionado à presença de metais de transição, principalmente ferro que é o agente principal da geração de

espécies químicas capazes de subtrair um próton de um ácido graxo insaturado (Gray, Gomaa, & Buckley, 1996).

Carnes contendo quantidades elevadas de lipídeos altamente insaturados são mais susceptíveis a oxidação quando comparadas com aquelas que possuem mais ácidos graxos saturados e conseqüentemente necessitam de maiores níveis de antioxidantes. Também apresentam diferenças nos conteúdos de antioxidantes como o β -caroteno ou de pró-oxidantes como moléculas de ferro de baixo peso molecular. Estes fatores chegam a afetar os atributos de qualidade da carne (Yang, Brewster, Lanari & Tume, 2002).

3. Sistemas de embalagens mais utilizados para carne fresca.

3.1. Bandejas envolvidas por filme de alta permeabilidade ao O₂.

As bandejas mais utilizadas são as de poliestireno expandido (PS), envolvidas normalmente com filme esticável de policloreto de vinila (PVC) ou poliolefínicos. Os filmes de PVC mais utilizados atualmente possuem espessura de 13 μm e alta taxa de permeabilidade ao O₂, aproximadamente 12.000 cm³/m²/dia a 25 °C e 1 atm. Atualmente, são os materiais mais empregados no varejo para acondicionamento de cortes de carne fresca. É de fácil utilização em qualquer estabelecimento comercial, pois utiliza equipamentos simples e de baixo custo. A bandeja apresenta-se como um bom suporte mecânico, com diversas cores e tamanhos. O filme envoltório apresenta certa barreira ao vapor d'água, o que evita a perda de umidade do produto (ressecamento superficial), principalmente pela ação do frio.

Um acessório utilizado neste tipo de embalagem é o absorvente colocado no fundo da bandeja, sob a carne, para absorção do líquido. Existem bandejas disponíveis no mercado que já trazem esses absorventes aderidos internamente. Este item é importante, para evitar aparência indesejável pela exudação que ocorre normalmente na carne fresca sob refrigeração e para evitar o vazamento do líquido durante o manuseio pelo consumidor.

A alta permeabilidade ao O_2 torna possível a oxigenação da carne e da mioglobina e o aparecimento da cor vermelha brilhante, porém a vida-de-prateleira nessa embalagem é em média de três dias.

Carpenter, Cornforth & Whittier (2001), avaliando o comportamento do consumidor em relação a três tipos de embalagem, observaram que a cor do corte em bifes e o tipo de embalagem foram considerados importantes e que influenciaram a decisão de compra. Houve preferência pela bandeja envolvida com filme de PVC, em relação às embalagens em atmosfera modificada e a vácuo, embora a cor e o tipo de embalagem não tenham induzido uma nota diferenciada quanto aos atributos de sabor e aroma, succulência, maciez e impressão global. Vale ressaltar que os autores utilizaram embalagens simples sem nenhum atrativo gráfico, informativo ou de marketing, que poderia ser adicionado às embalagens a vácuo ou com atmosfera modificada.

O sistema de bandeja mais filme apresenta como inconveniente à alta permeabilidade a gases, que promove inicialmente uma forte cor vermelha brilhante, mas em condições normais, a oxidação do pigmento é rápida. A presença de ar atmosférico (O_2) não inibe o crescimento microbiano e o desenvolvimento de odores e aromas estranhos, que tornam curta

a vida-de-prateleira da carne acondicionada, em média dois a três dias sob refrigeração.

3.2. Sistema de embalagem com atmosfera modificada.

Segundo Jakobsen & Grete (2000), o sistema de embalagem com atmosfera modificada é utilizada para prolongar a vida-de-prateleira de carne bovina refrigerada. A cor, a carga microbiana e a oxidação lipídica são importantes fatores para a manutenção da estabilidade da carne fresca refrigerada e aceitação nos pontos de venda.

Os materiais de embalagem utilizados nesse sistema são laminados flexíveis de alta barreira com baixa permeabilidade ao O₂ e CO₂ uma vez que a concentração destes gases dentro da embalagem é superior à concentração no ar atmosférico. Utilizam-se bandejas semi-rígidas laminadas que recebem o produto diretamente e em seguida um filme ou tampa é termoselado, de maneira a não tocar o produto. O fundo interno da bandeja é normalmente irregular para permitir a oxigenação uniforme do produto e utilizam-se normalmente absorvedores para o líquido exsudado.

A vida-de-prateleira da carne fresca é fortemente influenciada pela qualidade inicial do produto, características da embalagem e condições de estocagem (Zhao, Wells, & McMillin, 1994), que determinam o tempo de estocagem para o consumo. A qualidade inicial da carne é um fator crítico para a utilização do sistema com atmosfera modificada. Sabe-se que elevado nível de dióxido de carbono inibe o desenvolvimento microbiano (Marshall, Wiese-Lehigh, Wells & Farr 1991), ao mesmo tempo,

elevado teor de oxigênio mantém por mais tempo a estabilidade da cor (Bartkowski, Dryden & Marchello 1982).

Normalmente, a composição dos gases utilizada em embalagens com atmosfera modificada para carne fresca é de 20 a 30 % de CO₂ e de 70 a 80 % de O₂ (Jakobsen & Grete 2000) e a proporção de produto:gás deve ser de no mínimo 1:1.

Sabendo-se que elevado nível de O₂ irá prolongar a estabilidade da cor é também esperado que o grau de oxidação lipídica aumente (Zhao, Wells, & McMillin, 1994).

A oxidação lipídica causa rancidez e a produção de sabores e odores estranhos na carne (Jakobsen & Grete, 2000), mas não é considerada como um fator limitante para a vida-de-prateleira de carne fresca estocada sob refrigeração em embalagem permeável ao O₂, já que ela ocorre mais lentamente que a descoloração ou o crescimento microbiano (Zhao, Wells & McMillin, 1994). No entanto quando utilizamos a embalagem com atmosfera modificada ocorre um retardamento nos outros mecanismos deteriorantes da carne fresca e a oxidação lipídica passa a ser um fator limitante da vida-de-prateleira (McMillin, 1993 citado por Jakobsen & Grete, 2000).

Segundo Jakobsen & Grete (2000), existe grande controvérsia nos resultados das pesquisas que avaliam a oxidação lipídica em carne fresca acondicionada em atmosfera modificada. Muitos autores têm detectado um aumento da oxidação lipídica em carnes estocadas em elevadas concentrações de oxigênio, enquanto outros pesquisadores não têm encontrado nenhum aumento da oxidação lipídica em condições similares. Através do desenvolvimento de um modelo matemático específico para avaliação dos efeitos da atmosfera modificada sobre vida-de-prateleira da carne refrigerada, Jakobsen & Grete (2000)

observaram que o tempo e a temperatura de estocagem têm um pronunciado efeito sobre a cor e a estabilidade oxidativa. O valor de a^* reduz com o aumento da temperatura e do tempo. Por outro lado os valores de TBA aumentam com a temperatura e o tempo. O nível de aumento de TBA é consideravelmente maior na faixa de 5 a 8 °C de temperatura do que na faixa de 2 a 5 °C. Valores de aproximadamente 55 % dentro da embalagem mostraram-se mais eficientes na manutenção da cor vermelha do que 20 % e não apresentaram diferença em relação a 80 %, valor usualmente utilizado. Não foram observadas diferenças significativas quanto à oxidação lipídica para todas as concentrações de O₂.

3.3. Sistema de embalagem a vácuo.

O sistema de embalagem a vácuo é sem dúvida um excelente sistema de acondicionamento de carne bovina fresca, principalmente para cortes maiores. Segundo Cornforth, (1994) a embalagem a vácuo associada à estocagem sob refrigeração é o método mais efetivo, para estender a vida-de-prateleira de carnes cruas. Esse sistema de embalagem possui boa relação custo/benefício o que o torna mais importante dentre os outros sistemas.

Consiste basicamente na utilização de sacos laminados, de alta barreira a gases e com boa capacidade de termoselagem. A carne dentro da embalagem é submetida a vácuo e em seguida ocorre a termoselagem, fechando o sistema e protegendo de contaminações externas e de danos mecânicos. O vácuo formado não permite o desenvolvimento da maioria dos microorganismos, com exceção para algumas bactérias lácticas e em carnes com pH maior que 6,0, quando se pode formar pigmento esverdeado (sulfomioglobina) em consequência da produção de sulfeto de

hidrogênio por *Alteromonas putrefaciens* a partir de cisteína ou glutatona. Normalmente valores mais baixos de pH são encontrados na carne bovina, mas quando o pH é alto pode-se evitar o crescimento de *A. putrefaciens* pela adição de citrato. De modo geral o vácuo tem o efeito de aumentar a "lag-fase" dos microorganismos presentes reduzindo a contagem final de bactérias (Cornforth, 1994).

A grande vantagem da carne acondicionada a vácuo e mantida sob refrigeração é que as enzimas da carne continuam ativas, levando a um processo de maturação durante a estocagem, melhorando as características organolépticas, principalmente a maciez.

Normalmente os sacos laminados utilizados possuem boas características de resistência mecânica e brilho, conferindo um bom suporte físico para os cortes acondicionados. Na embalagem a vácuo a oxidação e a perda de nutrientes é extremamente reduzida. Por exemplo, em relação ao teor de α -tocoferol não ocorre alteração no conteúdo durante 47 dias sob refrigeração (Yang, Brewster, Lanari & Tume (2002) Liu, Scheller, Arp, Schaefer & Frigg, 1996).

Esse sistema de embalagem apresenta como inconveniente o fato de que na ausência de oxigênio os pigmentos da carne ficam escuros (deoximioglobina), o que torna o produto desagradável para o consumidor. Para corrigir esta situação seria necessário um processo educativo do consumidor visando esclarecer que a cor escura, no caso de carne acondicionada a vácuo, não é um fator desqualificador do produto. No momento em que a embalagem é aberta ocorre a oxigenação da superfície da carne e a formação de oximioglobina tornando a carne vermelha brilhante.

Lee & yoon (2001), mediram a intensidade do vermelho a^* , através do sistema Hunter, após a abertura da embalagem a vácuo de carne bovina estocada a 0 °C observando que o valor de a^* sofreu um aumento até a décima hora e depois começou a decrescer. A intensidade do vermelho se elevou mais na primeira hora da exposição ao ar atmosférico.

4. Outras tecnologias para prolongamento da vida-de-prateleira da carne fresca.

4.1. Coberturas superficiais.

As coberturas realizadas através de aspersão superficial ou imersão têm a finalidade de disponibilizar um agente protetor sobre a carne, com o objetivo de reduzir o crescimento microbiano ou retardar as reações de oxidação ou ambos. No caso de carne fresca o uso de antioxidantes é proposto principalmente com o objetivo de retardar a oxidação superficial do pigmento e dos lipídeos. A sua utilização prática é um pouco discutível, pois existem resultados controversos na literatura e necessidade de maiores avaliações quanto ao aspecto sensorial e legal, além de definição de doses e melhores combinações.

Greene, Hsin & Zipser (1971), relataram que o ácido ascórbico mais o propil galato ou butilato de hidroxianisol efetivamente retardam a formação de pigmentos oxidados e a oxidação lipídica em carne bovina. Segundo Govindarajan, Hultin, & Kotula (1977), quando testado em bifes o ácido ascórbico não apresentou efeito na fase inicial quando a oxidação da mioglobina é lenta, mas prolongou o intervalo de tempo entre esta e o início da fase de oxidação rápida. Shivas,

Kropf, Hunt, Kastner, Kendall & Dayton (1984), estudaram os efeitos do ácido ascórbico na carne acondicionada em bandejas, observando que a vida-de-prateleira foi prolongada por um período de até 5 dias a mais em consequência da adição superficial de ácido ascórbico.

Okayama, Imai & Yamanoue (1987), relatam que segundo Chang & Watts (1949), o ácido ascórbico notadamente retarda a rancidez em presença de hemoglobina ou nitrosohemoglobina tendo apenas pequenas quantidades de tocoferol presente nos lipídeos.

A combinação de ácido ascórbico (0,1 %) com carnosina (1,0 %) é mais efetiva em inibir a formação de metamioglobina e o desenvolvimento da cor marrom na carne, do que ambas soluções isoladas. Isoladamente a carnosina se mostra mais efetiva do que o ácido ascórbico. A carnosina aumenta o pH da carne, melhora o cozimento e aumenta a solubilidade das proteínas solúveis em solução salina, ao contrário do ácido ascórbico que reduz o pH da carne e a solubilidade das proteínas e não tem nenhum efeito sobre o cozimento (Lee, Hendricks & Cornforth, 1999).

Sánchez-Escalante, Djenane, Torrescano, Beltrán & Roncalés (2001) Avaliaram o efeito antioxidante do ácido ascórbico (500 ppm), taurina (50 mM), carnosina (50 mM) e pó de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (1000 ppm), sobre hambúrgueres bovinos acondicionados em atmosfera modificada (70 % O₂ + 20 % CO₂ + 10 % N₂) e refrigerados a 2 °C. Avaliou-se a cor, número de TBA, formação de metamioglobina (% da mioglobina total), contagem de microorganismos psicrotóxicos e análise sensorial de odor e cor (descoloração). Pó de alecrim isoladamente, ou com ácido ascórbico, foi efetivo em inibir a formação de metamioglobina e a oxidação lipídica. A análise sensorial confirmou estes

resultados. O ácido ascórbico, ácido ascórbico + taurina e ácido ascórbico + carnosina mostraram um efeito inibitório limitado visando a redução da oxidação lipídica, produzindo resultados menos efetivos que o ácido ascórbico e o alecrim. A taurina isolada não produziu efeito antioxidante.

Okayama, Imai & Yamanoue (1987), trataram por imersão bifés de carne bovina, músculo *longissimus dorsi*, com diferentes soluções: (1) álcool etílico a 70 %; (2) álcool etílico a 70 % contendo 3 % de ácido L-ascórbico; (3) álcool etílico a 70 % contendo 0,08 % de Dl- α -tocoferol; (4) álcool etílico a 70 % contendo 3 % de ácido L-ascórbico mais 0,08 % de Dl- α -tocoferol mergulhados por 20 segundos e escorridos por 10 segundos e (5) amostras controle sem tratamento. Após 3, 6, 9 e 13 dias de estocagem a 4 °C em sacos de PVC termo-selados, concluíram que as soluções 2 e 4 apresentaram melhor eficiência, retardando a formação de metamioglobina e mantiveram em níveis básicos a produção de TBA, sendo que todos os tratamentos apresentaram efeito semelhante em relação à carga microbiana presente na carne, prolongando a "lag-fase".

Benedict, Strange & Swift (1975), avaliaram a ação de diferentes antioxidantes sobre a estabilidade lipídica durante a estocagem da carne bovina moída e concluíram que o ácido ascórbico exerce uma ação pró-oxidante enquanto o tocoferol exerce somente um ligeiro efeito no decréscimo dos níveis de oxidação de lipídeos e grupos heme em comparação com o controle não tratado. Por outro lado, Tappel, Brown, Zalkin & Maier (1961), estudaram o efeito do α -tocoferol em inibir a peroxidação lipídica catalisada pelos compostos hematínicos e demonstraram que existe um sinergismo com o ascorbato, que

acentuou o efeito antioxidante do tocoferol nos tecidos estudados.

4.2. Irradiação.

A contaminação de alimentos por microorganismos é problema de saúde pública mundial, principalmente os alimentos de origem animal. Os contaminantes mais graves são as bactérias patogênicas não esporogênicas, os helmintos e protozoários. Microorganismos patogênicos são também encontrados em alguns ingredientes alimentícios (Farkas, 1998).

Nos E.U.A. o serviço de saúde pública estima que dentre os 6,5 a 8,1 milhões de casos de diarreia que ocorrem a cada ano devido a bactérias patogênicas como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* e *Vibrio* bem como por *Toxoplasma gondii* e outros parasitas resultam em 9000 mortes (Archer e Kvenberg, 1985).

Patógenos extremamente virulentos como *E. coli* O157:H7 (produtora de verotoxina) e outras espécies patogênicas como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophyla* geram preocupações especiais, quando se considera a grande importância das doenças de origem microbiana e parasítica relacionadas com os alimentos. Alimento saudável deve ser garantido pela aplicação de programas preventivos de alta prioridade, incluindo o desenvolvimento e implementação de melhores tecnologias de processamento de alimentos e manipulação para que não haja possibilidade de contaminação do consumidor (Farkas, 1998).

A irradiação de alimentos é uma alternativa de intervenção para o controle da contaminação microbiológica. A irradiação utilizando raios gama gerados de radionúcleos como Co^{60} ou Cs^{137} ou elétrons com alta energia e raios X produzidos por fontes mecânicas são maneiras de eliminação ou redução da carga microbiana ou patogênica do alimento. O benefício da irradiação inclui o fato de que o alimento pode ser processado, acondicionado como um tratamento terminal eliminando a possibilidade de re-contaminação até o momento da sua retirada da embalagem para uso. A radiação pode inativar microorganismos em alimentos que estejam congelados sem a necessidade de descongelá-los. A irradiação também produz inativação da carga microbiana espóliativa, o que aumenta a vida-de-prateleira do alimento fresco ou degelado (Farkas, 1998).

4.2.1. Doses requeridas para o processo de irradiação dos alimentos.

A necessidade de manter a qualidade organoléptica e nutricionais e manter baixos os custos de produção são fatores importantes que tornam necessário o uso das doses mais baixas possíveis que produzam os níveis desejáveis para o controle microbiológico e de parasitas em escala comercial. É importante estabelecer a eficácia do tratamento com radiação e as doses limites ou doses mínimas em relação a alterações da qualidade. Atualmente a dose exata requerida para cada aplicação individual deve ser estabelecida por análise de risco, levando em consideração o nível de contaminação, o risco envolvido, a eficácia do tratamento com a radiação e o resultado final obtido sobre os microorganismos críticos durante a elaboração, estocagem, distribuição e preparo doméstico dos alimentos.

As doses limites para detecção de alterações de sabor e aroma em alimentos de origem animal foram determinadas por Sudarmadji & Urbain, (1972) e podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Doses limites para detecção de alterações de sabor e aroma em alimentos de origem animal irradiados em temperatura de 5 a 10 °C.

Alimento	Dose limite (kGy)
Carne de Peru	1,50
Carne suína	1,75
Carne bovina	2,50
Carne de frango	2,50
Camarão	2,50
Carne de rã	4,00
Carne de carneiro	6,25
Carne de cavalo	6,50

Fonte: Sudarmadji & Urbain, (1972).

O número de células que podem ser destruídas pelo processo de irradiação vai depender de uma série de variantes, como o microorganismo envolvido, o tipo de alimento, temperatura de irradiação, presença de oxigênio e conteúdo de água (Thayer, Boyd, Fox, Lakritz & Hampron, 1995).

A oxidação lipídica durante a irradiação pode ser minimizada pela exclusão do oxigênio e aplicação de antioxidantes. Uma alta dose de irradiação pode levar a uma descoloração da carne. Dissipação de odores e sabores estranhos em alimentos irradiados pode ocorrer durante a estocagem. A determinação das condições de embalagem e controle adequado da permeabilidade pode até certo ponto reduzir as alterações sensoriais (Sudarmadji & Urbain, 1972).

4.2.2. Limitações da irradiação de alimentos.

Segundo Farkas (1998), a irradiação de alimentos não é uma panacéia para todos os problemas com os alimentos. De um lado fatores econômicos e logísticos e de outro, problemas baseados na percepção fisiológica e nas alterações sensoriais e ainda devido ao desconhecimento do público sobre a manutenção da qualidade saudável nos alimentos irradiados, normalmente são limitações à aplicação e a dosagem da radiação. A informação apropriada do consumidor acerca da segurança e dos benefícios dos alimentos irradiados pode levar ao aumento do interesse e nível de conhecimento e conseqüente aceitação de produtos irradiados pelo consumidor (Bruhn, 1995).

Segundo Farkas (1998), a aplicação de radiação em alimentos congelados pode reduzir a formação de odores e sabores estranhos, mas isso esbarra em algumas limitações, pois alguns alimentos não podem ser congelados. O autor não relata, mas pode-se deduzir que implica em um custo adicional, pois estaria se empregando duas técnicas de conservação, a irradiação e o congelamento. Ainda segundo o autor, alguns resultados não podem ser assegurados através da radiação e

nestas circunstâncias a tecnologia é inaplicável. Por exemplo, as doses limites, empregadas na prática da irradiação não inativam viroses, enzimas e toxinas microbianas. A irradiação não tem efeito persistente, desta maneira a contaminação pós-irradiação deve ser prevenida para assegurar os benefícios microbiológicos obtidos com o tratamento por radiação. Outros problemas seriam de ordem legal ou de apoio de entidades da área de saúde, nesse sentido foram importantes as posições positivas em relação à irradiação dos alimentos, associando-os com a saúde, tomadas por órgãos importantes como a WHO (1994), A.M.A. (American Medical Association, 1993), A.D.A. (American Dietetic Association, 1996) Institute of Food Technologists e o Council for Agricultural Science and Technology nos EUA.

Segundo Farkas (1998), o Brasil foi o segundo país a utilizar a irradiação de alimentos, em carne de aves em 1985, sendo que Bangladesh foi o primeiro país a utilizar em carne de frango.

Segundo Millar, Moss e Stevenson, (2000) carnes bovinas tratadas com 5 kGy de radiação e estocadas a 4 °C em bandejas por oito dias, apresentaram aumento significativo do valor de L* (luminosidade) apenas no primeiro dia de estocagem, enquanto o valor de a* (vermelho) e o valor de b* (amarelo) foram menores do que o controle durante todos os dias de estocagem. A carne fresca irradiada logo após o tratamento, apresentou valor de a* inferior ao que atinge o controle após oito dias de refrigeração. As medidas iniciais de L* a* e b* são de uma carne mais escura e menos vermelha que uma carne sem tratamento com oito dias de estocagem a 4 °C em bandejas revestidas com filme de alta permeabilidade ao O₂. A formação de cores indesejáveis, do ponto de vista do consumidor, é crítica uma vez que a cor da carne é importante na decisão de compra.

Outros efeitos como a presença de sabores e aromas indesejáveis, são impedimentos à comercialização em larga escala da carne fresca irradiada.

Ainda segundo Millar, Moss e Stevenson, (2000) a comercialização de alimentos irradiados, incluindo carne fresca tem sido limitada pela desconfiança do consumidor sobre a segurança do processo de irradiação.

Segundo Ginger, Lewis e Schweigert (1995), a radiação ionizante causa a formação de cor vermelha em extratos de metamioglobina e a formação de metamioglobina em extratos de oximioglobina. Postulava-se em trabalhos anteriores, como o de Tappel (1956) citado por Millar, Moss e Stevenson, (2000) que a cor vermelha que era formada quando se irradiava carne em atmosfera de nitrogênio, se devia a formação de oximioglobina a partir da metamioglobina via ferrilmioglobina.

4.3. Uso de antioxidantes endógenos (Vitamina E).

A partir da década de 80 surgiram propostas na literatura da suplementação de antioxidantes na dieta de animais utilizados na produção de carne, visando utilizar-se do próprio organismo para distribuí-los através dos tecidos e incorporá-los em nível maior do que o normalmente encontrado. Este sistema é teoricamente muito eficiente uma vez que a distribuição é mais homogênea e consegue atingir as membranas celulares, onde se encontram os fosfolipídios e grande parte do colesterol, que são os compostos mais susceptíveis à oxidação.

A adição de vitamina E à dieta elevou os níveis nos tecidos sendo que a saturação da capacidade máxima em armazenar

vitamina E pelo músculo só ocorre após um longo período. Por exemplo, para o músculo *Longissimus dorsi* ela só ocorre após 120 dias de suplementação (Arnold, Arp, Scheller, Williams & Schaefer, 1993).

De acordo com os resultados de Okayama, Imai & Yamanoue (1987), conclui-se que o α -tocoferol não é tão eficiente em banhos superficiais como o é quando suplementado na dieta, pois neste caso distribui-se mais uniformemente na membrana celular e estando próximo dos fosfolipídios de membrana tem uma ação muito mais eficiente do que quando comparado com o uso em superfície.

O mecanismo através do qual se eleva a estabilidade da cor da carne pela suplementação com vitamina E não é completamente conhecido. Embora tenha sido muito especulado que os produtos de oxidação lipídica catalisam a oxidação da oximioglobina a metamioglobina. A ação antioxidante direta do α -tocoferol sobre os lipídeos da membrana pode indiretamente retardar a oxidação e também a descoloração da carne (Morrissey, (1995) citado por Gray, Goma & Buckley, 1996).

Segundo Yang, Lanari, Brewster & Tume (2002) normalmente encontram-se elevados níveis de α -tocoferol e outros antioxidantes na carne proveniente de gado alimentado exclusivamente em regime de pastagem, pois as gramíneas possuem estes compostos naturalmente. Por sua vez a carne destes animais necessita de uma maior demanda de antioxidantes endógenos, pois possuem alto conteúdo em ácidos graxos poliinsaturados, conseqüência também da fonte de alimentação. Estes ácidos graxos afetam a cor e a estabilidade lipídica.

Diversos estudos têm demonstrado que animais alimentados em regime de pastagem podem apresentar teores maiores de ácidos

graxos poliinsaturados nos músculos (Larick & Turner, 1989; Melton, Black, Davis & Backus, 1982) comparados com músculos de gado alimentado a base de grãos.

Yang, Brewster, Lanari & Tume (2002) encontraram em gado alimentado em pastagem, e não suplementado com vitamina E, concentração de 4 a 6 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol em músculo. A suplementação diária com 2500 UI de vitamina E por cabeça por 132 dias não incrementou teores adicionais de vitamina E. A concentração de α -tocoferol obtida dos animais em pastagem foi igual à dos animais alimentados com uma dieta a base de grãos e suplementados com 2500 UI de vitamina E/cabeça/dia.

A diferença na composição de ácidos graxos, encontrada pelos autores citados anteriormente pode ser em razão da diferença de peso dos animais utilizados ao fim do experimento. No início foram utilizados 4 grupos de 8 animais com peso distribuído uniformemente. Após o término do experimento (132 dias) o peso dos animais apresentava elevada diferença entre os grupos, a média das carcaças dos animais alimentados em pastagem foi de $184,8 \pm 3,5$ kg enquanto a dos animais alimentados com grãos foi de $272,25 \pm 11,9$ kg. Logo, os animais alimentados com grãos haviam incorporado mais ácidos graxos saturados na musculatura do que os alimentados com pastagem, o que justificaria a maior proporção de ácidos graxos insaturados. Entretanto a quantidade de ácidos graxos insaturados pode não ser tão significativa quanto afirmam os autores, o que invalidaria a afirmação de que um grupo necessitaria de maior demanda de antioxidantes endógenos.

Segundo Allen & Foegending, (1981), um músculo magro apresenta uma porcentagem de fosfolipídeos maior em relação ao mesmo músculo mais gordo.

A vitamina E ocorre na natureza e é composta de oito isômeros, sendo quatro tocoferóis (tocs) e quatro tocotrienóis (toc-3s), denominados alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ) tocs e toc-3s. A distribuição dos toc-3s é limitada a algumas plantas e suas sementes, em quantidades muito baixas se comparadas com os tocs. Até o momento a presença de toc-3s em tecidos animais não foi detectada (Ueda & Igarashi, 1990).

Os tocoferóis apresentam diferentes atividades de vitamina E, de acordo com a sua estrutura química. Normalmente estão presentes em pequenas concentrações nos tecidos animais, sendo encontrado principalmente o α -tocoferol. A vitamina E têm funções de inativar radicais livres em tecidos biológicos (Machlin, 1984).

Os tocoferóis ocorrem principalmente na forma não esterificada em grandes variedades de plantas como castanhas, sementes, óleos, frutas, vegetais e gramíneas. A maturação em gramíneas (crescimento, florescimento e produção de sementes) reduz o conteúdo em tocoferóis das mesmas com o tempo.

Os tecidos animais e produtos alimentícios provenientes de animais são geralmente pobres em vitamina E. Os tocoferóis não são sintetizados por mamíferos e sua presença nos tecidos é consequência da ingestão de vegetais na dieta e varia de acordo com o consumo.

A vitamina E pode ser sintetizada e normalmente é utilizada na forma de acetato. Sob esta forma, ela precisa ser modificada pelo organismo para tornar-se um antioxidante ativo.

A vitamina E apresenta uma série de vantagens para uso endógeno, pois é lipossolúvel, portanto facilmente armazenada e atinge melhores concentrações nas membranas celulares, locais onde se encontram os lipídeos mais sensíveis, ou seja, os

fosfolipídios e colesterol. Não apresenta toxidez e ocorre normalmente no organismo animal.

A suplementação da dieta com vitamina E resulta em elevadas concentrações de α -tocoferol nas membranas celulares especialmente nas mitocôndrias e nos microsossomos, resultando em significativa queda da susceptibilidade a oxidação lipídica nas membranas (Monahan, Buckley, Gray, Morrissey, Asghar, Hanrahan & Lynch, 1990; Asghar, Gray, Moller, Ku, Booren & Buckley, 1991).

Segundo Gallo-Torres (1980), estudos em ratos indicam que a região de maior absorção de vitamina E, está compreendida entre o início e o terço medial do intestino delgado. Em ovelhas o jejuno é o maior sítio de absorção de vitamina E, mas de modo geral a média de absorção é maior para o segmento medial do intestino do que para os segmentos distal e proximal.

A absorção depende de diversos fatores, tais como, dose administrada, inter-relação entre a velocidade de absorção e a velocidade do trânsito intestinal, tipo e a natureza do conteúdo intestinal, presença de compostos que reagem com os tocoferóis no intestino (principalmente bile e suco pancreático), além de variações individuais, peso, idade, hora da administração, presença de outros compostos que concorram pela absorção e pela ação da bile etc. (Gallo-Torres, 1980).

Nos ruminantes um fator muito importante é o elevado tempo de residência do conteúdo ingerido no rúmen. O rúmen, além de reter temporariamente a vitamina E, controla a taxa de transferência para os outros compartimentos estomacais e posteriormente para o intestino onde irá ocorrer a absorção, além disso, ocorre hidrogenação no rúmen pela ação de microrganismos, podendo converter tocotrienóis em tocoferóis.

4.3.1 A suplementação da dieta com vitamina E e a qualidade da carne.

4.3.1.1. Inibição da oxidação lipídica.

A presença ou ausência de vitamina E nos tecidos do animal influencia a estabilidade dos lipídeos na carne durante a estocagem. A vitamina E é um potente antioxidante e é solúvel nos lipídeos das membranas celulares (Halliwell 1987, citado por Gray, Goma, & Buckley, 1996). É capaz de neutralizar radicais livres e conseqüentemente proteger os fosfolipídeos e o colesterol da ação oxidativa. Recentemente diversos estudos têm sido conduzidos tendo como base a incorporação de α -tocoferol nas membranas celulares produzindo a estabilização da membrana lipídica e conseqüentemente melhorando a qualidade da carne durante a estocagem. Esta hipótese foi baseada na premissa de que a oxidação lipídica em carne é iniciada na membrana (Asghar, Gray, Buckley, Pearson & Booren, 1988).

A suplementação da dieta com vitamina E retarda a oxidação lipídica em carne bovina crua acondicionada simulando condições de estocagem no varejo (Liu, Lanari & Schaefer, 1995).

Faustman, Cassens, Schaefer, Buege & Scheller (1989) e Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, Williams & Scheller (1989) relataram melhora da estabilidade lipídica de bifos provenientes de novilhos holandeses cuja dieta foi suplementada com 370 UI/ animal/dia por aproximadamente 43 semanas. Resultados similares foram obtidos por Arnold, Scheller, Arp, Williams & Schaefer, (1993) que suplementaram novilhos holandeses com 0, 360 e 1290 UI/dia. A oxidação lipídica foi

inibida pela suplementação de 360 UI/dia, não havendo nenhuma melhoria adicional pelo aumento no nível da suplementação.

4.3.1.2. Redução da perda por gotejamento.

As membranas biológicas têm importante função de formar barreiras impedindo deteriorações e alterações da qualidade dos alimentos. A perda da integridade da membrana da célula muscular pode afetar a habilidade da semimembrana em funcionar como uma barreira semipermeável o que pode contribuir para a perda por exudação da carne (Gray, Gomaa & Buckley, 1996).

Asghar, Gray, Booren, Gomaa, Abouzied, Miller & Buckley, (1991) observaram que porções de carne suína congelada de animais suplementados com níveis de 10, 100 e 200 mg de acetato de α -tocoferol apresentaram diferenças significativas de perda por gotejamento durante a estocagem a 4 °C sob luz fluorescente por 10 dias. Cortes de animais provenientes do grupo que recebeu 200 mg exibiram menor perda por gotejamento (exudação) do que os outros dois grupos.

Um possível mecanismo para a explicação sobre o efeito do α -tocoferol na perda por gotejamento é apresentado por Asghar, Gray, Booren, Gomaa, Abouzied, Miller & Buckley (1991), que sugerem que o α -tocoferol pode preservar a integridade da membrana celular por prevenir a oxidação dos fosfolipídios da membrana durante a estocagem, e isso inibiria a passagem de fluido sarcoplasmático através da membrana celular.

4.3.1.3. Efeito sobre a carne cozida.

A suplementação da dieta com níveis elevados de vitamina E não produz benefício adicional para a carne cozida, tendo um efeito prático reduzido sobre o desenvolvimento de sabores e odores estranhos na carne bovina pré-cozida. (Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, Williams & Scheller, 1989).

Liu, Lanari & Schaefer (1995), concluíram que o benefício como antioxidante do α -tocoferol em carne cozida é limitado e pode ser devido à desnaturação da microestrutura do músculo durante o cozimento. A dispersão resultante dos ácidos graxos insaturados da membrana por todas as células musculares leva à interação com íons ferrosos e férricos liberados da desnaturação da porção globina, aumentando a taxa de oxidação.

4.3.1.4. Efeito sobre a cor.

Suplementação com vitamina E tem demonstrado resultados em estender de 1,6 a 5 dias a vida-de-prateleira em uma carne com boa qualidade microbiológica inicial. A extensão da manutenção da cor desejável para a vida-de-prateleira depende da dose e duração da suplementação imposta à dieta, do tipo de músculo e do período de maturação do mesmo. Os resultados cumulativos de diversos experimentos fornecem dados que indicam que a carne proveniente de animais que receberam 500 UI/cabeça/dia de vitamina E por 126 dias produziram benefícios, pela extensão da cor desejável à vida-de-prateleira, que refletem ganhos financeiros ao mercado varejista de cortes, (Liu, Lanari & Schaefer, 1995).

4.3.1.5. Redução da ingestão de colesterol oxidado.

Os produtos da oxidação de colesterol ou óxidos de colesterol têm sido detectados em diversos alimentos processados, incluindo leite em pó (Nourooz-Zadeh & Appelqvist, 1988), queijo ralado (Finocchiaro, Lee & Richardson, 1984), manteiga (Csiky, 1982), produtos que contêm ovo em pó (Morgan & Armstrong, 1987), carnes cruas, cozidas e processadas (Dawson & Gartner, 1983; Higley, Taylor, Herian & Lee, 1986; Park & Addis, 1987; Pie, Spahis & Seillan, 1991).

Pie, Spahis & Seillan (1991) e Engeseth & Gray (1994), estabeleceram que produtos da oxidação de colesterol aumentam significativamente no cozimento de carnes e durante a subsequente estocagem sob refrigeração.

Atualmente a oxidação de colesterol em alimentos tem recebido uma grande atenção da comunidade científica devido ao surgimento de evidências de efeitos adversos à saúde humana associados ao consumo de produtos da oxidação do colesterol (Monahan, Gray, Booren, Miller, Buckley, Morrissey & Gomaa, 1992).

Diversos estudos desenvolvidos em animais têm fornecido evidências convincentes da implicação da dieta com óxidos de colesterol como iniciadores de lesões ateroscleróticas em vasos sanguíneos (Taylor, Peng, Werthenssen, Tham & Lee, 1979). A elevação dos níveis destes no plasma humano tem sido correlacionada com o aumento do fornecimento de colesterol oxidado na dieta (Emanuel, Hassel, Addis, Bergman & Zavoral, 1991).

Nos tecidos musculares, acredita-se que os maiores colaboradores para a oxidação lipídica sejam as membranas fosfolipídicas (Igene, Pearson, Dugan & Price, 1980; Pikul, Leszczynski, Bechtel & Kummerow, 1984). O elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados contidos nos fosfolípidos é o responsável pela susceptibilidade destes à oxidação, e uma vez que 60 a 80 % do colesterol do músculo está associado com as membranas subcelulares (Hoelscher, Savell, Smith & Cross, 1988), a oxidação do colesterol do músculo pode ser iniciada por radicais livres gerados durante a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados vizinhos. Esta localização dos fosfolípidos entre duas camadas de membranas celulares produz um meio de controle da oxidação lipídica, pelo uso de antioxidantes, diretamente no provável sítio de iniciação. Segundo Monahan, Buckley, Morrissey, Lynch & Gray (1990), a suplementação das dietas de suínos com α -tocoferol eleva o conteúdo deste nas membranas sub-celulares dos músculos de suínos.

Obter maiores níveis de vitamina E na carne é uma alternativa para a redução da oxidação do colesterol em carnes cozidas e um benefício adicional à saúde humana.

4.3.2. Entraves à aplicação da tecnologia.

Quando se analisa a suplementação da dieta com vitamina E no contexto da pecuária Norte Americana, verifica-se que a proposta da suplementação dos bovinos esbarra em uma série de problemas que ainda não permitem que seja amplamente adotada. Nas condições brasileiras esses entraves são muito maiores.

Os problemas relacionados ao assunto são:

- a). Custo adicional para o produtor que assume as despesas de suplementação. Além disso, há necessidade de controle sobre a suplementação, caso seja adicionada à ração ou se administrada de outra forma. Talvez pudesse ser resolvido pelo pagamento diferenciado.
- b). Necessidade de certificação (do tratamento) para confirmar se a suplementação foi adequada. O custo da análise de vitamina E é elevado e exige equipamento adequado e mão de obra qualificada, além disso, até o momento não existem "kits" de análise para resultados rápidos e de baixo custo.
- c). O resultado do tratamento é interessante principalmente para o varejista, sendo que para o consumidor conhecer essas vantagens exigiria propaganda e educação.

No Brasil essa questão incorpora alguns complicadores, quais sejam:

- a). A característica da pecuária brasileira, que é extensiva, inviabiliza qualquer tipo de suplementação rotineira, como a suplementação diária com vitamina E. O volume de animais abatidos proveniente de confinamento é muito reduzido.
- b). Os custos de certificação seriam bem maiores no Brasil, devido ao custo dos reagentes e equipamentos de análise.
- c). Em princípio o perfil atual do mercado consumidor não exige este tipo de tecnologia, uma vez na maioria das regiões a oferta de carne é na forma fracionada no momento da compra. A carne pré-embalada ainda ocupa pequena fatia do mercado.

Ainda existem alguns dados que necessitam maior avaliação como, por exemplo, resultados de algumas pesquisas como as de Yang, Brewster, Lanari, & Tume, (2002) realizadas na Nova

Zelândia, que demonstram que a suplementação não é eficiente, ou não aumentou os níveis de vitamina E da carne de animais mantidos sob regime de pastagem verde.

4.3.3. A vitamina E natural em dose única elevada.

Uma alternativa proposta por Borher (1995), que viabilizaria a incorporação de vitamina E pela carne bovina em qualquer sistema de criação, é o fornecimento em dose única elevada de vitamina E próximo ao abate, visando aumento nos níveis pré-existentes de vitamina E na musculatura no momento do abate.

Este procedimento retira o ônus da suplementação sobre o produtor, ficando somente a cargo do frigorífico ou do distribuidor de carne, além de facilitar o fornecimento da vitamina E, que de outra forma não poderia ser feito, no caso dos animais de criação extensiva. Uma possibilidade em estudo para facilitar e tornar a administração viável industrialmente é a aplicação intra-ruminal, que pode ser realizada dois dias antes do abate.

Borher, Gonçalves & Felício (2002), demonstraram que uma dose elevada via oral de Destilado da Desodorização do óleo de Soja (DDOS), elevou os teores plasmáticos de bovinos nelore após um período de 38 horas da administração, em níveis superiores a 3 vezes o valor plasmático normal de vitamina E.

Uma dose elevada de vitamina E produz alta absorção e distribuição nos tecidos, não chegando a saturá-los, mas elevando os níveis pré-existentes. Se o animal for abatido antes que o organismo metabolize ou excrete toda a vitamina E

incorporada os níveis teciduais ficarão mais altos produzindo um efeito similar ao da suplementação diária.

A aplicação com essa técnica, garante a administração e a dose empregada evitando incertezas sobre a qualidade da suplementação e reduzindo as análises de vitamina E por parte da indústria para certificação do teor de vitamina E na carne, pois a própria indústria forneceria a suplementação, sendo necessário somente alguns testes para monitoração de qualidade.

A quantidade total de vitamina E fornecida é menor neste sistema do que naqueles que empregam a suplementação diária, o que reduz o custo. Além disso, Borher, Gonçalves & Felício (2002), sugerem a aplicação de uma fonte natural de vitamina E como alternativa à vitamina E sintética, no caso o DDOS. É uma fonte disponível no mercado nacional e a um custo menor do que a vitamina sintética. O preço aproximado no Brasil, do acetato de dl- α -tocoferol grau alimentício é aproximadamente US\$60/kg, enquanto o custo do DDOS com aproximadamente 10 % de tocoferóis é de aproximadamente US\$1/kg, segundo consulta as indústrias que o comercializam.

O uso do DDOS como fonte alternativa poderia apresentar inconvenientes em uma administração diária devido à quantidade de ácidos graxos presentes e sua ação sobre a flora ruminal (principalmente as bactérias celulolíticas), mas em dose única e próxima ao abate, não apresentaria efeito deletério sobre a nutrição dos animais.

A desodorização é a última etapa do refino de óleos vegetais, consistindo essencialmente em um processo de destilação à temperatura elevada e sob vácuo elevado. Essa etapa visa à melhoria da qualidade organoléptica dos óleos comestíveis e a estabilidade à oxidação. Ao se eliminar de

maneira muito intensa os ácidos graxos livres e as substâncias voláteis odorizantes, destruindo os peróxidos, observa-se paralelamente a eliminação parcial dos tocoferóis, esteróis e ésteres esterólicos (Faur, 1989).

O DDOS é o subproduto deste processo de desodorização no óleo de soja, é rico em tocoferóis e por isso é utilizado como matéria prima pela indústria para a obtenção de vitamina E através de processos de extração e concentração.

A produção corresponde a aproximadamente 1 kg de DDOS por tonelada de óleo desodorizado, sendo que o Brasil processou 4.369.000 toneladas de óleo de soja no ano de 2001 (ABIOVE, 2002). Logo é uma matéria prima disponível que possui um custo reduzido e pode ser utilizada com o objetivo de incorporar vitamina E a carne bovina.

5. BIBLIOGRAFIA

- ABIOVE. Associação Brasileira das Industrias de Óleos Vegetais. Disponível em <<http://www.abiove.com.br/estatis2.htm>>. Acesso em : 17/06/2002.
- Allen, C. E. & Foegending, E. A. (1981). Some lipid characteristics and interactions in muscle foods-review. *Food Technology*, 35(5):253-257.
- Archer, D. L. & Kvenberg, J. E. (1985). Incidence and cost of foodborne diarrheal disease in the United States. *Journal of Food Protection*, 48:887-894.
- Arnold, R. N.; Arp, S. C.; Scheller, K. K.; Williams, S. N. & Schaefer, D. M. (1993). Tissue equilibration and sub cellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*, 71(1):105-118.
- Arnold, R. N.; Scheller, K. K.; Arp, S. C.; Williams, S. N. & Schaefer, D. M. (1993). Dietary alpha-tocopheryl acetate enhances beef quality in Holstein and beef breed steers. *Journal of Food Science*, 58(1):28-33.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Moller, E. R.; Ku, P. K.; Booren, A. M. & Buckley, D. J. (1991). *Journal Science Food Agriculture*, 57:19.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Booren, A. M.; Gomaa, E. A.; Abouzied, M. M.; Miller, E. R. & Buckley, D. J. (1991). *Journal Science Food Agriculture*, 57:31.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Buckley, D. J.; Pearson, A. M. & Booren, A. M. (1988). Perspectives on warmed-over flavor. *Food Technology*, 42(6):102-108.

- Barbut, S. (2001). Effect of illumination source on the appearance of fresh meat cuts. *Meat Science*, 59:187-191.
- Bartkowski, L.; Dryden, F. D. & Marchello, J. A. (1982). Quality changes of beef steaks stored in controlled gas atmosphere containing high or low levels of oxygen. *Journal of Food Protection*, 45(1):41-45.
- Benedict, R. C.; Strange, E. D. & Swift, C. E. (1975). Effect of lipid antioxidants on stability of meat during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 23:167.
- Borher, J. R. Z.; Gonçalves, L. A. G. & Felício, P. E. de (2002). α and γ -tocopherol levels in nelore steer blood plasma after a single oral treatment of soybean oil deodorizer distillate (SODD). *Meat Science*, 61(3):301-306.
- Borher, J. R. Z. Uso do destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) em dose única oral, como fonte de tocoferol para bovinos com objetivos tecnológicos e zootécnicos, Campinas, 1995. Tese (mestrado) - FEA. UNICAMP.
- Bruhn, C. M. (1995). Strategies for communicating the facts on food irradiation to consumers. *Journal of Food Protection*, 58:213-216.
- Carpenter, C. E.; Cornforth, D. P. & Whittier, D. (2001). Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science*, 57:359-363.
- Cornforth, D. P. (1994). Color: its basis and importance. In A. M. Pearson, & T. R. Dutson, *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products, Advances in Meat Research* (pp. 34-78). London: Blackie Academic & Professional.

- Csiky, I. (1982). Trace enrichment and separation of cholesterol oxidation products by adsorption high-performance liquid chromatography. *Journal Chromatography*, 241:383-389.
- Dawson, L. E. & Gartner, R. (1983). Lipid oxidation in mechanically deboned poultry. *Food Technology*, 37(7):112-116.
- Emanuel, H. A.; Hassel, C. A.; Addis, P. B.; Bergman, S. D. & Zavoral, J. H. (1991). Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in humans fed a meal rich in oxysterols. *Journal of Food Science*, 56:843-847.
- Engeseth, N. J. & Gray, J. I. (1994). Cholesterol oxidation in muscle tissue. *Meat Science*, 36:309-320.
- Farkas, J. (1998). Irradiation as a method for decontaminating food - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 44:19-204.
- Faur, L. (1989). Influence des traitements de raffinage et de transformation sur la qualité et la stabilité des corps gras. *Revue Française des Corps Gras*, 7/8:293-300.
- Faustman, C. & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 3(1),217-243.
- Faustman, C.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Buege, D.R. & Scheller, K. K. (1989). Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak color. *Journal of Food Science*, 54:485.
- Faustman, C.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Buege, D. R.; Williams, S. N. & Scheller, K. K. (1989). Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by

- dietary supplementation with vitamin E. *Journal of Food Science*, 54:858.
- Finocchiaro, E. T.; Lee, K. & Richardson, T. (1984). Identification and quantification of cholesterol oxides in grated cheese and bleached butter oil. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 61:877-883.
- Gallo-Torres, H. E. Biochemistry - Absorption in: Machlin, L. J., ed. *Vitamin E - A Comprehensive Treatise*, New York, Marcel Dekker, 1980. p.170-192. (Basic and Clinical Nutrition, v1).
- Gatellier, P. Hamelin, C. Durand, Y. & Renerre, M. (2001). Effect of a dietary vitamin E supplementation on colour stability and lipid oxidation of air- and modified atmosphere-packaged beef. *Meat Science*, 59:133-140.
- Ginger, I. D.; Lewis, U. J. & Schweigert, B. S. (1995). Changes associated with irradiating meat and meat extracts with gamma rays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 3:156-159.
- Govindarajan, S., Hultin, H. O. & Kotula, A. W. (1977). Myoglobin oxidation in ground beef. Mechanistic studies. *Journal of Food Science*, 42(3):571-577, 582.
- Gray, J. I.; Goma, E. A. & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43(S), S111-S123.
- Greene, B. E.; Hsin, I. M. & Zipser, M. W. (1971). Retardation of oxidative color changes in raw ground beef. *Journal of Food Science*, 36(6):940-942.

- Higley, N. A.; Taylor, S. L.; Herian, A. M. & Lee, K. (1986). Cholesterol oxides in processed meats. *Meat Science*, 16:175-188.
- Hoelscher, L. M.; Savell, J. W.; Smith, S. B. & Cross, H. R. (1988). Sub cellular distribution of cholesterol within muscle and adipose tissue of beef loin steaks. *Journal of Food Science*, 53:718-722.
- Igene, J. O.; Pearson, A. M.; Dugan, L. R., Jr, & Price, J. F. (1980). Role of triglycerides and phospholipids in development of rancidity in model meat systems during frozen storage. *Food Chemistry*, 5:263-276.
- Jakobsen, M & Grete, B. (2000). Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*, 54:49-57.
- Larick, D. K. & Turner, B. E. (1989). Influence of finishing diet on the phospholipid composition and fatty acid profile of individual phospholipids in lean muscle of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 67,2282-2293.
- Lee, B. J.; Hendricks, D. G. & Cornforth, D. P. (1999). A comparison of carnosine and ascorbic acid on color and lipid stability in a ground beef patties model system. *Meat Science*, 51,245-253.
- Lee K. T. & Yoon C. S. (2001). Quality changes and shelf life of imported vacuum-packaged beef chuck during storage at 0 °C. *Meat Science*, 59:71-77.
- Little, A. C. (1975). A research note: off on a tangent. *Journal of Food Science*, 40,410-411.

- Liu, Q.; Lanari, M. C. & Schaefer, D. M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73(10), 3131-3140.
- Liu, Q.; Scheller, K. K.; Arp, S. C.; Schaefer, D. M. & Frigg, M. (1996). Colour coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef colour stability. *Journal of Animal Science*, 74, 106-113.
- Machlin, L. J. Vitamin E. in: Machlin, L. J., ed. *Handbook of Vitamins. Nutritional, Biochemical and Clinical Aspects*, New York, Marcel Dekker, 1984. p. 99-145.
- Marshall, D. L, Wiese-Lehigh, P. L. Wells, J. H. & Farr, A. J. (1991). Comparative growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken nuggets stored under modified atmospheres. *Journal of Food Protection*, 54(11):841-843,851.
- Melton, S. L.; Black, J. M.; Davis, G. W. & Backus, W. R. (1982). Flavor and selected chemical characteristics of ground beef from steers back grounded on pasture and fed corn up to 140 days. *Journal of Food Science*, 47,699-704.
- Millar, S. J.; Moss, B. w. & Stevenson, M. H. (2000). The effect of ionizing radiation on the colour of beef, pork and lamb. *Meat Science*, 55:349-360.
- Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portarias 89 e 90 de 15 de julho de 1996. Diário Oficial da União, seção I, n°.152 de 07 de Agosto de 1996 pag. 14893-94.
- Monahan, F. J.; Buckley, D. J.; Morrissey, P. A.; Lynch, P. B. & Gray, J. I. (1990). Effect of dietary alpha-tocopherol levels in porcine tissue and on susceptibility to lipid peroxidation. *Food Science and Nutrition*, 42F:203-212.

- Monahan, F. J.; Buckley, D. J.; Gray, J. I.; Morrissey, P. A.; Asghar, A.; Hanrahan, T. J. & Lynch, P. B. (1990). Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Science*, 27:99-108,
- Monahan, F. J.; Gray, J. I.; Booren, A. M.; Miller, E. R.; Buckley, D. J.; Morrissey, P. A. & Gomaa, E. A. (1992). Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:1310-1315.
- Morgan, J. N. & Armstrong, D. J. (1987). Formation of cholesterol-5,6-epoxides during spray drying of egg yolk. *Journal of Food Science*, 52:1224-1227.
- Nourooz-Zadeh, J. & Appelqvist, L. A. (1988). Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: milk powder products. *Journal of Food Science*, 53:74-87.
- Okayama, T.; Imai, T. & Yamanoue, M. (1987). Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol on storage stability of beef steaks. *Meat Science*, 21:267 - 273.
- Park, S. W. & Addis, P. B. (1987). Cholesterol oxidation products in some muscle foods. *Journal of Food Science*, 52:1500-1503.
- Pie, J. E.; Spahis, K. & Seillan, C. (1991). Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39:250-254.
- Pikul, J.; Leszczynski, D. E.; Bechtel, P. J. & Kummerow, F. A. (1984). Effects of frozen storage and cooking on lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Food Science*, 49:838-843.

- Renerre, M. (1990). Review: factors involved in discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 25,613-630.
- Sánchez-Escalante, A.; Djenane, D.; Torrescano, G.; Beltrán, J. A. & Roncalés, P. (2001). The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and Rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 58:421-429.
- Shivas, S. D., Kropf, D. H., Hunt, M. C., Kastner, C. L., Kendall, J. L. A. & Dayton, A. D. (1984). *Journal of Food Protection*, 47:11.
- Strange, E. D.; Benedict, R. C. Gugger, R. E. Metzger, V. G. & Swift C. E. (1974). Simplified methodology for measuring meat colour. *Journal of Food Science*, 39:988-992.
- Sudarmadji, S. & Urbain, W. M. (1972). Flavor sensitivity of selected raw animal protein foods to gamma radiation. *Journal of Food Science*, 37:671-672.
- Thayer, D. W.; Boyd, G.; Fox, Jr. J. B., Lakritz, L. & Hampron, J. W. (1995). Variations in radiation sensitivity of foodborne pathogens associated with the suspending medium. *Journal of Food Science*, 60(1):63-67.
- Tappel, A. L.; Brown, W. D.; Zalkin, H. & Maier, V. P. (1961). Unsaturated lipid peroxidation catalyzed by hematin compounds and its inhibition by vitamin E. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 38:5
- Taylor, C. B.; Peng, S. K.; Werthenssen, N. T.; Tham, P. & Lee, K. T. (1979). Spontaneously occurring angiotoxic derivatives of cholesterol. *American Journal of Clinical Nutrition*, 32,40-57.

- Ueda, T. & Igarashi, O. (1990). Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocopherols. *Journal of Micronutrient Analysis*, 7:79-96.
- Yang, A.; Brewster, M.; Lanari, M. C. & Tume, R. K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-feed cattle. *Meat Science*, 60, 35-40.
- Yang, A.; Lanari, M. C.; Brewster, M. & Tume, R. K. (2002). Lipid Stability and meat colour of beef from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science*, 60, 41-50.
- Zhao, Y.; Wells, J. H. & McMillin, K. W. (1994). Applications of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: review. *Journal of Muscle Foods*, 5:299-328.

CAPÍTULO II

Níveis de α e γ -tocoferol em tecidos bovinos de animais tratados com uma dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal, 48 horas antes do abate.

Resumo

O presente artigo teve como objetivo avaliar a incorporação de vitamina E em diferentes tecidos de bovinos nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à aplicação intra-ruminal de 1 litro de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), contendo 11,79% de tocoferóis totais, em uma única dose 48 horas antes do abate. Seis animais foram submetidos ao tratamento e seis foram usados como controle. Colheu-se o sangue antes e após o tratamento para avaliação do teor plasmático de tocoferóis. Os animais foram abatidos 48 horas após a aplicação intra-ruminal e as carcaças foram refrigeradas e desossadas após 24 horas. Amostras de plasma, músculo *Longissimus dorsi*, *Gluteus medius*, *Psoas major*, *Gluteus biceps*, fígado e gordura de cobertura do *Gluteus biceps*, foram analisadas quanto ao teor de tocoferóis. A análise mostrou diferenças entre os animais tratados e controle quanto aos níveis de tocoferóis para todos os tecidos analisados, que foram significativamente superiores ($p < 0,05$), sendo o efeito mais pronunciado no fígado e gordura.

1. Introdução

A partir da década de 80, começaram a aparecer propostas na literatura da utilização de antioxidantes em animais ainda vivos, visando utilizar-se do sistema sanguíneo do organismo para distribuí-lo pelos tecidos em níveis mais elevados do que o normalmente encontrado. Este sistema é teoricamente muito eficiente uma vez que a distribuição é mais homogênea e atinge o alvo de interesse nos tecidos, quais sejam, as membranas celulares, onde se encontram os fosfolipídios e grande parte do colesterol, que são os compostos mais susceptíveis à oxidação.

O nível de vitamina E presente nos tecidos dos animais submetidos ao abate para a produção de carnes influencia a estabilidade dos lipídeos durante a estocagem. A vitamina E além de ser um potente antioxidante é muito efetiva por ser solúvel nos lipídeos das membranas celulares (Halliwell, 1987 citado por Gray, Goma, & Buckley, 1996). Ela é capaz de neutralizar radicais livres e conseqüentemente proteger os fosfolipídeos e o colesterol da ação oxidativa. Muitos estudos têm sido conduzidos tendo como base à incorporação de α -tocoferol nas membranas celulares para produzir a estabilização da membrana lipídica e conseqüentemente melhorar a qualidade da carne durante a estocagem. Esta hipótese foi baseada na premissa de que a oxidação lipídica em carne é iniciada na região da membrana celular (Asghar, Gray, Buckley, Pearson, & Booren, 1988).

A suplementação da dieta com vitamina E retarda a oxidação lipídica em carne bovina crua acondicionada, simulando condições normais de estocagem no varejo (Liu, Lanari & Schaefer 1995).

Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, & Scheller (1989) e Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, Williams, & Scheller (1989), relataram aumento da estabilidade lipídica de bifos provenientes de novilhos holandeses cuja dieta foi suplementada com 370 UI/ animal/dia por aproximadamente 43 semanas. Resultados similares foram obtidos por Arnold, Scheller, Arp, Williams & Schaefer (1993), que suplementaram novilhos holandeses com 0, 360 e 1290 UI/dia. A oxidação lipídica foi acentuadamente inibida pela suplementação com 360 UI/dia, não havendo nenhum incremento adicional com o aumento da suplementação.

Ao analisarmos a suplementação da dieta com vitamina E no contexto da pecuária americana, verifica-se que a proposta da suplementação dos bovinos esbarra em uma série de problemas que ainda não permitem que seja amplamente adotada. Nas condições brasileiras esses problemas são maiores.

Algumas grandes empresas americanas dos segmentos de produção abate e comercialização, avaliaram a utilização da suplementação do gado com vitamina E segundo Smith, G. C, (1999) foi o caso dos produtores Harris Ranch beef, Cactus e Monfort; distribuidores Harris, IBP e Monfort e cadeias de supermercados do Scolari's, Safeway, Kroger e Holiday Plus além de duas cadeias de supermercados japoneses (Fukudaya e Tamaya). Estas empresas realizaram levantamentos de custo/benefício, demonstrando que a redução de perdas no varejo compensa os gastos com a suplementação. As empresas participantes controlam todo o ciclo, desde a produção animal até o abate e comercialização no varejo.

Os Principais entraves à adoção da tecnologia nos EUA são:

- a) Custo adicional para o produtor;

b) Necessidade de certificação (do tratamento) para confirmar que o animal foi suplementado adequadamente. Até o presente momento o custo da análise de vitamina E é elevado e exige equipamentos adequados e mão-de-obra qualificada. Não existem métodos ou "kits" de análise para resultados rápidos e de baixo custo;

c) O principal beneficiado é o varejista.

No Brasil surgem outros problemas que demandam adequação da tecnologia, quais sejam:

a) A característica da pecuária brasileira, que é extensiva, inviabiliza qualquer tipo de suplementação rotineira. O volume de animais abatidos proveniente de confinamento é muito reduzido;

b) Os custos de certificação seriam bem maiores no Brasil, devido ao preço de reagentes químicos e equipamentos de análise;

c) O perfil atual do mercado consumidor não exige ainda este tipo de tecnologia. A oferta de carne "in natura" pré-acondicionada ainda é reduzida e o consumidor prefere, na sua maioria, comprar a carne em açougues, fracionada no momento da compra.

Uma alternativa proposta por Borher, Gonçalves, & Felício (2002), para viabilizar a incorporação de vitamina E na carne bovina em qualquer sistema de criação, é o fornecimento em dose única elevada de vitamina E num período superior a 38 horas antes do abate.

Este procedimento retira do produtor o ônus da suplementação, ficando somente a cargo do frigorífico ou do distribuidor de carne, além de facilitar o fornecimento da

vitamina E, que de outra forma não poderia ser feito, no caso dos animais de criação extensiva.

Os níveis plasmáticos de α e γ -tocoferol encontrados por Borher, Gonçalves, & Felício (2002), em bovinos nelore após um período de 38 horas da administração de uma quantidade elevada via oral de DDOS, demonstrou níveis superiores a três vezes o valor plasmático normal de vitamina E.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação em diferentes tecidos de α e γ -tocoferol a partir da aplicação de uma quantidade elevada de DDOS via intra-ruminal em bovinos nelore 24 horas antes do abate e, a partir dos resultados obtidos avaliar a capacidade do sistema utilizado em prover maiores níveis de vitamina E em cortes comerciais oriundos destes animais.

A utilização da via intra-ruminal, em lugar do fornecimento via oral, foi escolhida pela maior facilidade de aplicação quando comparada com o uso de uma sonda oral. A via intra-ruminal pode tornar a administração viável industrialmente.

2. Material e Métodos

2.1. MATERIAL

Animais: Doze bovinos machos, castrados, adultos, da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), confinados por 90 dias, recebendo dieta composta de aproximadamente 35 % de cama de frango, 7 % de farelo de trigo, 3 % de torta

de algodão, 15 % de milho, 40 % de cana picada e mistura mineral comercial, no município de Socorro, SP.

DDOS: Fornecido pela indústria Olvebra, Eldorado do Sul, RS, contendo 11,79 % de tocoferóis totais, sendo 0,9 % de α -tocoferol; 8,7 % de γ -tocoferol e 2,19 % de δ -tocoferol.

Plasma: Obtido pela centrifugação a 5000 rpm/3 min de sangue colhido em tubos de vácuo heparinizados. O plasma foi congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da análise.

Carcaças: Os animais foram abatidos no matadouro do município de Socorro, SP. As meias carcaças foram desossadas após 24 horas do abate, sendo as amostras de carne obtidas imediatamente após a desossa, acondicionadas a vácuo e estocadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

Reagentes: Grau PA e de grau cromatográfico aqueles empregados na técnica de cromatografia líquida.

Equipamentos: Além dos equipamentos de uso comum em laboratório como centrífuga, banho-maria, balança analítica etc., foram também utilizados;

Cromatógrafo :

Bomba isocrática para CLAE Perkin Elmer serie 200;

Detector de Fluorescência Perkin Elmer LC240;

Interface Perkin Elmer Nelson NCI 900;

Integrador Turbochrom Navigator Version 4.1;

Coluna Perkin Elmer Spheri-10 RP:18 10 μm 100 x 4,6 mm.

Condições cromatográficas:

Fase móvel: metanol:água 95:5, condição isocrática;

Fluxo: 4 mL/minuto, pressão de 1070-1090 psi;

Detector: excitação = 295 nm, emissão = 330 nm;

Filtros descartáveis de teflon para CLAE.

Padrões: (\pm)- α -tocoferol, Sigma código T-3251 (95 %);

(+)- δ -tocoferol, Sigma código T-2028 (90 %);

(+)- γ -tocoferol, Sigma código T-1782 (99,9 %);

2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol, Aldrich código 43,067-6 (97 %), padrão interno;

n-decane, Sigma código D-4384.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Experimentação:

Os doze animais foram identificados e distribuídos por peso, em dois grupos homogêneos de seis. Após a contenção injetou-se em um grupo 1 litro de DDOS via intra-ruminal, através de punção no flanco esquerdo com uma agulha de aço de 4 mm de diâmetro x 170 mm de comprimento, acoplada por uma mangueira a uma seringa metálica.

Neste momento coletou-se, por punção da veia jugular, duas amostras de sangue de cada animal em tubos "vacutainer" contendo heparina, sendo levemente homogeneizados e em seguida centrifugados por 5 minutos à 5000 rpm, para separação do plasma que foi coletado logo em seguida com pipeta de 5 mL e

colocado em vidros âmbar numerados, hermeticamente fechados e submetidos a congelamento à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após a aplicação, os animais retornaram ao confinamento, com alimentação à vontade até aproximadamente 12 horas antes do abate (jejum hídrico).

Coletou-se amostras de plasma e fígado no momento do abate e na desossa coletou-se amostras de músculos *Gluteus medius*, *Longissimus dorsi*, *Gluteus biceps*, *Psoas major*, gordura de cobertura do músculo *Gluteus biceps* para análises de α e γ -tocoferol.

2.2.2. Método de análise:

A análise de tocoferóis foi realizada por CLAE de acordo com o método descrito por Ueda & Igarashi, (1990).

As amostras de tecidos musculares, gordura e fígado foram saponificadas a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos antes da extração, as amostras de plasma foram submetidas à extração direta sem saponificação.

3. Resultados e Discussão

As Tabelas 1 e 2 apresentam, respectivamente, os teores de α -tocoferol e de γ -tocoferol encontrados nos diferentes tecidos dos animais submetidos à aplicação intra-ruminal de DDOS pré-abate e dos animais controle.

Tabela 1- Teores de α -tocoferol de diferentes tecidos provenientes de 6 bovinos nelore que receberam uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e de 6 bovinos controle (sem aplicação).

Tratamento	Animal						α -tocoferol $\mu\text{g/g}$ (valores médios)					
	Longissimus dorsi	Psoas maior	Gluteus medius	Gluteus biceps	Fígado	Gordura	Plasma					
Tratado	01	4,00 ^A \pm 0,36	4,30 ^{AB} \pm 0,14	3,61 ^B \pm 0,20	4,02 ^{AB} \pm 0,11	9,32 ^C \pm 0,23	13,83 ^A \pm 2,22	3,57 ^{BC} \pm 0,40				
	02	4,35 ^A \pm 0,34	3,86 ^B \pm 0,40	3,82 ^{AB} \pm 0,23	4,32 ^{AB} \pm 0,15	11,10 ^{BC} \pm 1,26	12,81 ^A \pm 1,05	3,72 ^B \pm 0,33				
	03	4,67 ^A \pm 0,27	4,51 ^{AB} \pm 0,37	3,90 ^{AB} \pm 0,30	4,35 ^A \pm 0,20	13,73 ^A \pm 0,54	12,90 ^A \pm 0,35	4,07 ^B \pm 0,33				
	04	4,44 ^A \pm 0,66	4,86 ^A \pm 0,30	4,64 ^A \pm 0,25	4,24 ^{AB} \pm 0,08	14,89 ^A \pm 1,11	12,24 ^A \pm 0,56	5,11 ^A \pm 0,63				
	05	5,01 ^A \pm 0,09	4,08 ^B \pm 0,20	4,39 ^{AB} \pm 0,08	3,93 ^B \pm 0,05	11,66 ^B \pm 0,49	12,72 ^A \pm 0,67	4,28 ^{AB} \pm 0,28				
	06	4,16 ^A \pm 0,80	4,54 ^{AB} \pm 0,27	3,70 ^B \pm 0,25	4,17 ^{AB} \pm 0,09	9,76 ^C \pm 0,75	13,23 ^A \pm 1,27	4,35 ^{AB} \pm 0,40				
Controle	07	1,76 ^B \pm 0,29	2,71 ^C \pm 0,21	2,13 ^{CD} \pm 0,72	2,93 ^C \pm 0,19	2,69 ^D \pm 0,53	3,61 ^B \pm 0,60	1,99 ^D \pm 0,30				
	08	1,75 ^B \pm 0,22	2,58 ^{CD} \pm 0,19	1,89 ^{CD} \pm 0,19	2,44 ^D \pm 0,09	3,76 ^D \pm 0,34	2,67 ^B \pm 0,30	2,12 ^D \pm 0,22				
	09	1,62 ^B \pm 0,26	2,36 ^{CD} \pm 0,24	2,66 ^C \pm 0,22	2,33 ^{DE} \pm 0,14	3,31 ^D \pm 0,11	3,39 ^B \pm 0,15	2,50 ^D \pm 0,17				
	10	1,94 ^B \pm 0,15	2,30 ^{CD} \pm 0,15	1,91 ^{CD} \pm 0,16	1,88 ^F \pm 0,13	3,31 ^D \pm 0,26	3,19 ^B \pm 0,26	2,64 ^{CD} \pm 0,12				
	11	2,23 ^B \pm 0,15	1,91 ^D \pm 0,23	1,77 ^D \pm 0,30	2,41 ^D \pm 0,14	3,38 ^D \pm 0,37	3,62 ^B \pm 0,27	2,20 ^D \pm 0,08				
	12	1,91 ^B \pm 0,11	2,03 ^{CD} \pm 0,20	1,98 ^{CD} \pm 0,13	1,94 ^{EF} \pm 0,16	3,74 ^D \pm 0,28	3,39 ^B \pm 0,53	2,29 ^D \pm 0,14				

Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2 - Teores de γ -tocoferol de diferentes tecidos provenientes de 6 bovinos nelore que receberam uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e de 6 bovinos controle (sem aplicação).

Tratamento	Animal	γ -tocoferol $\mu\text{g/g}$ (valores médios)						Fígado	Gordura	Plasma
		Longissimus dorsi	Psoas maior	Gluteus medius	Gluteus biceps					
Tratado	01	0,13 ^{BC} \pm 0,02	0,44 ^A \pm 0,05	0,18 ^B \pm 0,03	0,23 ^A \pm 0,04	3,46 ^C \pm 0,33	0,41 ^A \pm 0,10	1,05 ^{AB} \pm 0,08		
	02	0,17 ^{AB} \pm 0,01	0,33 ^B \pm 0,02	0,21 ^B \pm 0,03	0,25 ^A \pm 0,02	4,52 ^B \pm 0,44	0,35 ^A \pm 0,08	1,12 ^A \pm 0,14		
	03	0,20 ^A \pm 0,02	0,46 ^A \pm 0,03	0,30 ^A \pm 0,03	0,22 ^A \pm 0,01	5,05 ^{AB} \pm 0,64	0,42 ^A \pm 0,04	1,12 ^{AB} \pm 0,13		
	04	0,12 ^C \pm 0,01	0,47 ^A \pm 0,05	0,19 ^B \pm 0,01	0,24 ^A \pm 0,08	5,39 ^A \pm 0,45	0,36 ^A \pm 0,04	1,06 ^{AB} \pm 0,12		
	05	0,19 ^A \pm 0,03	0,40 ^{AB} \pm 0,03	0,20 ^B \pm 0,02	0,24 ^A \pm 0,03	4,28 ^{BC} \pm 0,17	0,33 ^A \pm 0,06	0,89 ^B \pm 0,10		
	06	0,16 ^{ABC} \pm 0,03	0,48 ^A \pm 0,03	0,22 ^B \pm 0,01	0,22 ^A \pm 0,02	4,63 ^{AB} \pm 0,14	0,40 ^A \pm 0,02	1,01 ^{AB} \pm 0,10		
Controle	07	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		
	08	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		
	09	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		
	10	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		
	11	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		
	12	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^C	0,00 ^B	0,00 ^D	0,00 ^B	0,00 ^C		

Médias na mesma coluna, seguidas por letras diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O aumento do teor de α -tocoferol detectado em todos os tecidos dos animais tratados em relação aos animais controle indica que a aplicação intra-ruminal de 1 litro de DDOS foi eficiente em incorporar níveis superiores aos já presentes, em consequência exclusiva da dieta. Os níveis incorporados chegaram a um aumento de 180 a 238% para o plasma e tecidos musculares e 348 e 391 % para fígado e gordura respectivamente. O tratamento produziu também uma pequena incorporação de γ -tocoferol que só foi acentuada no fígado. O método de análise empregado não detectou teores de γ -tocoferol nos tecidos dos animais controle.

Os resultados obtidos no experimento foram provenientes de fonte, dose e aplicação de tocoferol diferentes dos da literatura consultada, mas se comparados com alguns resultados de literatura eles se aproximam daqueles provenientes de períodos curtos de suplementação. Os resultados obtidos por Arnold, Arp, Scheller, Williams & Schaefer (1993), com diferentes níveis de suplementação diária de α -tocoferol após 42 dias em bovinos mantidos em confinamento foram de 3,5 $\mu\text{g/g}$ para músculo *longissimus lumborum*, 13 a 25 $\mu\text{g/g}$ para fígado e 3,5 a 5,5 $\mu\text{g/g}$ para plasma.

Uma dose alta de vitamina E produziu alta absorção e distribuição nos tecidos, não chegando a saturá-los, mas elevando consideravelmente os níveis pré-existentes. Se o animal for abatido antes que o organismo metabolize ou excrete toda a vitamina E incorporada, os níveis teciduais ficarão mais altos produzindo um efeito semelhante à suplementação diária.

A aplicação desta forma daria certeza da administração e da dose empregada evitando dúvidas sobre a qualidade da suplementação e evitando a realização de análises de vitamina E

por parte da indústria para certificação do teor de vitamina E na carne, pois a própria indústria forneceria a suplementação. Algumas análises para controle de qualidade, podem ser realizadas.

A quantidade total de vitamina E fornecida é menor, neste sistema quando comparado com aqueles que utilizam a suplementação diária, o que reduz o custo. Outro ponto a ser considerado é a aplicação de uma fonte natural de vitamina E como alternativa ao tocoferol sintético. O DDOS é uma fonte disponível no mercado brasileiro a um custo menor do que a vitamina sintética.

O uso do DDOS como fonte alternativa poderia apresentar inconvenientes numa administração diária devido à quantidade de ácidos graxos presentes e sua ação sobre a flora ruminal, principalmente as bactérias celulolíticas, mas em dose única e logo antes do abate, não teria interferência no processo de nutrição dos animais.

4. Conclusões

Pode-se concluir com base nos resultados obtidos que o tratamento em dose única com 1 litro de DDOS produziu um aumento significativo nos teores de α -tocoferol nas amostras dos diferentes e músculos analisados (*Gluteus medius*, *Longissimus dorsi*, *Gluteus biceps* e *Psoas major*), bem como no plasma, gordura e fígado de bovinos tratados em comparação com o controle. O tratamento proporcionou a incorporação de γ -tocoferol nos mesmos tecidos.

Os teores de γ -tocoferol em consequência exclusivamente da alimentação não são normalmente descritos para os tecidos analisados, com o método de análise empregado, e também não está descrito na literatura consultada.

A diferença encontrada, para todos os tecidos citados anteriormente entre os bovinos controle e tratados, foi significativa ao nível de 5%.

5. Agradecimentos

Essa pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), desenvolvida como parte do Programa do Curso de Doutorado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES).

6. Referências

- Arnold, R. N.; Scheller, K. K.; Arp, S. C.; Williams, S. N.; Schaefer, D. M. (1993). Dietary alpha-tocopheryl acetate enhances beef quality in Holstein and beef breed steers. *Journal of Food Science*, 58(1):28-33.
- Arnold, R. N.; Arp, S. C.; Scheller, K. K.; Williams, S. N.; Schaefer, D. M. (1993). Tissue equilibration and sub cellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*, 71(1):105-118.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Buckley, D. J.; Pearson, A. M. & Booren, A. M. (1988). Perspectives on warmed-over flavor. *Food Technology*, 42(6):102-108.
- Borher, J. R. Z.; Gonçalves, L. A. G. & Felício, P. E. de (2002). α and γ -tocopherol levels in nelore steer blood plasma after a single oral treatment of soybean oil deodorizer distillate (SODD). *Meat Science*, 61(3):301-306.
- Gray, J. I.; Gomaa, E. A.; & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43(S),S111-S123.
- Liu, Q.; Lanari, M. C. & Schaefer, D. M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73(10),3131-3140.
- Faustman, C.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Buege, D.R. & Scheller, K. K. (1989). Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak color. *Journal of Food Science*, 54:485.

- Faustman, C.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Buege, D. R.; Williams, S. N. & Scheller, K. K. (1989). Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation with vitamin E. *Journal of Food Science*, 54:858.
- Smith, G. C. Dietary supplementation of vitamin E to cattle to improve shelflife and caselife of beef for domestic and international markets. Fort Collins, Colorado: Colorado State University. Available in: <http://agadsrv.msu.montana.edu/extension/Beff-JP/gov.conf/smith.html>. Accessed in: july 4, 1999.
- Ueda, T. & Igarashi, O. (1990). Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocopherols. *Journal of Micronutrient Analysis*, 7:79-96.

CAPÍTULO III

Índice de estabilidade Oxidativa (OSI) de gordura bovina incorporada de vitamina E, através da aplicação em dose única de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), via intra-ruminal, 48 horas antes do abate.

Resumo

O presente artigo teve como objetivo avaliar a estabilidade oxidativa de gorduras provenientes de bovinos nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à aplicação intra-ruminal de 1 litro de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), contendo 11,79 % de tocoferóis totais, em uma única dose 48 horas antes do abate, comparada à gordura de animais controle (sem tratamento), de acordo com o método oficial da AOCS Cd 12b-92.

Os níveis médios de α -tocoferol encontrados na gordura bovina proveniente de seis animais tratados foi de 12,96 $\mu\text{g/g}$ contra uma média de 3,31 $\mu\text{g/g}$ dos seis animais controle. O índice médio da estabilidade oxidativa da gordura de bovinos tratados foi de 19 horas e 27 minutos enquanto o índice dos animais controle foi de 13 horas e 46 minutos. A gordura extraída a 80 °C/30 min e mantida sob refrigeração por 2 semanas apresentou uma redução no valor de OSI, correspondendo a 29,24 % na gordura de animais tratados e 41,84 % na gordura de animais controle.

1. Introdução

A oxidação de lipídeos é um dos mecanismos primários de deterioração da qualidade de alimentos, principalmente da carne. As mudanças na qualidade se manifestam por alterações diversas no sabor, aroma, cor, textura e valor nutritivo. A oxidação lipídica nos sistemas musculares é iniciada em nível de membrana nas frações fosfolipídicas intracelulares. O mecanismo dessas reações ainda não está bem elucidado, mas geralmente está relacionado à presença de metais de transição, principalmente ferro que é o agente principal da geração de espécies químicas capazes de subtrair um próton de um ácido graxo insaturado (Gray, Gomaa, & Buckley, 1996).

As carnes contendo quantidades elevadas de lipídeos altamente insaturados são mais susceptíveis a oxidação quando comparadas com aquelas que possuem mais ácidos graxos saturados e conseqüentemente necessitam de maiores níveis de antioxidantes. Também apresentam diferenças nos conteúdos de antioxidantes como o β -caroteno ou de pró-oxidantes como moléculas de ferro de baixo peso molecular. Estes fatores chegam a afetar os atributos de qualidade da carne (Yang, Brewster, Lanari & Tume, 2002).

A estabilidade da carne fresca é influenciada pela qualidade inicial do produto, características da embalagem e condições de estocagem segundo Zhao, Wells & McMillin (1994), que determinam o tempo de estocagem para o consumo. A qualidade inicial da carne é um fator crítico para a utilização do sistema com atmosfera modificada.

No sistema de atmosfera modificada para carne bovina fresca, a composição gasosa utilizada é de 20 a 30% de CO₂ e de

70 a 80% de O₂ (Jakobsen & Grete 2000). Nesse sistema, os altos níveis de dióxido de carbono inibem o crescimento da carga microbiana (Marshall, Wiese-Lehigh, Wells & Farr 1991), ao mesmo tempo em que elevados teores de oxigênio prolongam a estabilidade da cor (Bartkowski, Dryden & Marchello 1982). Neste caso, segundo Zhao, Wells, & McMillin (1994), é esperado que com a presença de elevados teores de O₂ seja aumentado o grau de oxidação lipídica.

A oxidação lipídica não é considerada normalmente como um fator limitante para a estabilidade de carne fresca estocada sob refrigeração em embalagem permeável ao O₂, já que essa reação ocorre mais lentamente que a descoloração ou o crescimento microbiano (Zhao, Wells, & McMillin, 1994). No entanto quando utilizamos a embalagem com atmosfera modificada ocorre uma redução nos outros mecanismos deteriorantes da carne fresca e a oxidação lipídica passa a ser um fator limitante da vida-de-prateleira (McMillin 1993, citado por Jakobsen & Grete 2000).

A oxidação lipídica causa rancidez e a produção de sabores e odores estranhos na carne. São inúmeros os fatores que afetam a oxidação lipídica, incluindo-se entre eles a luz, a concentração de oxigênio, a temperatura, a presença de anti e pró-oxidantes, o grau de insaturação dos ácidos graxos e a presença de enzimas (Jakobsen & Grete 2000).

De acordo com Jakobsen & Grete (2000) há muita controvérsia nos resultados das pesquisas que avaliam a oxidação lipídica em carne fresca acondicionada em atmosfera modificada. Muitos autores têm detectado um aumento da oxidação lipídica em carnes estocadas em elevadas concentrações de oxigênio enquanto outros pesquisadores não têm encontrado nenhum aumento da oxidação lipídica em condições similares.

Através do desenvolvimento de um modelo matemático específico para avaliação dos efeitos da atmosfera modificada sobre vida-de-prateleira da carne refrigerada Jakobsen & Grete (2000) observaram que o tempo e a temperatura de estocagem têm um pronunciado efeito sobre a cor e a estabilidade oxidativa. O valor de a^* (vermelho) reduz com o aumento da temperatura e do tempo. Por outro lado valores de TBA também aumentam com a temperatura e o tempo. O nível de aumento de TBA é consideravelmente maior na faixa de 5 a 8 °C de temperatura do que na faixa de 2 a 5 °C.

De modo geral os óleos e gorduras apresentam uma estabilidade a oxidação que depende do grau de saturação, da presença de antioxidantes naturais ou adicionados, de pró-oxidantes e da condição a que estão submetidos. Normalmente a velocidade da oxidação é lenta antes que a resistência do óleo ou da gordura seja quebrada. A partir da quebra da resistência, a oxidação é acelerada e começa a ocorrer muito rapidamente. O período de tempo antes do início da aceleração da oxidação, determina a medida da resistência à oxidação e é comumente designado como período de indução. O período de indução reflete a resistência do óleo e da gordura à oxidação. Um método para determinar o período de indução de um óleo ou gordura consiste na passagem de uma corrente de ar purificado através de uma amostra de óleo ou gordura que é aquecida em banho-maria. O ar efluente da amostra de óleo ou gordura borbulha através de um tubo contendo água deionizada. A condutividade da água é continuamente monitorada. O ar efluente contendo ácidos orgânicos voláteis produzidos da oxidação do óleo, com predomínio do ácido fórmico, aumenta a condutividade da água com o processo de oxidação. Este método é denominado "Oil Stability Index" ou OSI. O índice de estabilidade do óleo ou

gordura (OSI) é definido como o ponto da máxima alteração na velocidade ou grau de oxidação ou matematicamente o ponto máximo da segunda derivativa da condutividade em relação ao tempo, pois identifica o ponto de mudança no aumento da oxidação (AOCS, 1994). A temperatura de 110 °C foi estabelecida como um padrão para o método de forma a unificar os resultados e estabelecer um tempo razoável para a análise.

O objetivo do presente artigo foi avaliar a diferença nos valores de OSI, de gordura bovina com maiores teores de tocoferóis em consequência da aplicação intra-ruminal de 1 litro de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), contendo 11,79 % de tocoferóis totais, em uma única dose 48 horas antes do abate a bovinos nelore (*Bos taurus indicus*). Os resultados foram comparados com os resultados obtidos da gordura de animais controle (sem tratamento).

2. Material e Métodos

2.1. MATERIAL

Animais: Doze bovinos machos, castrados, adultos, da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), confinados por 90 dias, recebendo dieta composta de aproximadamente 35 % de cama de frango, 7 % de farelo de trigo, 3 % de torta de algodão, 15 % de milho, 40 % de cana picada e mistura mineral comercial, no município de Socorro, SP.

DDOS: Fornecido pela indústria Olvebra, Eldorado do Sul, RS, contendo 11,79 % de tocoferóis totais, sendo 0,9

% de α -tocoferol; 8,7 % de γ -tocoferol e 2,19 % de δ -tocoferol.

Reagentes: Grau PA e de grau cromatográfico aqueles empregados na técnica de cromatografia líquida.

Equipamentos: Além dos equipamentos de uso comum em laboratório como centrífuga, banho-maria, balança analítica etc., foram também utilizados;

Oxidative Stability Instrument - OSI (OMINION inc. Archer-Daniels-Midland Company);

Cromatógrafo : Bomba isocrática para CLAE Perkin Elmer serie 200;

Detector de Fluorescência Perkin Elmer LC240;

Interface Perkin Elmer Nelson NCI 900;

Integrador Turbochrom Navigator Version 4.1;

Coluna Perkin Elmer Spheri-10 RP:18 10 μ m 100 x 4,6 mm.

Condições cromatográficas:

Fase móvel: metanol:água 95:5, condição isocrática;

Fluxo: 4 mL/minuto, pressão de 1070-1090 psi;

Detector: excitação = 295 nm, emissão = 330 nm;

Filtros descartáveis de teflon para CLAE.

Padrões: (\pm)- α -tocoferol, Sigma código T-3251 (95 %);

(+)- δ -tocoferol, Sigma código T-2028 (90 %);

(+)- γ -tocoferol, Sigma código T-1782 (99,9 %);

2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol, Aldrich código 43,067-6 (97 %), padrão interno;

n-decane, Sigma código D-4384.

Experimento:

Os doze animais foram identificados e distribuídos por peso, em dois grupos homogêneos de seis. Após a contenção injetou-se em um grupo 1 litro de DDOS via intra-ruminal, através de punção no flanco esquerdo com uma agulha de aço de 4 mm de diâmetro x 170 mm de comprimento, acoplada por uma mangueira a uma seringa metálica. Após a aplicação, os animais retornaram ao confinamento, com alimentação à vontade até aproximadamente 12 horas antes do abate (jejum hídrico).

Após o abate as meias carcaças foram refrigeradas por 24 horas. As amostras de gordura foram obtidas imediatamente após a desossa, acondicionadas a vácuo e estocadas a -20 °C.

2.2. MÉTODOS

A análise de tocoferóis foi realizada por CLAE de acordo com o método descrito por Ueda & Igarashi, (1990).

O índice de estabilidade oxidativa (OSI) foi realizado de acordo com a AOCS método Cd 12b-92, revisado em 1993 (AOCS, 1994).

Aproximadamente 50 gramas da gordura de cobertura do músculo *Gluteus biceps* de cada animal foi cortada finamente com faca plástica e colocada em um funil de vidro com filtro

whatman número 1, sendo levadas à estufa a 80 °C por 30 minutos e recolhidas em um tubo de ensaio. De cada amostra de gordura no estado líquido, retirou-se três alíquotas de 5 gramas e submeteu-se à avaliação da estabilidade oxidativa a 110 °C em aparelho OSI.

O restante das amostras de gordura foi mantido em tubo de ensaio fechado sob refrigeração a 4 °C por 2 semanas e então submetido novamente ao teste de estabilidade oxidativa.

3. Resultados e Discussão

O teor de tocoferóis encontrado na gordura de cobertura do músculo *Gluteus biceps* de animais tratados com DDOS via intra ruminal e sem tratamento, pode ser visto na Tabela 1. Os teores de α e γ -tocoferol foram significativamente diferentes em nível de 0,5 %. O nível médio de α -tocoferol encontrado na gordura bovina proveniente de seis animais tratados foi de 12,96 $\mu\text{g/g}$ contra uma média de 3,31 $\mu\text{g/g}$ dos seis animais controle. A presença de γ -tocoferol (0,38 $\mu\text{g/g}$) só foi detectada nos animais tratados, consequência do tratamento.

Tabela 1 - Teores de α e γ -tocoferol de gorduras provenientes de 6 bovinos nelore que receberam uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e de 6 bovinos controle (sem aplicação).

Tratamento	Animal	α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$)	γ -tocoferol ($\mu\text{g/g}$)
Tratado	01	13,83 ^A \pm 2,22	0,41 ^A \pm 0,10
	02	12,81 ^A \pm 1,05	0,35 ^A \pm 0,08
	03	12,90 ^A \pm 0,35	0,42 ^A \pm 0,04
	04	12,24 ^A \pm 0,56	0,36 ^A \pm 0,04
	05	12,72 ^A \pm 0,67	0,33 ^A \pm 0,06
	06	13,23 ^A \pm 1,27	0,40 ^A \pm 0,02
Controle	07	3,61 ^B \pm 0,60	0,00 ^B
	08	2,67 ^B \pm 0,30	0,00 ^B
	09	3,39 ^B \pm 0,15	0,00 ^B
	10	3,19 ^B \pm 0,26	0,00 ^B
	11	3,62 ^B \pm 0,27	0,00 ^B
	12	3,39 ^B \pm 0,53	0,00 ^B

Valores na mesma coluna, seguidos por letras diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de significância pelo teste de Tukey.

O tratamento com DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate produziu significativos níveis de α e γ -tocoferol na gordura bovina quando comparados os animais controle (sem tratamento) e os tratados.

A Tabela 2 apresenta os valores de estabilidade oxidativa (OSI) para as gorduras bovinas recém extraídas e após 15 dias de extração e condicionamento sob refrigeração. As gorduras utilizadas são as mesmas apresentadas na Tabela 1.

O índice de estabilidade oxidativa da gordura de bovinos tratados foi em média de 19 horas e 27 minutos \pm 59 minutos enquanto dos animais controle foi em média de 13 horas e 46 minutos \pm 41 minutos. A gordura extraída a 80 °C/30min e mantida sob refrigeração a 2 °C por 2 semanas, apresentou uma redução média de 29,22 % correspondendo a 5 horas e 41 minutos, para a proveniente de animais tratados e de 41,88 %, correspondendo a 4 horas e 34 minutos para a de animais controle. O valor médio de OSI dessa gordura foi de 10 horas e 55 minutos \pm 1 hora e 32 minutos para gordura de animais tratados e 6 horas e 21 minutos \pm 58 minutos para gordura de animais controle.

A gordura proveniente dos animais tratados apresentou maior estabilidade oxidativa que o controle logo após a extração, demonstrando que o maior teor de tocoferóis proporcionou uma proteção extra à gordura da ação do oxigênio e da temperatura, fornecidos durante a análise.

Após aquecimento a 80 °C por 30 minutos e manutenção sob refrigeração por 2 semanas as amostras tratadas sofreram uma redução no valor de OSI mas ainda apresentando valores próximos aos do controle logo após a extração, o que indica que o maior teor de tocoferóis proporcionou uma considerável proteção à gordura durante a estocagem sob refrigeração.

Tabela 2 - Estabilidade Oxidativa (OSI) a 110 °C, de gordura bovina proveniente de 12 bovinos nelore, tendo 6 animais recebido uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e de 6 sem nenhuma aplicação (controle).

Tratamento	Animal	Estabilidade OSI (horas)	
		Gordura recém extraída	Gordura estocada a 2 °C por 15 dias após extração
Tratado	01	18,23 ^D ± 0,25	13,20 ^{BC} ± 0,20
	02	20,83 ^A ± 0,29	14,55 ^A ± 0,28
	03	19,32 ^{BC} ± 0,24	13,91 ^{ABC} ± 0,33
	04	19,10 ^{CD} ± 0,78	13,00 ^C ± 0,15
	05	20,23 ^{AB} ± 0,38	14,38 ^{AB} ± 0,19
	06	19,00 ^{CD} ± 0,20	13,55 ^{ABC} ± 0,55
Controle	07	12,47 ^E ± 0,32	6,45 ^{DEF} ± 0,54
	08	9,75 ^{GH} ± 0,10	5,67 ^F ± 0,89
	09	12,88 ^E ± 0,40	7,57 ^D ± 0,40
	10	8,77 ^H ± 0,40	5,25 ^F ± 0,23
	11	11,28 ^F ± 0,25	7,00 ^{ED} ± 0,30
	12	10,34 ^{FG} ± 0,10	6,15 ^{EF} ± 0,33

Valores na mesma coluna, seguidos por letras diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de significância pelo teste de Tukey.

4. Conclusões

A estabilidade OSI da gordura de cobertura do músculo *Gluteus biceps* dos bovinos tratados 48 horas antes do abate com uma aplicação intra-ruminal de 1 litro de DDOS foi maior que a dos animais controle, em consequência do maior teor de tocoferóis presente nas amostras tratadas. Sendo que a extensão do ganho em estabilidade a 110 °C da gordura dos animais tratados (valor médio de 19 horas e 27 minutos) foi aproximadamente de 5 horas e 41 minutos em relação à gordura dos animais controle (valor médio de 13 horas e 46 minutos).

O maior teor de tocoferóis presente na gordura de animais tratados forneceu proteção adicional à oxidação, quando mantida sob refrigeração a 2 °C por 2 semanas. Apesar de ter sido submetida ao aquecimento durante a extração, apresentou um índice de estabilidade oxidativa de 10 horas e 55 minutos, valor próximo ao do controle logo após a extração.

5. Agradecimentos

Essa pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), desenvolvida como parte do Programa do Curso de Doutorado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES).

6. Referências

- AOCS Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 4th ed. Champaign, v1 e 2, 1994.
- Bartkowski, L.; Dryden, F. D. & Marchello, J. A. (1982). Quality changes of beef steaks stored in controlled gas atmosphere containing high or low levels of oxygen. *Journal of Food Protection*, 45(1):41-45.
- Gray, J. I.; Goma, E. A. & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43(S),S111-S123.
- Jakobsen, M & Grete, B. (2000). Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*, 54:49-57.
- Marshall, D. L, Wiese-Lehigh, P. L. Wells, J. H. & Farr, A. J. (1991). Comparative growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken nuggets stored under modified atmospheres. *Journal of Food Protection*, 54(11):841-843,851.
- Ueda, T. & Igarashi, O. (1990). Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocopherols. *Journal of Micronutrient Analysis*, 7:79-96.

- Yang, A.; Brewster, M.; Lanari, M. C. & Tume, R. K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-feed cattle. *Meat Science*, 60, 35-40.
- Zhao, Y.; Wells, J. H. & McMillin, K. W. (1994). Applications of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: review. *Journal of Muscle Foods*, 5:299-328.

CAPÍTULO IV

Influência do conteúdo ruminal de bovinos sobre a absorção de tocoferóis após a aplicação de única dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do conteúdo ruminal (volume e composição) sobre a absorção de tocoferóis em bovinos a partir da aplicação intra ruminal de 1 litro de DDOS em dose única 48 horas antes do abate.

Utilizaram-se 30 bovinos nelore que foram divididos em grupos de 5 animais sendo que cada dois grupos apresentavam uma condição de dieta, no momento da aplicação, diferente entre si. Desses dois grupos um grupo recebeu uma aplicação intra-ruminal de 1 litro de DDOS em dose única e o outro ficou sem aplicação (controle). Após 48 horas os animais foram abatidos e analisados os teores de α -tocoferol no plasma, fígado e músculo *Longissimus dorsi*.

Os resultados observados demonstraram que o volume e a composição do conteúdo ruminal influenciaram a absorção de tocoferóis quando da aplicação de uma dose única de DDOS.

O jejum prejudicou sensivelmente a absorção de tocoferóis nestas condições. A absorção de tocoferóis foi mais acentuada quando o rúmen estava repleto e no momento da aplicação e com maior teor de volumoso.

1. Introdução

A presença ou ausência de vitamina E nos tecidos do animal influencia a estabilidade dos lipídeos na carne durante a estocagem. A vitamina E é um potente antioxidante e sua capacidade se destaca pela solubilização nos lipídeos das membranas celulares (Halliwell, 1987 citado por (Gray, Goma & Buckley, 1996). É capaz de retardar a propagação da oxidação e conseqüentemente proteger os fosfolipídeos e o colesterol da ação oxidativa induzida pelos radicais livres. Recentemente muitos estudos têm sido conduzidos tendo como base a incorporação de α -tocoferol nas membranas celulares produzindo a estabilização da membrana lipídica e, conseqüentemente melhorando a qualidade da carne (Asghar, Gray, Buckley, Pearson & Booren, 1988).

A suplementação da dieta com vitamina E resulta em elevadas concentrações de α -tocoferol nas membranas celulares especialmente nas mitocôndrias e nos microssomos, resultando em significativa queda da susceptibilidade a oxidação lipídica nas membranas (Monahan, Buckley, Gray, Morrissey, Asghar, Hanrahan & Lynch, 1990; Asghar, Gray, Moller, Ku, Booren & Buckley, 1991).

Borher, Gonçalves & Felício (2002), demonstraram que uma alta dose via oral de DDOS elevou os teores plasmáticos de bovinos nelore, após um período de 38 horas da administração, em níveis superiores a três vezes o valor plasmático normal de vitamina E.

Uma dose alta de vitamina E produz uma alta absorção e distribuição pelos tecidos, não chegando a saturar os tecidos,

mas elevando os níveis pré-existentes. Caso o animal seja abatido antes que o organismo metabolize ou excrete toda a vitamina E incorporada, os níveis teciduais ficarão mais altos produzindo um efeito semelhante ao da suplementação diária.

A quantidade total de vitamina E fornecida é menor que quantidade total utilizada nos sistemas de suplementação diária, o que reduz o custo, além disso Borher, Gonçalves & Felício (2002), sugerem a aplicação de uma fonte natural de vitamina E como alternativa ao tocoferol sintético, no caso o (DDOS), que é uma fonte disponível no mercado nacional a um custo menor do que a vitamina sintética.

O DDOS é um subproduto do processo de desodorização do óleo de soja rico em tocoferóis, é utilizado como matéria prima pela indústria para a obtenção de vitamina E concentrada através de processos de extração e concentração. O custo do DDOS com aproximadamente 10 % de tocoferóis é de aproximadamente US\$1/kg, segundo consulta as indústrias que o comercializam.

A produção de DDOS corresponde a aproximadamente 1 kg por tonelada de óleo desodorizado, sendo que o Brasil produziu 4.369.000 toneladas de óleo de soja em 2001 (ABIOVE, 2002). Logo, é uma matéria prima disponível e a um custo reduzido que pode ser utilizada com o objetivo de incorporar vitamina E a carne bovina.

O uso do DDOS como fonte alternativa poderia apresentar inconvenientes numa administração diária devido à quantidade de ácidos graxos presentes e sua ação sobre a flora ruminal, principalmente as bactérias celulolíticas, mas em dose única e logo antes do abate, não teria nenhum efeito deletério sobre a nutrição dos animais.

Segundo Gallo-Torres, (1980) estudos sugerem que em ratos a região de maior absorção está compreendida entre o início e o terço medial do intestino delgado e que alguns autores concluíram que em ovelhas o jejuno é o maior sítio de absorção de vitamina E. De tal forma que a média de absorção para o segmento medial do intestino é maior que para os segmentos distal e proximal. Existem poucos dados disponíveis para avaliar a eficiência da absorção de vitamina E, que varia de acordo com o tipo de tocoferol administrado. A absorção depende ainda de fatores como dose administrada, inter-relação entre a velocidade de absorção e a velocidade do trânsito intestinal, bem como o tipo e a natureza do conteúdo intestinal. Em ruminantes deve-se considerar o tempo de retenção do alimento no rúmen, que é consequência do tamanho da partícula ingerida e volume de ingestão, responsáveis pela duração do processo digestivo.

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a influência do conteúdo ruminal (volume e composição) sobre a absorção de tocoferóis em bovinos a partir da aplicação intra ruminal de um 1 litro de DDOS em dose única 48 horas antes do abate.

2. Material e Métodos

Utilizaram-se 30 bovinos, machos, castrados, adultos, da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), que foram divididos em grupos de 5 animais sendo que cada dois grupos receberam uma dieta diferente e em um de cada 2 grupos todos os animais receberam uma aplicação intra-ruminal de 1 litro de DDOS em dose única. Após 48 horas os animais foram abatidos, e realizadas as dosagens do teor de α -tocoferol no plasma, fígado e músculo *Longissimus dorsi*.

Os animais apresentavam peso vivo entre 440 e 574 kg e as condições alimentares no momento da aplicação de DDOS intraruminal eram as seguintes:

Grupos 1 e 2 - Animais mantidos em regime de pastagem, em jejum por cerca de 24 horas antes da administração (baixo nível de processo digestivo no momento da aplicação).

Grupos 3 e 4 - Recebendo dieta composta de aproximadamente 45 % de cama de frango, 15 % de milho, 10 % de farelo de trigo, 10 % de farelo de algodão 20 % de capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) picado. (teor intermediário de volumoso na dieta).

Grupos 5 e 6 - Recebendo dieta composta de aproximadamente 35 % de cama de frango, 7 % de farelo de trigo, 3 % de farelo de algodão, 15 % de milho e 40 % de cana-de-açúcar picada (teor mais elevado de volumoso na dieta).

DDOS: Fornecido pela indústria Olvebra, Eldorado do Sul, RS, contendo 11,79 % de tocoferóis totais (0,9 % de α -tocoferol, 8,7 % de γ -tocoferol e 2,19 % de δ -tocoferol).

Amostras: Plasma - Obtido pela centrifugação a 5000 rpm/3 min de sangue colhido no momento do abate em tubos de vácuo heparinizados.

Fígado - Amostras colhidas no momento do abate.

Músculo *Longissimus dorsi* - Amostras obtidas imediatamente após a desossa (24 horas após o abate) e acondicionadas a vácuo. Todas as amostras foram estocadas a -20 °C até o momento da análise de α -tocoferol.

Reagentes: Grau PA e de grau cromatográfico aqueles empregados na técnica de cromatografia líquida.

Equipamentos: Além dos equipamentos de uso comum em laboratório como centrífuga, banho-maria, balança analítica etc., foram também utilizados;

CLAE: Bomba Perkin Elmer serie 200;
Detector de Fluorescência Perkin Elmer LC240;
Interface Perkin Elmer Nelson NCI 900;
Integrador Turbochrom Navigator Version 4.1;
Coluna Perkin Elmer Spheri-10 RP:18 10 μm 100 x 4,6 mm.

Condições cromatográficas:

Fase móvel: metanol:água 95:5, condição isocrática;
Fluxo: 4 mL/minuto, pressão de 1070-1090 psi;
Detector: excitação = 295 nm, emissão = 330 nm;
Filtros descartáveis de teflon para CLAE.

Padrões: (\pm)- α -tocoferol, Sigma código T-3251 (95 %);
(+)- δ -tocoferol, Sigma código T-2028 (90 %);
(+)- γ -tocoferol, Sigma código T-1782 (99,9 %);
2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol, Aldrich código 43,067-6 (97 %), padrão interno;
n-decane, Sigma código D-4384.

Análise de tocoferóis foi realizada por CLAE de acordo com o método descrito por Ueda & Igarashi, (1990).

As amostras de tecidos musculares, gordura e fígado foram saponificadas a 70 °C por 30 minutos antes da extração, as

amostras de plasma foram submetidas à extração direta sem saponificação.

Experimento:

O experimento foi dividido em três fases sendo que em cada fase foi testada uma condição alimentar tendo 1 grupo controle e 1 tratado. Após a contenção aplicou-se, nos grupos tratados, 1 litro de DDOS por via intra-ruminal. A aplicação foi feita através do flanco esquerdo com a utilização de uma agulha de aço de 4 mm de diâmetro x 170 mm de comprimento acoplada a uma seringa metálica.

Neste momento coletou-se, por punção da veia jugular, duas amostras de sangue de cada animal em tubos "vacutainer" contendo heparina, sendo levemente homogeneizados e em seguida centrifugados por 5 minutos à 5000 rpm, para separação do plasma que foi coletado logo em seguida com pipeta de 5 mL e colocado em vidros âmbar numerados, hermeticamente fechados e submetidos a congelamento à -20 °C. Após a aplicação, os animais tiveram acesso a alimentação normal até o final da tarde véspera do abate (jejum hídrico de 12 a 16 horas antes do abate).

3. Resultados e Discussão

As Tabelas 1, 2 e 3 apresentam, respectivamente, os teores de α -tocoferol encontrados em amostras de músculo *Longissimus dorsi*, fígado e Plasma de bovinos nelore submetidos a três condições alimentares durante a aplicação de uma dose única intra-ruminal de DDOS, 48 horas antes do abate.

Tabela 1 - Teores médios de α -tocoferol obtidos para músculo *Longissimus dorsi* de 15 bovinos nelore tratados com 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e 15 bovinos sem aplicação. Os animais estavam submetidos a três condições de alimentação distintas no momento da aplicação.

Tratamento	Animal	Condição de alimentação 1 (grupos 1 e 2)	Condição de alimentação 2 (grupos 3 e 4)	Condição de alimentação 3 (grupos 5 e 6)
Tratados	01	2,54 ^A ± 0,22	2,02 ^{AB} ± 0,19	4,00 ^B ± 0,36
	02	2,15 ^A ± 0,19	2,29 ^{AB} ± 0,34	4,35 ^{AB} ± 0,34
	03	2,16 ^A ± 0,40	1,95 ^{AB} ± 0,20	4,67 ^{AB} ± 0,27
	04	2,61 ^A ± 0,19	1,84 ^{AB} ± 0,30	4,44 ^{AB} ± 0,66
	05	2,60 ^A ± 0,25	2,49 ^A ± 0,31	5,01 ^A ± 0,09
	média	2,41 ^{Ab} ± 0,36	2,12 ^{ABb} ± 0,38	4,50 ^{ABa} ± 0,54
Controle	01	2,51 ^A ± 0,20	2,17 ^{AB} ± 0,26	1,76 ^C ± 0,29
	02	2,50 ^A ± 0,30	2,01 ^{AB} ± 0,34	1,75 ^C ± 0,22
	03	1,99 ^A ± 0,18	1,71 ^B ± 0,22	1,62 ^C ± 0,26
	04	1,99 ^A ± 0,31	1,74 ^{AB} ± 0,26	1,94 ^C ± 0,15
	05	2,50 ^A ± 0,20	2,32 ^{AB} ± 0,18	2,23 ^C ± 0,15
	média	2,30 ^{Ab} ± 0,37	1,99 ^{ABb} ± 0,37	1,86 ^{Cb} ± 0,32

Valores na mesma coluna, seguidos por letras maiúsculas diferentes e valores apresentados nas linhas para as médias dos animais tratados e controle seguidos por letras minúsculas diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2 - Teores médios de α -tocoferol de fígado de 15 bovinos nelore tratados com uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e 15 bovinos sem aplicação. Os animais estavam submetidos a três condições de alimentação distintas no momento da aplicação.

Tratamento	Animal	Condição de alimentação 1 (grupos 1 e 2)	Condição de alimentação 2 (grupos 3 e 4)	Condição de alimentação 3 (grupos 5 e 6)
Tratado	01	3,14 ^A ± 0,22	3,14 ^{AB} ± 0,22	9,32 ^C ± 0,23
	02	3,89 ^A ± 0,32	3,57 ^{AB} ± 0,29	11,10 ^{BC} ± 1,26
	03	3,74 ^A ± 0,35	3,16 ^{AB} ± 0,36	13,73 ^A ± 0,54
	04	4,03 ^A ± 0,29	3,37 ^{AB} ± 0,34	14,89 ^A ± 1,11
	05	3,13 ^A ± 0,30	3,84 ^A ± 0,22	11,66 ^B ± 0,49
	média	3,59 ^{Ab} ± 0,42	3,42 ^{ABb} ± 0,29	12,4 ^{ABa} ± 2,20
Controle	01	3,54 ^A ± 0,37	3,16 ^{AB} ± 0,34	2,69 ^D ± 0,53
	02	3,33 ^A ± 0,28	2,79 ^B ± 0,28	3,76 ^D ± 0,34
	03	3,92 ^A ± 0,28	3,74 ^A ± 0,27	3,31 ^D ± 0,11
	04	3,82 ^A ± 0,37	3,32 ^{AB} ± 0,21	3,31 ^D ± 0,26
	05	3,41 ^A ± 0,46	3,13 ^{AB} ± 0,27	3,38 ^D ± 0,37
	média	3,60 ^{Ab} ± 0,45	3,23 ^{ABb} ± 0,44	3,29 ^{Db} ± 0,52

Valores na mesma coluna, seguidos por letras maiúsculas diferentes e valores apresentados nas linhas para as médias dos animais tratados e controle seguidos por letras minúsculas diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 3 - Teores médios de α -tocoferol do plasma de 15 bovinos nelore tratados com uma aplicação de 1 litro de DDOS via intra-ruminal 48 horas antes do abate e 15 bovinos sem aplicação. Os animais estavam submetidos a três condições de alimentação distintas no momento da aplicação.

Tratamento	Animal	Condição de alimentação 1 (grupos 1 e 2)	Condição de alimentação 2 (grupos 3 e 4)	Condição de alimentação 3 (grupos 5 e 6)
Tratado	01	2,41 ^{BC} ± 0,35	1,80 ^A ± 0,35	3,57 ^{BC} ± 0,40
	02	2,42 ^{BC} ± 0,35	2,09 ^A ± 0,27	3,72 ^B ± 0,33
	03	2,85 ^{ABC} ± 0,22	1,73 ^A ± 0,19	4,07 ^B ± 0,33
	04	2,12 ^C ± 0,22	2,56 ^A ± 0,26	5,11 ^A ± 0,63
	05	2,59 ^{BC} ± 0,22	1,82 ^A ± 0,22	4,28 ^{AB} ± 0,28
	média	2,48 ^{BCb} ± 0,39	2,00 ^{Ab} ± 0,43	4,15 ^{ABa} ± 0,72
Controle	01	3,34 ^A ± 0,28	2,10 ^A ± 0,25	1,99 ^D ± 0,30
	02	2,25 ^{BC} ± 0,26	2,26 ^A ± 0,26	2,12 ^D ± 0,22
	03	2,76 ^{ABC} ± 0,24	2,11 ^A ± 0,14	2,50 ^D ± 0,17
	04	2,95 ^{AB} ± 0,20	2,45 ^A ± 0,25	2,64 ^{CD} ± 0,12
	05	2,59 ^{BC} ± 0,19	1,70 ^A ± 0,22	2,20 ^D ± 0,08
	média	2,78 ^{ABCb} ± 0,46	2,12 ^{Ab} ± 0,36	2,29 ^{Db} ± 0,33

Valores na mesma coluna, seguidos por letras maiúsculas diferentes e valores apresentados nas linhas para as médias dos animais tratados e controle seguidos por letras minúsculas diferentes, diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os valores de α -tocoferol obtidos para a condição de alimentação 1, não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5 % de probabilidade, nas amostras de músculo *Longissimus dorsi* e fígado, entre os animais tratados e controle. Individualmente para a condição de alimentação 1 houve diferença significativa entre indivíduos, mas não para as médias entre controle e tratamento, indicando que não houve diferença significativa nas amostras de plasma analisadas entre controle e tratamento para a condição de alimentação 1.

O fato do tratamento intra ruminal com o DDOS não demonstrar nenhuma efetividade em promover uma rápida incorporação nos tecidos analisados, e conseqüentemente não ocorrer aumento da concentração de α -tocoferol nestes se deve a problemas na absorção do α -tocoferol.

Uma condição para que ocorra a absorção de vitamina E está relacionada segundo Gallo-Torres (1980), ao processo digestivo, a presença de bile e suco pancreático. As propriedades detergentes dos sais biliares dissolvem o tocoferol e a presença conjunta do suco pancreático produz absorção muito mais elevada do que um dos elementos sozinhos, ou a ausência deles, quando a absorção é extremamente reduzida. No jejum a produção de bile e suco pancreático é menor.

Outra conseqüência do jejum prévio sobre a aplicação de DDOS é a rápida passagem do volume aplicado no rúmen para o intestino. Neiva (1967), apresenta como uma recomendação para que uma solução de maior volume de medicamento possa ser utilizada em ruminantes de tal modo que tenha um tempo de retenção reduzido no rúmen e passe rapidamente para o abomaso, que se faça jejum prévio por 24 horas antes do fornecimento via oral. Pode se deduzir que o DDOS aplicado intra-ruminalmente neste caso passou rapidamente pelo rúmen, que não funcionou

como uma "bomba dosadora" permitindo que o DDOS fosse liberado aos poucos e escalonadamente para o intestino delgado, local da absorção.

A condição de alimentação 2 apresentou diferença significativa em nível de 5 % para os indivíduos testados individualmente quanto aos teores de α -tocoferol no plasma, fígado e músculo *Longissimus dorsi*, mas não apresentou diferença significativa quando avaliadas as médias dos animais controle e tratados indicando que não houve influência do tratamento sobre os teores de α -tocoferol. Observou-se que as fezes dos animais eram mais líquidas que o normal, além de apresentar um odor acentuado que não é característico de fezes de ruminantes, indicando que a velocidade do trânsito intestinal deveria estar aumentada. Uma velocidade maior de esvaziamento do rúmen devido a ingestão de maior quantidade de partículas de alimento com menor calibre e maior velocidade do trânsito intestinal teoricamente reduziriam o tempo de contato do DDOS com a mucosa intestinal, reduzindo a sua absorção. A velocidade do trânsito intestinal é um dos fatores citados por Gallo-Torres (1980) como um dos que influenciam a eficiência da absorção.

Na condição de alimentação 3 houve diferença significativa ao nível de 5 % de probabilidade para os animais tratados em relação ao controle, demonstrando que a aplicação intra ruminal do DDOS produziu um aumento no teor de α -tocoferol nos tecidos testados dos animais tratados em relação aos animais controle, os primeiros apresentaram maior teor de α -tocoferol em relação ao controle indicando que a incorporação de α -tocoferol foi consequência do tratamento. Os teores de α -tocoferol para a condição de alimentação 3 de acordo com os valores apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3 corresponderam a um aumento no teor de α -

tocoferol em relação ao controle de aproximadamente 142 % para *Longissimus dorsi* 277 % para fígado e 81 % para plasma em consequência do tratamento.

Em relação as três condições de alimentação a condição de alimentação 3 foi a única que demonstrou eficiência em promover uma incorporação acentuada de α -tocoferol nos tecidos testados. Na condição de alimentação 3 o teor de volumoso era maior que na condição de alimentação 2 e as fezes dos animais estavam mais secas e fibrosas, o que demonstrava que a velocidade do trânsito intestinal era menor e a digestão mais lenta.

4. Conclusões

A aplicação intra-ruminal de 1 litro de DDOS 24 horas antes do abate incorpora maiores teores de α -tocoferol ao plasma, fígado e músculo *Longissimus dorsi* mas esta incorporação depende do processo digestivo e do tipo de alimentação a que esteja submetido o animal no momento da aplicação.

O jejum no momento da aplicação aumenta a velocidade da passagem do DDOS do rúmen em direção ao intestino delgado e associado à ausência de bile e suco pancreático prejudica a absorção de α -tocoferol e torna o tratamento ineficiente.

O volume e composição do conteúdo ruminal influenciaram a absorção de tocoferóis, concluindo-se que animais em processo de digestão normal com maior porcentagem de alimentos fibrosos na alimentação apresentam maior absorção e incorporação de α -tocoferol no plasma fígado e músculo *Longissimus dorsi*.

5. Agradecimentos

Essa pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), desenvolvida como parte do Programa do Curso de Doutorado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES). Agradecemos a colaboração da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Pecuária Sudeste) por ceder pessoal técnico instalações e uso de alguns animais deste experimento.

6. Referências

- ABIOVE. Associação Brasileira das Industrias de Óleos Vegetais. Disponível em <<http://www.abiove.com.br/estatis2.htm>>. Acesso em : 17/06/2002.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Moller, E. R.; Ku, P. K.; Booren, A. M. & Buckley, D. J. (1991). *Journal Science Food Agriculture*, 57:19.
- Asghar, A.; Gray, J. I.; Buckley, D. J.; Pearson, A. M. & Booren, A. M. (1988). Perspectives on warmed-over flavor. *Food Technology*, 42(6):102-108.
- Borher, J. R. Z.; Gonçalves, L. A. G. & Felício, P. E. de (2002) α and γ -tocopherol levels in nelore steer blood plasma after a single oral treatment of soybean oil deodorizer distillate (SODD). *Meat Science*, 61(3):301-306.
- Gallo-Torres, H. E. Biochemistry - Absorption in: Machlin, L. J., ed. Vitamin E - A Comprehensive Treatise, New York, Marcel Dekker, 1980. p.170-192. (Basic and Clinical Nutrition, v1).
- Gray, J. I.; Gomaa, E. A.; & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43(S),S111-S123.
- Monahan, F. J.; Buckley, D. J.; Gray, J. I.; Morrissey, P. A.; Asghar, A.; Hanrahan, T. J. & Lynch, P. B. (1990). Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Science*, 27:99-108.

Neiva, C. (1967). *Formulário de Terapêutica Veterinária*, Série didática n° 14, Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, p 209.

Ueda, T. & Igarashi, O. (1990) Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extration of tocoferols. *Journal of Micronutrient Analysis*. 7:79-96.

CAPÍTULO V

Alterações de cor em cortes bovinos refrigerados, de animais tratados com uma dose de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS) via intra-ruminal.

Resumo

A pesquisa teve por objetivo avaliar a alteração de cor em cortes de carne provenientes de bovinos nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à aplicação intra-ruminal de 1 litro de destilado da desodorização do óleo de soja (DDOS), contendo 11,79 % de tocoferóis totais, em uma única dose 48 horas antes do abate. Seis animais foram submetidos ao tratamento e seis não receberam tratamento (controle). Os animais foram abatidos 48 horas após a aplicação intra-ruminal e desossados 24 horas após o abate. Amostras de contra-filé (*Longissimus dorsi*), alcatra (*Gluteus medius*), filé mignon (*Psoas major*), picanha (*Gluteus biceps*), foram analisadas quanto ao teor de tocoferóis. Os teores médios de α -tocoferol encontrados foram, $4,43 \pm 0,44$ para contra filé (*Longissimus dorsi*), $4,36 \pm 0,41$ para filé mignon (*Psoas major*), $4,01 \pm 0,43$ para alcatra (*Gluteus medius*), $4,17 \pm 0,19$ para picanha (*Gluteus biceps*) nos animais tratados contra $1,87 \pm 0,27$; $2,31 \pm 0,34$; $2,03 \pm 0,42$; $2,32 \pm 0,38$ $\mu\text{g/g}$ respectivamente para os mesmos tecidos provenientes de animais controle. Obtiveram-se bifês de todos os cortes e estes foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido (PS), envolvidas com filme esticável de policloreto de vinila (PVC) e refrigerados a 4 °C em geladeira expositora, na ausência de

iluminação e sob iluminação fluorescente contínua de 520 a 560 lux.

As alterações de cor durante a estocagem foram medidas diariamente durante 1 semana utilizando-se um espectrofotômetro portátil.

Cortes de contra-filé e alcatra provenientes de animais tratados apresentaram menor diferença de cor em relação a um padrão fixo quando comparado com o controle. De modo geral a incorporação de vitamina E não refletiu uma significativa melhoria da estabilidade do pigmento, medida através de espectrofotômetro.

1. Introdução

A oxidação lipídica é um dos mecanismos primários de deterioração da qualidade de alimentos principalmente carne. As mudanças na qualidade se manifestam por alterações diversas no sabor, aroma, cor, textura, valor nutritivo e possivelmente produzindo compostos tóxicos. A oxidação lipídica nos sistemas musculares é iniciada em nível de membrana nas frações fosfolipídicas intracelulares. O mecanismo dessas reações ainda não está bem elucidado, mas geralmente está relacionado à presença de metais de transição, principalmente ferro que é o agente principal da geração de espécies químicas capazes de subtrair um próton de um ácido graxo insaturado (Gray, Goma, & Buckley, 1996).

A cor vermelha brilhante ou vermelha cereja é uma das mais importantes características de qualidade da carne, estando associada ao frescor do produto e, influenciando a decisão da

compra pelo consumidor,. A percepção do frescor é que determina a validade da carne fresca e conseqüentemente o período em que é comercializável (Gatellier, Hamelin, Durand & Renerre, 2001).

Fatores externos influenciam indiretamente a percepção da cor como a fonte de iluminação, a transparência e o tipo de embalagem. Outras influenciam diretamente as características físico-químicas da carne, como a composição de gases da atmosfera que envolve a carne, a temperatura de conservação, a presença de pró-oxidantes ou antioxidantes. Estes últimos quando presentes, em maiores quantidades, têm a capacidade de agir no pigmento "heme" da mioglobina retardando reações de oxidação.

À medida que a carne é exposta ao oxigênio do ar a mioglobina assume a forma de oximioglobina, um pigmento vermelho brilhante. Com o tempo esse pigmento se oxida formando a metamioglobina que é de cor marrom. A presença de um antioxidante retarda a transformação da oximioglobina em metamioglobina, mantendo a cor vermelha brilhante por um período maior de tempo. A carne exposta nos estabelecimentos varejistas tem como limite de validade a descoloração e o escurecimento, mesmo antes da degradação microbiológica. A carne que escurece na prateleira é rejeitada pelo consumidor e é submetida então a outro aproveitamento de menor valor comercial. A incorporação de tocoferóis à carne prolonga o tempo de manutenção da cor vermelha brilhante e reduz as perdas no varejo.

A descoloração da carne e a oxidação lipídica podem ser influenciadas pela presença de antioxidantes nos tecidos (Mitsumoto, Cassens, Schaefer, Arnold & Scheller 1991). Os tocoferóis presentes nas gorduras são classificados como antioxidantes naturais (Cort, 1974), e a melhor forma de

distribuí-los equitativamente pelos tecidos é incorporá-lo à dieta do animal antes do abate (Arnold, Arp, Scheller, Williams & Schaefer, 1993).

A suplementação oral de vitamina E tem sido efetiva em reduzir oxidação lipídica em carne de bovinos segundo Arnold, Scheller, Arp, Williams, Buege & Schaefer, (1992) e Arnold, Scheller, Arp, Williams & Schaefer, (1993). A suplementação da dieta com vitamina E retarda a oxidação lipídica em carne bovina crua acondicionada, simulando condições de estocagem no varejo (Liu, Lanari & Schaefer, 1995).

Borher, Gonçalves & Felício (2002), demonstraram que uma dose elevada via oral de DDOS eleva os teores plasmáticos de bovinos nelore após um período de 38 horas da administração, em níveis superiores a três vezes o valor plasmático normal de vitamina E.

A quantidade total de vitamina E fornecida é menor, neste sistema do que naqueles que utilizam a suplementação diária, o que reduz o custo, além disso, os autores sugerem a aplicação de uma fonte natural de vitamina E, disponível no mercado nacional e a um custo menor do que a vitamina sintética, no caso o DDOS.

O DDOS é um subproduto do processo de desodorização do óleo de soja rico em tocoferóis (Faur, 1989), é utilizado como matéria prima pela indústria para a obtenção de vitamina E concentrada através de processos de extração e concentração.

O uso do DDOS como fonte alternativa poderia apresentar inconvenientes numa administração diária devido à quantidade de ácidos graxos presentes e sua ação sobre a flora ruminal, principalmente as bactérias celulolíticas, mas em dose única e

logo antes do abate, não teria tempo hábil para modificar o estado nutricional dos animais.

Essa pesquisa teve como objetivo avaliar a influência da aplicação de DDOS intra ruminal em bovinos nelore, 48 horas antes do abate sobre as alterações na cor de bifes. Utilizou-se quatro diferentes cortes para obtenção dos bifes que foram acondicionados em bandejas de PS, revestidas de PVC e mantidas refrigeradas a 4 °C, com e sem iluminação.

2. Material e Métodos

2.1. MATERIAL

Animais: Doze bovinos machos, castrados, adultos, da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), confinados por 90 dias, recebendo dieta composta de aproximadamente 35 % de cama de frango, 7 % de farelo de trigo, 3 % de torta de algodão, 15 % de milho, 40 % de cana picada e mistura mineral comercial, no município de Socorro, SP.

DDOS: Fornecido pela indústria Olvebra, Eldorado do Sul, RS, contendo 11,79 % de tocoferóis totais, sendo 0,9 % de α -tocoferol; 8,7 % de γ -tocoferol e 2,19 % de δ -tocoferol.

Carcaças: Os animais foram abatidos no matadouro do município de Socorro, SP. As meias carcaças foram desossadas após 24 horas do abate, sendo as amostras de carne obtidas imediatamente após a desossa, acondicionadas a vácuo e estocadas a -20 °C.

Embalagem: Bandejas de PS, filme de PVC 13 μm de espessura, absorvedor de líquidos para carnes.

Geladeira Expositora marca Reubly, adaptada com 1 lâmpada fluorescente de 9 w em cada prateleira.

Luxímetro: Aparelho LX-102 Light Meter da Lutron

Espectrofotômetro: MiniScan Hunter Lab. Calibração X-80,3; Y-85,1 e Z91,0. D65/10°.

Reagentes: De grau cromatográfico para os utilizados na técnica de cromatografia líquida, o restante de grau PA.

Equipamentos: Além dos equipamentos de uso comum em laboratório como centrífuga, banho-maria, balança analítica etc., foram também utilizados;

CLAE : Bomba isocrática Perkin Elmer serie 200;
Detector de Fluorescência Perkin Elmer LC 240;
Interface Perkin Elmer Nelson NCI 900;
Integrador Turbochrom Navigator Version 4.1;
Coluna Perkin Elmer Spheri-10 RP:18 10 μm 100 x 4,6 mm.

Condições da análise:

Fase móvel: metanol:água 95:5, condição isocrática;

Fluxo: 4 mL/minuto, pressão de 1070-1090 psi;

Detector: excitação = 295 nm, emissão = 330 nm;

Filtros descartáveis de teflon para CLAE.

Padrões: (\pm)- α -tocoferol, Sigma código T-3251 (95 %);

(+)- δ -tocoferol, Sigma código T-2028 (90 %);

(+)- γ -tocoferol, Sigma código T-1782 (99,9 %);
2,2,5,7,8-pentamethyl-6-chromanol, Aldrich código
43,067-6 (97 %), padrão interno;
n-decane, Sigma código D-4384.

2.2. MÉTODOS

Os doze animais foram separados pela manhã e distribuídos, em ordem decrescente de peso, em dois grupos de seis animais, sendo distribuídos do maior para o menor peso um para cada grupo. Foram então identificados e após contenção um grupo foi injetado através da aplicação no flanco esquerdo com uma agulha de aço de 4 mm de diâmetro x 170 mm de comprimento com 1 litro de DDOS via intra-ruminal acoplada a uma mangueira e injetada com o uso de uma seringa metálica.

Para análise de α e γ -tocoferol coletou-se amostras de alcatra (*Gluteus medius*), contra filé (*Longissimus dorsi*), Picanha (*Gluteus biceps*), filé mignon (*Psoas major*). O pH de todos os cortes apresentou-se entre 5,4 e 5,5.

Os cortes obtidos foram acondicionados em laminados a vácuo, identificados e refrigerados a 4 °C por 1 semana sendo então fracionados em bifes e acondicionados em bandejas de PS com um absorvedor no fundo e envolvidas com filme de PVC.

Os bifes acondicionados em bandejas foram mantidos em refrigeração a 4 °C em geladeira expositora em duas condições; sem iluminação e com iluminação contínua de 520 a 560 Lux (iluminação incidente sobre a superfície da carne). A medida de iluminação foi obtida com aparelho LX-102 Light Meter da

Lutron, tendo sido colocado o sensor dentro de uma bandeja revestida pelo mesmo filme de PVC utilizado no experimento.

Diariamente as amostras foram monitoradas quanto às variações da cor dos cortes através do sistema Hunter L* a* b*.

2.2.1. Determinação de tocoferóis

Análise de tocoferóis foi realizada por CLAE de acordo com o método descrito por Ueda & Igarashi, (1990).

As amostras de tecidos musculares foram saponificadas a 70°C por 30 minutos antes da extração.

2.2.2. Obtenção dos valores de ΔE^* , C* e H

Obtenção dos valores de ΔE^* (diferença total de cor), C* (croma ou índice de saturação) e H (ângulo de tonalidade) a partir das seguintes formulas :

$$\Delta E^* = ((\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2)^{1/2}$$

onde ΔE^* - Diferença total de cor

ΔL - $L_1 - L_2$ (L da amostra - L do padrão)

Δa - $a_1 - a_2$ (a da amostra - a do padrão)

Δb - $b_1 - b_2$ (b da amostra - b do padrão)

$$C^* = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

C* - Croma ou índice de saturação

a - Valor médio de a* resultado da leitura da amostra

b - Valor médio de b* resultado da leitura da amostra

$$H = \tan^{-1} (b/a)$$

H - Ângulo de tonalidade)

3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os níveis de α -tocoferol encontrados em alguns músculos dos animais submetidos à aplicação intraruminal de DDOS pré-abate e dos animais controle.

Tabela 1 - Teores de α -tocoferol em alguns músculos de 6 bovinos nelore, aplicados com 1 litro de DDOS, via intraruminal, 48 horas antes do abate e de 6 bovinos controle.

	Contra filé (<i>Longissimus dorsi</i>)	Filé mignon (<i>Psoas major</i>)	Alcatra (<i>Gluteus medius</i>)	Picanha (<i>Gluteus biceps</i>)
Valores médios de α -tocoferol ($\mu\text{g/g}$) *				
Tratados	4,43 \pm 0,44	4,36 \pm 0,41	4,01 \pm 0,43	4,17 \pm 0,19
Controle	1,87 \pm 0,27	2,31 \pm 0,34	2,03 \pm 0,42	2,32 \pm 0,38

* Média de 6 determinações

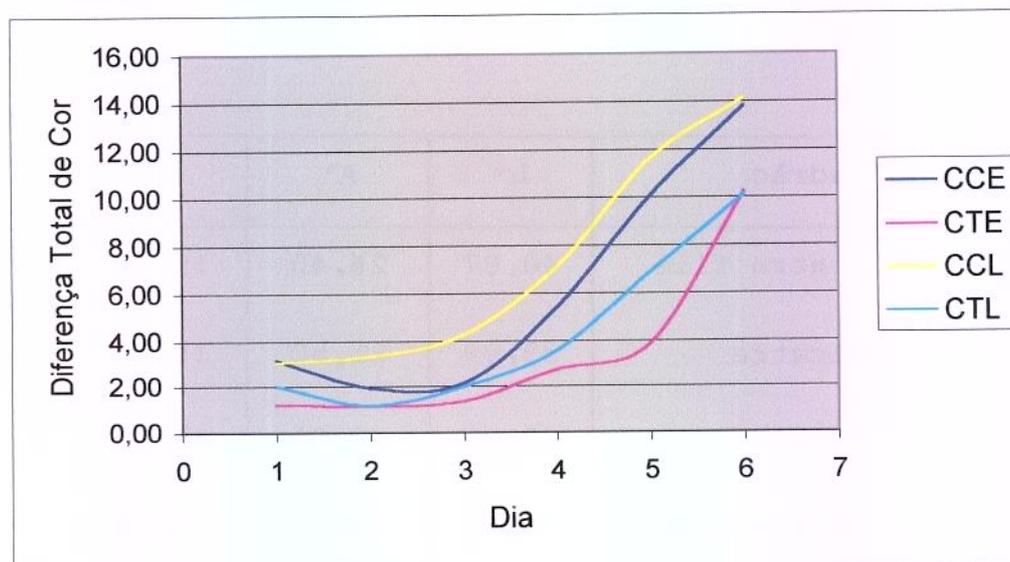
Na Tabela 2 observa-se os valores de L* a* b* dos padrões utilizados para obtenção do ΔE^* , estes valores são resultados da leitura de cortes que obtiveram uma preferência de 100 % em análise sensorial realizada previamente com 35 pessoas. Os cortes foram refrigerados e acondicionados nas mesmas condições em que se realizaram os experimentos, mas foram expostos ao ar por 24 horas para oxigenação.

As diferenças de cor (ΔE^*) obtidas, foram determinadas em relação a esses valores padrões.

Tabela 2 - Valores de L* a* b* das diferentes amostras de carne bovina, utilizadas como padrão para obtenção do ΔE^* nesta pesquisa.

Padrão	L*	A*	b*
Contra filé	40,07	26,40	19,29
Alcatra	39,99	21,52	15,78
Picanha	40,55	22,81	15,90
Filé mignon	41,00	22,00	17,00

A Figura 2 apresenta o resultado da diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de contra-filé de bovinos tratados e controles, mantidos sob refrigeração a 4 °C sem iluminação, e com iluminação contínua de 520 a 560 lux, em relação ao valor padrão da Tabela 2. Na Tabela 3 observa-se os valores de L*, a*, b*, ΔE^* , Índice de saturação (Croma) das amostras utilizadas para a obtenção da Figura 2.



Onde CCE - Contra filé, controle mantido no escuro.
CTE - Contra filé, tratado mantido no escuro.
CCL - Contra filé, controle mantido na luz.
CTL - Contra filé, tratado mantido na luz.

Figura 2 - Diferença total de cor (ΔE^*) de amostras de contra-filé refrigeradas a 4 °C acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

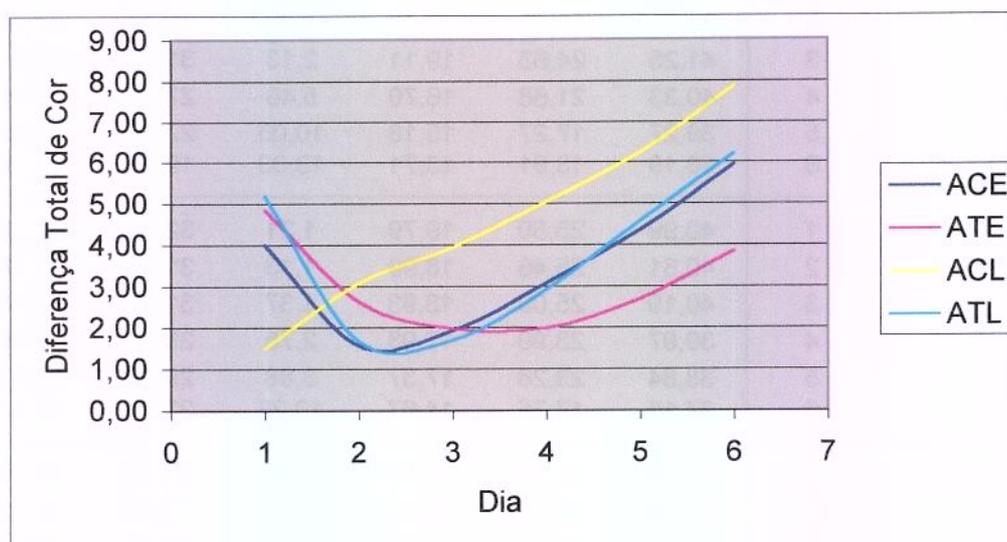
Tabela 3 - Valores de L* a* b*, médios, medidos diariamente em triplicata de amostras de contra-filé refrigeradas a 4 °C e acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

Amostra	Dia	L*	a*	b*	ΔE^*	C*	H
CCE	1	43,13	26,55	20,10	3,17	33,30	37,13
	2	41,71	25,41	19,48	1,93	32,02	37,48
	3	41,25	24,63	19,11	2,13	31,18	37,81
	4	40,33	21,68	16,70	5,40	27,36	37,61
	5	39,27	17,27	15,18	10,05	22,99	41,33
	6	38,19	13,91	13,71	13,80	19,54	44,59
CTE	1	40,99	25,80	19,79	1,21	32,52	37,49
	2	40,61	25,46	18,99	1,13	31,76	36,73
	3	40,19	25,09	18,93	1,37	31,43	37,03
	4	39,97	23,99	17,98	2,75	29,98	36,85
	5	38,84	23,26	17,37	3,88	29,02	36,75
	6	37,15	17,75	14,67	10,23	23,03	39,57
CCL	1	42,62	24,71	19,30	3,06	31,36	37,99
	2	42,19	23,87	18,80	3,33	30,38	38,23
	3	42,16	22,86	18,22	4,25	29,23	38,55
	4	41,51	19,90	16,79	7,11	26,03	40,15
	5	40,35	15,71	14,78	11,60	21,57	43,25
	6	39,11	13,36	13,92	14,14	19,29	46,18
CTL	1	41,46	24,98	19,06	2,00	31,42	37,34
	2	40,53	25,36	19,05	1,16	31,72	36,91
	3	40,35	24,53	18,68	1,99	30,83	37,30
	4	40,08	23,09	17,90	3,59	29,22	37,78
	5	39,26	20,26	16,36	6,85	26,04	38,91
	6	37,99	17,51	14,94	10,11	23,02	40,48

Onde CCE - Contra filé, controle mantido no escuro.
 CTE - Contra filé, tratado mantido no escuro.
 CCL - Contra filé, controle mantido na luz.
 CTL - Contra filé, tratado mantido na luz.

A Figura 3 apresenta o resultado da diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de alcatra de bovinos tratados e

controles, mantidos sob refrigeração a 4°C sem iluminação, e com iluminação contínua de 520 a 560 lux, em relação a um valor padrão obtido de um corte refrigerado e acondicionado nas mesmas condições exposto ao ar por 24 horas. Na Tabela 4 pode-se observar os valores de L*, a*, b*, ΔE^* , Índice de saturação (Croma) das amostras utilizadas para a obtenção da Figura 3.



Onde ACE - Alcatra, controle mantida no escuro.
ATE - Alcatra, tratada mantida no escuro.
ACL - Alcatra, controle mantida na luz.
ATL - Alcatra, tratada mantida na luz.

Figura 3 - Diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de alcatra refrigeradas a 4 °C acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

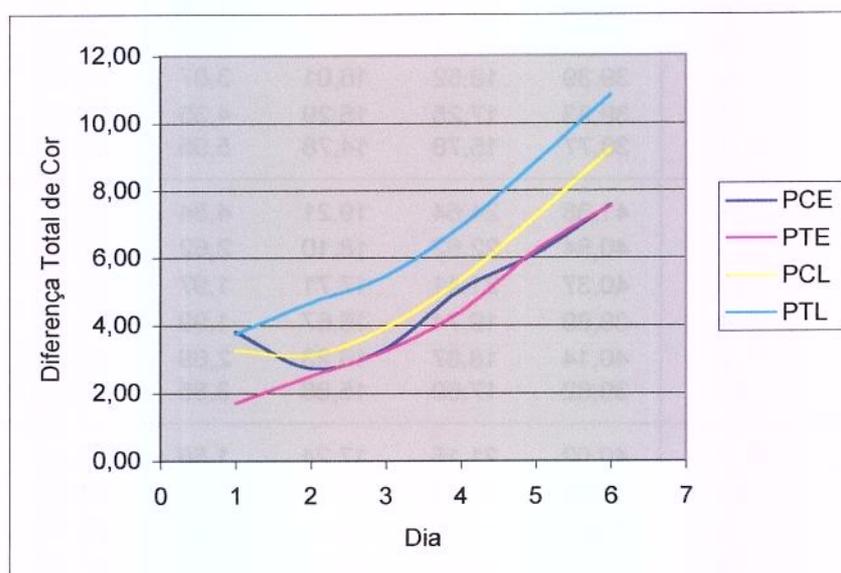
Tabela 4 - Valores de L* a* b*, médios, medidos diariamente em triplicata de amostras de alcatra refrigeradas a 4 °C e acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

Amostra	Dia	L*	a*	b*	ΔE^*	C*	H
ACE	1	40,60	24,00	18,85	3,99	30,52	38,16
	2	40,12	21,48	17,33	1,55	27,60	38,89
	3	39,66	19,82	16,62	1,92	25,86	39,97
	4	39,39	18,52	16,01	3,07	24,48	40,84
	5	39,33	17,25	15,29	4,35	23,05	41,56
	6	38,77	15,78	14,78	5,95	21,62	43,11
ATE	1	41,38	24,64	19,21	4,84	31,24	37,94
	2	40,54	22,62	18,10	2,62	28,97	38,66
	3	40,37	21,41	17,71	1,97	27,78	39,60
	4	39,99	19,74	16,67	1,99	25,84	40,19
	5	40,14	18,87	16,23	2,69	24,89	40,70
	6	39,62	17,69	15,86	3,85	23,75	41,87
ACL	1	40,02	21,15	17,24	1,50	27,28	39,18
	2	39,44	18,50	15,66	3,08	24,23	40,25
	3	39,14	17,72	15,26	3,93	23,39	40,74
	4	38,79	16,70	14,92	5,05	22,39	41,78
	5	38,53	15,61	14,43	6,24	21,26	42,76
	6	37,99	14,11	14,04	7,87	19,91	44,86
ATL	1	40,93	25,07	19,44	5,19	31,73	37,78
	2	39,43	21,31	17,33	1,66	27,47	39,12
	3	39,53	20,30	16,86	1,70	26,39	39,72
	4	39,25	18,72	16,10	2,92	24,69	40,70
	5	38,80	17,15	15,18	4,57	22,90	41,52
	6	38,40	15,65	14,58	6,20	21,39	42,96

Onde ACE - Alcatra, controle mantido no escuro.
 ATE - Alcatra, tratada mantido no escuro.
 ACL - Alcatra, controle mantido na luz.
 ATL - Alcatra, tratada mantido na luz.

A Figura 4 apresenta o resultado da diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de Picanha de bovinos tratados e

controles, mantidos sob refrigeração a 4°C sem iluminação, e com iluminação contínua de 520 a 560 lux, em relação a um valor padrão obtido de um corte refrigerado e acondicionado nas mesmas condições exposto ao ar por 24 horas. Na Tabela 5 pode-se observar os valores de L*, a*, b*, ΔE^* , Índice de saturação (Croma) das amostras utilizadas para a obtenção da Figura 4.



Onde
PCE - Picanha, controle mantida no escuro.
PTE - Picanha, tratada mantida no escuro.
PCL - Picanha, controle mantida na luz.
PTL - Picanha, tratada mantida na luz.

Figura 4 - Diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de Picanha refrigeradas a 4 °C acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

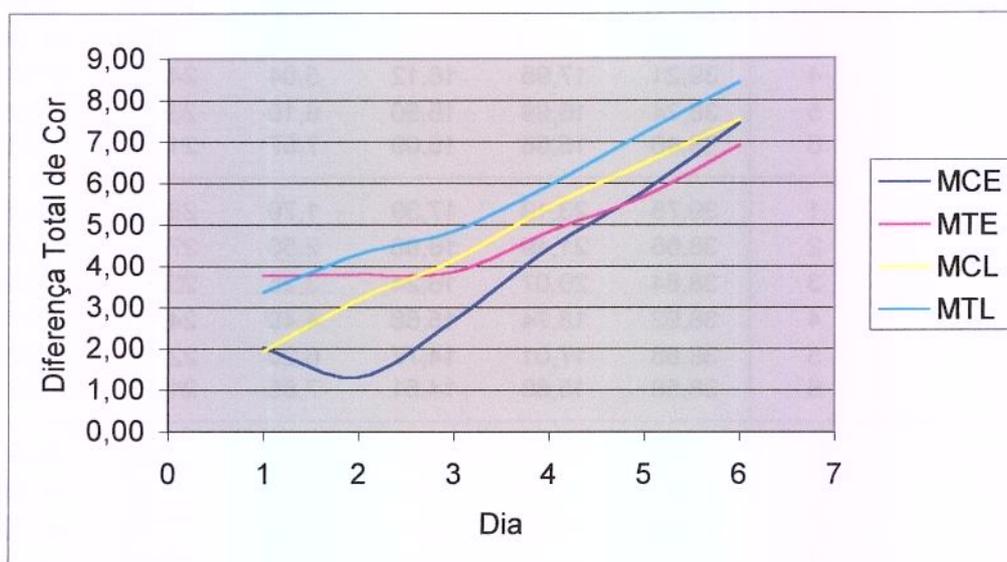
Tabela 5 - Valores de L* a* b*, médios, medidos diariamente em triplicata de amostras de picanha refrigeradas a 4 °C e acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

Amostra	Dia	L*	a*	b*	ΔE^*	C*	H
PCE	1	39,70	24,50	19,22	3,82	31,14	38,10
	2	39,50	22,36	18,38	2,73	28,94	39,42
	3	39,22	19,95	16,90	3,31	26,14	40,26
	4	39,21	17,95	16,12	5,04	24,13	41,92
	5	38,74	16,99	15,50	6,10	23,00	42,36
	6	38,46	15,58	15,09	7,57	21,69	44,08
PTE	1	39,78	23,13	17,39	1,70	28,94	36,93
	2	38,66	21,49	16,88	2,50	27,33	38,14
	3	38,84	20,07	16,24	3,25	25,82	38,98
	4	38,92	18,74	15,68	4,40	24,43	39,93
	5	38,68	17,01	14,77	6,20	22,52	40,96
	6	38,58	15,66	14,51	7,55	21,35	42,81
PCL	1	38,70	22,98	18,59	3,26	29,56	38,97
	2	38,91	20,53	17,25	3,12	26,81	40,04
	3	38,48	19,63	16,94	3,93	25,93	40,79
	4	38,63	17,83	15,77	5,34	23,80	41,49
	5	38,74	15,87	15,06	7,22	21,88	43,48
	6	38,45	13,91	14,60	9,23	20,17	46,38
PTL	1	37,76	20,33	16,24	3,74	26,02	38,61
	2	37,77	19,07	15,67	4,67	24,68	39,40
	3	37,98	18,06	15,25	5,44	23,63	40,18
	4	37,90	16,54	14,66	6,92	22,10	41,55
	5	37,84	14,65	13,81	8,85	20,13	43,31
	6	37,00	12,86	13,39	10,86	18,56	46,16

Onde PCE - Picanha, controle mantido no escuro.
PTE - Picanha, tratado mantido no escuro.
PCL - Picanha, controle mantido na luz.
PTL - Picanha, tratado mantido na luz.

A Figura 5 apresenta o resultado da diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de filé mignon de bovinos tratados e

controle, mantidos sob refrigeração a 4 °C sem iluminação, e com iluminação contínua de 520 a 560 lux, em relação a um valor padrão obtido de um corte refrigerado e acondicionado nas mesmas condições exposto ao ar por 24 horas. Na Tabela 6 pode-se observar os valores de L*, a*, b*, ΔE^* , Índice de saturação (Croma) das amostras utilizadas para a obtenção da Figura 5.



Onde MCE - Filé Mignon, controle mantido no escuro.
MTE - Filé Mignon, tratado mantido no escuro.
MCL - Filé Mignon, controle mantido na luz.
MTL - Filé Mignon, tratado mantido na luz.

Figura 5 - Diferença total de cor ΔE^* , média, das amostras de filé mignon refrigeradas a 4 °C acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

Tabela 6 - Valores de L* a* b*, médios, medidos diariamente em triplicata de amostras de filé mignon refrigeradas a 4 °C e acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC.

Amostra	Dia	L*	A*	b*	ΔE^*	C*	H
MCE	1	41,79	22,99	18,56	2,01	29,55	38,91
	2	40,93	20,75	17,36	1,30	27,06	39,92
	3	40,54	19,37	16,75	2,68	25,61	40,85
	4	40,64	17,72	15,91	4,43	23,82	41,92
	5	40,70	16,47	15,26	5,81	22,45	42,83
	6	40,41	14,92	14,79	7,44	21,01	44,75
MTE	1	37,95	24,18	17,26	3,76	29,71	35,52
	2	37,22	22,06	16,73	3,80	27,68	37,18
	3	37,76	20,45	15,58	3,86	25,71	37,31
	4	37,51	19,22	15,14	4,84	24,46	38,23
	5	37,60	18,08	14,69	5,68	23,30	39,11
	6	37,00	16,99	14,43	6,91	22,29	40,35
MCL	1	40,16	20,29	17,19	1,92	26,59	40,27
	2	40,09	19,05	16,21	3,19	25,02	40,40
	3	40,07	18,17	15,69	4,15	24,01	40,81
	4	40,13	16,95	15,20	5,43	22,77	41,87
	5	40,35	15,95	14,76	6,48	21,74	42,78
	6	39,95	14,93	14,65	7,53	20,91	44,45
MTL	1	37,91	21,03	16,16	3,35	26,52	37,54
	2	37,51	19,99	15,52	4,29	25,31	37,83
	3	37,47	19,25	15,11	4,86	24,47	38,13
	4	37,41	17,92	14,59	5,94	23,11	39,14
	5	37,47	16,54	13,88	7,21	21,59	40,02
	6	37,10	15,26	13,77	8,43	20,56	42,07

Onde
MCE - Filé Mignon, controle mantido no escuro.
MTE - Filé Mignon, tratado mantido no escuro.
MCL - Filé Mignon, controle mantido na luz.
MTL - Filé Mignon, tratado mantido na luz.

Os resultados da Tabela 1 indicam que os cortes provenientes de animais tratados apresentaram valores de α -

tocoferol de aproximadamente o dobro dos cortes de animais controle.

A diferença total de cor observada na Figura 2 para os cortes de contra-filé demonstra que o tratamento produziu maior estabilidade nas duas condições de estocagem (escuro e com iluminação), tendo inclusive o contra-filé proveniente de animais tratados estocado em iluminação apresentado melhor estabilidade do que o controle no escuro. A presença de maior teor de α -tocoferol produziu alguma proteção do pigmento à oxidação e conseqüente escurecimento da carne.

Na Tabela 3 observa-se que o índice de saturação e o ângulo de tonalidade apresentaram a mesma tendência da diferença total de cor confirmando a observação anterior.

A Figura 3 para os cortes de alcatra demonstra que o tratamento produziu maior estabilidade para as duas condições de estocagem (escuro e com iluminação). Os cortes de alcatra provenientes de animais controle estocados em iluminação apresentaram diferença do padrão muito mais acentuada do que as outras carnes. Os cortes de alcatra tratados estocados em iluminação e os cortes de alcatra controle no escuro apresentaram um gráfico de variação de ΔE^* muito parecido, demonstrando que o tratamento compensou a exposição à Luz, mantendo a carne com a mesma variação total de cor que o controle mantido no escuro. A alcatra tratada mantida no escuro mostrou menor diferença do padrão durante estocagem do que todas as outras amostras de alcatra analisadas.

Na Tabela 4 observa-se que o índice de saturação e o ângulo de tonalidade apresentaram a mesma tendência da diferença total de cor confirmando as observações anteriores.

A Figura 4 para os cortes de picanha demonstra que o tratamento não produziu uma maior estabilidade para as duas condições de estocagem, ausência de luz e com iluminação. Ao contrário sob iluminação o controle apresentou diferença do padrão menos acentuada na ausência de luz não houve diferença entre tratado e controle.

Os cortes de picanha controle estocados sob iluminação sofreram menor efeito da iluminação produzindo alguma diferença em relação aos cortes de picanha tratados na mesma condição.

Os valores de ΔE^* observados para o os cortes de filé mignon da Figura 5 desviaram da alcatra e contra-filé mostrados anteriormente. Os cortes de filé mignon tratados utilizados para avaliação da estocagem sob iluminação apresentaram-se inicialmente mais escuros, mas mantiveram-se mais estáveis durante os três primeiros dias de estocagem. No escuro o controle mostrou uma intensidade de escurecimento maior do que o tratado. O filé mignon normalmente tem um aspecto mais escuro e não é comercializado na forma de bifês. As fibras musculares são um pouco menos coesas e quando cortadas em bifês e expõem a lateral dos feixes, o que pode ter causado desvios na leitura obtida do espectrofotômetro. De maneira geral não apresentaram a mesma uniformidade que os outros cortes testados.

4. Conclusões

Os bovinos nelore tratados com DDOS com teor de aproximadamente 11,79% de tocoferóis totais em injeção intraruminal 48 horas antes do abate, produziram cortes de contra-filé, alcatra, picanha e filé mignon com maiores teores de α -tocoferol em relação a um controle composto de animais não tratados. Os valores obtidos de diferença total de cor (ΔE^*) para estas amostras de contra-filé, alcatra, picanha e filé mignon acondicionados em bandejas de poliestireno expandido revestidas com filme de PVC e mantidos sob refrigeração a 4°C por uma semana permitiu concluir que:

- Os cortes de contra-filé e alcatra proveniente de animais tratados, apresentaram menor diferença do padrão fixo do que os mesmos cortes de animais controle durante a estocagem por uma semana, indicando que o tratamento produziu maior estabilidade aos cortes durante estocagem quando comparados com os controle.
- Para as amostras anteriores, a alteração de cor foi mais acentuada naquelas mantidas sob iluminação contínua (520 a 560 Lux) em comparação com as amostras mantidas sem iluminação. Indicando que a iluminação acelerou a alteração de cor no período de estocagem.
- A incorporação de vitamina E pelo tratamento não foi suficiente para promover significativas alterações quanto à estabilidade do pigmento, ou seja, não reduziu consideravelmente o escurecimento da carne.

5. Agradecimentos

Essa pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), desenvolvida como parte do Programa do Curso de Doutorado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação (CAPES).

6. Referências

- Arnold, R. N.; Scheller, K. K.; Arp, S. C.; Williams, S. N.; Buege, D. R. & Schaefer, D. M. (1992) Effect of long or short-term feeding of alpha-tocopheryl acetate to holstein and crossbred beef steers on performance, carcass characteristics, and beef color stability. *Journal of Animal Science*. 70(10):3055-3065,.
- Arnold, R. N.; Arp, S. C.; Scheller, K. K.; Williams, S. N. & Schaefer, D. M. (1993) Tissue equilibration and sub cellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*. 71(1):105-118.
- Arnold, R. N.; Scheller, K. K.; Arp, S. C.; Williams, S. N. & Schaefer, D. M. (1993) Dietary alpha-tocopheryl acetate enhances beef quality in Holstein and beef breed steers. *Journal of Food Science*, 58(1):28-33.
- Borher, J. R. Z.; Gonçalves, L. A. G. & Felício, P. E. de (2002) α and γ -tocopherol levels in nelore steer blood plasma after a single oral treatment of soybean oil deodorizer distillate (SODD). *Meat Science* (aceito para publicação em 11/2001).
- Cort, W. M. (1974) Antioxidant activity of tocopherols, ascorbyl palmitate and ascorbic acid and their mode of action. *Journal American Oil Chemistry Society* 51(7):321.
- Faur, L. (1989) Influence des traitements de raffinage et de transformation sur la qualité et la stabilité des corps gras. *Revue Française des Corps Gras*. 7/8:293-300.

- Gatellier, P. Hamelin, C. Durand, Y. & Renerre, M. (2001) Effect of a dietary vitamin E supplementation on colour stability and lipid oxidation of air- and modified atmosphere-packaged beef. *Meat Science* 59:133-140.
- Gray, J. I.; Gooma, E. A. & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43(S), S111-S123.
- Liu, Q.; Lanari, M. C. & Schaefer, D. M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73(10), 3131-3140.
- Mitsumoto, M.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Arnold, R. N. & Scheller, K. K. (1991) Improvement of color and lipid stability in beef longissimus with dietary vitamin E and vitamin C dip treatment. *Journal of Food Science*, 56(6):1489-1492.
- Ueda, T. & Igarashi, O. (1990) Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocoferols. *Journal of Micronutrient Analysis*. 7:79-96.

ANEXOS*1. Introdução*

A carne bovina com teores de α -tocoferol inferiores a 3,0 $\mu\text{g/g}$, têm uma reduzida vida-de-prateleira devido ao acúmulo de metamioglobina e a oxidação lipídica (Faustman, Cassens, Schaefer, Buege, Williams & Scheller, 1989). Para Smith, Morgan, Sofos & Tatum (1996), a suplementação da dieta do gado que determine teores de α -tocoferol na carne acima de 4 $\mu\text{g/g}$, mantém por mais tempo uma qualidade aceitável pelo consumidor. Os valores encontrados na literatura são muito diferentes quanto ao teor de α -tocoferol da carne bovina para um mesmo músculo pesquisado. Por exemplo, para o músculo *longissimus thoracis*, Eikelenboom, Hoving-Bolink, Kluitman, Houben, & Klont (2000), relatam teores de α -tocoferol de 2,1 $\mu\text{g/g}$ e 4,4 μg para controle e suplementado respectivamente. Schwarz, Augustini, Timm, Kirchgeßner & Steinhart (1998), relatam 0,6 $\mu\text{g/g}$ para controle e 1,5 e 2,8 $\mu\text{g/g}$ em dois períodos de tratamento, enquanto Mitsumoto, Ozawa, Mitsuhashi & Koide (1998), relatam 1,7 $\mu\text{g/g}$ para controle e 2,6 $\mu\text{g/g}$ para suplementado.

Essa variação na literatura indica que a suplementação ainda é uma tecnologia incipiente que necessita de mais estudos.

Antes de efetuar-se esta pesquisa, foi realizado um experimento piloto. O objetivo desse experimento foi:

1 - Avaliar a forma da administração do produto (via intraruminal). Em experimento anterior, a administração de DDOS

foi realizada por via oral, através de uma sonda esofágica. Essa via mostrou-se pouco prática, pois necessita de total imobilização do animal, perícia e conhecimento de quem a administra, além de não ser uma via que prática para uma aplicação em larga escala (necessário para viabilizar a tecnologia industrialmente). O erro passível de ocorrer, pela via oral, é a introdução da sonda pela traquéia levando a depositar o óleo no pulmão causando o óbito do animal.

- 2 - Realizar testes de análise sensorial com os cortes obtidos para descartar a possibilidade de incorporação de odores e sabores estranhos ou desagradáveis.
- 3 - Observar se houve incorporação de vitamina E e qual o nível obtido
- 4 - Observar os efeitos da incorporação de vitamina E sobre a cor dos cortes obtidos.
- 5 - Determinar se a dose testada foi suficiente para obter o efeito desejado.
- 6 - Montar um dossiê com os resultados obtidos para apresentação ao fornecedor dos animais e ao frigorífico.

O objetivo desta seção é apresentar os resultados do teste piloto, descrever os métodos de análise de tocoferóis empregados, apresentar os resultados das análises sensoriais realizadas e discutir um pouco mais sobre o processo digestivo e a absorção de tocoferóis.

2. Teste piloto

Adquiriu-se um bovino nelore com peso vivo de 430 kg, do Frigorífico Campos Salles Ltda localizado no Município de Cosmópolis-SP, distante aproximadamente 40 km de Campinas. Este foi administrado intra-ruminalmente de uma dose de 1 litro de DDOS contendo 7,074 $\mu\text{g/g}$ de tocoferóis totais, correspondendo a 0,54 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol, 5,22 μg de γ -tocoferol e 1,314 $\mu\text{g/g}$ de δ -tocoferol.

A administração foi realizada com uma agulha de aço de 4 mm de diâmetro x 170 mm de comprimento acoplada a uma seringa de metal (Figura 1). O animal foi imobilizado em um tronco de contenção. A agulha foi introduzida no flanco esquerdo na fossa para-lombar esquerda (um triângulo invertido formado na região abdominal, Figura 2), Os planos atravessados foram: pele, músculo oblíquo abdominal externo, músculo oblíquo abdominal interno, músculo transverso abdominal peritônio parietal e visceral e rúmen. O DDOS foi então injetado diretamente no interior do rúmen (Figura 3). A Figura 4 mostra um tronco de contenção igual ao utilizado para imobilizar o animal durante a aplicação intra-ruminal.



Figura 1 - Seringa de metal com mangueira e agulha sendo cheia com DDOS para ser utilizada na aplicação intra-ruminal em bovinos.



Figura 2 - Localização da região de acesso ao rúmen.



Figura 3 - Aplicação de DDOS diretamente no rúmen.



Figura 4 - Tronco de contenção. Fazenda da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos -SP.

Coletou-se amostras de sangue em tubos vacutainer com EDTA, O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos e o plasma congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior determinação do teor de tocoferóis presente no animal sem tratamento

Após a administração o animal retornou ao curral de confinamento onde manteve livre acesso à alimentação. Nenhuma alteração de comportamento ou clinica foi observada no período que se seguiu até o abate.

Na tarde do dia seguinte, o animal que recebeu a injeção de DDOS e os outros animais que seriam abatidos no mesmo dia, foram submetidos ao jejum hídrico pré-abate.

Decorridas, 48 horas da aplicação, coletou-se novas amostras de sangue e em seguida o animal foi abatido. Após o abate as meias carcaças foram estocadas em câmara fria. No dia seguinte as meias carcaças foram transportadas para Campinas e desossadas. Algumas amostras foram embaladas a vácuo em sacos de náilon/polietileno de baixa densidade (PEBD) e congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, juntamente com algumas amostras de um animal que não sofreu tratamento com DDOS (controle). Os cortes embalados a vácuo foram mantidos sob refrigeração a $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e deixados maturar por duas semanas.

2.1. Análise de tocoferóis

O método de extração de vitamina E para a análise por CLAE foi o utilizado por Ueda & Igarashi (1990), descrito a seguir. Algumas pequenas modificações na execução foram propostas e testadas, obtendo-se uma boa reprodutibilidade dos resultados.

2.1.1. Método de extração para plasma

- Colocar uma amostra de 0,4 mL em tubo de teflon
- Adicionar 1 mL de solução de pirogalol a 6 % em álcool etílico
- Adicionar 1 mL da solução de padrão interno de PMC (penta metil cromanol) em álcool etílico
 - Agitar por 30 segundos
 - Adicionar 1,6 mL de NaCl a 1 %
 - Agitar por 30 segundos
- Extrair com 5 mL de acetato de etila a 10 % em n-hexano
 - Agitar por 2 minutos
 - Centrifugar 3000 rpm por 5 minutos
 - Coletar a camada de n-hexano
 - Filtrar com filtro descartável para CLAE
 - Retirar 3 mL
 - Adicionar 15 μ L de n-decano
- Concentrar por arraste de vapor (nitrogênio)
 - Reconstituir com 200 μ L de n-hexano
 - Injetar 20 μ L

2.1.2. Método de extração com saponificação

Amostra de carne, gordura ou fígado congelar e raspar finamente

Colocar 1 mL de pirogalol a 6 % em etanol em 1 tubo com rosca

Adicionar 1 mL da solução de PMC em etanol

Colocar 500 mg de carne (200 mg para fígado ou gordura), tomando o cuidado de não deixar nenhum resíduo nas paredes do tubo

(Importante não agitar no agitador de tubos, apenas mexer levemente)

Pré-aquecer a 70 °C por 5 minutos

Adicionar 0,2 mL de KOH a 60 %

Deixar saponificar a 70 °C por 30 minutos

Resfriar em água gelada

Adicionar 4,5 mL de solução de NaCl a 1 %

Adicionar 5 mL de acetato de etila a 10 % em n-hexano

Extrair agitando vigorosamente por 2 minutos

Centrifugar a 3000 rpm 5 minutos (ou deixar separar as fases normalmente)

- Coletar a camada de n-hexano
- Filtrar com filtro descartável para CLAE
- Retirar 3 mL
- Adicionar 15 µL de n-decano
- Concentrar por arraste de vapor (nitrogênio)
- Reconstituir com 200 µL de n-hexano
- Injetar 20 µL

As diluições utilizadas para determinação das curvas padrão foram adicionadas de solução de PMC e n-decano e evaporadas por arraste de vapor com N₂ nas mesmas condições a que foram submetidas as amostras. As áreas obtidas foram comparadas à curva obtida das respectivas áreas dos padrões corrigidos pela adição do padrão interno, sendo corrigido conseqüentemente os efeitos da evaporação e da diluição antes da injeção. O laboratório onde se encontra o CLAE era previamente climatizado a 23 °C mesma temperatura da fase móvel e da coluna.

2.2. Medidas de cor da carne

Os cortes, no formato de bifes foram acondicionados em bandejas de PS envolvidas por filme de PVC esticável e refrigerados a 4 °C. A variação na cor da carne fresca, foi medida diariamente em três diferentes pontos do corte.

Utilizou-se para obtenção destas medidas um espectrofotômetro portátil MiniScan Hunter Lab calibrado em X= 80,3 ; Y= 85,1 e Z= 91,0 D65/10°.

2.3. Análise sensorial

O DDOS possui um odor muito forte e persistente, que lembra um pouco o óleo de amêndoa. Isso é devido principalmente aos ácidos graxos livres presentes. A composição aproximada pode ser observada na Tabela 1.

O objetivo da análise sensorial foi detectar qualquer aroma estranho que pudesse ser atribuído ao tratamento com DDOS.

Tabela 1 - Composição aproximada do DDOS

Componente	Peso (%) ⁽¹⁾	Peso (%) ⁽²⁾	Peso (%) ⁽³⁾
Tocoferóis Totais	8,08 – 9,48	12,74	8,08 – 17,75
α - Tocoferol	0,48 – 1,22	0,68 ± 0,01	1,59 – 2,37
β - Tocoferol	< 0, 1	0,18 ± 0,01	0,36 – 0,58
γ - Tocoferol	5,32 – 5,80	7,16 ± 0,67	7,14 – 8,56
δ - Tocoferol	2,27 – 2,54	4,73 ± 0,04	4,89 – 6,24
Ácidos Graxos Totais	55,3 – 67,8		
Ácidos Graxos Livres	39,8 – 54,2	23,62	
Matéria Insaponificável	18,2 – 28,0	58,10 ± 1,5	
Esteróis		11,39	
Campesterol		2,13 ± 0,02	
Stigmasterol		3,88 ± 0,01	
β-sitosterol		5,38 ± 0,06	
Esqualeno		2,62 ± 0,01	

(1) Almeida, Gusman, Carvalho & Rusig, (1994). (2) Ramamurthi & McCurdy, (1993). (3) Snyder, Taylor & King, (1993).

As análises Sensoriais foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Meilgaard; Civille & Carr, (1987).

Empregou-se um método sensorial de diferença, objetivando-se avaliar qualquer incorporação de sabor ou aroma estranho à carne em consequência da administração de DDOS ao animal. Realizou-se um teste triangular, utilizando-se amostras de contra-filé do animal tratado e do controle. O modelo da ficha utilizada pode ser observado na Figura 5. As amostras foram cortadas com 2 cm de espessura. Um termopar foi introduzido no interior de algumas amostras e estas foram então assadas em forno elétrico a 180 °C, até atingir a temperatura interna de 72 °C. Aos provadores foram oferecidas três amostras de carne sendo duas delas iguais e uma diferente. Um total de 36 provadores foi utilizado e o número total de acertos foi comparado a um valor tabelado para obtenção dos resultados.

Nome: _____ N ^o . _____
POR FAVOR PROVE AS AMOSTRAS CODIFICADAS DE CONTRA-FILÉ DA ESQUERDA PARA A DIREITA E RESPONDA ÀS DUAS QUESTÕES. OBSERVAÇÃO : DUAS AMOSTRAS SÃO IGUAIS E UMA DIFERENTE
1 - IDENTIFIQUE COM UM CÍRCULO A AMOSTRA DIFERENTE

2 - MARQUE ABAIXO QUAL(IS) O(S) PARÂMETRO(S) UTILIZADO(S) PARA DISTINGUIR A AMOSTRA DIFERENTE.
<input type="checkbox"/> sabor <input type="checkbox"/> aroma <input type="checkbox"/> textura <input type="checkbox"/> aparência <input type="checkbox"/> outros
Comentários:

Figura 5 - Modelo da ficha utilizada no teste sensorial de contra-filé assado.

2.4. Resultados obtidos a partir do teste piloto

2.4.1. Teor de tocoferóis do plasma e alguns tecidos após tratamento com DDOS

A Tabela 2 mostra os valores de tocoferóis encontrados para o plasma bovino e alguns cortes do animal tratado no teste piloto e de um animal não tratado. Todos os resultados referem-se à média de três análises. As amostras foram embaladas a vácuo e congeladas a -20 °C até o momento da análise

Tabela 2 - Teor de α e γ -tocoferóis ($\mu\text{g/g}$) de dois bovinos nelore. Um dos animais foi submetido a tratamento com uma injeção intra-ruminal com 1 litro de DDOS.

Componente	Bovino controle		Bovino tratado	
	α	γ	α	γ
Plasma	2,53	nd	6,84	1,64
Fígado	3,45	nd	14,35	5,79
Contra-filé	1,85	nd	4,43	0,64
Alcatra	2,84	nd	5,33	0,38
Filé mingnon	2,46	nd	4,22	0,42

* - Média de três repetições

nd - Não detectado

2.4.2. Variações da cor da carne durante estocagem

As Figuras 6, 7 e 8 mostram as alterações de cor (valores absolutos) em relação ao tempo de estocagem em horas a 4 °C de alguns cortes bovinos acondicionados em bandejas de PS revestidas com filme de PVC e estocados na ausência de luz.

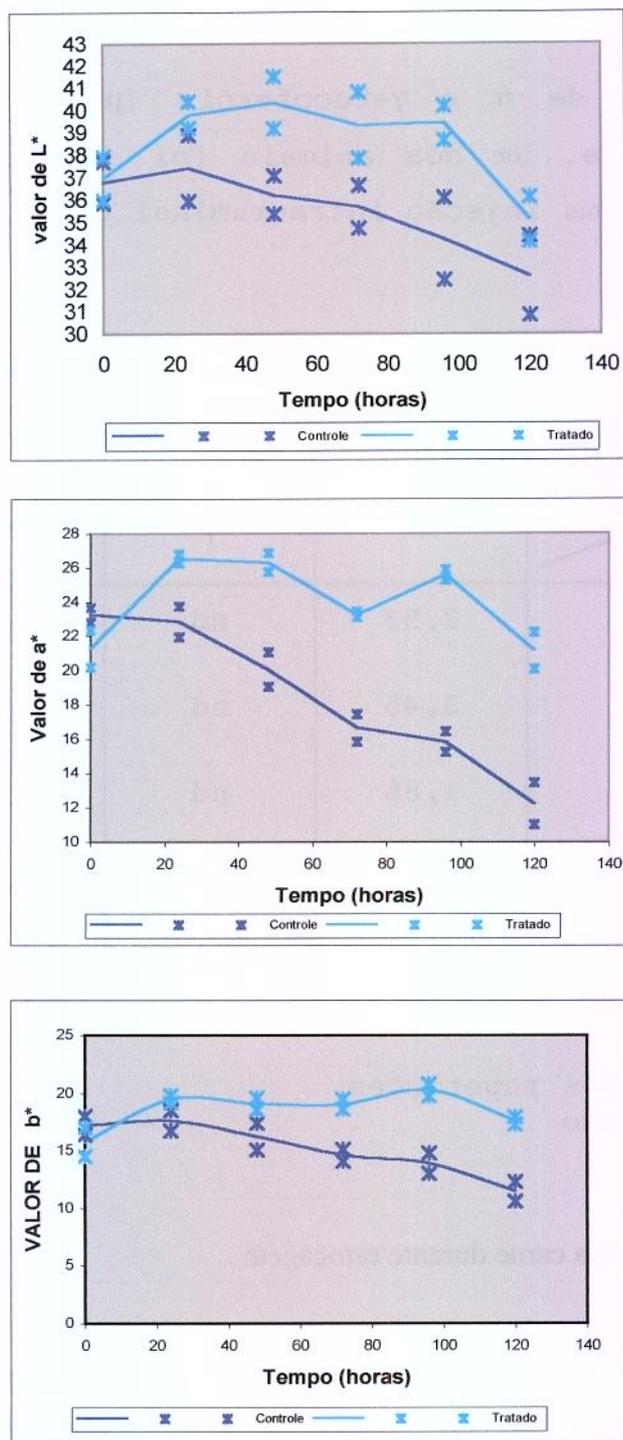


Figura 6 - Variação da cor L* a* b* durante estocagem a 4 °C de contra-filé (pH 5,42) proveniente de bovino injetado intra-ruminalmente com 1 litro de DDOS 48 horas antes do abate e animal controle.

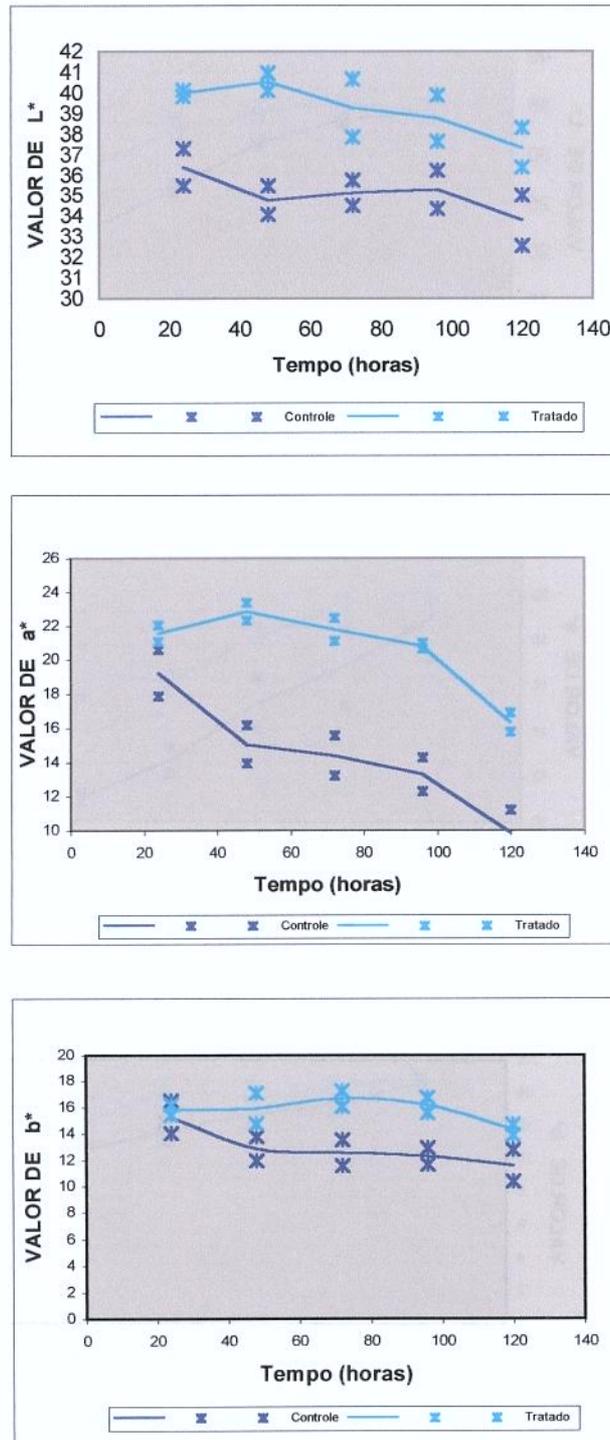


Figura 7 – Variação da cor L* a* b* durante estocagem a 4 °C de alcatra (pH 5,36), proveniente de bovino injetado intra-ruminalmente com 1 litro de DDOS 48 horas antes do abate e animal controle.

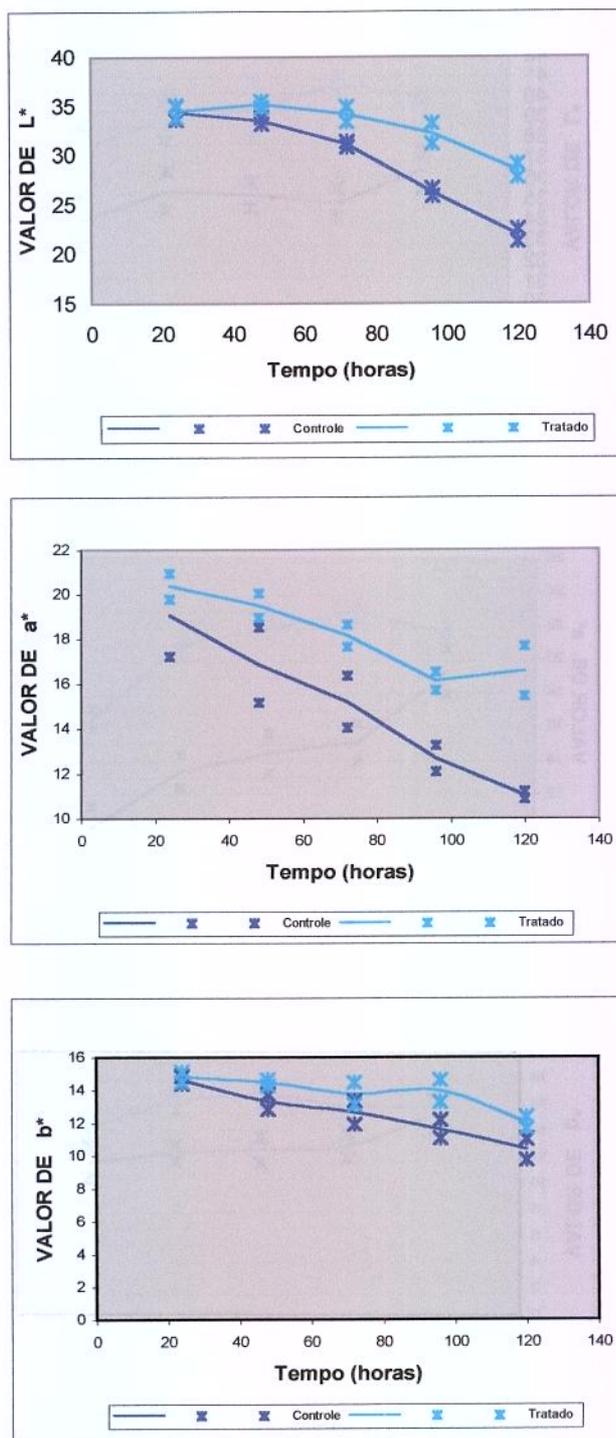


Figura 8 - Variação da cor L* a* b* durante estocagem a 4 °C de filé mingnon (pH 5,50), proveniente de bovino injetado intra-ruminalmente com 1 litro de DDOS 48 horas antes do abate e animal controle.

2.4.3. Análise sensorial

Os resultados obtidos não demonstraram diferenças significativas ao nível de 0,1 %, mas demonstraram diferença ao nível de 1 %, embora a diferença notada fosse discriminada como sendo devido à textura e não ao sabor. Dos 21 acertos 20 relataram diferenças em relação à textura e somente 09 em relação ao sabor, sendo que destes últimos 04 preferiram a carne tratada e 5 não informaram a preferência. Se considerarmos em relação ao sabor não houve diferença significativa ao nível de 10 %.

2.4.4. Avaliação da dose

A dose empregada demonstrou efeito, com base nas diferenças observadas em relação à curva de acompanhamento da cor durante estocagem. A carne do animal tratado manteve-se mais vermelha e por mais tempo do que a carne do animal sem tratamento.

2.4.5. Avaliação da via de administração

A injeção intra-ruminal mostrou-se uma maneira prática e eficiente de administrar um grande volume de óleo por via digestiva. Faz-se necessário somente a contenção do animal, que é inferior ao tempo necessário para administração por sonda oro-esofágica. O risco de falsa via é reduzido. Deve-se tomar cuidado com o comprimento adequado da agulha e com o

posicionamento correto do animal no momento da injeção, para não aplicar fora do rúmen.

Numa escala industrial é necessário o desenvolvimento de um aplicador que possua um dosador automático e o conteúdo sob pressão para tornar a aplicação mais rápida reduzindo o esforço físico.

Após o abate observa-se apenas uma pequena lesão devido à perfuração da parede abdominal (Figura 9). Esta não produz redução no valor da carcaça. Um minúsculo orifício se localiza também no couro, mas de modo geral o couro brasileiro não atinge índices de classificação como couro de alta qualidade, devido a grande incidência de larvas de *Dermatobia hominis* e *Cochliomyia hominivorax* que deixam lesões cicatriciais.

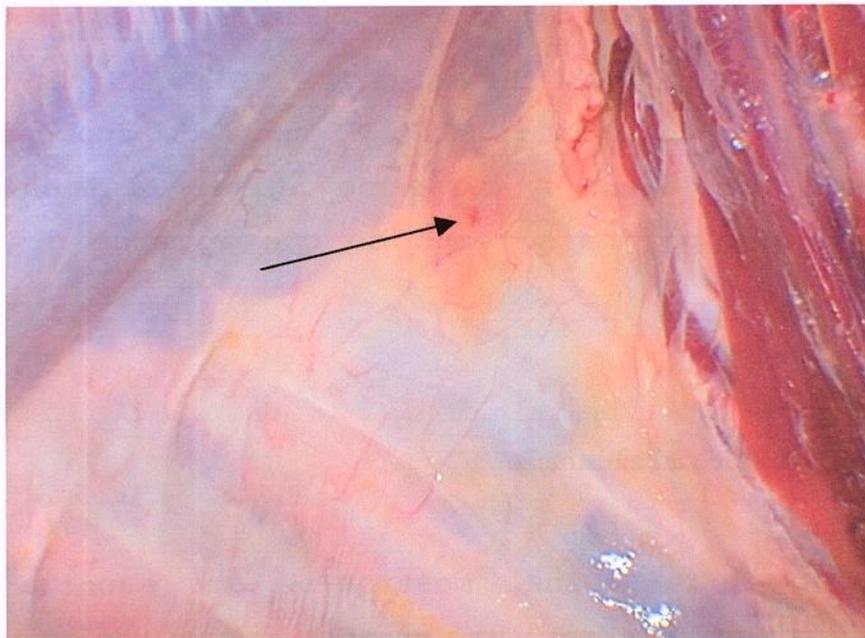


Figura 9 - Na região dorsal da meia carcaça esquerda, observa-se o local de penetração da agulha utilizada para injeção intra-ruminal de DDOS.

3. O processo digestivo e a relação com a absorção de tocoferóis

As vias, oral e intra-ruminal já não são empregadas atualmente em ruminantes em relação à administração de grandes volumes de medicamentos. O desenvolvimento e a maior eficiência de fármacos aplicados por outras vias fez com que caíssem em desuso, já há algumas décadas. Por isso, inicialmente não se levou em consideração quais seriam os efeitos que o jejum prévio poderia exercer.

Quando se realizou o primeiro experimento na EMBRAPA, os animais ficaram em jejum prévio a administração e não ocorreu absorção de tocoferóis como no experimento piloto.

Diversos profissionais que trabalham com clínica e nutrição de ruminantes, quando consultados, não souberam informar o que realmente havia ocorrido e porque a absorção não foi eficiente.

Segundo Scherf , Machlin, Frye, Krautmann & Williams (1996), o processo de digestão incrementa a absorção de vitamina E, pois o suco pancreático e a bile, presentes na digestão formam um complexo com a vitamina E que favorecem a absorção desta. Por isso após a aplicação os animais foram soltos a pasto para que se alimentassem. A ausência do processo de digestão e reduzida secreção de suco pancreático e bile foi certamente um fator que minimizou a absorção de vitamina E, e a princípio pensou-se que seria o único.

Coincidentemente algumas semanas depois, avaliando-se a concentração de sulfato de cobre empregado para o tratamento de infecções cutâneas animais, em um formulário de terapêutica veterinária (Neiva, 1967), publicado inicialmente em 1934, observou-se que constava a informação de que o composto acima

pode ser utilizado em solução a 1% e volume de 350 a 450 mL por via oral em bovinos, como anti-helmíntico, o que esse volume é um volume expressivo. Nesta publicação há uma observação de que para facilitar a passagem da droga diretamente ao abomaso deve-se fazer um jejum prévio de 24 horas. Logo, conclui-se que o fato do rúmen se encontrar vazio permite uma passagem mais rápida de líquidos para o intestino delgado reduzindo-se o tempo de retenção no rúmen. A retenção no rúmen era esperada para que este funcionasse como um dosador permitindo uma oferta constante de DDOS no intestino delgado, produzindo um maior período de absorção. Este fato diferencia a absorção de vitamina E entre os ruminantes e os monogástricos.

Segundo gallo-Torres (1980), em monogástricos a absorção máxima de uma única administração oral ocorre após 6 horas. Em ruminantes decorridas 6 horas da administração oral a absorção se inicia.

Podemos concluir então que além da pouca ou nenhuma presença de suco pancreático e bile, o fator que mais prejudicou a absorção quando o animal estava em jejum foi o reduzido tempo de permanência no rúmen, que provocou uma rápida passagem pelo sistema digestivo, e um curto tempo de contato com a parede intestinal.

4. Análises sensoriais

As análises Sensoriais da carne crua de animais tratados com DDOS, foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Meilgaard; Civille & Carr, (1987). Amostras de contra-filé acondicionadas em bandejas de PS revestidas com

filme de PVC foram mantidas sob refrigeração a 4 °C no escuro por cinco dias quando então foram expostas a avaliação de 27 consumidores através dos:

4.1. Teste de diferença do controle – escala estruturada

Para este teste utilizou-se uma escala estruturada (Figura 10), para comparar as amostras de contra-filé de animais tratados e controle após cinco dias de estocagem, em relação a uma amostra padrão (contra-filé sem tratamento mantido por 24 horas na ausência de luz e sob refrigeração a 4°C, acondicionado em uma bandeja de PS, revestida com filme de PVC). Apresentou-se um padrão "P" que foi introduzido também como uma amostra junto às que estavam sendo testadas. Na avaliação estatística utilizou-se a análise de variância (Anova) e teste de Tukey com a utilização do SAS.

Você está recebendo uma amostra padrão identificada com P e 5 amostras codificadas de contra-filé bovino acondicionadas em bandejas. Por favor, avalie somente o **ASPECTO VISUAL DA SUPERFÍCIE DO BIFE** (cor e homogeneidade da cor). **Não considere** diferenças no tamanho do bife, formato ou quantidade de gordura.

A. Em relação à **COR DA CARNE** compare cada amostra com o padrão e indique, utilizando a escala abaixo, o quão diferente do padrão encontra-se a **COR** de cada amostra.

+4 -extremamente + escuro que o padrão
 +3 -muito + escuro que o padrão
 +2 -moderadamente + escuro que o padrão
 +1 -ligeiramente + escuro que o padrão
 0 -igual ao padrão
 -1 -ligeiramente + claro que o padrão
 -2 -moderadamente + claro que o padrão
 -3 -muito + claro que o padrão
 -4 -extremamente + claro que o padrão

Amostra	Valor	Amostra	Valor
665	_____	549	_____
252	_____	813	_____
187	_____		

Comentários _____

Figura 10 - Modelo da ficha utilizada no teste sensorial de diferença do controle (escala estruturada) utilizada.

4.2. Teste de diferença do controle – escala não estruturada

Utilizou-se para este teste uma escala não estruturada (Figura 11). O objetivo foi avaliar a formação de cor marrom escura (presença de metamioglobina) nas amostras de contra-filé de animais tratados e controle após cinco dias de estocagem, em relação a uma amostra padrão idêntica a do teste anterior. Apresentou-se um padrão "P", que também foi introduzido como uma amostra, junto às outras que estavam sendo testadas. Na

avaliação estatística utilizou-se a análise de variância (Anova) e teste de Tukey com a utilização do SAS.

B. Em relação à cor **VERMELHA DO PADRÃO** marque, utilizando a escala abaixo, onde se encontra a cor de cada amostra.

665 Vermelho _____ < 9 cm > _____ Marrom escuro

252 Vermelho _____ Marrom escuro

187 Vermelho _____ Marrom escuro

549 Vermelho _____ Marrom escuro

813 Vermelho _____ Marrom escuro

Comentários _____

Figura 11 - Modelo da ficha utilizada no teste sensorial de diferença do controle (escala não estruturada).

4.3. Teste de intenção de compra

O objetivo foi avaliar a intenção de compra do consumidor em relação às amostras de contra-filé de animais tratados e controle após cinco dias de estocagem, em relação a uma amostra padrão idêntica a dos testes anteriores. Um padrão "P" foi apresentado como uma amostra junto às que estavam sendo testadas. Na avaliação estatística utilizou-se a análise de variância (Anova) e teste de Tukey com a utilização do SAS.

C. Somente em relação aos critérios avaliados anteriormente, indique na escala abaixo, sua atitude se você encontrasse cada uma das amostras à venda. Caso encontrasse este produto à venda eu :

5 - Certamente compraria
 4 - Possivelmente compraria
 3 - Talvez comprasse/ talvez não comprasse
 2 - Possivelmente não compraria
 1 - Certamente não compraria

Amostra	Valor	Amostra	Valor
665	_____	549	_____
252	_____	813	_____
187	_____		

Comentários _____

Figura 12 - Modelo da ficha utilizada no teste de intenção de compra.

4.4. Resultados e discussão

Para os testes de diferença do controle e de preferência do consumidor os resultados obtidos com a utilização de 27 provadores, para as amostras de contra-filé, foram os seguintes:

Teste 1 (ficha da Figura 10).

Padrão - Valor médio obtido = $-0,704^C$

Tratado - Valor médio obtido = $+0,482^B$

Controle - Valor médio obtido = $+1,407^A$

Obs - Letras sobrescritas diferentes diferem entre si ao nível de 5 %.

Os resultados indicam que as amostras tratadas apresentaram-se mais próximas do padrão, com uma intensidade de escurecimento menor do que as amostras controle.

Teste 2 (ficha da Figura 11).

Padrão - Valor médio obtido = 1,252^C

Tratado - Valor médio obtido = 3,404^B

Controle - Valor médio obtido = 4,719^A

Obs - Letras sobrescritas diferentes diferem entre si ao nível de 5 %.

A partir dos resultados e considerando que o valor menor (mais próximo do vermelho do padrão) e o valor maior (mais distante do vermelho do padrão, tendendo para o marrom escuro) concluiu-se que as amostras de contra-filé de animais tratados apresentaram-se significativamente mais vermelhas e menos marrom escuras do que as amostras de animais controle após 5 dias de estocagem em bandejas de PS e refrigeradas a 4°C no escuro.

Teste 3 (ficha da Figura 12).

Padrão - Valor médio obtido = 4,667^A

Tratado - Valor médio obtido = 3,815^B

Controle - Valor médio obtido = 2,825^A

Obs - Letras sobrescritas diferentes diferem entre si ao nível de 5 %

Considerando-se que o valor maior refere-se a maior preferência de compra observa-se que as amostras provenientes de animais tratados após cinco dias de estocagem apresentaram-se na faixa da opção 4 (possivelmente compraria), enquanto as

amostras provenientes de animais controle apresentaram-se próximas à opção 3 (talvez comprasse/talvez não comprasse). Ou seja o tratamento, no caso de contra-filé manteve as amostras testadas numa escala de preferência de compra superior a de amostras provenientes de animais controle (sem tratamento).

Alguns comentários de provadores foram relacionados ao fato da amostra controle apresentar manchas escuras, ou seja falta de uniformidade da cor, enquanto que nas amostras de animais tratados, a distribuição de cor mostrava-se mais homogênea.

4.5. Conclusões

A análise sensorial demonstrou preferência quanto a cor, intensidade de vermelho e opção de compra da amostra de contra-filé proveniente de bovinos tratados em relação a de bovinos sem tratamento, após estocagem por cinco dias acondicionadas em bandejas de PS revestidas com filme de PVC sob refrigeração a 4°C.

6. Bibliografia

- Almeida, M. E. M., Gusman, E. C., Carvalho, P. R. N. & Rusig, O. Evaluation of soybean oil deodorization distillate for vitamin E recovery. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*. 37:1003-1011, 1994.
- Eikelenboom, G.; Hoving-Bolink, A. H.; Kluitman I. K.; Houben, j. H. & Klont, R. E. Effect of dietary vitamin E supplementation on beef colour stability. *Meat Science* 54:17-22, 2000.
- Faustman, C.; Cassens, R. G.; Schaefer, D. M.; Buege, D. R. Williams, S. N. & Scheller K. Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation with vitamin E. *Journal Food Science*. 54:858, 1989.
- Gallo-Torres, H. E. Biochemistry - Absorption in: Machlin, L. J., ed. *Vitamin E - A Comprehensive Treatise*, New York, Marcel Dekker, 1980. p.170-192. (Basic and Clinical Nutrition, vl).
- Meilgaard, M; Civille, G. V. & Carr, B. T. Sensory evaluation techniques. Boca Raton: CRC Press, 1987.
- Mitsumoto, M. Ozawa, S. Mitsunashi, T. & Koide, K. Effect of dietary vitamin E supplementation for one week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display in Japanese black steer beef. *Meat Science*. 49:165-174, 1998.
- Neiva, C. Formulário de Terapêutica Veterinária, 3ª. edição, Serviço de Informação Agrícola Ministério da Agricultura, Brasil, 1967.

- Ramamurthi, S. & McCurdy, A. R. Enzymatic pretreatment of deodorizer distillate for concentration of sterols and tocopherols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70:287-295, 1993.
- Scherf, H.; Machlin, L. J.; Frye, T. M.; Krautmann, B. A. & Williams, S. N. Vitamin E biopotency: Comparison of various "natural-derived" and chemically synthesized α -tocopherols. *Animal Feed Science Technology* 59:15-126, 1996.
- Schwarz, F. J.; Augustini, C.; Timm, M.; Kirchgeßner, M. & Steinhart, H. Effect of vitamin E on α -tocopherol concentration in different tissues and oxidative stability of bull beef. *Livestock Production Science*. 56:165-171, 1998.
- Smith, G. C.; Morgan, J. B.; Sofos, J. N. & Tatum, J. D. Supplemental vitamin E in beef cattle diets to improve shelf-life of beef *Animal Feed Science Technology* 59:207-214, 1996.
- Snyder, J. M., Taylor, S. L. & King, J. W. Analysis of tocopherols by capillary supercritical fluid chromatography and mass spectrometry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70:349-354, 1993.
- Ueda, T. & Igarashi, O. Determination of vitamin E in biological specimens and foods by HPLC - pretreatment of samples and extraction of tocopherols. *Journal of Micronutrient Analysis*. 7:79-96, 1990.