

# 1

## AVALIAÇÃO DA CARÇAÇA

---

Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva

### 1.1 DEFINIÇÃO DE CARÇAÇA SUÍNA

Segundo a Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS, 1973), carçaça é o suíno morto, despojado de vísceras, inclusive rins e gordura dos rins, cerdas e unhas, permanecendo a cabeça, extremidade dos membros, couro e cauda.

O Regulamento 2810/95 da Comunidade Comum Européia define carçaça como o suíno abatido, sangrado e eviscerado e de que tenham sido retiradas as cerdas e unhas. Pode ser apresentada com ou sem cabeça, pés, banha, rins, rabo, diafragma, espinha medular, mioleira, língua e, nas fêmeas, os mamilos.

### 1.2 PESO E RENDIMENTO DE CARÇAÇA

O peso da carçaça pode ser obtido ao término imediato do abate, definindo-se peso de carçaça quente, ou após o resfriamento por 24 horas a  $2\pm 1$  °C, representando o peso de carçaça resfriada. A medida do peso da carçaça quente e resfriada permite estimar o rendimento de carçaça e as perdas ocorridas durante o período de resfriamento.

Para o cálculo dos respectivos rendimentos seguem as fórmulas abaixo:

$$\text{- Rendimento de carcaça (\%)} = \frac{\text{Peso da carcaça quente} \times 100}{\text{Peso vivo ao abate}}$$

$$\text{- Perda de carcaça no resfriamento (\%)} = 100 - \left( \frac{\text{Peso de carcaça resfriada} \times 100}{\text{Peso de carcaça quente}} \right)$$

Através desta relação de perdas no resfriamento, tem-se um valor importante que representa no frigorífico a percentagem de perda de água da carcaça.

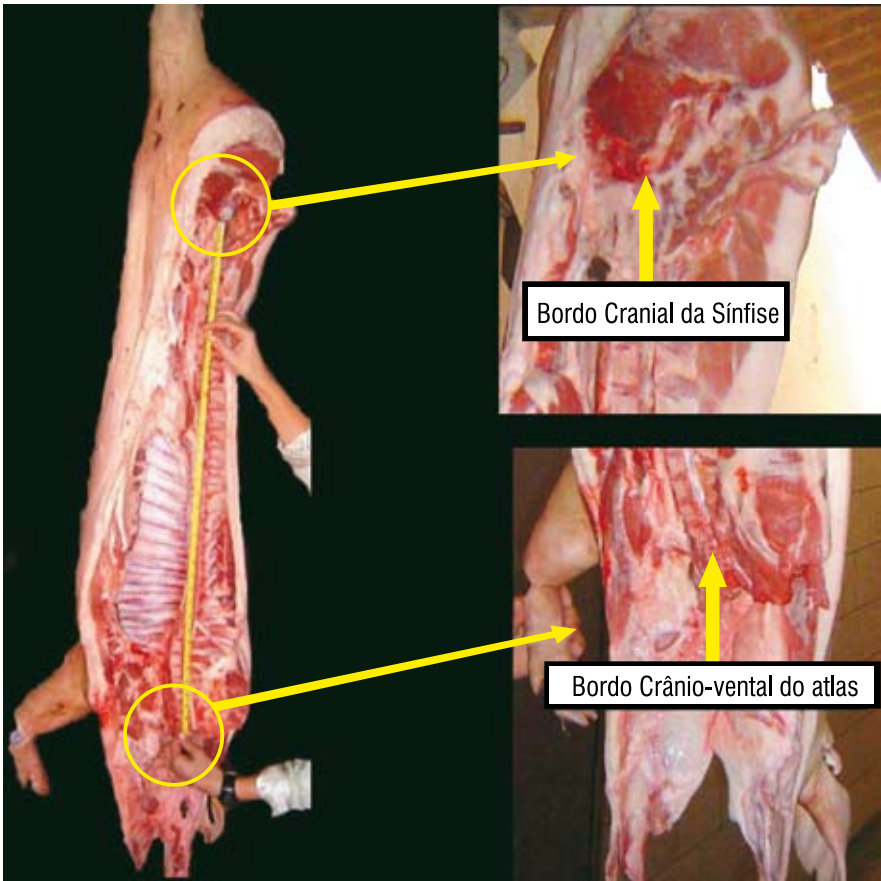
### **1.3 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA CARCAÇA**

Com exceção do peso da carcaça, que decorre da pesagem das duas meias carcaças, as demais medidas devem ser realizadas na meia carcaça esquerda.

As meias carcaças são decorrentes da secção completa da carcaça, no sentido crânio-caudal, no centro da coluna vertebral, incluindo demais tecidos moles. A cauda permanecerá não seccionada na meia carcaça esquerda.

#### **1.3.1 Comprimento da carcaça**

O comprimento da carcaça é medido a partir do bordo cranial da sínfise púbica até o bordo crânio ventral do Atlas (ABCS, 1973) ou desde a borda cranial da sínfise púbica até a borda cranial da 1ª costela (PORK WORLD, 2004a). O resultado deve ser expresso em centímetros



**Figura 1**  
Medida do comprimento da carcaça

### 1.3.2 Escore muscular (conformação)

O escore muscular é uma avaliação subjetiva dos perfis das carcaças e demonstra o desenvolvimento das massas musculares. As carcaças podem ser classificadas em cinco categorias, conforme a **Figura 2** (MEAT EVALUATION HANDBOOK, 2001).

As categorias de classificação do escore muscular são: 1 = carcaça convexa; 2 = carcaça semi-convexa; 3 = carcaça retilínea; 4 = carcaça côncava e; 5 = carcaça subcôncava



**Figura 2**  
Escore muscular de carcaças suínas

### 1.3.4 Espessura de gordura subcutânea (toucinho)

Recomenda-se realizar as medidas de espessura de gordura subcutânea nas carcaças resfriadas.

A Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS, 1973) orienta medir a espessura de toucinho em três pontos da carcaça: na altura da primeira costela, na altura da última costela e na altura da última vértebra lombar. As medidas devem ser realizadas perpendicularmente à linha dorso-lombar, com auxílio de um paquímetro. Uma extremidade do paquímetro deve ser colocada acima do couro, enquanto que a outra deve ser colocada na linha de separação da manta de toucinho com a carne.

Para determinar o local exato de cada medida deve-se contar inicialmente o número de costelas da carcaça que pode variar de 14 a 17. Define-se como primeira costela aquela localizada na região anterior da carcaça. O local de medida da espessura de gordura na altura da primeira costela deve ser na porção média da primeira vértebra torácica. Para encontrar o local de medida parte-se do Atlas, contando as sete vértebras cervicais. A vértebra logo a seguir é a primeira torácica.

O local de medida da espessura de toucinho na altura da última costela deve ser na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar. Para estabelecer o local correto deve-se contar sete vértebras cervicais e mais o número de vértebras torácicas correspondente ao número de costelas encontradas.

A espessura de toucinho na altura da última vértebra lombar deve ser medida no local da articulação da penúltima vértebra lombar com a última lombar. Para localizar o ponto de medida conta-se as vértebras sacrais (que diferenciam-se das lombares porque são soldadas entre si), sendo que a próxima vértebra será a última lombar.

A espessura de toucinho é expressa em milímetros ou centímetros.

**Figura 3**

Localização dos pontos anatômicos utilizados como referência para medir a espessura de gordura

### 1.3.5 Profundidade do músculo *Longissimus dorsi* e espessura de toucinho

A profundidade do músculo *Longissimus dorsi*, ou área de olho de lombo, e a espessura de toucinho são medidas na altura da última costela, na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar a seis centímetros da linha média de corte da carcaça (ponto P2). Os valores, obtidos com o auxílio do paquímetro, devem ser expressos em milímetros. Para a correta avaliação da profundidade do músculo *Longissimus dorsi*, o paquímetro deverá ser orientado a partir do ponto P2 perpendicularmente até o limite extremo oposto do músculo, conforme mostra a **Figura 4**.

Com os valores obtidos das medidas supracitadas é possível estimar o rendimento de carne e a quantidade de carne na carcaça. Estas



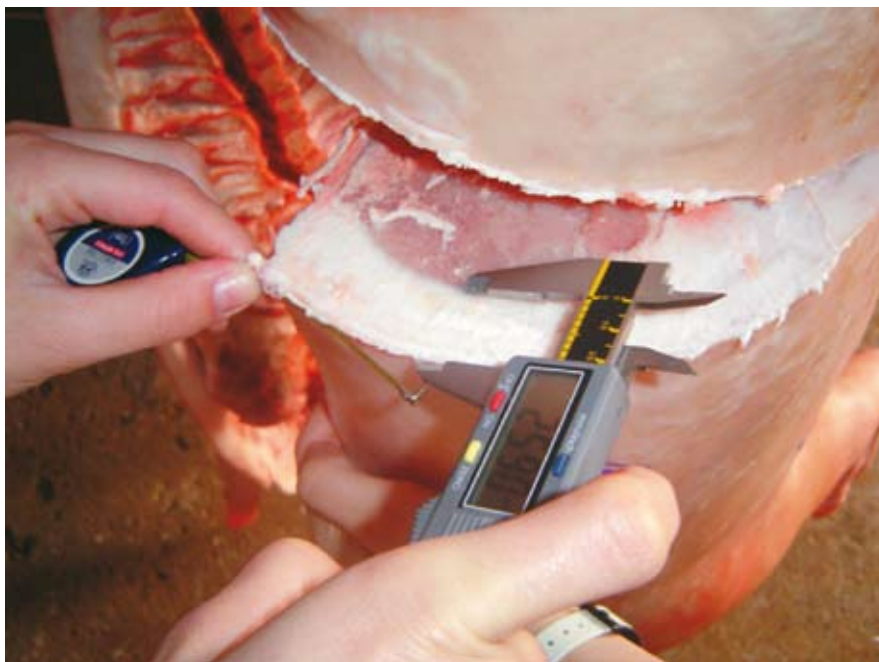
**Figura 4**

Medida da profundidade do músculo *Longissimus dorsi*

estimativas decorrem do desenvolvimento de equações de regressão definidas pelo estabelecimento de uma relação entre as medidas de espessura de gordura e a profundidade do lombo com os dados de quantidade, em quilogramas, de tecido muscular e gordura de várias carcaças. As equações obtidas, portanto, são diferentes de acordo com as características de cada genética, peso ao abate, manejo alimentar, sexo, etc., de tal forma que estas devem ser refeitas no mínimo a cada dois anos dadas as mudanças que se observam nas carcaças.

Para fins de pesquisa seguem as fórmulas descritas por Guidoni (2000) que permitem calcular o rendimento de carne e a quantidade de carne na carcaça:

Rendimento de carne na carcaça resfriada (%) =  $65,92 - [(0,685 \times \text{espessura de toucinho mm}) + (0,094 \times \text{profundidade do músculo mm}) - (0,026 \times \text{peso da carcaça resfriada kg})]$



**Figura 5**

Medida da espessura de gordura

Quantidade de carne resfriada (kg) =  $7,38 - (0,48 \times \text{espessura de toucinho mm}) + (0,059 \times \text{profundidade do músculo mm}) + (0,525 \times \text{peso da carcaça quente kg})$

A porcentagem e a quantidade de carne magra na carcaça, em quilogramas, podem também ser estimadas utilizando as equações propostas por Irgang (2004)

Rendimento de carne (%) =  $60 - (\text{espessura de toucinho mm} \times 0,58) + (\text{profundidade do músculo mm} \times 0,10)$

Quantidade de carne na carcaça (kg) =  $(\text{peso de carcaça resfriada kg} \times \text{rendimento de carne}) \div 100$ .

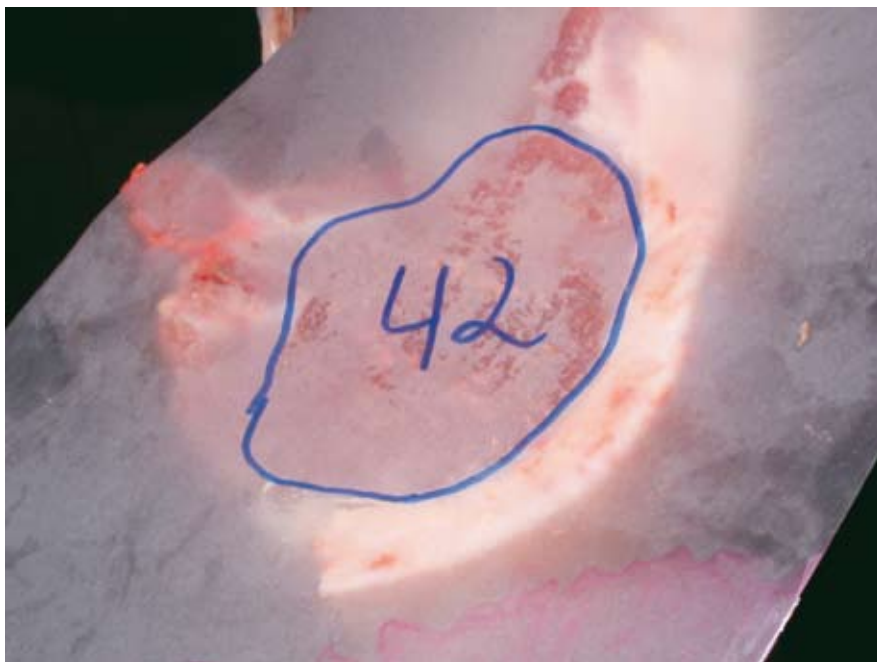
### 1.3.6 Área do músculo *Longissimus dorsi* e área de gordura

A medida da área do músculo *Longissimus dorsi* (ou área de olho de lombo) deve ser realizada na altura da última costela (na região de inserção da última vértebra torácica com a primeira lombar). Limpa-se a área do músculo *Longissimus dorsi* com a faca e cobre-se este com filme de polietileno de baixa densidade. Sobre o filme de polietileno coloca-se um papel vegetal e desenha-se, com caneta de retroprojetor de ponta fina, o contorno do lombo, não incluindo os outros músculos (ABCS, 1973).

A área desenhada (**Figura 6**) pode ser determinada utilizando-se a contagem de pontos, com o auxílio de um papel milimetrado, ou através de planímetro ou ainda utilizando o Software de engenharia AutoCAD®. O valor da medida deve ser expresso em cm<sup>2</sup>.

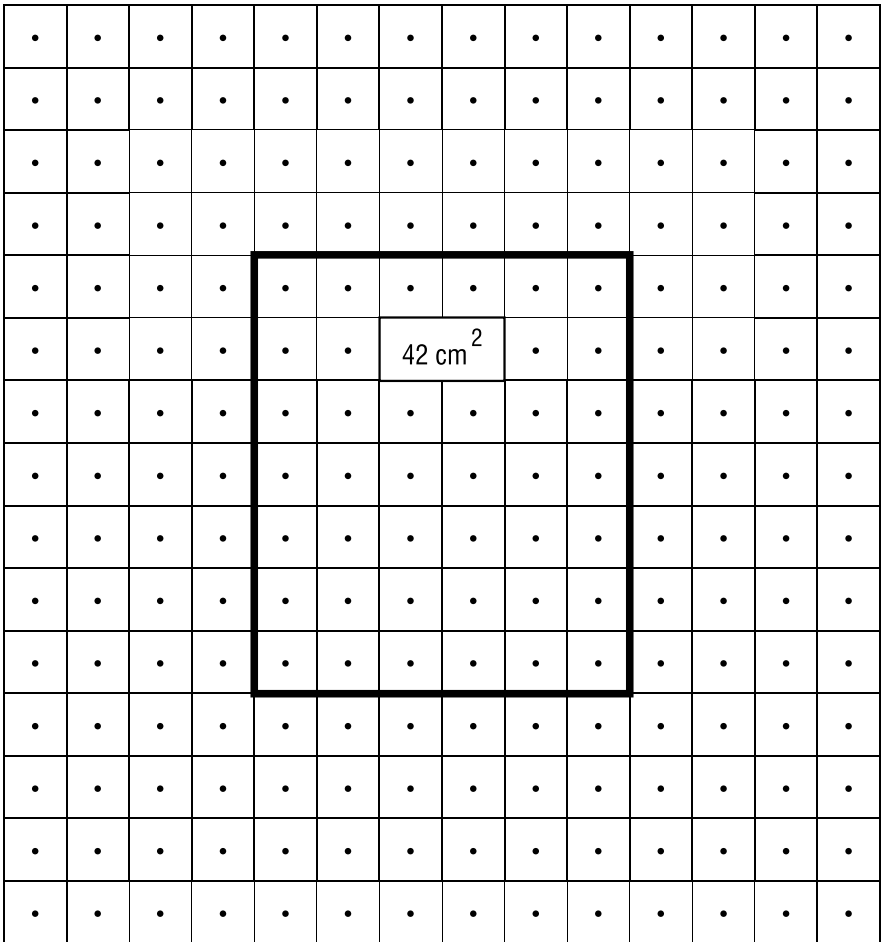
Para determinar a área do músculo *Longissimus dorsi* com auxílio de papel milimetrado, deve-se colocar o desenho do músculo sobre o papel milimetrado (**Figura 7**), fazendo com que o maior número de pontos fique localizado dentro da área demarcada. Após, faz-se a contagem dos pontos localizados dentro da área. Cada ponto representa 1 (um) centímetro quadrado. Assim, se foram contados 42 pontos, a área equivalente será de 42 cm<sup>2</sup>.

Outra maneira de determinar a área seria a captura da imagem da área de olho de lombo com o auxílio de câmera fotográfica digital.

**Figura 6**

Desenho da área do músculo *Longissimus dorsi*

Sobre o músculo coloca-se um papel com dimensões conhecidas (**Figura 8**) e obtém-se a foto. A área pode ser calculada por correlação com a área do papel que é previamente conhecida. Contudo, para estabelecimento desta correlação deve-se recorrer ao uso de um planímetro ou do Software de Engenharia AutoCAD®, medindo-se as áreas do lombo e do papel (padrão) com as dimensões previamente conhecidas.

**Figura 7**

Papel milimetrado utilizado para determinação da área de olho de lombo

**Figura 8**

Preparo da amostra para obtenção da fotografia para determinação da área do músculo *Longissimus dorsi*

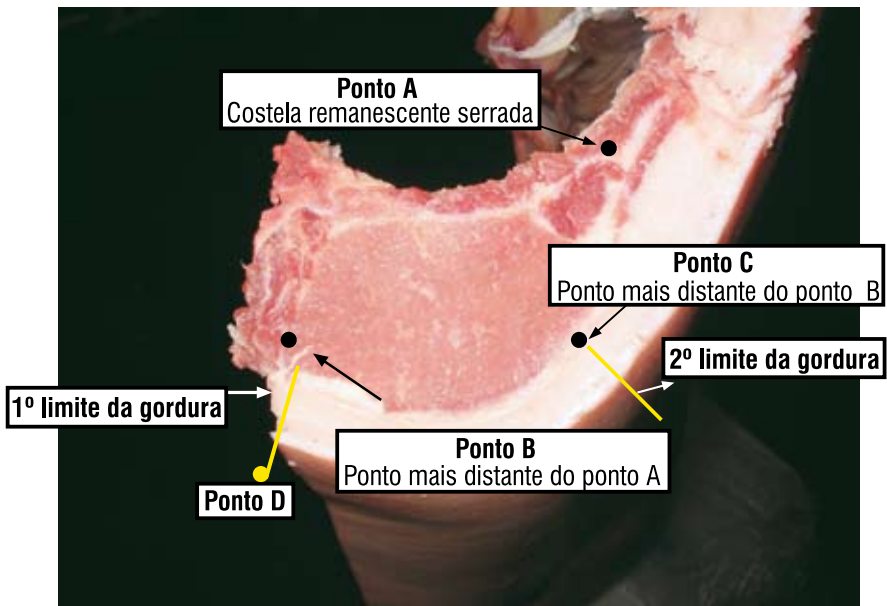
### 1.3.7 Relação área do *Longissimus dorsi* e peso de carcaça

Devido a alta correlação existente entre a área do músculo *Longissimus dorsi* e o peso da carcaça resfriada, é importante estabelecer a relação entre estes dois parâmetros. Por exemplo, uma carcaça de 76 kg com 38 cm<sup>2</sup> de área de músculo apresentará uma relação de 0,50, enquanto que uma carcaça com 81 kg e área de músculo de 40 cm<sup>2</sup> a relação será de 0,49, ou seja, por quilo de suíno, a primeira carcaça apresenta maior proporção de área de músculo *Longissimus dorsi*.

### 1.3.8 Área da gordura

Para a avaliação da área de gordura no corte o mesmo procedimento utilizado para a obtenção do desenho da área do músculo *Longissimus dorsi* se aplica à gordura subcutânea (**Figura 9**).

A delimitação da área da gordura segue a orientação da ABCS (1973). Inicialmente deve-se localizar no corte o segmento da costela remanescente. Identificada a porção da costela serrada, localiza-se o centro deste corte (ponto A) e a partir deste localiza-se o ponto mais distante do músculo *Longissimus dorsi* no corte (ponto B). Do ponto B reconhece-se o outro ponto mais distante no músculo (ponto C). Do ponto B dirige-se um traço imaginário que deve cruzar a linha do couro de maneira perpendicular, formando com a linha deste um ângulo de 90°C. Neste limite fica definido o ponto D. Ligando o ponto B ao ponto D, tem-se um dos limites da gordura que terá sua área aferida. O outro limite é obtido por meio de um compasso. Fixa-se o



**Figura 9**

Determinação da área de gordura

centro do compasso no ponto B, desloca-se seu braço até o ponto C e traça-se com o instrumento uma linha até o extremo do couro. Esta identificação define o segundo limite da gordura.

Conhecida a área a ser medida, pode-se utilizar para sua avaliação um planímetro ou o software de engenharia AutoCAD®. O valor da área deverá ser expresso em cm<sup>2</sup>.

### **1.3.9 Relação carne/gordura**

Com os valores de área do músculo *Longissimus dorsi* e da gordura, calcula-se a relação carne/gordura, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Relação carne/gordura} = \frac{\text{Área do músculo } \textit{Longissimus dorsi} \text{ (cm}^2\text{)}}{\text{Área da gordura subcutânea (cm}^2\text{)}}$$

## **1.4 PESO DOS PRINCIPAIS CORTES**

### **1.4.1 Pernil**

O corte do pernil deve ser obtido seccionando-se a articulação entre a última e a penúltima vértebra lombar, perpendicularmente à linha dorsal da carcaça. O pernil deve ser pesado completo, com cauda, pata sem unha e sem nenhum retoque na carne e na gordura (ABCS, 1973).

### **1.4.2 Paleta**

O corte da paleta é obtido através de um corte entre a segunda e a terceira costela, limitando-se da cartilagem superior da escápula até a articulação rádio-carpo-ulnar (PORK WORLD, 2004a).

### 1.4.3 Sobrepaleta

É um corte constituído pelas massas musculares que formam o pescoço. É obtido pela separação das massas musculares das vértebras cervicais (PORK WORLD, 2004a).

### 1.4.4 Barriga

É um corte composto pelas massas musculares, gordura e pele do flanco do suíno. O corte é obtido pela separação da região do vazio do pernil e do dorso (PORK WORLD, 2004a).

### 1.4.5 Costela

É um corte obtido após a retirada da pele e da porção torácica da barriga e da separação da paleta, a costela é desmembrada de suas porções torácicas logo abaixo das massas musculares do dorso através do corte à serra (PORK WORLD, 2004b).

### 1.4.6 Rendimento dos cortes

Para estimar o rendimento dos cortes, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento do corte (\%)} = \frac{\text{Peso do corte} \times 100}{\text{Peso da meia carcaça resfriada}}$$



# 2

## AVALIAÇÃO QUALITATIVA

---

Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva

### 2.1 MEDIDA DE pH

As medidas de pH são comumente realizadas nos músculos *Semimembranosus* e no *Longissimus dorsi* (na altura da última costela) 45 minutos após o abate (pH inicial) e depois do período de 24 horas de resfriamento da carcaça a  $2 \pm 1$  °C (pH final).

O pH é medido com o auxílio de um pHmetro portátil, com eletrodo de inserção. Deve-se, previamente, com uma faca, perfurar o couro, a manta de gordura e a carne antes de inserir o eletrodo no músculo para se fazer a leitura (**Figura 10**).

O pH final da carne *in natura* pode ser medido utilizando a técnica do potenciômetro, descrita pelo LANARA (1981). A técnica consiste em misturar 50 g da amostra homogenizada com 10 mL de água destilada recentemente ou deionizada (pH 7), seguindo-se com a leitura da amostra em pHmetro de bancada.

**Figura 10**

Medida do pH na altura da última costela

## 2.2 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras deverão ser coletadas na carcaça resfriada (por 24 horas a  $2\pm 1$  °C). Secciona-se a carcaça entre a última vértebra torácica com a primeira lombar e retira-se, no sentido caudal-cranial, uma amostra de aproximadamente 30 cm do músculo *Longissimus dorsi*. Deve-se atentar para a identificação no frigorífico das porções cranial e caudal da amostra coletada.

As amostras deverão ser embaladas em sacos plásticos de polietileno, identificadas e armazenadas em caixas térmicas com gelo para serem transportadas até o laboratório.

No laboratório, o músculo deve ser seccionado, sequencialmente, através de cortes transversais, retirando-se amostras (bistecas) de aproximadamente 2,5 cm de espessura. As amostras devem ser embaladas e identificadas com o tratamento, a repetição e o destino

da análise a ser executada. Para evitar variações dentro do mesmo músculo, recomenda-se coletar as amostras para uma determinada análise no mesmo ponto do músculo em todos os animais (por exemplo, no sentido crânio-caudal, a primeira amostra será utilizada para análise de perda de água por gotejamento, a segunda para análise da maciez, a terceira para análise sensorial, e assim sucessivamente).



**Figura 11**

Exemplo de coleta de amostras do músculo *Longissimus dorsi*

### 2.3 PERDA DE ÁGUA POR GOTEJAMENTO

A técnica utilizada para medir a perda de água por gotejamento foi descrita por Bocard *et al.* (1981). A avaliação deve ser realizada utilizando-se amostras do músculo *Longissimus dorsi* retiradas da carcaça resfriada por 24 horas a  $2 \pm 1$  °C. Todas as amostras devem ser retiradas do mesmo ponto da carcaça, evitando-se as variações dentro do mesmo músculo. Cada amostra (bife) deve possuir uma espessura de aproximadamente 2,0 cm. A análise deve ser realizada o mais rápido possível para evitar que ocorra perda excessiva de água durante o transporte da amostra do frigorífico até o laboratório.

Deve-se retirar os tecidos ósseo e adiposo e os músculos espinhais e multífido, permanecendo somente a fâscia que recobre o músculo *Longissimus dorsi*. As amostras, uma a uma, devem ser pesadas em balança semi-analítica com no mínimo 2 (duas) casas decimais e suspensas em um gancho feito de arame galvanizado em forma de “S” para que uma extremidade sustente a carne e a outra fique presa nas grades da geladeira. As amostras devem ser colocadas dentro de sacos de polietileno que, por sua vez, deve ser colocado dentro de outro saco, formando paredes duplas para evitar a desidratação das amostras na geladeira (**Figura 12**). Os sacos devem ser fechados sob pressão atmosférica e suas extremidades superiores amarradas com fio. Deve-se ter o cuidado para que as amostras não fiquem em contato com as paredes dos sacos plásticos.

As amostras devem permanecer por 48 horas sob refrigeração a 4 °C. Após este período, estas são retiradas da geladeira, evitando-se que as amostras entrem em contato com o líquido exsudado pela carne. Enxuga-se suavemente as amostras com toalha de papel e pesa-se novamente.

Perda de água por gotejamento (%) =

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

**Figura 12**

Amostras acondicionadas em sacos de polietileno inflados para análise da perda de água por gotejamento

## 2.4 COR DO MÚSCULO

A cor deve ser determinada na carne resfriada 24 horas após o abate. Após o corte, a amostra deve ficar exposta ao ar por um período de 15 a 20 minutos para permitir a oxigenação do músculo. A amostra deve possuir no mínimo 1,5 cm de espessura para evitar que sua avaliação não seja influenciada pela cor que está no fundo da amostra.

A cor da carne pode ser medida subjetivamente utilizando-se um painel de cores, conforme é apresentado na **Figura 13** (MEAT EVALUATION HANDBOOK, 2001).

A avaliação da cor através do aparelho portátil colorímetro, baseado nos sistemas de cor Hunter Lab ou CIELAB, é mais objetivo. No sistema CIELAB o colorímetro avalia a cor pela reflectância da

**Figura 13**

Escala de cor da carne suína

luz em três dimensões:  $L^*$ , que representa a luminosidade (valor  $L^*$ , ou value ou brightness); e  $a^*$  e  $b^*$  que representam a saturação (croma ou pureza) e a tonalidade (cor ou hue). A **Figura 14** representa os valores espaciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  no sistema CIELAB (MINOLTA, 1998).

O valor de  $L^*$  igual a zero corresponde ao preto e 100 ao branco. Os valores de  $a^*$  variam de  $-a^*$  (verde) até  $+a^*$  (vermelho). Os valores de  $b^*$  variam de  $-b^*$  (azul) à  $+b^*$  (amarelo).

O croma (saturação) da carne indica a pureza da cor, o quanto esta diferente da cor cinza (cor viva ou fosca). O valor do croma é zero no centro da **Figura 14** e aumenta de acordo com a distância em relação ao centro.

$$\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Fórmula para cálculo do croma no programa excel =  $((a^{*2})+(b^{*2}))^{0,5}$

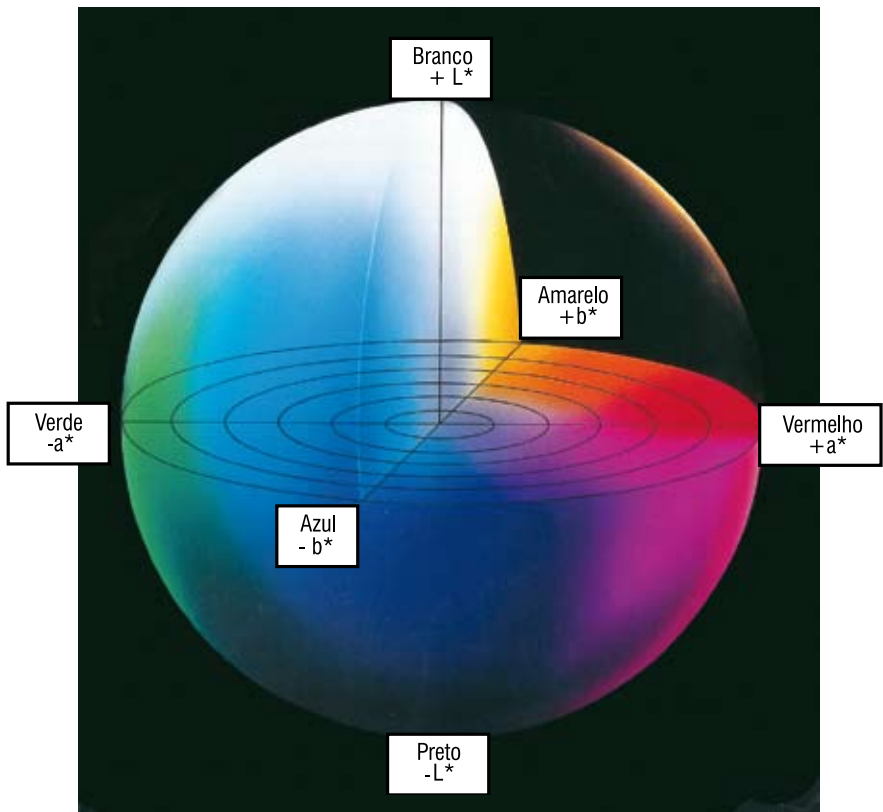
A tonalidade (cor) é o atributo pela qual se indentificam as cores (violetas, azul, amarelo, laranja, vermelho e púrpura). É a percepção da absorção da energia radiante em vários comprimentos de onda. É expressa em graus. Representa o ângulo formado com o eixo x (valor  $a^*$ ). O ângulo de  $0^\circ$  corresponde ao vermelho ( $+a^*$ ),  $90^\circ$  ao amarelo ( $+b^*$ ),  $180^\circ$  ao verde ( $-a^*$ ) e o ângulo de  $270^\circ$  á cor azul ( $-b^*$ ).

$$\text{Tonalidade (h)} = \tan^{-1} \left( \frac{a^*}{b^*} \right)$$

Fórmula para calcular a tonalidade em radianos em no programa Microsoft Office Excel= (ATAN2( $a^*$ ;  $b^*$ ))

Fórmula para calcular a tonalidade em radianos em no programa Microsoft Office Excel= GRAUS (valor de h em radianos)

Para cada amostra deve-se realizar três leituras. Para a análise estatística usa-se o valor médio de cada amostra.



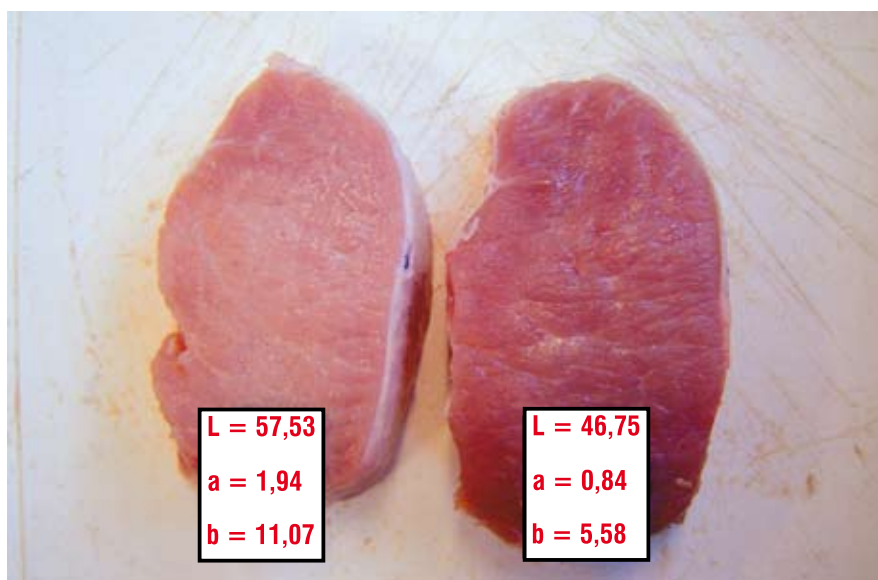
**Figura 14**

Representação das cores para  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  no espaço de cores

## 2.5 CLASSIFICAÇÃO DA CARNE EM NORMAL, PSE, DFD E RN

A metodologia descrita a seguir para classificação da carne em normal, PSE (do inglês *pale, soft and exudative*, ou seja, carne de cor clara, de textura mole e com baixa capacidade de retenção de água), DFD (do inglês *dark, firm and dry*, ou seja, de cor escura, de textura firme e com alta capacidade de retenção de água) e RN (Carne Rendimento Napole ou ácida) foi baseada nas metodologias propostas por Warner *et al.* (1997) e Channon *et al.* (2000).

A carne suína será classificada como normal quando apresentar valor de pH inicial igual ou superior a 5,8; pH final inferior a 6,0; valor de L\* maior que 43 e menor que 49 e perda de água por gotejamento menor que 5 %. A carne será classificada como PSE quando apresentar valor de pH inicial inferior a 5,8; pH final igual ou menor que 5,6; valor de L\* maior que 50 e perda de água por gotejamento maior que 5 % (**Figura 15**).



**Figura 15**

Carne PSE (amostra da esquerda) e Normal (amostra da direita)

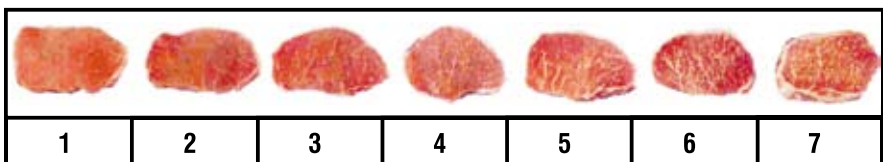
<b>Tabela 1</b> Classificação da carne suína em Normal, PSE, DFD e RN				
	<b>pH inicial</b>	<b>pH final</b>	<b>Cor L* (sistema CIELAB)</b>	<b>Perda de água por gotejamento</b>
Normal	Igual ou maior que 5,8	Menor que 6,0	Maior que 43 Menor que 49	Menor que 5 %
PSE	Menor que 5,8	Igual ou menor que 5,6	Maior que 50	Maior que 5 %
DFD		Maior que 6,0	Menor que 42	Menor que 5 %
RN		Menor que 5,4		Maior que 5 %

A carne que apresentar valor de pH final superior a 6,0, valores de L\* menor que 42 e perda de água por gotejamento menor que 5 % será considerada como DFD. Por fim, serão consideradas carnes RN aquelas que apresentarem pH final inferior a 5,4 e perda de água por gotejamento maior que 5 %.

## 2.6 MARMOREIO

O grau de marmorização (marmoreio), que representa a quantidade de gordura depositada dentro do músculo, contribui com a suculência e o *flavour* da carne e de seus produtos.

O grau de marmoreio da carne pode ser determinado com auxílio de padrões fotográficos, utilizando-se escalas de valores numéricos. A **Figura 16** (MEAT EVALUATION HANDBOOK, 2001) representa uma escala de marmoreio que varia de um a sete, sendo que carne com valor um apresenta somente traços de marmoreio e valor sete com marmoreio excessivo.



**Figura 16**

Escala de grau de marmoreio da carne suína

## 2.7 PERDA DE LÍQUIDO NO DESCONGELAMENTO E NA COCÇÃO

Devem ser retiradas amostras (bifes) de aproximadamente 2,5 cm de espessura do músculo *Longissimus dorsi*, obtidas sempre no mesmo ponto, para se evitar variações na maciez da carne que ocorrem naturalmente ao longo do músculo. As amostras devem ser embaladas em sacos de polietileno, identificadas e congeladas até a análise.

As amostras congeladas devem ser pesadas, embaladas em sacos de polietileno, identificadas e armazenadas em geladeira doméstica por 24 horas a 4 °C para descongelarem. Colocam-se as amostras na geladeira em bandejas plásticas, evitando-se empilhá-las. Após 24 horas, retiram-se as amostras da geladeira, enxugam-se levemente com toalha de papel e pesam-se novamente as amostras. Antes de assar, as amostras devem permacer por 30 minutos na temperatura ambiente.

As amostras devem ser assadas em forma com grelha forrada com papel alumínio para não as marcar. O papel alumínio deve ser perfurado de espaço em espaço, em vários pontos, para evitar o acúmulo de água. O forno é primeiramente aquecido por 20 minutos a 170 °C. Usar sempre o mesmo número de amostras e um representante de cada tratamento por fornada. Não é recomendado assar mais de quatro amostras por vez.

As amostras são assadas, sem a adição de qualquer condimento, até que a temperatura interna atinja 40 °C. Na seqüência, as amostras são viradas e mantidas no forno até que alcancem a temperatura interna de 71 °C. Retiram-se as amostras do forno e aguarda-se até que estas atinjam a temperatura ambiente. A seguir, as amostras são embaladas e deixadas por mais 24 horas na geladeira ou até que a temperatura no interior da peça esteja em 4 °C, quando, então, serão novamente pesadas.

Na **Figura 17** está representado o fluxograma do processo de determinação das perdas de líquido no descongelamento e na cocção.

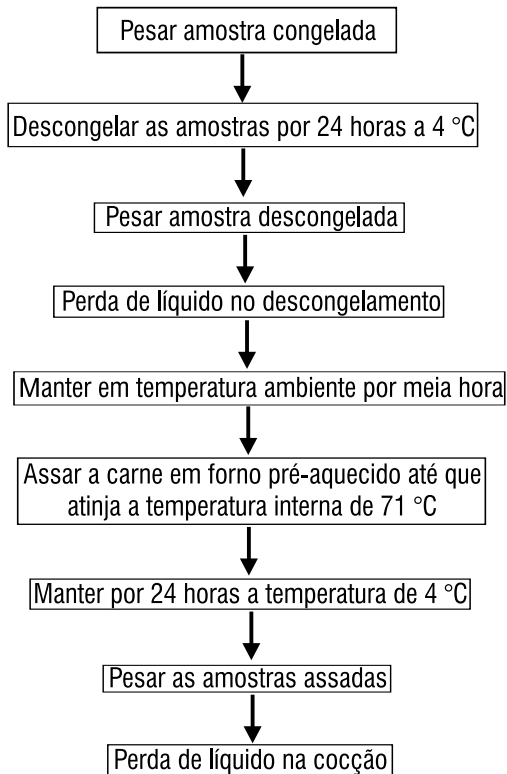
As perdas de líquido no descongelamento (PLD) e na cocção (PLC) são expressas em porcentagem de água perdida em relação ao peso original da amostra, utilizando as fórmulas a seguir:

PLD (%) =

$$\frac{(\text{Peso da amostra congelada} - \text{Peso da amostra descongelada}) \times 100}{\text{Peso da amostra congelada}}$$

PLC (%) =

$$\frac{(\text{Peso da amostra descongelada} - \text{Peso da amostra assada}) \times 100}{\text{Peso da amostra descongelada}}$$



**Figura 17**

Fluxograma das análises de perda de água por descongelamento e cocção

## 2.8 ANÁLISE DA FORÇA DE CISALHAMENTO DA CARNE

As amostras que serão utilizadas para avaliar a força de cisalhamento da carne suína, após assadas, conforme descrito no Item 2.7, deverão permanecer por 24 horas em geladeira doméstica a 4 °C.

As subamostras são obtidas através da secção do músculo paralelo ao sentido da fibra muscular. Para tanto, pode-se usar um amostrador cilíndrico de 1,27 cm de diâmetro para retirar as amostras paralelamente ao sentido da fibra (**Figura 18**) ou cortar as amostras com o auxílio de uma faca, obtendo-se subamostras de 1,5 cm de largura, 1,5 cm de espessura por 2,5 cm de comprimento (sentido da fibra que corresponde a espessura do bife). De cada amostra (bife) deve-se retirar no mínimo 6 e no máximo 8 subamostras. Subamostras que apresentarem muito tecido conectivo ou outro tipo de falha devem ser descartadas.



**Figura 18**

Amostrador utilizado para coleta das subamostras para análise da maciez

A força de cisalhamento pode ser obtida pelo aparelho Warner-Bratzler Shear ou utilizando-se uma lâmina com corte em “V” invertido, acoplada ao aparelho texturômetro (**Figura 19**). Para o texturômetro, as velocidades recomendadas para a carne suína são: velocidade de pré-teste de 5 mm/seg, no teste 2 mm/seg e no pós-teste de 5 mm/seg. O aparelho deve estar programado para percorrer 25 mm, ao final das três fases do procedimento. A lâmina deve cortar a subamostra no sentido perpendicular à fibra muscular.

Para análise estatística o animal deverá ser considerado a unidade experimental, então deve-se usar a média aritmética da força de cisalhamento obtida das subamostras de um bife como valor da repetição.

**Figura 19**

Lâmina reta em corte em “V” invertido acoplada ao aparelho Texturômetro

# 3

## ANÁLISE SENSORIAL DA CARNE

---

Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva

Serão descritos dois processos de análise sensorial, classificados como Métodos Discriminativos, que permitem estabelecer diferenças quantitativas ou qualitativas entre carnes provenientes de distintos tratamentos (ABNT, 1993).

Estes Métodos Discriminativos, contudo, somente garantem a verificação de diferenças notáveis entre as amostras. *O Teste de Comparação Pareada* é utilizado para analisar duas amostras e o Teste de Ordenação permite comparar três ou mais amostras.

### 3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Independentemente do método utilizado para realizar a análise sensorial, o preparo das amostras deve seguir um padrão uniformizado. O corte mais indicado é o do músculo *Longissimus dorsi* (lombo), já que apresenta um tamanho relativamente grande, sendo possível retirar amostras homogêneas. É importante que em todos os suínos analisados as amostras de carne sejam obtidas na mesma altura do músculo, evitando variações nos resultados dentro do próprio músculo.

As amostras devem ser compostas de bifês de 2,5 cm de espessura, desprovidos de ossos, gordura extramuscular e do tecido conjuntivo que envolve a carne.

As amostras devem ser identificadas, de preferência, com placas de metal que agüentam as altas temperaturas do forno. Para cada fornada, deve-se assar uma amostra de cada tratamento, evitando-se assim possíveis erros provenientes no preparo das amostras.

As amostras devem ser assadas em forma com grelha forrada com papel alumínio para não as marcar. O papel alumínio deve ser perfurado de espaço em espaço, em vários pontos, para evitar o acúmulo de água. O forno é primeiramente aquecido por 20 minutos a 170 °C. Usar sempre o mesmo número de amostras. Não é recomendado assar mais de quatro amostras por vez.



**Figura 20**

Preparo das amostras para a análise sensorial

As amostras são assadas, sem a adição de qualquer condimento, até que a temperatura interna atinja 40 °C. Na seqüência, as amostras são viradas e mantidas no forno até que alcancem a temperatura interna de 71 °C. Durante o preparo das amostras, as mesmas devem ser trocadas de posição na forma para minimizar as possíveis diferenças de temperatura que ocorrem dentro do forno.

### 3.2 TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA

O Teste de Comparação Pareada indica se existe diferença entre duas amostras (tratamentos) para um determinado atributo sensorial (ABNT, 1994a). Neste teste são apresentadas duas amostras e o provador deverá dizer qual possui a maior intensidade da característica avaliada.

O número de provadores deve ser superior a 30 e as amostras devem ser servidas nas combinações AB e BA. Na **Figura 21** está exemplificado um modelo de ficha empregada nesta avaliação.

Por exemplo, para saber qual é a carne mais macia entre amostras provenientes de suínos machos inteiros (amostra **A**) e de machos castrados (amostra **B**), utilizou-se 40 provadores. Para a análise das fichas deve-se somar o número de provadores que escolheram a amostra **A** como a mais macia e o número de provadores que escolheram a amostra **B**. Deste total, 29 acharam a carne da amostra **B** mais macia e 11 provadores acharam a carne da amostra **A**. A análise

Análise da maciez da carne através do Teste de Comparação Pareada	
Prove as amostras de carne codificadas, da esquerda para a direita, e identifique com um círculo a amostra mais macia.	
<b>A</b> 742	<b>B</b> 421
Comentários: .....	

**Figura 21**

Exemplo de uma ficha utilizada no Teste Comparação Pareada

é baseada se o pesquisador sabe ou não *a priori* qual das amostras deveria ser a mais macia. Caso ele tenha esta informação, deve-se utilizar os dados da **Tabela 2** (Teste Pareado Monocaudal). Caso não saiba previamente qual amostra deveria ser mais macia, deve-se utilizar a **Tabela 3** (Teste Pareado Bicaudal).

Neste exemplo, esperava-se que os suínos machos castrados apresentassem a carne mais macia, então, o número mínimo de respostas corretas para estabelecer a diferença significativa no nível de 5 % de probabilidade, utilizando-se a Tabela de Teste Pareado Monocaudal, é **26**. Como o número encontrado na análise sensorial (**29**) foi superior ao tabelado, conclui-se que a carne proveniente de suínos machos castrados é mais macia que a dos animais inteiros.

**Tabela 2**

Mínimo de respostas corretas necessárias para estabelecer significância no Teste Monocaudal (Diferença)

Número de provadores	Nível de probabilidade		
	5 %	1 %	0,1 %
30	20	22	24
31	21	23	25
32	22	24	26
33	22	24	26
34	23	25	27
35	23	25	27
36	24	26	28
37	24	27	29
38	25	27	29
39	26	28	30
40	26	28	31
41	27	29	31
42	27	29	32
43	28	30	32
44	28	31	33
45	29	31	34
46	30	32	34
47	30	32	35
48	31	33	36
49	31	34	36
50	32	34	37
60	37	40	43
70	43	46	49

**Tabela 3**

Mínimo de respostas corretas necessárias para estabelecer significância no Teste Bicaudal (Preferência)

Número de provadores	Nível de probabilidade		
	5 %	1 %	0,1 %
30	21	23	25
31	22	24	25
32	23	24	26
33	23	25	27
34	24	25	27
35	24	26	28
36	25	27	29
37	25	27	29
38	26	28	30
39	27	28	31
40	27	29	31
41	28	30	32
42	28	30	32
43	29	31	33
44	29	31	34
45	30	32	34
46	31	33	35
47	31	33	36
48	32	33	36
49	32	34	37
50	33	35	37
60	39	41	44
70	44	47	50

### 3.3 TESTE DE ORDENAÇÃO

No Teste de Ordenação é possível comparar mais de dois tratamentos com relação a um único atributo (ABNT, 1994b). Deve-se utilizar nesta avaliação no mínimo 30 provadores.

O número de amostras testadas por provador deve ser igual ao número de tratamentos que se quer avaliar. As amostras devem ser apresentadas ao provador (**Figura 22**) e este deve ordená-las em ordem crescente ou decrescente do atributo que está sendo avaliado. Como por exemplo, ordenar as amostras da mais suculenta para a menos suculenta (**Figura 23**).

Os resultados da análise sensorial devem ser submetidos ao teste de Friedman, utilizando-se a Tabela de Newel e Mc Farlane (DUTCOSKY, 1996), que indica a diferença crítica entre os totais de or-



**Figura 22**

Apresentação das amostras para o Teste de Ordenação

<b>Análise da suculência da carne através do Teste de Ordenação</b> Prove as amostras, da esquerda para a direita, e ordene-as em ordem decrescente de suculência.			
( ) <b>Mais suculenta</b>	( )	( )	( ) <b>Menos suculenta</b>

### Figura 23

Exemplo de uma ficha utilizada no Teste de Ordenação

denação de acordo com o número de tratamentos testados e o número de julgamentos obtidos.

Por exemplo, foi realizado o Teste de Ordenação para avaliar a suculência da carne de suínos tratados com 0, 10, 20 e 30 ppm de rac-topamina na ração. As amostras foram ordenadas da mais suculenta para a menos suculenta por 40 provadores que atribuíram nota 1 (um) para mais suculenta e 4 (quatro) para a menos suculenta.

O primeiro passo é somar as notas atribuídas pelos provadores para cada tratamento e calcular as diferenças encontradas entre os tratamentos, conforme exemplificado na **Tabela 4**.

Segundo a Tabela Newell e Mac Farlane (**Tabela 5**), a diferença crítica entre os totais de ordenação, para quatro amostras e 40 provadores, é 30 (trinta). Assim, se a diferença entre os totais de ordenação for maior ou igual a 30, existe diferença significativa entre os tratamentos ao nível de significância de 5 %.

**Tabela 4**  
 Tabulação das fichas dos avaliadores

	Nota atribuída pelos provadores			
	Tratamento 1 0 ppm ractopamina	Tratamento 2 10 ppm ractopamina	Tratamento 3 20 ppm ractopamina	Tratamento 4 30 ppm ractopamina
Provador 1	2	1	3	4
Provador 2	1	3	2	4
Provador 3	1	4	2	3
Provador 4	2	1	4	3
Provador 5	3	1	2	4
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.
.	.	.	.	.
Provador 40	1	2	3	4
Total	63	86	116	144

**Tabela 5**

Diferenças críticas entre os totais de ordenação. Tabela de Newell e Mac Farlane para análise do teste de ordenação para o nível de significância de 5 %.

Número de provadores	Número de tratamentos avaliados					
	3	4	5	6	7	8
29	18	26	33	41	49	57
30	19	26	34	42	50	58
31	19	27	34	42	51	59
32	19	27	35	43	51	60
33	20	27	36	44	52	61
34	20	28	36	44	53	62
35	20	28	37	45	54	63
36	20	29	37	46	55	63
37	21	29	38	46	55	64
38	21	29	38	47	56	65
39	21	30	39	48	57	66
40	21	30	39	48	57	67
41	22	31	40	49	58	68
42	22	31	40	49	59	69
43	22	31	41	50	60	69
44	22	32	41	51	60	70
45	23	32	41	51	61	71
46	23	32	42	52	62	72
47	23	33	42	52	62	72
48	23	33	43	53	63	73
49	24	33	43	53	64	74
50	24	34	44	54	64	75
55	25	35	46	67	67	78
60	26	37	48	73	79	82
65	27	38	50	76	73	85
70	28	40	52	76	76	88

Diferença calculada entre os tratamentos:

Tratamento 1 – Tratamento 2 =  $63 - 86 = 23$  (não diferem entre si)

Tratamento 1 – Tratamento 3 =  $63 - 116 = 53$  (diferem entre si)

Tratamento 1 – Tratamento 4 =  $63 - 144 = 81$  (diferem entre si)

Tratamento 2 – Tratamento 3 =  $86 - 116 = 30$  (diferem entre si)

Tratamento 2 – Tratamento 4 =  $86 - 144 = 58$  (diferem entre si)

Tratamento 3 – Tratamento 4 =  $116 - 144 = 28$  (não diferem entre si)

Conclui-se que as carnes de suínos dos tratamentos sem ractopamina e com inclusão de 10 ppm de ractopamina na ração foram mais suculentas, seguidas dos tratamentos com 20 e 30 ppm, que não diferiram estatisticamente entre si (**Tabela 6**).

**Tabela 6**

Análise sensorial da suculência da carne de suínos submetidos a níveis crescentes de ractopamina na ração

Tratamentos	0 ppm de ractopamina	10 ppm de ractopamina	20 ppm de ractopamina	30 ppm de ractopamina
Valores	<b>63a</b>	<b>86a</b>	<b>116b</b>	<b>144b</b>



# 4

## ANÁLISE DE COLESTEROL EM CARNES

---

**Nilson Evelázio de Souza**  
**Jesuí Vergílio Visentainer**

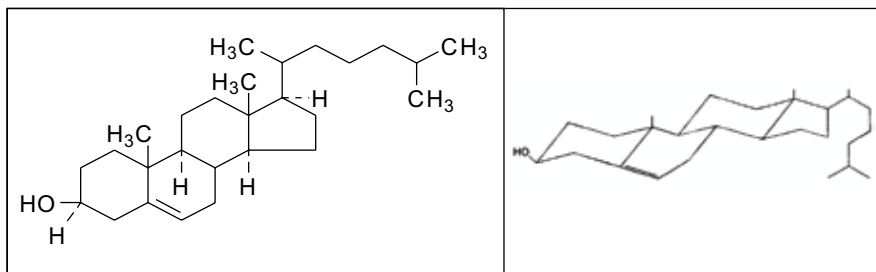
Colesterol é um tipo de gordura produzido pelo fígado a partir da Acetil-CoA (forma endógena). Ele também é obtido da dieta (forma exógena) proveniente de alimentos como ovos, carnes, derivados de carnes e derivados de leite. Quando há a ingestão destes alimentos freqüentemente, a taxa de colesterol no sangue aumenta. Alimentos ricos em gorduras saturadas podem também elevar a taxa de colesterol no sangue, porque seu fígado transforma as gorduras saturadas em colesterol. O colesterol é transportado no sangue em diferentes tipos de pacotes chamados de lipoproteínas. A porção do colesterol LDL (low-density-lipoprotein = lipoproteína de baixa densidade), transporta o colesterol para o organismo. A porção do colesterol HDL (high-density lipoprotein = lipoproteína de alta densidade), remove o colesterol da corrente sangüínea.

O colesterol (C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>O) é um dos mais importantes esteróides encontrados nos tecidos animais. Em média, 1,0% do peso (base seca) do corpo humano é representado pelo colesterol.

O colesterol é uma substância do tipo lipídio-derivado ou lipídio-esteróide presente, predominantemente, nas gorduras animais. É o precursor para a síntese de hormônios e vitamina D<sub>3</sub> e constituinte essencial das membranas celulares.

O colesterol, que tem como estrutura básica o núcleo de ciclo-pentano-per-hidrofenantreno, apresenta certa dificuldade no estabe-

lecimento desta estrutura basal, pois o mesmo contém oito centros quirais. Isto significa que existem 28 ou 256 formas estereoisoméricas possíveis para a estrutura básica, e somente uma delas corresponde ao colesterol. A estrutura da molécula de colesterol é mostrada na **Figura 24**.



**Figura 24**

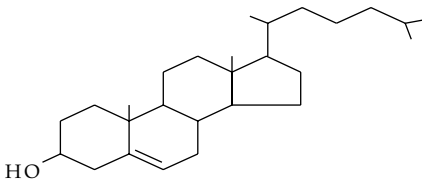
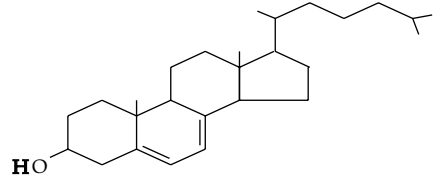
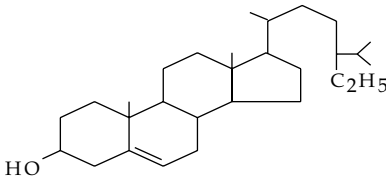
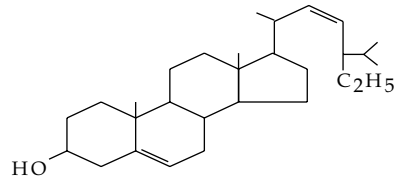
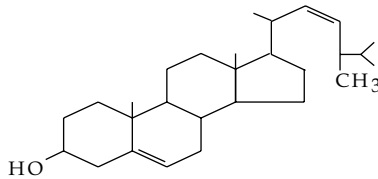
Estrutura do colesterol plana e conformação em cadeira.

Esteróides são derivados do sistema de anéis de peridroclopentanofenatreno. Sua estrutura característica é o núcleo esteróide constituído por 4 anéis fundidos: 3 anéis com 6 átomos de carbono e um com 5 átomos de carbono. São uma classe que contém um grupo hidroxila (OH) em C3 e uma cadeia alifática de pelo menos 8 átomos de carbono ligada em C17, que é numerada de 20 a 27, como uma continuação do núcleo esteróide, além de uma dupla ligação no anel B entre as posições 5 e 6. O grupo hidroxila e a cadeia hidrocarbônica estão em orientação  $\beta$  em relação ao núcleo esteróide plano.

Os esteróis são classificados segundo a sua origem em zoosteróis (origem animal), fitosteróis (origem vegetal) e micosteróis (proveniente de microorganismos) (**Figura 25**).

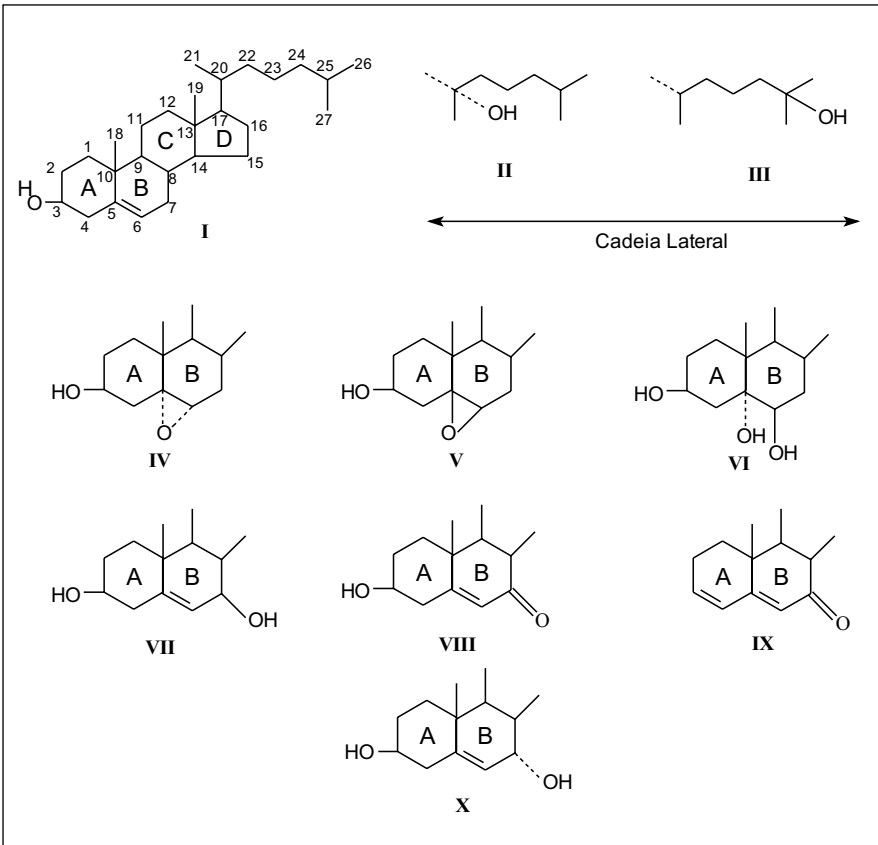
Uma das importantes características do colesterol é a facilidade na formação de seus produtos de oxidação (**Figura 26**).

Produtos da oxidação do colesterol têm sido estudados por produzir uma variedade de efeitos biológicos adversos, tais como inibição da biossíntese do colesterol, aterogênese, citotoxicidade, mutagênese e carcinogênese. Até pouco tempo, o conhecimento da

**ZOOSTERÓIS****Colesterol****7- Deidrocolesterol****FITOSTERÓIS****B - Sistosterol****Estigmasterol****MICOSTEROL****Ergosterol****Figura 25**

Esteróis classificados conforme a sua origem.

ocorrência de produtos da oxidação do colesterol em alimentos foi escasso devido a limitações na metodologia, às baixas concentrações nas quais ocorrem em alimentos e às mudanças na sua composição durante o isolamento e a quantificação. A oxidação do colesterol em carne bovina (bife) ocorreu em amostras mantidas sob refrigeração (4°C) por 4 dias, porém os produtos desta oxidação apresentaram no total uma concentração menor que 1mg/100g de amostra, quantidade



i. Colesterol	vi. Triol
ii. 20α-Hidróxi-	vii. 7β-Hidróxi-
iii. 25-Hidróxi-	viii. 7-ceto-
iv. 5α,6α-Epóxi-	ix. 3,5-Dien-7-ona
v. 5β,6β-Epóxi-	x. 7α-Hidróxi-

**Figura 26**  
Principais produtos da oxidação do colesterol.

bem inferior que o teor de colesterol da amostra (menos de 0,02%). A quantidade de produtos de oxidação do colesterol também está ligada ao grau de saturação das carnes. A carne de peru, com alto grau de insaturação na fração fosfolipídica, mesmo tendo menores teores de colesterol que carne de suínos, ovinos e bovinos apresentou maior quantidade de produtos de oxidação do colesterol. Então, conclui-se que uma alta taxa de insaturação nas membranas musculares pode resultar em grande susceptibilidade de oxidação do colesterol.

#### 4.1 TEOR DE GORDURA E COLESTEROL EM CARNES

Pode-se verificar, através da **Tabela 7**, que a carne suína, mesmo com alto teor de gordura, apresenta baixo teor de colesterol (inferior a 54mg/100g), com valores próximos ao peito de frango, capivara e cabrito.

<b>Tabela 7</b> Lipídios, colesterol e características da gordura de algumas carnes.		
Carnes	Lipídios (%)	Colesterol (mg/100g)
Bovino <sup>a</sup>	2,17	48,96
Bovino <sup>b</sup>	11,11	39,64
Bufalo <sup>c</sup>	1,34	38,46
Porco <sup>d</sup>	13,57	54,62
Carneiro <sup>e</sup>	6,85	62,03
Cabrito <sup>f</sup>	1,94	39,10
Capivara <sup>g</sup>	2,26	51,94
Frango(peito) <sup>h</sup>	1,76	50,26
Frango(Coxa) <sup>h</sup>	5,40	66,32

<sup>a</sup>Contra-filé sem gordura externa do *Bos indicus* (Nelore) (PRADO et al., 2003). <sup>b</sup>Contra-filé com gordura externa do *Bos indicus* (Nelore) (PRADO et al., 2003). <sup>c</sup>Contra-filé sem gordura externa do *Bubalus bubalis* (Bufalo) (FONSECA, 2003). <sup>d</sup>Pernil de porco (Landrace) (SILVA et al., 2003). <sup>e</sup>Contra-filé sem gordura externa do Carneiro (ROWE et al., 1999). <sup>f</sup>Contra-filé sem gordura externa do Cabrito (MOREIRA et al., 2003). <sup>g</sup>Contra-filé sem gordura externa da Capivara (ZARA et al., 2004; <sup>h</sup>TORQUATO, 2002).

## 4.2 METODOLOGIA DE ANÁLISE DE COLESTEROL EM CARNES POR CROMATOGRAFIA GASOSA

Os teores de colesterol em alimentos inicialmente foram obtidos através de gravimetria e de espectrofotometria, cujos valores apresentavam grandes variações com divergências entre pesquisas de até 100%. Estes valores distintos registrados na literatura podem ser atribuídos à grande variedade de procedimentos analíticos utilizados.

Em comparativos feitos com a gema do ovo, utilizando 4 métodos diferentes, colorimétrico, enzimático, cromatografia gasosa e cromatografia líquida, verificou-se que apenas o método colorimétrico apresentou resultados 23% acima dos demais.

O fato deste método superestimar o teor de colesterol pode estar relacionado com a presença de substâncias como bilirrubina, vitaminas A e D ou esteróis com estruturas similares às do colesterol, como o colestanol, o  $\delta$ -7-colestenol ou o 7-deidrocolesterol, na matriz. Neste ponto a cromatografia assume vantagens por separar os interferentes do componente do interesse.

Ao longo dos anos a cromatografia mostrou-se ideal para determinação do teor de colesterol em alimentos por ser um método específico, preciso, exato e rápido. Apesar dos métodos cromatográficos gasosos serem utilizados como métodos de referência pela AOAC, a preparação da amostra ainda apresenta alguns inconvenientes por ser laboriosa, consumir muito tempo e utilizar reagentes derivatizantes (TMS). Os reagentes derivatizantes são caros, tóxicos, pouco estáveis e apresentam efeitos negativos sobre os detectores FID.

Em 1993, Al-Hasani et al., publicaram um método para determinação do colesterol em alimentos simples e complexos. Este método envolve a saponificação das amostras, extração com hexano e análise cromatográfica gasosa, sem derivatização.

Este método tem sido utilizado invariavelmente para a determinação de colesterol em alimentos.

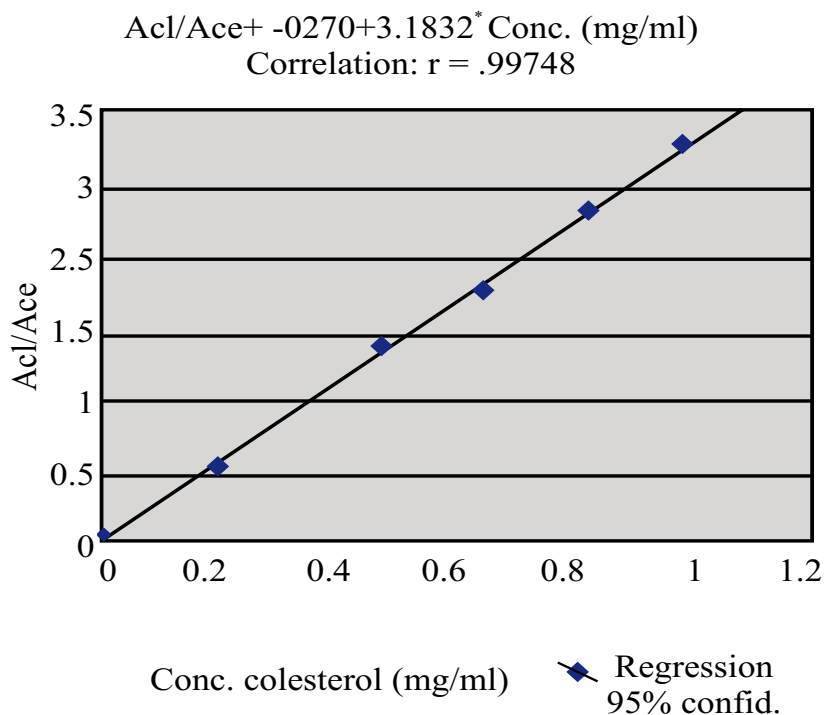
### 4.3 MÉTODO DE AL-HASANI ET AL. (1990).

Homogeneizar a amostra de carne em liquidificador ou multi-processador. Pesar em balança analítica exatamente 5,000 a 10,000g de amostra homogeneizada em um balão de fundo chato de 250 mL. Dispersar a amostra em reagente alcoólico (90% de etanol, 5% de isopropanol e 5% de metanol) na quantidade equivalente a 4mL/g de amostra. Adicionar 1 mL de KOH 60% para cada grama de amostra. Acoplar um condensador ao balão e deixar em refluxo por 30 minutos, sob agitação magnética contínua. Resfriar à temperatura ambiente imergindo o frasco em água fria. Acrescentar exatamente 100 mL de Padrão Interno (alfa-colestano, 0,200mg/mL dissolvido em n-hexano). Fechar o frasco e deixar sob agitação magnética por 10 minutos. Adicionar 25 mL de água desmineralizada, fechar e deixar sob agitação por mais 15 minutos. Deixar separar as camadas por decantação. Remover 2 mL da fase orgânica superior e injetar 1  $\mu$ L no Cromatografo.

### 4.4 CONDIÇÕES CROMATOGRAFICAS

O teor de colesterol deve ser quantificado em cromatógrafo a gás equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida com 25m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,20 $\mu$ m de SE-30 (Quadrex, EUA). As temperaturas do injetor, coluna e detector devem ser 260, 300 e 300°C, respectivamente. Os fluxos de gases: 1,5mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste (H<sub>2</sub>); 25mL.min<sup>-1</sup> para o gás de reposição (N<sub>2</sub>); 300mL.min<sup>-1</sup> para o ar e 30mL.min<sup>-1</sup> para o H<sub>2</sub> da chama. A razão de divisão da amostra deverá ser de 1:150. A integração dos picos obtidos poderá ser realizada com o Integrador-Processador. A identificação do colesterol será efetuada por comparação com padrões Sigma (EUA). A quantificação do colesterol contido na amostra deve ser feita após a verificação da linearidade do método, onde são preparadas e analisadas soluções de colesterol padrão com concentrações 0,10; 0,25; 0,50 e 1,00mg/mL,

todas contendo  $0,20\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de  $5\lambda$ -colestano, sendo então plotado um gráfico da razão entre as áreas obtidas e a concentração de colesterol (**Figura 27**).



*Acl = área do colesterol; Ace = área do  $5\lambda$ -colestano*

### Figura 27

Curva padrão para determinação de colesterol através de cromatografia gasosa.

# 5

## **GORDURAS ANIMAIS: NOMENCLATURA DOS ÁCIDOS GRAXOS**

---

**Nilson Evelázio de Souza  
Jesuí Vergílio Visentainer**

A diferença entre óleos (líquidos) e gorduras (sólidas) refere-se ao estado físico destes componentes à temperatura ambiente. Desta forma, como o estado físico depende da temperatura ambiente, um óleo vegetal, no Brasil, pode ser uma gordura no Polo Norte. No Brasil, o termo lipídios, lipídios totais, gordura, óleo, matéria graxa e outras denominações são muitas vezes utilizados indistintamente para expressar o conteúdo “gorduroso” de uma determinada matéria prima.

O termo lipídios é, portanto, um termo abrangente e sua definição é baseada na solubilidade e inclui um número elevado de substâncias, razão pela qual não é possível defini-lo com precisão, mas de maneira genérica.

### **Algumas definições sobre lipídios encontradas na literatura:**

A- Os lipídios são substâncias oleosas ou gordurosas e possuem duas funções principais: como componentes principais das membranas e como forma de armazenamento de combustível rico de energia;

**B-** As gorduras, óleos e ceras naturais, que são principalmente ésteres de alto peso molecular, são coletivamente chamados de lipídios;

**C-** Lipídios são compostos encontrados nos organismos vivos, geralmente insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos.

As unidades fundamentais da maioria dos lipídios são os ácidos graxos. Nos tecidos animais, comumente apresentam de 14 a 24 átomos de carbono, mas ocasionalmente podem variar de 2 a 36 átomos ou mais. Os ácidos graxos podem ser saturados (ligações simples) e insaturados (duplas ligações), que variam de 1 a 6. As insaturações variam na posição e configuração das duplas ligações.

## **5.1 NOMENCLATURA USUAL E SIMBOLOGIA DOS ÁCIDOS GRAXOS:**

### **5.1.1 Ácidos graxos de estrutura cis**

Muitos ácidos graxos comuns foram inicialmente isolados de fontes naturais, especialmente de óleos e gorduras. O nome usual (também denominado de trivial, vulgar, comum) foi usado antes de ser conhecida a estrutura química de um ácido e refere-se à origem natural e não à estrutura. Assim, a irritação causada por picada de formiga é devida em parte ao ácido fórmico (do latim formica, formiga), o ácido butírico (do latim butirum, manteiga) dá o odor característico da manteiga rançosa; os ácidos capróico, caprílico e cáprico são os responsáveis pelo odor desagradável das cabras. As duplas ligações existentes nos ácidos graxos insaturados de ocorrência natural, predominantemente, estão na configuração cis, ou seja, os hidrogênios ligados aos carbonos da dupla ligação estão do mesmo lado.

Nas designações da simbologia para os ácidos “ômega” são utilizadas a letra “n” ou a letra  $\omega$  (ômega), última letra do alfabeto grego, seguidas de um número que indica o número de carbono que dista da última dupla ligação até o grupo metil (CH<sub>3</sub>) terminal da cadeia carbônica de um determinado ácido graxo. As duas letras são

comumente utilizadas, embora a comunidade internacional tenha, na maioria das vezes, usado a letra n.

Por exemplo, para o ácido linoléico (C18:2  $\Delta$ 9,12) a simbologia pode ser C18:2n-6, C18:2 $\omega$ -6. A representação simplificada 18:2n-6, quer dizer que este ácido graxo pertence à família ômega-6. O termo n-6 representa o número total de carbono, letra n (no caso 18), menos 6 átomos de carbono a partir do grupo metil (CH<sub>3</sub>) terminal, dando como resultado o número 12 (átomos de carbono), que é a posição da última dupla a partir do grupo carboxila (COOH). Na **Tabela 8** estão presentes exemplos da nomenclatura utilizada para os ácidos graxos da configuração cis.

<b>Tabela 8</b> Simbologia, nomenclatura oficial e usual de ácidos graxos cis.		
<b>SIMBOLOGIA</b>	<b>NOMENCLATURA OFICIAL</b>	<b>NOMENCLATURA USUAL</b>
2:0	Ácido etanóico	Ácido acético
4:0	Ácido butanóico	Ácido butírico
5:0	Ácido pentanóico	Ácido valérico
6:0	Ácido hexanóico	Ácido capróico
7:0	Ácido heptanóico	Ácido enântico
8:0	Ácido octanóico	Ácido caprílico
9:0	Ácido nonanóico	Ácido pelargônico
10:0	Ácido decanóico	Ácido cáprico
10:1n-1	Ácido 9-decenóico	Ácido caproléico
11:0	Ácido undecanóico (hendecanóico)	Ácido undecílico
11:1n-1	Ácido 10-undecenóico (10-hendecenóico)	Ácido undecilênico
12:0	Ácido dodecanóico	Ácido láurico
12:1n-3	Ácido 9-dodecanóico	Ácido lauroléico
13:0	Ácido tridecanóico	Ácido tridecílico
14:0	Ácido tetradecanóico	Ácido mirístico
14:1n-9	Ácido 5-tetradecenóico	Ácido fisetérico
14:1n-5	Ácido 9-tetradecenóico	Ácido miristoléico

**Tabela 8 Continuação**

Simbologia, nomenclatura oficial e usual de ácidos graxos cis.

15:0	Ácido pentadecanóico	Ácido pentadecílico
15:1n-5	Ácido 10-pentadecenóico	
16:0	Ácido hexadecanóico	Ácido palmítico
16:1n-7	Ácido 9-hexadecenóico	Ácido palmitoléico
16:2n-6	Ácido 7,10-hexadecadienóico	
17:0	Ácido heptadecanóico	Ácido margárico
17:1n-7	Ácido 10-heptadecenóico	
18:0	Ácido octadecanóico	Ácido esteárico
18:1n-12	Ácido 6-octadecenóico	Ácido petroselínico
18:1n-11	Ácido 7-octadecenóico	
18:1n-9	Ácido 9-octadecenóico	Ácido oléico
18:1n-7	Ácido 11-octadecenóico	Ácido cis-vaccênico
18:1n-6	Ácido 12-octadecenóico	
18:1n-5	Ácido 13-octadecenóico	
18:2n-6	Ácido 9,12-octadecadienóico	Ácido linoléico (LA)
18:3n-6	Ácido 6,9,12-octadecatrienóico	Ácido $\gamma$ -linolênico
18:3n-3	Ácido 9,12,15-octadecatrienóico	Ácido $\lambda$ -linolênico (LNA)
18:4n-3	Ácido 6,9,12,15-octadecatetraenóico	Ácido estearidônico (morótico)
19:0	Ácido nonadecanóico	Ácido nonadecílico
19:1n-12	Ácido 7-nonadecenóico	
19:1n-9	Ácido 10-nonadecenóico	
19:2n-6	Ácido 10,13-nonadecadienóico	
20:0	Ácido eicosanóico	Ácido araquídico
20:1n-15	Ácido 5-eicosenóico	
20:1n-12	Ácido 8-eicosenóico	
20:1n-11	Ácido 9-eicosenóico	Ácido gadoléico
20:1n-9	Ácido 11-eicosenóico	Ácido gondóico
20:1n-7	Ácido 13-eicosenóico	Ácido paullínico
20:2n-9	Ácido 8,11-eicosadienóico	

**Tabela 8 Continuação**

Simbologia, nomenclatura oficial e usual de ácidos graxos cis.

20:2n-6	Ácido 11,14-eicosadienóico	
20:3n-9	Ácido 5,8,11-eicosatrienóico	Ácido <i>mead</i>
20:3n-6	Ácido 8,11,14-eicosatrienóico	Ácido di-homo- $\gamma$ -linolênico
20:3n-3	Ácido 11,14,17-eicosatrienóico	Ácido di-homo-( $\lambda$ -)linolênico
20:4n-6	Ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico	Ácido araquidônico (AA)
20:4n-3	Ácido 8,11,14,17-eicosatetraenóico	
20:5n-3	Ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	Ácido timnodônico (EPA)
21:0	Ácido heneicosanóico	
22:0	Ácido docosanóico	Ácido behênico
22:1n-11	Ácido 11-docosenóico	Ácido cetoléico
22:1n-9	Ácido 13-docosenóico	Ácido erúxico
22:2n-6	Ácido 13,16-docosadienóico	
22:3n-3	Ácido 13,16,19-docosatrienóico	
22:4n-6	Ácido 7,10,13,16-docosatetraenóico	Ácido adrênico
22:5n-3	Ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenóico	Ácido clupanodônico (DPA)
22:6n-3	Ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico	Ácido cervônico (DHA)
23:0	Ácido tricosanóico	
24:0	Ácido tetracosanóico	Ácido lignocérico
24:1n-9	Ácido 15-tetracosenóico	Ácido nervônico
25:0	Ácido pentacosanóico	
26:0	Ácido hexacosanóico	Ácido cerótico
28:0	Ácido octacosanóico	Ácido montânico
30:0	Ácido triacontanóico	Ácido melíssico
35:0	Ácido pentatriacontanóico	Ácido ceroplástico
40:0	Ácido tetracontanóico	

Fonte: Souza et al. (1998); Gurr (1986); Strànsky, et al. (1997); Tahi (1985); Christie (1994).

### 5.1.2 Ácidos graxos trans

Os ácidos são denominados de ácidos graxos *trans*, quando os hidrogênios da dupla ligação se encontram em lados opostos em relação à cadeia carbônica, neste caso, os ácidos graxos insaturados estão na configuração *trans*, e o ácido graxo apresenta-se como uma cadeia praticamente linear.

Os teores de ácidos graxos trans aparecem em pequenas quantidades nos ácidos graxos dos óleos e gorduras vegetais, em teores relativamente maiores em óleos e gorduras de origem animal e em grandes quantidades em gorduras modificadas pelo processo de hidrogenação. **A Tabela 9** mostra a nomenclatura de alguns ácidos graxos da configuração *trans*.

<b>Tabela 9</b> Nomenclatura de alguns ácidos graxos pertencentes à configuração <i>trans</i>		
<b>SIMBOLOGIA</b>	<b>NOMENCLATURA OFICIAL</b>	<b>NOMENCLATURA USUAL</b>
t-14:1n-5	Ácido trans-9-tetradecenóico	Ácido miristelaídico
t-15:1n-7	Ácido trans-8-pentadecenóico	
t-16:1n-7	Ácido trans-9-hexadecenóico	Ácido palmitelaídico
t-17:1n-7	Ácido trans-10-heptadecenóico	
t-17:1n-9	Ácido trans-8-heptadecenóico	
t-17:1n-12	Ácido trans-5-heptadecenóico	
t,t-17:2n-6	Ácido t-8, t-11-heptadecadienóico	
t-18:1n-7	Ácido trans-11-octadecenóico	Ácido vaccênico
t-18:1n-9	Ácido trans-9-octadecenóico	Ácido elaídico
t-18:1n-12	Ácido trans-6-octadecenóico	Ácido petroselaídico
t,t-18:2n-6	Ácido t-9, t-12-octadecadienóico	Ácido linolelaídico
t,t,t-18:3n-3	Ácido t-9, t-12, t-15-octadecatrienóico	Ácido linolenelaídico
t-19:1n-9	Ácido trans-10-nonadecenóico	
t-19:1n-7	Ácido trans-12-nonadecenóico	
t-19:1n-12	Ácido trans-7-nonadecenóico	
t,t-19:2n-6	Ácido t-10, t-13-nonadecadienóico	
t-20:1n-9	Ácido trans-11-eicosenóico	
t-20:1n-12	Ácido trans-8-eicosenóico	
t,t-20:2n-6	Ácido t-11, t-14-eicosadienóico	
t-21:1n-9	Ácido trans-12-heneicosenóico	
t,t-21:2n-6	Ácido t-12, t-15-heneicosadienóico	
t-22:1n-9	Ácido trans-13-docosenóico	Ácido brassídico
t-23:1n-9	Ácido trans-14-tricosenóico	
t-24:1n-9	Ácido trans-15-tetracosenóico	

Fonte: Azevedo, et al. (1999); Nettleton.(1995); Souza (1998); Strånsky et al. (1997).

### 5.1.3 Ácidos graxos conjugados

Quando da existência de mais de uma dupla ligação numa mesma cadeia carbônica de um ácido graxo, elas podem ser do tipo conjugada, isto é, elas estão posicionadas alternadamente. Dentre os ácidos graxos conjugados, alguns derivados do ácido linoléico (18:2n-6) têm despertado interesse por pesquisadores nos últimos anos. O termo coletivo Conjugated Linoleic Acids (CLA) refere-se a isômeros cis-trans e posicional do ácido linoléico (18:2n-6). Estes componentes têm recebido considerável atenção na última década, porque têm mostrado efeitos benéficos para a saúde do homem e animais. A **Tabela 10** apresenta a simbologia e nomenclatura para ácidos graxos CLA (conjugated linolenic acid).

**Tabela 10**

Simbologia e nomenclatura oficial para alguns ácidos conjugados (CLA)

SIMBOLOGIA	NOMENCLATURA OFICIAL
t,t-8,10-CLA	Ácido trans-8, trans-10-octadecadienóico
t,t-9,11-CLA	Ácido trans-9, trans-11-octadecadienóico
t,t-10,12-CLA	Ácido trans-10, trans-12- octadecadienóico
t,t-11,13-CLA	Ácido trans-11, trans-13- octadecadienóico
c,t-8,10-CLA	Ácido cis 8, trans-10- octadecadienóico
t,c-8,10-CLA	Ácido trans-8, cis-10- octadecadienóico
c,c-11,13-CLA	Ácido cis-11, cis-13- octadecadienóico
c,c-10,12-CLA	Ácido cis-11, cis-12- octadecadienóico
c,c-9,11-CLA	Ácido cis-9, cis-11- octadecadienóico

Fonte: Robinson et al. (2000); Medina et al. (2000); Sehat, et al. 1998.

# 6

## ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS EM CARNES

---

**Nilson Evelázio de Souza**  
**Jesuí Vergílio Visentainer**

Existem vários métodos de extração e determinação de lipídios na carne suína, portanto, deve-se considerar que em uma análise de ácidos graxos estes componentes são instáveis, especialmente os insaturados, e as etapas que antecedem as determinações devem ser bem cuidadas para proteger os constituintes lipídicos. Estes cuidados incluem desde a amostragem da carne, o preparo (evitar utensílio de ferro), embalagem (evitar entrada de luz e oxigênio), estocagem (preferencialmente manter amostras congeladas) e, na etapa de extração dos lipídios, deve-se utilizar processos a frio.

Dentre os vários métodos utilizados na extração dos lipídios a frio, a técnica de Bligh e Dyer (1959) é uma das mais empregadas e recomendadas. Neste, a extração de lipídios é realizada a partir de uma mistura de três solventes: clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ), metanol ( $\text{H}_3\text{COH}$ ) e água. O processo permite extrações de diferentes classes lipídicas, incluindo as classes polares e a extração sem aquecimento. Desta forma o extrato pode ser utilizado com maior confiabilidade na avaliação da composição de ácidos graxos.

## **6.1 PROCEDIMENTOS DO MÉTODO Blich & Dyer (1959) – SIMPLIFICADO**

1. Pesar 100 g de carne suína moída ;
2. Transferir para um béquer de capacidade de 500 mL;
3. Adicionar exatamente 100 mL de clorofórmio e 200 mL de metanol. A contribuição do teor de água do alimento deve ser de 80%; para manter as proporções em:

Clorofórmio:Metanol:Água (1:2:0,8).

Corrigir a quantidade de água. Agitar vigorosamente por 5 minutos.

4. Adicionar exatamente 100 mL de Clorofórmio (agitar 2 minutos) e 100 mL de água destilada (agitar por 5 minutos). A proporção final deverá necessariamente ser de:

Clorofórmio:Metanol:Água (2:2:1,8).

6. Filtrar em Büchner e transferir o filtrado para um funil de separação e deixar separar as camadas naturalmente;

7. Remover a camada inferior (clorofórmio). Pesar previamente um balão e transferir para um evaporador rotatório (33-35°C) e determinar o teor de lipídios totais gravimetricamente;

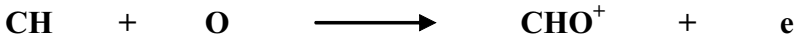
8. Remover os lipídios totais e armazenar a -18°C.

## **6.2 ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA**

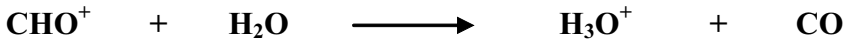
A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de substâncias voláteis presentes em uma determinada amostra. Portanto, antes dos ácidos graxos serem analisados pelo processo é necessário convertê-los em componentes que apresentem maior volatilidade. Os ésteres metílicos são os derivados (produzidos pela transesterificação) preferenciais utilizados nas análises por cromatografia gasosa.

Um dos detectores mais utilizados nas análises de ácidos graxos é o detector de ionização de chama (DIC). Este detector apresenta uma quantidade mínima de identificação de aproximadamente

$10^{-12}$  g, oferece uma resposta quase universal, trabalham numa faixa de linearidade ampla, é simples de operar e rápido. Daí a sua grande popularidade para compostos orgânicos, especialmente na análise de alimentos e, em particular, na análise da composição de ácidos graxos. A reação a seguir mostra a ionização química que ocorre no detector de ionização de chama:



O íon  $\text{CHO}^+$  é instável e reage rapidamente com água na chama para gerar o hidroxônio conforme a reação:



Esta reação ocorre para cada 100.000 átomos de carbono introduzidos na chama. Portanto, a resposta do detector de ionização de chama é proporcional ao número de átomos de carbonos que é queimado. No processo de queima dos metil ésteres, os íons formados na reação geram uma corrente que é convertida em voltagem, amplificada e registrada sob a forma de um cromatograma.

Após a obtenção do cromatograma, faz-se a integração dos sinais, que têm por finalidade transformar a intensidade do sinal transmitido pelo detector em uma medida relacionada com a quantidade de metil éster existente em uma determinada amostra.

### 6.3 TRANSESTERIFICAÇÃO (DERIVAÇÃO)

A transesterificação é um termo geral usado para descrever uma importante classe de reações orgânicas, onde um éster (normalmente o triacilglicerídeo) é transformado em outro éster (ésteres de ácido graxo). Na transesterificação dos lipídios, por exemplo da gordura bovina, esta reage com um álcool (normalmente metanol) na presença de uma base ou ácido, produzindo uma mistura de ésteres de ácidos graxos e glicerol. O processo ocorre preferencialmente com

álcoois de baixa massa molecular, como metanol, etanol, propanol etc. O metanol é o mais utilizado devido à sua reatividade com óleos e gorduras.

O procedimento de transesterificação pode ser realizado com catálise básica ou ácida ou utilizando enzimas. Entre os catalisadores básicos, destacam-se os hidróxidos e alcóxidos de metais alcalinos (metóxido de sódio). Grande parte dos trabalhos descritos na literatura empregam o hidróxido de potássio (KOH) e o hidróxido de sódio (NaOH) e, entre os catalisadores ácidos, destacam-se o ácido clorídrico (HCl) e o ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Existem centenas de métodos utilizados no processo de transesterificação, com vantagens e desvantagens. A seguir será descrito um método fácil de transesterificação com catalisador básico, método ISO 5509 (1978).

#### **6.4 TRANSESTERIFICAÇÃO (CATALISADOR ALCALINO)**

Um dos métodos de fácil aplicação é o método ISO 5509 (1978) em solução de n-heptano e KOH/metanol.

Procedimento:

Pesar aproximadamente 100 mg (0,1 g de gordura) e transferir para um tubo de ensaio com tampa rosqueável.

Adicionar 2,0 mL de n-heptano e agitar até solubilização total da gordura.

Fechar hermeticamente o tubo e agitar vigorosamente a mistura durante 5 minutos.

Após a separação das fases, a superior, contendo os ésteres metílicos de ácidos graxos, deverá ser cuidadosamente pipetada (pipeta Pasteur), transferido para um pequeno recipiente, (ependorff) e caso a injeção no cromatógrafo não venha a ser realizada imediatamente a amostra deverá ser armazenada em congelador (-18°C).

## 6.5 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISES

Os ésteres de ácidos graxos devem ser separados em cromatógrafo em fase gasosa, equipado com um detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP - 7420 (Select FAME) (100m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de cianopropil) ou outra coluna indicada para esta análise.

O fluxo de H<sub>2</sub> (gás de arraste) deverá ser de 1,0 mL/min, com 30mL/min de N<sub>2</sub> (*make up*); e 30 e 300mL/min, para o H<sub>2</sub> e ar sintético, para a chama do detector. O volume injetado será de 1,0µL, utilizando divisor de amostra “*split*”. As temperaturas do injetor e do detector deverão ser de 220 e 240°C, respectivamente, enquanto a temperatura para a coluna deverá ser de 165°C durante 18min e elevada a 235°C com taxa de 4 °C/min, mantida por 24,5min.

A identificação dos ácidos graxos deverá ser efetuada através da comparação dos tempos de retenção com padrões de ácidos graxos ou outro método de identificação como o Equivalent Chain Length (ECL) ou espectrometria de massas.

## 6.6 CROMATOGRAMA – MÉTODO DA NORMALIZAÇÃO

Também denominado de normalização de área, este método se baseia na porcentagem relativa de área de um determinado ácido graxo em relação à área total de todos os ácidos que eluíram da coluna, ou seja, na correlação do somatório de todas as áreas dos componentes obtidos no cromatograma com a área de um determinado ácido graxo. Isto pode ser obtido através de uma regra de três simples.

$$\begin{array}{l} \text{ÁREA TOTAL (AT)} \text{ ----- } 100\% \\ \text{ÁREA DO ÁCIDO (AX)} \text{ ----- } X\% \end{array}$$

$$X\% = \frac{AX \times 100}{AT}$$

X% é a porcentagem de área relativa deste ácido graxo em relação à área total de todos os componentes do cromatograma.

Apesar dos cálculos acima serem realizados em termos de ácidos graxos, deve-se lembrar que na verdade se referem a metil ésteres de ácidos graxos. A área do pico do solvente existente no cromatograma deverá ser excluída dos cálculos da somatória das áreas (área total).

No método da normalização, todos os componentes de interesse injetados no cromatógrafo devem ser eluídos da coluna e detectados. Exemplificando:

Um analista, ao injetar uma mistura de 4 ácidos graxos (na verdade metil ésteres) denominados de A, B, C e D, em um cromatógrafo, encontrou a seguinte composição de área:

A = 80 (área do ácido graxo A)

B = 160 (área do ácido graxo B)

C = 240 (área do ácido graxo C)

D = 320 (área do ácido graxo D)

Obs. Os números que correspondem as áreas de 80, 160, 240 e 320 são simulações e, na prática, estes números podem ser bem diferentes dependendo de como é gerada a resposta do detector.

Portanto, a área total será de 800 e cada pico fornecerá as seguintes áreas relativas (método da normalização):

A =  $80 = 10\%$ ;

B =  $160 = 20\%$ ;

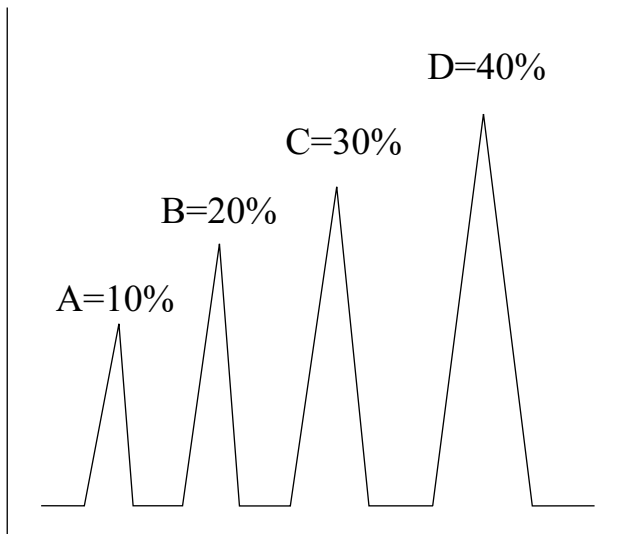
C =  $240 = 30\%$

D =  $320 = 40\%$

A **Tabela 11** ilustra a porcentagem de área relativa dos diferentes ácidos graxos e o cromatograma (**Figura 28**) mostra os picos separados com as diferentes porcentagens.

**Tabela 11**  
Composição hipotética de área relativa.

Ácidos graxos	% Área Relativa
A	10
B	20
C	30
D	40
Área total	100



**Figura 28**  
Cromatograma hipotético de 4 diferentes ácidos graxos

Desta forma, a porcentagem relativa de cada ácido graxo, em relação à área total (100%) dos componentes é de 10, 20, 30 e 40%, para os ácidos A, B, C e D, respectivamente. É possível aprimorar a análise quantitativa de ácidos graxos por outras metodologias, utilizando fatores de correções, como os descritos no livro de VISEN-

TAINER e FRANCO (2006), no entanto, o método da normalização é muito importante, desde que o analista tenha conhecimento do princípio do método e seus resultados sejam interpretados corretamente.

# 7

## OXIDAÇÃO LIPÍDICA

---

Mara Cristina Ribeiro da Costa  
Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva

### 7.1 ÍNDICE DE TBARS

Um dos métodos utilizados para a análise da oxidação lipídica é através do ácido 2-tiobarbitúrico também conhecido como índice de TBARS. Este método consiste em detectar espectrofotometricamente a 530 nm o complexo de coloração vermelha formado pela condensação de dois moles do ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) com um mol de malonaldeído. O malonaldeído é obtido pela oxidação de lipídios polinsaturados quando aquecidos em meio ácido. As análises devem ser feitas em triplicatas. A seguir será descrito o método adaptado de Tarladgis *et al.* (1964), modificado por Crackel *et al.* (1988).

#### 7.1.2 Curva padrão

Para o preparo da curva padrão são necessárias as seguintes soluções:

- TEP  $10^{-7}$  M: deve-se tomar um (1) mL da solução 1,1,3,3 Tetraetoxipropano  $1,0 \cdot 10^{-3}$  M (TEP  $1,0 \cdot 10^{-3}$  M), completando-se o balão volumétrico para 50 mL com água fervida e resfriada;

- Ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M: o TBA deve sofrer dissolução completa em sonicador e deve ser guardado em frasco âmbar sob refrigeração. O tempo de validade da solução é de uma semana.

Para a elaboração da curva padrão deve-se preparar as soluções em triplicata com as seguintes concentrações: 0,01; 0,02; 0,04; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 e 0,50. Cada tubo deverá conter solução TEP ( $10^{-7}$  M), H<sub>2</sub>O e TBA (0,02 M), conforme indicado na **Tabela 12**. Deve-se preparar também um tubo “branco” que será utilizado para zerar o espectrofotômetro, que conterá somente H<sub>2</sub>O e TBA (0,02 M).

Após o preparo das soluções, fechar os tubos (**Figura 29**), homogenizar e levar em banho-maria a 85 °C durante 35 minutos. Na seqüência, manter os tubos em temperatura ambiente até esfriar.

**Tabela 12**

Preparo dos tubos e as concentrações utilizadas para obtenção da curva padrão

Tubos	Concentração (mol/mL)	Padrão (TEP) $10^{-7}$ M (mL)	H <sub>2</sub> O (mL)	TBA (0,02 M) (mL)
Branco	-	-	5,00	5,00
0	0,01	0,05	4,95	5,00
1	0,02	0,10	4,90	5,00
2	0,04	0,20	4,80	5,00
3	0,10	0,50	4,50	5,00
4	0,20	1,00	4,00	5,00
5	0,30	1,50	3,50	5,00
6	0,40	2,00	3,00	5,00
7	0,50	2,50	2,50	5,00



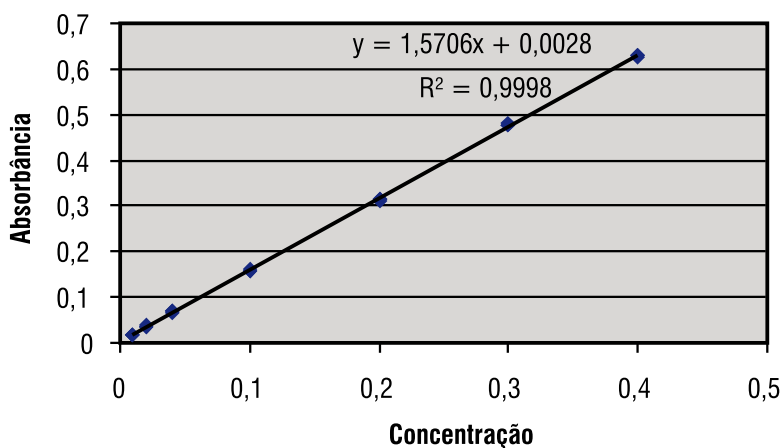
**Figura 29**  
Tubos utilizados para determinação da curva padrão após o aquecimento

Para realizar a leitura deve-se zerar o espectrofotômetro com o conteúdo do tubo branco, efetuando-se as leituras dos tubos em triplicata a 530 nm. Para fins de exemplificação, os valores obtidos em uma amostra hipotética estão apresentados na **Tabela 13** na coluna da absorbância.

Os dados de absorbância resultantes da leitura no espectrofotômetro serão utilizados para a elaboração da curva padrão e sua respectiva equação. Para tanto, monta-se uma planilha eletrônica no programa de computador Microsoft Excel com os dados de concentração e absorbância (colunas 2 e 3, respectivamente, da **Tabela 13**). Faz-se um gráfico de dispersão e solicita-se a exibição da equação. A seqüência dos comandos na planilha do EXCEL seguem: gráfico, adicionar linha de tendência, opções, exibir equação no gráfico e exibir valor de  $R^2$  no gráfico.

**Tabela 13**  
**Dados obtidos na leitura do espectrofotômetro**

<b>COLUNA 1</b>	<b>COLUNA 2</b>	<b>COLUNA 3</b>
Tubos	Concentração (mol/mL)	Médias das Absorbâncias
0	0,01	0,0158
		0,0174
		0,0163
1	0,02	0,0336
		0,0382
		0,0344
2	0,04	0,0669
		0,0707
		0,0683
3	0,10	0,1607
		0,1577
		0,1555
4	0,20	0,3119
		0,3143
		0,3159
5	0,30	0,4758
		0,4751
		0,4808
6	0,40	0,6316
		0,6309
		0,6278

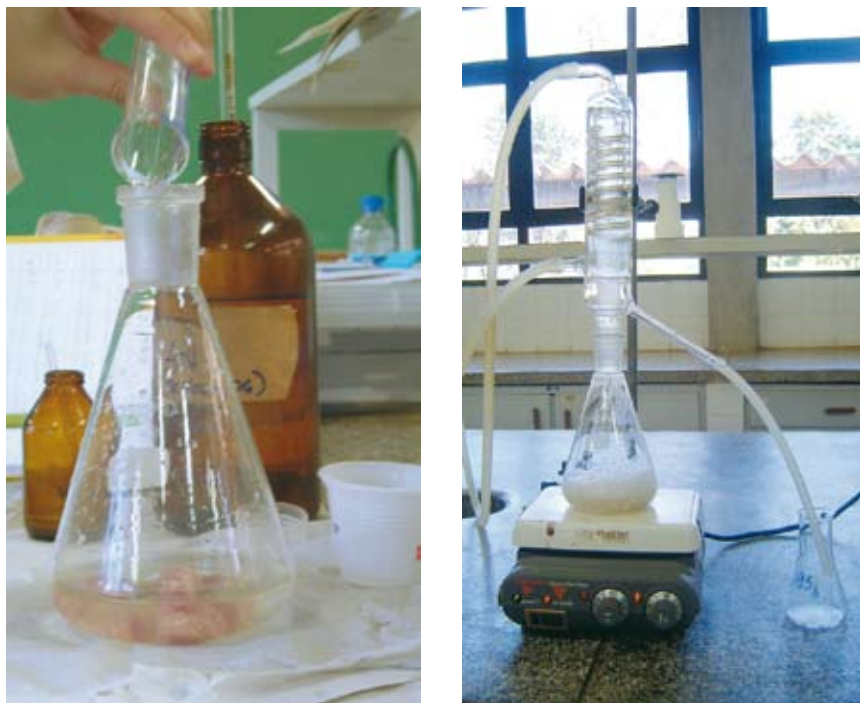


**Gráfico 1**  
Equação da curva padrão

O restante da solução TEP  $10^{-3}$  M pode ser armazenada em frasco âmbar e mantida sob refrigeração por até uma semana para a realização das análises das amostras.

### 7.1.2 Análise da amostra

Indica-se realizar a análise de cada amostra em triplicata. Para proceder às análises da oxidação, utiliza-se de 10,0000 a 20,0000 g de amostra triturada. Entretanto, o peso escolhido deve ser o mesmo para todas as amostras. Colocar a amostra triturada em um Erlenmeyer de 500 mL e homogenizar em 96,0 mL de água destilada (**Figura 30**). Acrescentar 4,0 mL de HCl 4 N (ácido clorídrico 4 N) e 8 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 e 1,3 partes de Tween 20). Colocar algumas pérolas de vidro no Erlenmeyer para evitar o borbulhamento e o refluxo. Na destilação deve-se coletar 50 mL do destilado em um balão volumétrico de 50 mL em um período de 10 minutos. O tempo deve ser contado após o início da fervura da solução (**Figura 30**). O destilado coletado pode ser armazenado em refrigeração para posterior leitura até 24 horas após a coleta.

**Figura 30**

Preparo da amostra para destilação (lado esquerdo) e coleta do destilado (lado direito)

O destilado coletado deve ser homogeneizado, sendo transferida uma amostra de 5 mL para um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Acrescenta-se no tubo 5 mL de TBA 0,02 M e coloca-se o tubo fechado em banho-maria a 85 °C por 35 minutos. Resfria-se o tubo em temperatura ambiente e faz-se a leitura da absorbância em triplicata contra o branco (5 mL de H<sub>2</sub>O e 5 mL de TBA) a 530 nm.

O valor médio das três leituras de absorbância obtidos de cada uma das triplicadas da amostra deve ser utilizado na equação (curva padrão) que resultará no índice de TBA.

### 7.1.3 Cálculo

Calcular o número TBA em miligramas de TBARS por quilograma de amostra, conforme o exemplo abaixo (**Tabela 14**).

Então, para a amostra 1a, têm-se:

$Y = \text{absorbância lida (média das três leituras, coluna 3 da Tabela 14)}$

$Y = 1,5706x + 0,0028$  (equação obtida da curva padrão)

$0,1712 = 1,5706x + 0,0028$

$x = 0,10722$  (multiplicado por  $10^{-7}$ )

Para se estimar quantos gramas se têm de malonaldeído (Z) na reação, calcula-se:

1 mol - 72 g de malonaldeído

$0,10722 \times 10^{-7}$  - Z

$Z = 7,71984 \cdot 10^{-7}$  g de malonaldeído

**Tabela 14**

Resultados da leitura da absorbância no espectrofotômetro

Amostra	Peso da amostra	Média das três leituras de absorbância
1a	10,0038	0,1712
1b	10,0070	0,1592
1c	10,0086	0,1444
2a	10,0013	0,0781
2b	10,0026	0,0801
2c	10,0024	0,0881
3a	10,0080	0,0406
3b	10,0040	0,0459
3c	10,0003	0,0516

Para se quantificar o total de malonaldeído (W) obtido do destilado da análise, calcula-se pela seguinte regra de três:

5 mL da (amostra destilada coletada) —  $7,71984 \cdot 10^{-7}$  g de malonaldeído

50 mL (total do destilado coletado) — W

$W = 77,1984 \cdot 10^{-7}$  g de malonaldeído

Para se obter finalmente o número de TBA (X) em miligramas de TBARS por quilograma da amostra, calcula-se

$77,1984 \cdot 10^{-7}$  - 10,0038 g da amostra

X - 1000 g

$X = 7716,9075 \cdot 10^{-7}$  g de malonaldeído

$X = 0,7717$  mg de TBARS/kg da amostra

Para verificar a eficiência da destilação faz-se a recuperação da análise através de três destilações.

A primeira destilação é a destilação normal da amostra, conforme descrito anteriormente (10 g de amostra; 98,0 mL de água; 2,0 mL de HCl; e 8 gotas de antiespumante). A segunda destilação é a destilação da amostra acrescida de 1 mL de TEP ( $10^{-7}$ ) padrão diluído (10 g de amostra; 1 mL de TEP  $10^{-7}$ ; 96,0 mL de água; 4,0 mL de HCl; e 8 gotas de antiespumante). A terceira destilação é a destilação de 1 mL de TEP padrão diluído (1 mL de TEP  $10^{-7}$ ; 98,0 mL de água; 2,0 mL de HCl; e 8 gotas de antiespumante).

Para o desenvolvimento do processo colocam-se algumas pérolas de vidro no Erlenmeyer. Destila-se a solução por um período de 10 minutos (o tempo deve ser contado após o início da fervura da solução) e coleta-se 50 mL do destilado em um balão volumétrico de 50 mL.

Após homogeneizar o destilado, retira-se uma amostra de 5 mL e transfere-se esta para um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Acrescenta-se no tubo 5 mL de TBA 0,02 M e coloca-se o tubo fecha-

do em banho-maria fervente (85 °C) por 35 minutos. Resfria-se em temperatura ambiente e lê-se a absorvância contra o branco (5 mL de H<sub>2</sub>O e 5 mL de TBA) a 530 nm.

Para calcular a recuperação utiliza-se a fórmula:

Recuperação (%) =

$$\frac{\text{Absorvância TEP e amostra (segunda diluição)}}{\text{Absorvância TEP (terceira diluição) + Absorvância amostra (primeira diluição)}} \times 100$$

O valor da recuperação deve ficar entre 85 a 100 %.



## 8

## ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFIBRILAR (MFI)

---

Graziela Drociunas Pacheco  
 Ana Maria Bridi  
 Caio Abércio da Silva

A técnica descrita a seguir para estimar o índice de fragmentação miofibrilar foi adaptada de Culler *et al.* (1978) e Hopkins *et al.* (2000).

### 8.1 SOLUÇÕES

#### 8.1.1 Solução tampão MFI (2L)

A solução tampão MFI é composta por 100 mM KCl, 20 mM de fosfato de potássio (pH 7), 1 mM de EDTA, 1 mM de MgCl<sub>2</sub> e 1 mM de NaN<sub>3</sub>.

KCl.....	14,91 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2,72 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	3,50 g
EDTA .....	0,76 g
MgCl <sub>2</sub> .....	0,41 g
NaN <sub>3</sub> .....	0,13 g

Dissolver os reagentes em água destilada deionizada (pH=7).

Transferir a solução para um balão volumétrico de 2 litros e completar com água destilada deionizada até o volume final.

### 8.1.2 Reagente biureto (1L)

Dissolver 1,5 g de Sulfato Cúprico ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) e 6 g de Tartarato de Sódio e Potássio ( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) em cerca de 500 mL de água destilada deionizada em um frasco de 1000 mL. Com agito constante, adicionar 300 mL de NaOH 10 % recém-preparado. Completar até um (1) litro com água destilada deionizada e armazenar em recipiente escuro de polietileno. Descartar se aparecer precipitado preto ou vermelho.

### 8.1.3 Solução padrão de Albumina Sérica Bovina (BSA)

Para preparar 20 mL de solução padrão estoque, adicionar 0,416 g de BSA a 20 mL de água destilada deionizada (20mg/mL). Não agitar. Aguardar a solubilização em repouso. Guardar em geladeira a 4°C.

Fazer a curva padrão com Albumina Sérica Bovina (BSA). As concentrações de albumina utilizadas são: zero (branco); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg/mL.

A **Tabela 15** mostra um exemplo com as concentrações e os volumes da solução de BSA, água deionizada e reagente biureto necessários para a determinação de uma curva padrão.

As amostras devem ser lidas em triplicata em espectrofotômetro a 540 nm. Assim, determina-se a concentração de proteína para cada suspensão.

A **Tabela 16** indica a leitura em espectrofotômetro a 540 nm das amostras com base nas concentrações de BSA utilizadas e suas respectivas médias.

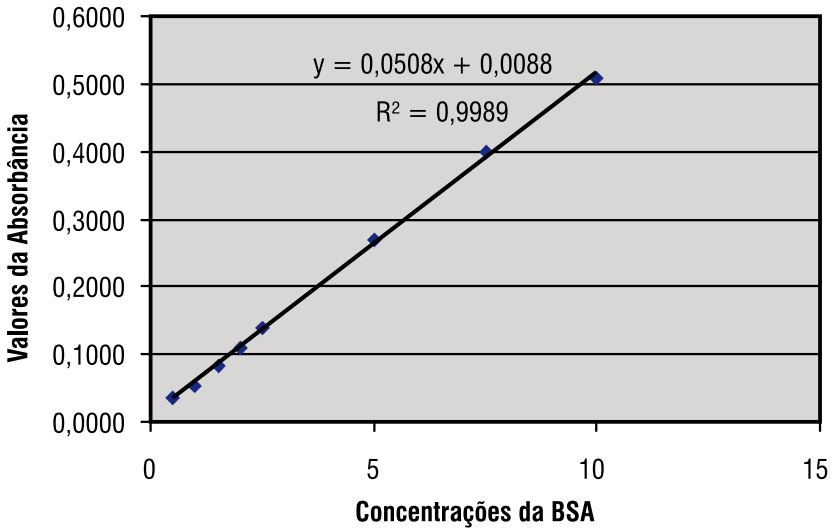
Para fazer o gráfico, utilizam-se os valores das concentrações de BSA e as médias dos valores de absorbância obtidos para cada concentração de BSA.

**Tabela 15**  
Curva padrão com Albumina Sérica Bovina (BSA)

Concentração BSA (mg/mL)	Volume da solução de BSA (mL)	Água deionizada (mL)	Reagente Biureto (mL)
0,0	0,000	1,000	4,0
0,5	0,025	0,975	4,0
1,0	0,050	0,950	4,0
1,5	0,075	0,925	4,0
2,0	0,100	0,900	4,0
2,5	0,125	0,875	4,0
5,0	0,250	0,750	4,0
7,0	0,375	0,625	4,0
10,0	0,500	0,500	4,0

**Tabela 16**  
Resultados da leitura da absorbância no espectrofotômetro

Concentração de BSA	Absorbâncias			Média das absorbâncias
0,0	Branco	Branco	Branco	-----
0,5	0,0524	0,0286	0,0284	0,0365
1,0	0,0517	0,0534	0,0574	0,0542
1,5	0,0817	0,0808	0,0827	0,0817
2,0	0,1080	0,1073	0,1100	0,1084
2,5	0,1379	0,1415	0,1388	0,1394
5,0	0,2620	0,2660	0,2750	0,2677
7,0	0,3969	0,3958	0,4035	0,3987
10,0	0,5092	0,5058	0,5106	0,5085

**Gráfico 2**

Equação de curva padrão

## 8.2 EXTRAÇÃO

A extração deve ser conduzida em triplicata.

a. Cortar 4g de músculo congelado (livre de gordura e tecido conectivo).

b. Colocar as amostras em Becker plástico, adicionar 20 mL (2 °C) de solução tampão e homogeneizar por 30 segundos em homogeneizador tipo Ultra Turrax a 13.500 rpm. Após isso, esperar 30 segundos e homogeneizar novamente por 30 segundos a 13.500 rpm. Manter sempre as amostras resfriadas em um recipiente com gelo.

c. Colocar as soluções obtidas em tubos de 50 mL e levá-las a uma centrífuga refrigerada.

d. Centrifugar a 10.000 rpm (14.000 g), por 15 minutos a 2 °C.

e. Colocar papel filtro em Beckers de 100 mL e filtrar os sobrenadantes.

f. Reservar os sobrenadantes filtrados, mantendo-os sempre em recipiente com gelo.

g. Ressuspender os decantados que permaneceram nos tubos da centrífuga em 20 mL de solução tampão (2 °C), dissolver e mexer os decantados com o auxílio de bastão de vidro.

h. Centrifugar novamente a 10.000 rpm (14.000 g), por 15 minutos a 2 °C.

i. Filtrar os sobrenadantes, juntando-os aos já filtrados anteriormente.

j. Adicionar aos decantados que permaneceram nos tubos, 10 mL de solução tampão (2 °C) e homogeneizar em vórtex.

k. Filtrar os sobrenadantes, juntando-os aos 2 filtrados anteriores, que será o volume final da solução de miofibrilas.

### 8.3 ENSAIO PROTÉICO

a. O ensaio protéico deve ser conduzido em duplicata para cada amostra.

b. Colocar 0,25 mL da solução de miofibrilas em tubos de vidro.

c. Adicionar 0,75 mL de solução tampão em cada tubo.

d. Adicionar 4 mL de reagente biureto .

**OBS: Ao final teremos 5 mL de solução em cada tubo**

e. Homogeneizar as soluções em vórtex.

f. Nos tubos “branco” colocar 4 mL de reagente biureto e 1 mL de solução tampão (2 °C).

g. Homogeneizar em vórtex.

h. Colocar os tubos em ambiente escuro por 30 minutos para que ocorra reação.

i. Ler a absorbância em espectrofotômetro a 540 nm (exemplo na **Tabela 17**).

<b>Tabela 17</b>				
Valores e médias das absorbâncias obtidas em espectrofotômetro				
Amostra	Absorbâncias			Média
A	0,0647	0,0668	0,0678	0,0664

j. Com o valor da média das absorvâncias, determinar a concentração de proteína, colocando o valor da absorvância na equação da curva da BSA (Albumina Sérica Bovina).

Exemplo: Equação da curva da solução padrão de BSA

$$Y = 0,0508 X + 0,0088$$

O Y será o valor da absorvância e o X a quantidade de proteína que será necessária para se obter uma solução com 0,5 mg de proteína/mL em uma solução final de 8 mL.

Com o valor de X (= mg de proteína) calcula-se o volume de solução de miofibrilas que será necessário para calcular o MFI.

Cálculo da quantidade de proteína das amostras:

$$Y = 0,0508 X + 0,0088$$

$$X = \frac{0,0664 - 0,0088}{0,0508}$$

$$X = 1,1339$$

O volume final da solução é de 8 mL, como dito anteriormente, com 0,5 mg de proteína/mL.

$$C1.V1 = C2.V2$$

$$0,5 \cdot 8 = 1,1339 \cdot V2$$

$$V2 = 3,53$$

Onde:

C1 = Concentração de 0,5 mg de proteína/mL;

V1 = Volume final da solução (8 mL);

C2 = Concentração de proteína na solução de miofibrilas necessária para se obter uma solução com 0,5 mg de proteína/mL;

$V_2$  = Volume de solução de miofibrilas necessário para que se obtenha uma concentração de 0,5 mg de proteína/mL.

## 8.4 ÍNDICE DE FRAGMENTAÇÃO MIOFRIBRILAR

a. Deve ser conduzido em triplicata.

b. Em tubos de vidro, colocar quantidades apropriadas de solução de miofibrilas, solução tampão e reagente biureto para fazer 8 mL de solução com 0,5 mg de proteína/mL, sendo que 4 mL são obrigatoriamente de reagente biureto, e o restante deverá ser calculado e dividido entre o volume da solução de miofibrilas e a solução tampão.

Exemplo:

Reagente Biureto:	4,00 mL
Solução de Miofibrilas:	3,53 mL
Solução Tampão:	0,47 mL

Como são necessários 8 mL de solução final, e 4 mL são obrigatoriamente de reagente biureto, os outros 4 mL devem ser divididos entre a solução de miofibrilas e a solução tampão. Foi calculada anteriormente a quantidade de solução de miofibrilas, sendo o valor obtido de 3,53 mL. Assim, para se completar os 8 mL necessários, deve-se colocar 0,47 mL de solução tampão.

c. Nos tubos “branco” colocar 4 mL de reagente biureto e 4 mL de solução tampão.

d. Homogeneizar em vórtex.

e. Colocar os tubos em ambiente escuro por 30 minutos para que ocorra a reação.

f. Ler a absorbância em espectrofotômetro a 540 nm (exemplo na **Tabela 18**).

g. O MFI será o valor da absorbância multiplicado por 200.

Exemplo:

$$\text{MFI} = 0,3945 \times 200$$

$$\text{MFI} = 78,89$$

A fragmentação das miofibrilas tem sido associada à proteólise *post mortem* e à maciez da carne e, de acordo com Culler *et al.* (1978), amostras que apresentam valor de MFI de 60 ou superior a esse valor são consideradas muito macias. Amostras que possuem valores em torno de 50 são levemente macias e valores abaixo de 50 indicam ausência de maciez na carne.

**Tabela 18**

Valores e média das absorbâncias obtidas em espectrofotômetro

Amostra	Absorbâncias			Média
A	0,3885	0,3977	0,3972	0,3945

# 9

## ANÁLISE CENTESIMAL

---

Graziela Drociunas Pacheco  
Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva

### 9.1 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE E CINZAS

As amostras de carne, acondicionadas em saquinhos plásticos, devem ser descongeladas de um dia para o outro em geladeira. A estufa deve ser ligada a 105 °C por no mínimo 3 horas antes do uso.

Na seqüência, deve-se anotar o número das amostras nas placas de Petri com caneta de retroprojeto, lembrando que as análises devem ser feitas em triplicata. As placas de Petri permanecem em estufa a 105 °C por no mínimo 2 horas ou *overnight* para estabilizar seu peso, sendo depois retiradas com auxílio de uma pinça ou papel toalha e colocadas em dessecador por no mínimo 1 hora. Passa-se então a retirar, com auxílio de uma faca, a gordura e o tecido conectivo das amostras de carne e a triturar as amostras descongeladas em um micro-processador, voltando o conteúdo para o saquinho onde a carne estava, lembrando de não desprezar a água do descongelamento que permaneceu no saquinho.

As placas de Petri são então taradas em balança analítica de precisão e seus pesos anotados. Antes de retirar a amostra de carne do saquinho, homogeneizar bem o material triturado com a água do descongelamento contida no saquinho plástico.

Pesar aproximadamente 5 g de amostra triturada de carne em balança analítica, dispondo esta de forma bem espalhada pela placa de Petri com auxílio de bastão de vidro para facilitar sua secagem.

Colocam-se novamente as placas de Petri na estufa a 105 °C *overnight* para a efetiva secagem do material. Segue-se com a retirada das placas com as amostras da estufa e suas transferências para o dessecador por no mínimo uma (1) hora ou quando estas atingirem a temperatura ambiente.

Pesam-se então as placas de Petri em balança analítica, devolvendo-as ao dessecador para evitar que recebam umidade (**Figura 31**).



**Figura 31**

Pesagem das amostras de carne após a secagem em estufa

Para a determinação das cinzas, o primeiro procedimento consiste em juntar o conteúdo das 3 placas de uma mesma amostra, triturando-os em recipiente de porcelana com auxílio de um socador ou de um microprocessador. (OBS: deixar as placas com o material já triturado dentro do dessecador).

Colocam-se os cadinhos de porcelana destinados à determinação das cinzas na estufa a 105 °C *overnight*, transferindo-os, com auxílio de uma pinça, para um dessecador, mantendo-os até atingirem a temperatura ambiente. Segue-se com a pesagem dos cadinhos em balança analítica e anotação dos pesos.

O próximo passo é tarar a balança e colocar em cada cadinho (novamente em triplicata) 1/3 do conteúdo da amostra de carne seca triturada. Anota-se o peso das amostras e procede-se a carbonização destas, a baixa temperatura, em bico de Bunsen, até que não haja mais fumaça sendo liberada das amostras.

Finalmente inserem-se os cadinhos de porcelana na mufla para a incineração da amostra até a transformação do material em cinza.

### **Cálculo para umidade:**

$$\text{Porcentagem de umidade} = \frac{\text{Perda de peso em gramas} \times 100}{\text{Gramas de amostra}}$$

### **Cálculo para cinzas:**

$$\text{Porcentagem de cinzas} = \frac{\text{Gramas de cinzas} \times 100}{\text{Gramas de amostra}}$$

## 9.2 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS (HIDRÓLISE ÁCIDA)

Tarar os balões de fundo chato. Pesar 5 g de amostra e transferir para o Erlenmeyer de 500 mL (**Figura 32**).

Acrescentar 50 mL de água fervente e 60 mL de ácido clorídrico 8,0 N.

Tampar o Erlenmeyer com vidro relógio e levar à chapa aquecida, mantendo ebulição por 15 minutos.

Resfriar e filtrar.

Lavar o resíduo com água destilada até que não haja mais evidência de cloretos (aproximadamente 500 mL) (**Figura 33**).

Secar o papel de filtro em estufa de circulação a 65 °C.

Colocar o papel de filtro com o resíduo em cartucho para extração em Soxhlet.



**Figura 32**

Amostras de carne acondicionadas em Erlenmeyer antes da hidrólise ácida

**Figura 33**

Lavagem e filtragem do resíduo das amostras após hidrólise ácida

Montar o Soxhlet, colocar o éter de petróleo e manter o refluxo por 4 horas.

Recuperar o solvente.

Levar os balões para a estufa a 105 °C e deixar *overnight*.

Retirar os balões da estufa a 105 °C com auxílio de uma pinça e colocá-los em dessecador até que atinjam a temperatura ambiente.

Pesar os balões em balança analítica.

Cálculo:

$$\text{Porcentagem Lipídios} = \frac{(\text{Peso do balão} + \text{lipídios extraídos}) - (\text{Peso do balão vazio}) \times 100}{\text{Peso da amostra em gramas}}$$

### 9.3 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

Reagentes:

Ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ , 96-98 %).

Solução de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) a 2 % com indicador misto.

Dissolver 20 g de ácido bórico em 1 litro de água destilada.

O indicador é composto de 15 mL de vermelho de metila (0,1 % em álcool etílico), totalizando 21 mL de indicador misto que é diluído em 1 litro de solução de ácido bórico.

Solução de ácido sulfúrico 0,02 N, com fator conhecido: pipetar 1,09 mL de ácido sulfúrico, colocar em um balão volumétrico de 2 litros e completar o volume com água destilada. Colocar na bureta para proceder à titulação.

A fatoração é feita titulando o ácido em 0,0264 de  $Na_2CO_3$  (previamente estabilizado em estufa a 105 °C) em Erlenmeyer com 50 mL de água destilada.

O procedimento de fatoração é simples: secar uma pequena quantidade de  $Na_2CO_3$ , colocar em Erlenmeyer e rapidamente acrescentar 50 mL de água destilada. Em seguida, faz-se a titulação, colocando-se de 3 a 5 gotas do indicador misto no Erlenmeyer contendo a solução de  $Na_2CO_3$  e usando a solução de  $H_2SO_4$ , previamente preparada, para proceder à titulação. O fator de correção (Fc) deve ficar entre 0,9 e 1,1.

$$Fc = \frac{P}{0,053 \times V \times N}$$

onde:

P = peso de  $Na_2CO_3$  (0,0264)

V = volume de  $H_2SO_4$  gasto na titulação

N = normalidade desejada (0,02)

Mistura digestora:

10 partes de  $K_2SO_4$  ou  $Na_2SO_4$

1 parte de  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$

0,8 partes de selênio metálico em pó

Indicador misto: preparar o vermelho de metila (pesar 0,15 g de vermelho de metila e dissolver em 15 mL de álcool etílico) e o verde de bromocresol (pesar 0,06 g de verde bromocresol e dissolver em 6 mL de ácido etílico) e, em seguida, misturar as 2 soluções.

Técnica de Micro-Kjeldahl

1° Etapa: Digestão

Pesar 0,15 g de amostra de carne triturada (homogeneizar bem a carne antes de retirar a amostra).

Colocar a amostra no tubo de digestão.

Adicionar ao tubo 1,2 g de mistura digestora e 3 mL de  $H_2SO_4$ .

Agitar cuidadosamente o tubo para misturar a amostra.

Iniciar o aquecimento somente quando a amostra estiver pronta e disposta no bloco digestor. A temperatura do bloco deve iniciar em torno de 100 °C e deve-se aumentar gradativamente (aumentos de 50 °C) até atingir 400 °C. Quando o líquido se tornar límpido e transparente de tonalidade azul-esverdeada, retirar do aquecimento e deixar esfriar no próprio bloco.

2° Etapa: Destilação

Observar o nível de água no balão de geração de vapor, que deve estar acima do sensor. Completar sempre.

Fechar a torneira do funil dosador de soda.

Ligar o aparelho destilador, verificando-se a voltagem da rede elétrica.

Abrir a torneira de água para circulação no condensador.

Girar o dial da resistência até 7/8 para aquecimento da água do gerador de vapor e aguardar a fervura da mesma.

Diluir a amostra que está no tubo de digestão com 15mL de água destilada (a amostra deverá estar fria).

Girar o dial para zero (0) para desligar o aquecimento.

Colocar um Erlenmeyer de 125 mL contendo 10 mL de ácido bórico a 2 % com indicador misto no suporte abaixo do condensador.

Conectar o tubo de proteínas digeridas no seu local de encaixe.

Adicionar NaOH 50 % no funil dosador de soda (a torneira deve estar fechada).

Abrindo a torneira de soda lentamente (gota a gota), adicionar NaOH 50 % no tubo digestor até neutralizar.

A amostra neutralizada fica com a cor azul-escura ou marrom-escuro.

Terminada a neutralização, fechar a torneira do funil de soda. Imediatamente girar o dial até 10 para iniciar o aquecimento e formação de vapor. Coletar cerca de 50 mL do destilado.

Terminada a destilação, retirar o Erlenmeyer (com líquido de cor verde-claro), girar o dial para  $\frac{3}{4}$ , abrir a torneira do balão gerador de vapor e retirar o tubo digestor (Cuidado! Tubo quente e solução cáustica).

Para limpar o sistema, conectar um tubo digestor limpo contendo 20 mL de H<sub>2</sub>O destilada, girar o dial até 10 e destilar durante 5 minutos. Deve-se limpar o sistema sempre que mudar a amostra

Retirar o tubo de lavagem, procedendo como anteriormente (girar o dial para  $\frac{3}{4}$  e retirar o tubo digestor). O aparelho está pronto para nova destilação.

Terminadas todas as destilações, proceder à última destilação de limpeza com água destilada, tendo o cuidado de esgotar a soda do seu reservatório e lavando-o também com água destilada.

### 3º Etapa: Titulação

Preparar uma bureta com capacidade de 50mL ou mais, contendo  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,02 N fatorado.

Titular diretamente no Erlenmeyer em que foi coletado o destilado.

O ponto final da titulação será indicado pela mudança de cor da solução do verde para o róseo (**Figura 34**).

### Cálculo

$$\text{Proteína Bruta (\%)} = \frac{\text{v. f. } 0,00028 \cdot 6,25 \times 100}{\text{pa}}$$



**Figura 34**

Mudança da cor verde para a rósea indicando o ponto final da titulação

onde:

v = volume de  $H_2SO_4$  gasto na titulação

f = fator de correção do  $H_2SO_4$  \*

pa = peso da amostra em gramas

6,25 = fator de conversão de nitrogênio em proteína

0,00028 = equivalente de  $H_2SO_4$  correspondente ao nitrogênio

\*OBS: já multiplicada pela normalidade

# 10

## CONTAGEM E DIÂMETRO DAS FIBRAS MUSCULARES

---

**Julian Cristina Borosky**  
**Ana Maria Bridi**  
**Caio Abércio da Silva**

### 10.1 COLETA DAS AMOSTRAS

O músculo mais indicado para realizar a contagem do número de fibras musculares é o *Semitendinosus* (**Figura 35**), pois apresenta facilidade de coleta, tem as fibras musculares distribuídas em sentido único, e o diâmetro do músculo é pequeno nos leitões, o que facilita medir sua área para estimar o número de células do músculo.

Como o número de células praticamente não é alterado após o nascimento do animal, recomenda-se coletar o músculo logo após o desmame (em torno de 21 dias de idade) para facilitar a medição da área do músculo, pois é possível analisar a área total do músculo na lâmina de microscopia óptica, visando, no momento da leitura, a possibilidade de contar células de campos representativos de toda a área muscular.

Após a dissecação do músculo deve-se coletar a porção medial do mesmo, no sentido transversal da fibra. O tamanho da amostra deve ser de 1 cm de espessura para facilitar a penetração da solução fixadora em toda a extensão do músculo. Logo após a coleta, as amostras devem ser acondicionadas na solução de Bouin.

A amostra do músculo deve permanecer 24 horas na solução de Bouin. Recomenda-se a utilização deste fixador por facilitar a con-



Figura A



Figura B



Figura C



Figura D



Figura E



Figura F

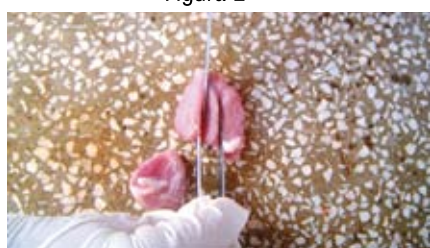


Figura G



Figura H

### Figura 35

Coleta do músculo *Semitendinosus*, a) incisão da pele da parte caudal do pernil b) localização e retirada do músculo *Semimembranosus*; c) identificação do músculo *Semidentinosus* (localizado logo abaixo do músculo *Semimembranosus*); d) dissecção do músculo *Semidentinosus*; e) retirada do músculo *Semitendinosus*; f) corte no sentido transversal da fibra muscular na porção mediana do músculo; g) retirada da amostra final (preservando toda a área muscular); h) fixação da amostra em solução de Bouin.

tagem das fibras musculares, pois esta solução provoca desidratação celular, preservando a membrana. A solução de Bouin é preparada utilizando-se 180 mL (71,43 %) de solução saturada de ácido pícrico, 60 mL (23,81 %) de formaldeído PA e 12 mL (4,76 %) de ácido acético glacial PA.

Posteriormente, as amostras devem ser lavadas por três vezes consecutivas com álcool 70 % e finalmente são mantidas no álcool 70 % para sua conservação. As amostras poderão permanecer em álcool indeterminadamente, por isso, é importante que o frasco das amostras tenha boa vedação, não permitindo a evaporação do álcool.

Amostras do músculo *Longissimus dorsi*, coletadas no momento do abate, também podem ser usadas para estimar o número e o diâmetro das fibras musculares, porém, deve-se tomar o cuidado para retirar a amostra no sentido transversal das fibras.

## 10.2 DESIDRATAÇÃO DAS AMOSTRAS

Antes da desidratação, deve-se recortar as amostras de modo a retirar uma fatia de aproximadamente 5 mm de espessura (preservando a área total do músculo) no sentido transversal das fibras musculares.

A lavagem da amostra consiste em:

- o material é colocado em água corrente por uma hora;
- o material é colocado em álcool amoniacal por uma hora;
- o material é colocado em água corrente por mais uma hora;
- conservar em álcool 70 ° GL até a desidratação.

A desidratação propriamente dita consiste em:

- uma hora em álcool 95 ° GL; I
- uma hora em álcool 95 ° GL; II
- duas horas em álcool 99 ° GL; I
- duas horas em álcool 99 ° GL; II
- 45 minutos em Xilol; I
- 45 minutos em Xilol; II

### 10.3 PREPARAÇÃO DA LÂMINA

As lâminas devem ficar 24 horas em álcool para remoção de resíduos. Após deve-se secá-las e limpá-las com gaze.

Elas devem ser mergulhadas 3 vezes em uma solução de cola escolar (10 mL de cola para 90 mL de água destilada). É importante deixar uma parte da lâmina sem cola para permitir sua identificação.

Depois, deve-se deixá-las secar em temperatura ambiente e acondicioná-las individualmente em papel higiênico.

### 10.4 EMBLOCAMENTO E CORTE DO MATERIAL

Para realizar o emblocamento do material deve-se derreter a parafina líquida na estufa a 65 °C, filtrando-a em seguida ainda dentro da estufa. Depois da peça desidratada, deve-se retirá-la do cassete e colocá-la na parafina líquida, deixando-a de um dia para outro (*overnight*) na parafina, dentro da estufa a 65 °C.

Para emblocar as peças nas formas, primeiramente coloca-se a parafina líquida e, com o auxílio de uma pinça, posicionam-se as peças corretamente no fundo das formas.

Após o período de uma hora de resfriamento pode-se desenformar a amostra e cortar com uma lâmina de micrótomo as quatro extremidades do bloco sem atingir a peça, permitindo, assim, que o bloco caiba no micrótomo.

O bloco, com o auxílio do micrótomo, deve ser desbastado 24 horas após ser desenformado até atingir a amostra. Na seqüência, os blocos são dispostos com a amostra voltada para baixo numa forma de alumínio contendo água e detergente, repousando na geladeira por 24 horas, quando então é retirada da água e o bloco é acondicionado no gelo.

As amostras deverão ser seccionadas em cortes de 4 µm de espessura e imersas por cinco minutos, no máximo, em álcool 20 %. Após, procede-se à retirada do corte do álcool, coloca-se a peça em banho-maria (entre 50 e 60 °C, para a expansão do corte na parafina para a fixação na lâmina) e imediatamente fixa-se o corte na lâmina. Finalmente, coloca-se a lâmina com o corte na estufa por 30 minutos.

## 10.5 COLORAÇÃO DA LÂMINA

A coloração da lâmina deve obedecer o seguinte protocolo:

- 15 minutos em xilol I;
- 15 minutos em xilol II;
- 5 minutos em álcool absoluto;
- 5 minutos em álcool 95 °GL;
- 5 minutos em álcool 70 °GL;
- 5 minutos em água destilada;
- 4 minutos em hematoxilina;
- 15 minutos em água corrente;
- 10 minutos em eosina;
- 5 imersões seguidas em álcool 95 °GL;
- 5 imersões seguidas em álcool absoluto; I
- 5 imersões seguidas em álcool absoluto; II
- 5 minutos em álcool absoluto;
- 10 minutos em álcool mais xilol;
- 5 minutos em xilol I;
- 5 minutos em xilol II;
- 30 minutos na capela com exaustor para secagem.

## 10.6 MONTAGEM DA LÂMINA

Colocar na lâmina 3 gotas de xilol e 2 gotas de Entelan (cola) e rapidamente colocar a lamínula. Retirar o excesso de xilol e cola com ajuda de uma pinça, pressionando levemente a lamínula sobre a lâmina para retirar também as bolhas de ar. Após 24 horas deve-se limpar a face contrária ao corte da lâmina.

## 10.7 CONTAGEM DO NÚMERO DE CÉLULAS

Existem dois tipos de contagem de fibras musculares. A primeira é a forma direta na qual são contadas todas as fibras musculares



NFT : número de fibras totais do músculo em estudo; AT: área total do músculo em estudo; NFC: número de fibras musculares contadas em todos os campos; C: número de campos lidos; AC: área de cada campo lido.

## 10.8 DIÂMETRO DAS FIBRAS

Para mensurar o diâmetro da fibra muscular utilizamos o mesmo método de captura de imagem empregado para a contagem celular (pode-se utilizar um aumento de 40 vezes no microscópio óptico). Capturar 10 campos de cada lâmina (de acordo com o esquema anterior) e realizar a medida do menor diâmetro de 15 células por campo, totalizando 150 células por lâmina (**Figura 37**).



**Figura 37**

Corte histológico do músculo *Semitendinosus*: a linha azul representa a medida do menor diâmetro da célula.



# 11

## IDENTIFICAÇÃO DE TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES

---

**Julian Cristina Borosky  
Ana Maria Bridi  
Caio Abércio da Silva**

### 11.1 MATERIAL NECESSÁRIO:

- lâmina de bisturi;
- talco neutro;
- Eppendorfs (1,5 mL) com a tampa e o fundo furados;
- caneta de retroprojeter;
- nitrogênio líquido;
- caixa de isopor pequena.

### 11.2 COLETA DE MÚSCULO:

O músculo comumente utilizado para a identificação das fibras musculares é o *Longissimus dorsi*. Sua escolha se deve principalmente porque representa um dos músculos utilizados para contagem de células (o que torna possível estabelecer uma relação percentual dos tipos de fibras analisadas). A coleta do músculo deve ser realizada logo após o abate, evitando-se que o tempo entre o abate e a coleta seja superior a 1 hora. Este cuidado isenta de prejuízos o processo

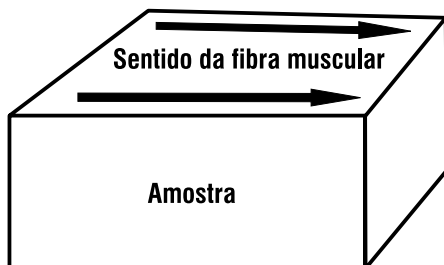
de diferenciação celular pela minimização no consumo das reservas enzimáticas das células. As amostras coletadas deverão ser sempre da mesma região no músculo.

Com o auxílio de um bisturi, retira-se uma amostra do músculo, dispondo-o em uma superfície macia (uma tampa de isopor, por exemplo). Na seqüência, deve-se moldá-lo no formato de um paralelepípedo, mantendo as seguintes dimensões: 1,0 cm de largura; 1,0 cm de comprimento e 0,5 cm altura. A secção do músculo deve deixar as fibras musculares com a apresentação no sentido longitudinal na face correspondente ao comprimento (**Figura 38**).

Em seguida, a amostra do músculo deve ser empanada em talco neutro, visando sua proteção durante o processo de congelamento. Ao mesmo tempo, deve-se colocar um pouco de nitrogênio líquido (o suficiente para que não evapore totalmente) em uma caixa de isopor pequena, banhando o Eppendorf neste recipiente. A tampa e o fundo do Eppendorf, devidamente identificados com a caneta de retroprojeter, devem estar perfurados, permitindo que o nitrogênio permeie todo o recipiente até que este congele totalmente (momento em que não ocorre mais a borbulhação no nitrogênio).

A amostra do músculo protegida pelo talco e imersa em nitrogênio líquido também deve ser mantida neste recipiente até seu congelamento, para depois ser acondicionada no Eppendorf já congelado.

Com a amostra no Eppendorf, esta deve ser mantida em nitrogênio líquido, permanecendo nesta condição até o processamento.



**Figura 38**

Esquema de formato da amostra para congelamento em nitrogênio líquido

### 11.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Para o início do processamento, as amostras deverão ser cortadas em criostato no sentido transversal à fibra muscular, e os cortes obtidos “impressos” em lâmina histológica.

Imediatamente procede-se à coloração do material com azul de metileno para confirmação, através de microscopia óptica, se as fibras foram cortadas no sentido transversal. Caso os cortes estejam desviados para o sentido longitudinal, deve-se corrigir a posição da amostra no criostato, submetendo-o a novo corte até a obtenção deste no sentido transversal. Definida a posição correta do corte, prepara-se outra lâmina histológica, seguindo o mesmo procedimento de coloração descrito.

A técnica NADH corresponde a uma das metodologias utilizadas para a diferenciação celular. Na sua execução deverão previamente ser preparados os seguintes reagentes:

1 – Tampão Tris 0,2 M – pH 7,4 (PM= 121,14)

Tris – 1,2114 g

Água destilada – 50 mL

O pH deverá ser ajustado com HCl 0,1 N.

2- Formol 5 % tamponado pH 7,0:

Formol – 50 mL

Água destilada – 950 mL

Fosfato monossódico – 4,0 g

Fosfato bissódico – 4,5 g

Os fosfatos somente serão misturados na água e depois acrescentar o formol.

3- Meio de incubação:

NADH (forma reduzida) – 8 mg

NBT – 10 mg

Tampão Tris 0,2 M pH 7,4 – 10 mL

As lâminas montadas com os cortes em criostato devem ser incubadas por 40 minutos a 37 °C no meio de incubação (3). Em seguida, deve-se lavá-las em água destilada, colocá-las em formol 5 % tamponado, pH 7,0, por 5 minutos (para fixação) e, novamente, lavá-las em água destilada. Na seqüência, as lâminas serão montadas em gelatina-glicerina ou xarope de Apaty. As lâminas prontas deverão previamente ser avaliadas em microscópio óptico.

Neste particular, alguns cuidados especiais com as lâminas deverão ser dispensados. Primeiro, as lâminas deverão ser mantidas na posição horizontal. O transporte ou o seu armazenamento inadequado resultam no comprometimento da peça, já que o meio não tem capacidade para prender a lamínula. A reação enzimática é um processo ativo e, portanto, as lâminas devem ser examinadas e fotografadas o mais rápido possível após sua confecção.

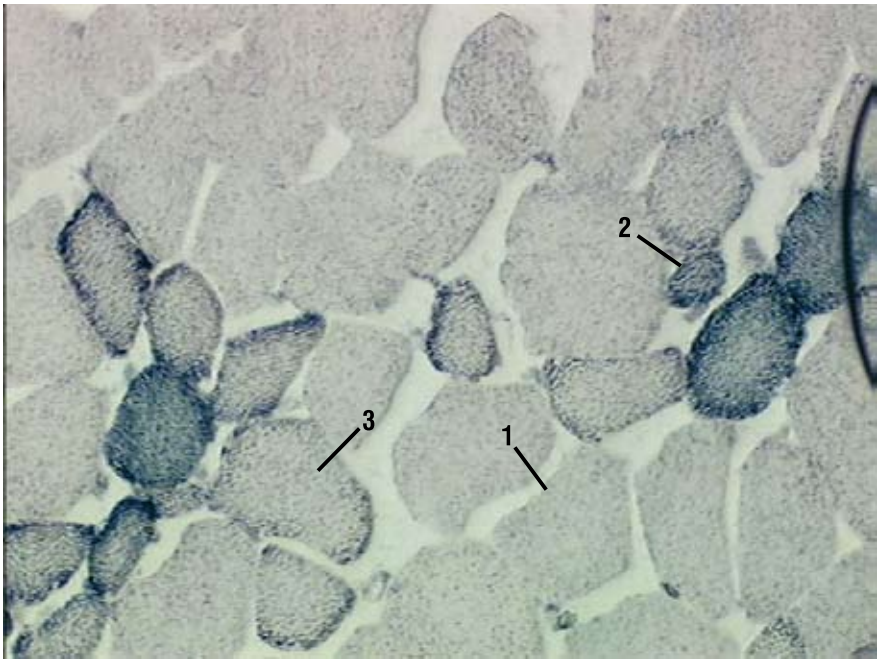
## **11.4 ANÁLISE DO MATERIAL E DIFERENCIAÇÃO DO TIPO CELULAR**

O material deve ser analisado em microscópio óptico e fotografado de acordo com os procedimentos tradicionais.

A técnica de NADH diferencia as células em brancas – metabolismo oxidativo com velocidade de contração rápida (maiores e mais claras); vermelhas – metabolismo oxidativo e velocidade de contração lenta (menores e mais escuras, quase pretas); e intermediárias – metabolismo oxidativo-glicolítico com velocidade de contração rápida (de tamanho intermediário e apresentam coloração acinzentada, ou seja, têm características intermediárias entre os tipos celulares) (**Figura 39**).

A diferenciação das células é perfeitamente possível nos menores aumentos do microscópio óptico. A definição do aumento a ser utilizado é dependente da análise que se deseja realizar. Para a avaliação da área celular deve-se dar preferência para os maiores aumentos (40x) pela melhor definição do campo. Se a intenção for a contagem das células ou a mensuração do diâmetro celular, pode-se optar por objetivas de menores aumentos.

Os resultados de identificação do tipo de fibra são expressos em porcentagem em relação ao número total de fibras.



**Figura 39**

Corte histológico corado pela técnica de NADH para diferenciação de células musculares, os números indicam os três tipos de fibras: 1 – célula branca, 2 – célula (vermelha), 3 – célula intermediária.



# 12

## **AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO DE SARCÔMERO**

---

**Julian Cristina Borosky  
Ana Maria Bridi  
Caio Abécio da Silva**

### **12.1 MATERIAL NECESSÁRIO**

- lâmina de barbear;
- lâmina de bisturi;
- fita crepe;
- lápis;
- Eppendorfs (3,0 mL);
- glutaraldeído;
- pinça anatômica;
- seringa (para manipulação do glutaraldeído);
- superfície maleável (plaquinhas de dentista);
- luvas de procedimento;
- isopor e gelo para transporte do glutaraldeído.

### **12.2 COLETA DO MÚSCULO**

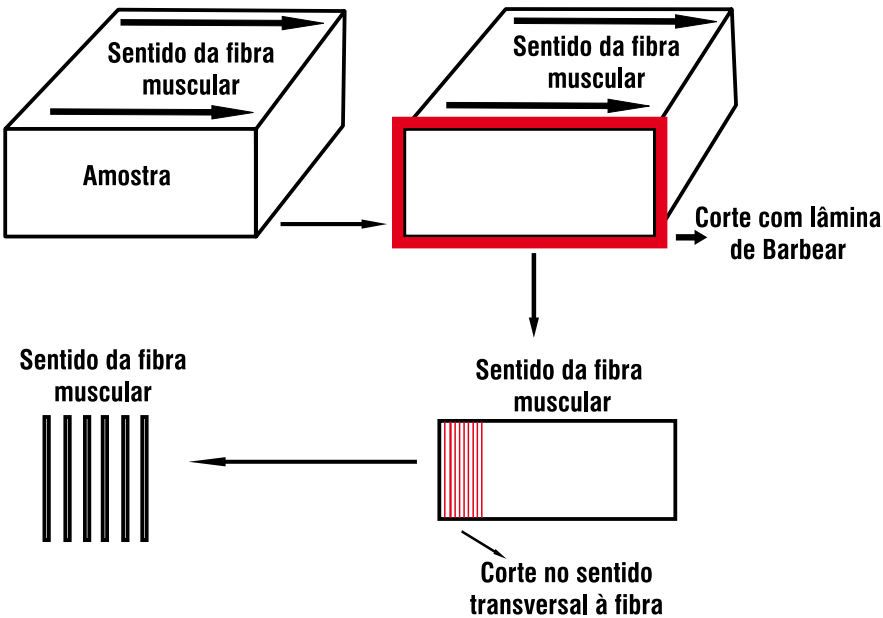
Os músculos utilizados para a avaliação do comprimento do sarcômero devem ser os mesmos utilizados para a análise de maciez.

Comumente, utilizam-se os músculos *Longissimus dorsi* e o *Semimembranosus*.

As coletas, via de regra, devem ser realizadas logo após o abate. É apropriado que este período seja padronizado. Se a intenção é avaliar o comprimento do sarcômero sob diferentes intervalos pós-abate esta conduta não deverá exceder a 24 horas.

A amostra do músculo é retirada com auxílio de um bisturi e disposta em uma placa de dentista, moldando o músculo na forma de paralelepípedo com a intenção de que as fibras fiquem no sentido longitudinal. Em seguida, deve-se retirar uma “fatia” desse corte no sentido longitudinal das fibras com o auxílio da lâmina de barbear (como se fosse destacar uma fibra da amostra) (**Figura 40**).

Esse novo corte deve ser repicado no sentido transversal da fibra muscular, evitando-se que a secção fique enviesada. Os cortes devem ser os mais finos possíveis. Posteriormente, os cortes devem



**Figura 40**  
Processamento do Material para Análise em Microscopia Eletrônica de Transmissão

ser acondicionados em Eppendorf, devidamente identificado, e preenchidos com glutaraldeído de maneira que se estabeleça uma proporção 2/3 de fixador para 1/3 de amostra.

Na seqüência, os Eppendorfs deverão ser fechados e acondicionados em isopor, sendo mantidos sobre resfriamento até o processamento.

A partir do primeiro corte (no sentido da fibra) a amostra deverá ser inserida em glutaraldeído para iniciar sua fixação, facilitando sua manipulação e preservação da qualidade.

Os materiais devem ser recortados no tamanho indicado para em Microscopia Eletrônica de Transmissão, fixados em glutaraldeído 2,5 % em tampão fosfato 0,1 M sob pH 7,3.

### **12.3 SEQÜÊNCIA DE PREPARAÇÃO NO LABORATÓRIO**

- lavar em tampão fosfat o 0,1 M, pH 7,3 por 3 vezes, com duração de 5 minutos cada;

- fixar em tetróxido de ósmio 1 % em tampão fostato 0,1 M, pH 7,3 por 2 horas;

- lavar em água destilada 3 vezes (5 minutos cada vez);

- colocar em acetato de uramila 0,5 % em água destilada por mais ou menos 2 horas;

- desidratar em acetona;

- acetona a 50 % - 2 vezes (10 minutos cada vez)

- acetona a 70 % - 2 vezes (10 minutos cada vez)

- acetona a 90 % - 3 vezes (15 minutos cada vez)

- acetona a 100 % - 3 vezes (15 minutos cada vez)

- infiltrar em acetona 100 % com araldite 1:1 por mais ou menos 24 horas;

- incluir em araldite e colocar em estufa 60 °C por 48 horas;

- fazer os cortes semifinos ( $0,5 \mu$ ) e colocá-los em lâmina histológica;

- corar com azul de toluidina para selecionar o campo para o corte ultrafino.

Os cortes ultrafinos deverão ser feitos em ultramicrotomo (Leica Ultracut UCT) com 70 a 80 nm e colocados em telas de cobre e contrastados com acetato de uramila e citrato de chumbo.

As análises serão realizadas em Microscópio Eletrônico de Transmissão (CM100 philips).

## 12.4 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Após este procedimento, as amostras deverão ser avaliadas através de microscopia ótica para seleção dos campos que serão recortados e preparados para a análise em microscopia eletrônica de transmissão.

## 12.5 ANÁLISE

Na microscopia eletrônica, no menor aumento, deve-se então procurar os campos onde as fibras estão totalmente no sentido longitudinal e, em seguida, deve-se ir aumentando o campo até que seja possível a visualização dos sarcômeros.

O aumento a ser utilizado varia de acordo com o que se deseja estudar. A princípio, para a mensuração do comprimento do sarcômero, o aumento de 1950 x é suficiente.

Uma vez escolhido o campo de interesse, deve-se fotografá-lo com a câmera acoplada ao microscópio. Depois, deve-se avaliar essas imagens com o auxílio de programa de computador para análise de imagens como o utilizado para medição de diâmetro de fibra muscular.

As medidas do comprimento do sarcômero serão expressas em  $\mu\text{m}$  (**figura 41**).

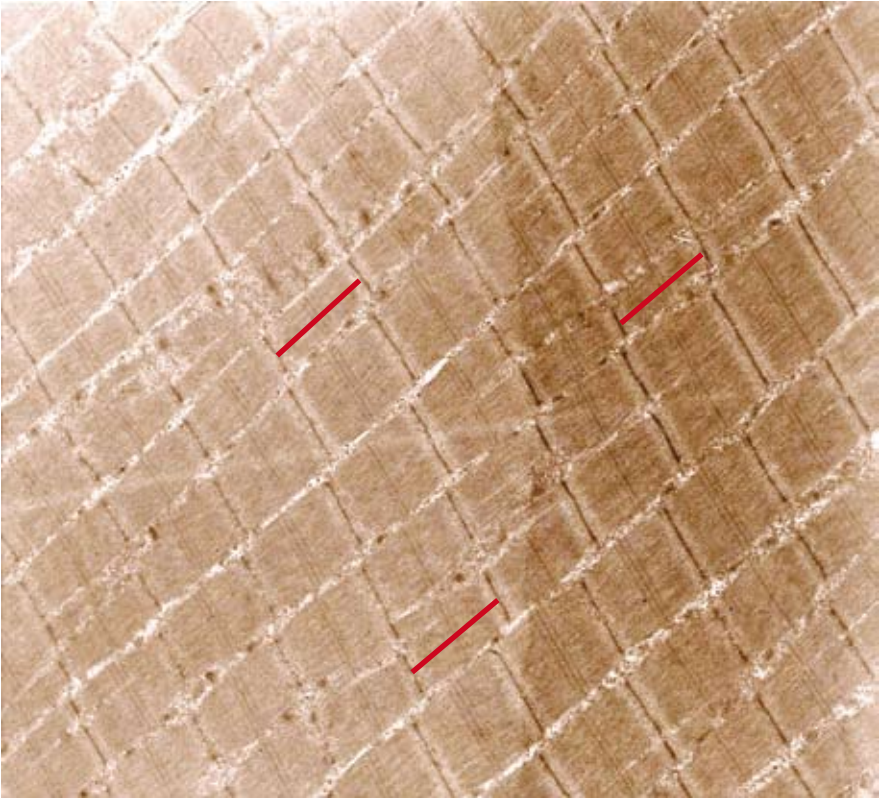
**Figura 41**

Foto de fibras musculares, no sentido longitudinal, em microscopia eletrônica de transmissão. As linhas em vermelho indicam a medida do comprimento de sarcômero.



## REFERÊNCIAS

---

A.B.N.T. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12994. Métodos de análise sensorial dos alimentos – classificação. Rio de Janeiro: ABNT. Jul. 1993.

\_\_\_\_\_. NBR 13170. Teste de comparação pareada em análise sensorial de alimentos e bebidas – procedimentos. Rio de Janeiro: ABNT. Fev. 1994a.

\_\_\_\_\_. NBR 13170. Teste de ordenação em análise sensorial – procedimentos. Rio de Janeiro: ABNT. Jun. 1994b.

Al-HASANI, S.M.; SHABANY, H.; HLAVAC, J. Rapid determination of cholesterol in selected frozen foods. *Journal of AOAC International*, v.73, p. 817-820. 1990.

ANDRADE, A.D. Ácidos graxos ômega-3 em peixes, óleos de peixes e óleos vegetais comestíveis. 1994. Tese (Mestrado em Química Aplicada)- DQI – UEM, Maringá.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 6 ed. Arlington, Virginia: Kenneth Helrich. 1990, v.1, p.684,

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. Meat evaluation handbook. Savoy: – AMSA, 2001. p.83-116.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS – ABCS. Métodos brasileiro de classificação de carcaças. 2.ed. Rio Grande do Sul: Estrela, 1973. 17 p.

AZEVEDO, C.H. Teores de isômeros trans em gorduras vegetais hidrogenadas avaliados por diferentes técnicas instrumentais. 1999. Dissertação (mestrado)- FEA/Unicamp, Campinas.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. Cholesterol oxide, cholesterol, total lipid and fatty acid contents in processed meat products during storage. *LWT-Food Science and Technology*. 2006, v. 39, p. 513-520.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n.18, p. 911-917. 1959.

BOCCARD, R.; BUCHTER, L.; CASSELS, E. et al. Proceedings for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Beef Production Program: Report of a working group in the Commission of the European Communities. 1981.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol em carne suína e bovina e efeito do cozimento. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 15, n. 1, p. 11-17. 1995.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, p. 98-104. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. LANARA - Método Analítico Oficial para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. II - Métodos Físicos e Químicos, Brasília, set. 1981.

BRASIL. Leis e Decretos, etc. Resolução n. 20/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. In: *Compêndio da legislação de alimentos*. São Paulo- SP. ABIA, 1989.

CHANNON, H.A.; PAYNE, A.M.; WARNER, R.D. Halothane genotype, pre-slaughter handling and stunning method all influence pork quality. *Meat Science*, v. 56, p.291- 299, 2000.

CHRISTIE, W.W. *Gás chromatography and lipids – A practical guide*. The oil press Ltda Dundee – Scotland, 1 ed. 1994. 307p.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. *Introdução a Métodos Cromatográficos*. Editora da Unicamp. 4 ed. ,Campinas, São Paulo. 1990. 279p.

CRACKEL, R.L. ; GRAY, I.J. ; PEARSON, A.M. et al. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. *Food Chemistry*, v.28, p.187-196, 1988.

CULLER, R.D.; PARRISH, F.C.; SMITH, G.C. et al. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical, and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *Journal of Food Science*, v. 43, p.11-77, 1978.

CUNNIFF, P.A. (Ed.). *Official Methods of Analysis of the Association Official Analytical Chemist*. 16 ed. Arlington: Association Of Official Analytical Chemists. 1998.

De SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. *Colesterol da mesa ao corpo*. 1.ed. São Paulo: Editora Varela, 1989. 85p.

DUTCOSKY, S.D. *Análise sensorial de alimentos*. Editora Universitária Champagnat. Curitiba, 1996. 123 p.

FENNEMA, O.R. (Editor). *Food Chemistry*. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. 1069 p.

FENTON, M. Review: Chromatographic separation of cholesterol in foods. *Journal Chromatographic*. v. 624, p. 369-388. 1992.

FONSECA, D.M. *Composição físico-química e perfil de ácidos graxos em novilhas de búfalo Murrah (Bubalus bubalis) terminadas em confinamento em função do implante hormonal e esferas de chumbo no útero*. 2003. *Dissertação (Mestrado em Química) – UEM. Maringá*.

GUIDONI, A.L. *Melhoria de Processos para a tipificação e valorização de carcaças suínas no Brasil*. In: *CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE A QUALIDADE DE CARNE SUÍNA*, 1., 2000. Concórdia: EMBRAPA -CNSA, 2000. p. 221- 234

GURR, M.I. *Role of Fats in Food nutrition*. Elsevier Applied Science Publishers LTD- London and New York - 1986. 170p.

HOPKINS, D.L.; LITTLEFIELD, P.J.; THOMPSON, J.M. A research note on factors affecting the determination of myofibrillar fragmentation. *Meat Science*, v. 56, p. 19-22, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físicos e químicos para análise de ali-*

mentos. 3.ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 1985. v.1, p.533.

IRGANG, R. Predição do rendimento de carne na carcaça de suínos. [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <ambri-di@hotmail.com> 2 de jul . 2004.

ISO – International Organization for Standardization. Geneve: Method ISO 5509. 1978.

JOURNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPÉIA. Relativo à classificação pautal de carcaças e meias carcaças de suínos. Regulamento CE no. 2810/95. n. 2291 de 06/12/1995, p. 24-25.

LANÇAS, F.M. Cromatografia em Fase Gasosa. Suprema Gráfica e Editora - São Carlos. 1993. 240p.

LEHNINGER, A.L. Princípios de Bioquímica. SARVIER – Editora de livros médicos Ltda - São Paulo - SP. 1984. p.43-225.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Princípios de Bioquímica. Traduzido por Arnaldo A. Simões e Wilson Roberto N. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

MATIN, J.C.; GRÉGOIRE, S.; SIESS, M.H. et al. Effects of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats. *Lipids*. v. 35, p.91-98, 2000.

MATSUSHITA, M. Longissimus dorsi composition and fatty acid profile of young goats slaughtered at different ages. *Anais da Associação Brasileira de Química*, v. 51, p. 129-133, 2003.

MEDINA, E.A.; HORN, W.F.; KEIM, N.L. et al. Conjugated linoleic acid supplementation humans: Effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids*. v.35, p.783-788, 2000.

MINOLTA. Precise color communication: color control from perception to instrumentation [Japan: Minolta co., 1998]. p.19.

MOREIRA, A.B.; TARLEY, C.R.T.; DAMASCENO, J.C. et al. Colesterol em refeições comerciais consumidas na cidade de Londrina (PR), Brasil. *Boletim CEPPA*, v. 15, p. 149-158. 1997.

NETTLETON, J.A. Omega-3 Fatty Acids and Health. Chapman & Hall. New York- USA. 1995. 358p.

- NOÇÕES BÁSICAS DE CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA. Instrumentos Científicos C. G. LTDA. São Paulo. 1978. 29p.
- PEREIRA, N.R.; MUNIZ, E.C.; MATSUSHITA, M. et al. Cholesterol and Fatty acids Profile of Brazilian Commercial Chicken Giblets. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 52, p.203-206. 2002.
- PORKWORLD. Manual de cortes de carne suína. [São Paulo]: Animalworld, [2004a]. v. 2.
- \_\_\_\_\_. Manual de cortes de carne suína. [São Paulo]: Animalworld, [2004b]. v. 3.
- PRADO, I.N.; MOREIRA, F. B.; MATSUSHITA, M. et al. Longissimus dorsi fatty acid composition of *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred steers finished in pasture systems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 4, p. 601-608, 2003.
- ROBINSON, N.P.; MacGIBBON, A.K.H. Determination of the conjugated linoleic acid-containing triacylglycerols in New Zealand bovine milk fat. *Lipids*. v. 35, p. 789-796, 2000.
- ROWE, A.; MACEDO, F.A.F.; VISENTAINER, J.V. et al. Muscle composition and fatty acid profile in lambs finished in drylot or pasture. *Meat Science*, v. 51, p. 283-288, 1999.
- SEHAT, N.; YURAWECZ, M.P.; ROACH, J.A.G. et al. Silver-ion high-performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Lipids*. v. 33; p. 217-221, 1998.
- SILVA, C.A.; ZARA, R.F.; SILVA, W. et al. Qualidade e aceitação da carne de suínos tratados com grão de girassol nas fases de crescimento e terminação. In: XI Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, 2003. Goiânia/GO. Anais do XI Congresso da ABRAVES. ABRAVES v.II, p. 331-332, 2003.
- SINGH, M.; THOMPSON, H.J.; PARIZA, M.W. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research*. v.54, p. 1212-1215, 1994.

- SOUZA, N.E.; MATSHUSHITA, M.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos: Estrutura, Nutrição e Saúde. Arquivos da Apatdec. v. 2. p.102-107. 1998.
- STRÁNSK, K.; JURŠÍK, T.; VITEK, A. Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. Journal of High Resolution Chromatography. v.30, p. 143-158, 1997.
- TAHIN, Q.S. Importância fisiológica e patológica dos ácidos graxos. Brazilian Archives of Biology and Technology, v.28, p. 335-61, 1985.
- TARLADGIS, B.G.; PEARSON, A.M.; DUGAN JR., L.R. Chemistry of the 2-thiobarbituric test for determination of oxidative rancidity in foods II. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. Journal of Food Science and Agriculture, v.5, p.602-604, 1964.
- TORQUATO, A.S. Caracterização físico-química e perfil de ácidos graxos de carnes de frango da linhagem Cobb tratados com rações enriquecidas com diferentes óleos. 2002. Dissertação (Mestrado em Química) – UEM, Maringá.
- VISENTAINER, J.V.; FRANCO, M.R.B. Ácidos graxos em óleos e gorduras: Identificação e Quantificação. 1 ed. Editora Varela. São Paulo, 2006. 120p.
- ZARA, R.F.; VISENTAINER, J.V.; MORAES, G.V. et al. Proximate composition and fatty acid profile of semi confined young capybaras meat. Journal of Food Composition and Analysis, v. 18, p. 647-654, 2005
- WARNER, R.D.; KAUFFMAN, R.G. GREASER, M.L. Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. Meat Science, v. 45, n. 3, p. 339-352, 1997.