

Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Estudo do efeito de embalagens nas
características de qualidade da carne bovina
maturada a seco**

Vanessa Cristina Francisco

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de
Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Renata Tieko Nassu

Coorientador: Dr. Sérgio Bertelli Pflanzner Junior

Araraquara

2021

Estudo do efeito de embalagens nas características de qualidade da carne bovina maturada a seco

Vanessa Cristina Francisco

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de
Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Renata Tieko Nassu

Coorientador: Dr. Sérgio Bertelli Pflanzner Junior

Araraquara

2021

F819e Francisco, Vanessa Cristina.
Estudo do efeito de embalagens nas características de qualidade da carne bovina maturada a seco / Vanessa Cristina Francisco. – Araraquara: [S.n.], 2021.
155 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Renata Tieko Nassu.

Coorientador: Sérgio Bertelli Pflanzner Junior.

1. Carne bovina. 2. Maciez. 3. Maturação. 4. Sabor. 5. Revestimentos comestíveis. 6. Compostos voláteis. 7. Metabolitos. I. Nassu, Renata Tieko, orient. II. Pflanzner Junior, Sérgio Bertelli, coorient. III. Título.

Folha de Aprovação

Profa. Dra. Renata Tieko Nassu

Embrapa Pecuária Sudeste São Carlos, SP

Orientadora

Profa. Dra. Renata Ernlund Freitas de Macedo

Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

Membro Titular

Profa. Dra. Ana Rita De Araújo Nogueira

Embrapa Pecuária Sudeste São Carlos, SP

Membro Titular

Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro De Azeredo

Embrapa Instrumentação São Carlos, SP

Membro Titular

Dedicado aos meus filhos Yasmin e Lucas.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Embrapa Pecuária Sudeste de São Carlos, pelo financiamento deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara-SP.

À minha orientadora professora Profa. Dra. Renata Tieko Nassu pelos ensinamentos, dedicação e incentivo.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Sérgio Bertelli Pflanze Junior, pela disponibilidade de seus laboratórios e suporte.

Ao Dr. Rymer pelos ensinamentos e por todo o suporte durante a execução dos experimentos.

À sessão e docentes do programa de pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFAR/UNESP)

À Secretaria de Pós-graduação por todo o suporte.

À toda equipe do laboratório de carnes.

Muito obrigada!

Agradecimentos pessoais

Agradeço primeiramente à DEUS, por me guiar e dar força para nunca desistir.

Aos meus filhos Lucas e Yasmin e ao meu esposo Paulo, por dividir comigo meus sonhos e compreender os momentos em que estive ausente.

Aos meus pais José e Neide e ao meu irmão Luiz Fernando, pelo apoio carinho e incentivo.

Aos velhos e novos amigos que conquistei durante este período.

Afinal, os amigos tornam mais fácil a superação dos problemas, nos acolhe, nos afasta da solidão, nos faz rir e nos aconselha quando é necessário.

Muito obrigada!

Na vida somos todos meio que pássaros...
Vez ou outra, voando sozinhos, nos damos conta de que as tempestades
eram mais amenas no conforto de nosso ninho.
No entanto, é preciso sempre se colocar adiante, sem medo de alçar voos
e construir novos ninhos.
Nunca se é tarde para recomeçar!
(Pe. Robson, Sinais 2017)

Sumário

Introdução	12
Objetivos	17
Referências	18

Capítulo 1. Qualidade da carne, perfil de aroma e preferência do consumidor de carne fresca e maturada a seco

Introdução	24
Materiais e métodos	25
Resultados e discussão	31
Conclusão	40
Referências	41

Capítulo 2. Estudo comparativo de métodos de maturação em carne bovina

Introdução	48
Materiais e métodos	49
Resultados e discussão	57
Conclusão	75
Referências	76
Anexos	82

Capítulo 3. Estudo do efeito de embalagens nas características de qualidade da carne bovina maturada a seco

Introdução	86
Materiais e métodos	87
Resultados e discussão	94
Conclusão	107
Referências	109

Capítulo 4. Effects of temperature and type of aging on the metabolite profile of beef

Introduction.....	119
Materials and methods	120
Results and discussion.....	123
Conclusion.....	134
References	136

Capítulo 5. Análise de compostos voláteis de carne maturada a vácuo e a seco, em diferentes temperaturas e tempos

Abstract	144
Materials and methods	145
Results and discussion.....	146
Conclusion.....	151
References	152
 Considerações finais	 153
Conclusão geral	154

RESUMO

Introdução: A maturação é um processo utilizado com a finalidade de aumentar a maciez da carne e melhorar outros atributos como sabor e aroma. Pode ser realizado de duas maneiras: maturação úmida (*wet aging*), na qual a carne é embalada a vácuo, ou maturação a seco (*dry aging*), no qual a carne é armazenada sem embalagem. Uma das razões para se maturar carne a seco é a obtenção de um sabor considerado único, com notas características associadas com este produto. Porém, apresenta alto custo e baixo rendimento, em razão das perdas de peso por evaporação ou devido a retirada das aparas na superfície da carne. Além disso, há risco de contaminação microbiológica devido a ausência de uma embalagem como proteção. Devido a estes fatores, o uso de embalagens permeáveis ao vapor de água e a aplicação de filmes como revestimento comestível a base de polissacarídeos ou base proteica, são alternativas para solucionar estes problemas. **Objetivo:** O objetivo geral deste estudo foi avaliar o efeito do tipo de maturação (úmida ou a seco), a utilização de embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água e revestimentos comestíveis, nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de carne bovina maturada. **Métodos:** Foram realizados quatro experimentos, com peças de contrafilé (m. *Longissimus thoracis et lumborum*): 1. Avaliação da qualidade da carne, perfil de aroma e preferência de carne não maturada e maturada a seco por 28 dias; 2. Comparação entre diferentes métodos de maturação (úmida, a seco com e sem osso e *special bag*); 3. Efeito do uso de revestimentos comestíveis (quitosana ou alginato) no processo de maturação a seco; 4. Efeito da temperatura do processo de maturação a seco no perfil de compostos voláteis e metabólitos de carne bovina. Dependendo do experimento, foram realizadas as seguintes análises: perdas no processo de maturação (peso e aparas), cor instrumental, pH, capacidade de retenção de água, perda por cocção, força de cisalhamento, teor de umidade, atividade de água, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), oxidação proteica (tióis), contagem microbiológica, perfil de compostos voláteis, análise de ressonância magnética nuclear (RMN) de alto e baixo campo e análise sensorial. **Resultados:** Na avaliação da qualidade da carne não maturada e maturada a seco, foi observado que a amostra maturada a seco apresentou aumento da maciez, maior número de compostos voláteis e também foi a preferida, em comparação à amostra não maturada. Na comparação entre os diferentes métodos de maturação, não foi observada diferença na maciez instrumental, bem como na preferência entre os tratamentos estudados, porém o número de compostos voláteis foi maior nas amostras maturadas a seco. A análise de RMN de baixo campo mostrou-se promissora para identificar os diferentes métodos de maturação em carne bovina por meio do tempo de relaxação longitudinal. No estudo de aplicação de revestimentos comestíveis e utilização de embalagem permeável ao vapor de água (*special bag*), este último foi considerado como a melhor opção tendo em vista que contribuiu para a redução de perdas e menor crescimento de microrganismos. Em relação ao efeito de temperatura no processo de maturação de carne bovina, foi observado aumento na concentração de metabólitos, mais notadamente de aminoácidos, com diferenças entre os tipos de maturação,

dependendo da temperatura. Para formação de compostos voláteis, temperaturas mais altas não são favoráveis pois ocasionam mais produtos de oxidação que podem interferir no aroma e sabor do produto. **Conclusão:** Os resultados obtidos neste estudo indicam que a maturação a seco é uma boa alternativa para melhorar a qualidade da carne e agregar valor ao produto final. Em relação ao uso de embalagens, a utilização dos revestimentos de quitosana e alginato foi considerada viável, com potencial para ser aplicada no processo de maturação a seco, no entanto são necessários mais estudos para adequar a formulação dos revestimentos, em relação a permeabilidade ao vapor de água por exemplo, bem como a adição de óleos essenciais para assegurar melhor estabilidade microbiológica do produto. A embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água (*special bag*) foi considerada a opção mais adequada, pois contribuiu com a redução de perdas, diminuiu crescimento de microrganismos, apresentou maior intensidade da cor vermelha aos 28 dias e a maciez não apresentou diferença em relação aos demais tratamentos.

Palavras-chave: Carne bovina; Maciez; Maturação; Sabor; Revestimentos comestíveis; Compostos voláteis; Metabolitos

ABSTRACT

Introduction: Aging is a process that increases meat tenderness and improves other attributes such as aroma and flavor. The process can be carried out in two ways: wet aging (vacuum-packed meat) or dry aging (meat aged without packaging). One of the reasons for dry-aging meat is to obtain a unique flavor, with characteristic notes that are usually associated with this product. However, it is a high-cost product due to the weight loss and crust removal. Microbiological contamination is also a concern due to the lack of packaging to protect the product. Due to these facts, the utilization of water vapor-permeable packaging and the application of carbohydrate- or protein-based edible coatings are alternatives for solve these problems. **Objective:** This study aimed to evaluate the effect of the type of aging (wet- or dry-), the use of packaging with high permeability to water vapor, and edible coatings on the physical-chemical, microbiological, and sensory characteristics of aged beef. **Methods:** Four experiments were carried out with *Longissimus thoracis et lumborum* muscle: 1. Evaluation of meat quality, aroma profile, and preference of non-aged and dry-aged meat for 28 days; 2. Comparison of different aging methods (wet-, dry- with bone or boneless and special bag); 3. Effect of edible coatings (chitosan or alginate) in the dry-aging process; 4. Effect of temperature in the dry-aging process on the volatile compounds and metabolites profile. Depending on the experiment, the following analyses were performed: weight and crust loss, instrumental color, pH, water holding capacity, cooking loss, shear force, moisture, water activity, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), protein oxidation (thiols), microbiological count, volatile compounds profile, high resolution or low field nuclear magnetic resonance (NMR) and sensory analysis. **Results:** In evaluating meat quality of non-aged and dry-aged meat, an increase in the tenderness, in the quantity of the volatile compounds was observed in the aged meat, which was also the most preferred. In comparing different types of aging, there was no difference in shear force nor preference among the treatments. The low-field NMR was promising for identifying the different types of beef aging through the longitudinal relaxation time analysis. In the study applying edible coatings and the special bag, the best alternative was the special bag, considering that the product had less weight and crust losses and lower microbiological count during the process. Finally, when studying the effect of temperature of aging, an increase in the number of metabolites was observed, mainly amino acids, with some differences depending on the type of aging. Regarding the volatile compounds, higher temperatures are not suitable as there is the formation of oxidation products, which can affect the aroma and flavor of the product. **Conclusion:** The obtained results indicate that dry-aging is an alternative for improving meat quality and adding value to the final product. Regarding the use of chitosan- or alginate-based edible coatings, it was considered feasible to be applied in the dry-aging process. However, more studies are needed to address barrier properties adequately and include essential oils to improve microbiological and oxidative stability. The special bag was considered a good option, as there were lower losses, diminished the growth of the microorganisms, showed more intense red color at 28 days, and the tenderness was not affected if compared to the other treatments.

Keywords: Beef; Tenderness; Aging; Flavor; Edible coatings; Volatile compounds; Metabolites

INTRODUÇÃO

Com um rebanho de 213,68 milhões de cabeças, a pecuária brasileira registrou em 2019 um abate de 43,3 milhões de cabeças, ocupando a posição de maior produtor e maior exportador de carne bovina. Em 2020, o Brasil bateu dois recordes na exportação de carne bovina, em valor, saltou para a casa de US\$ 8,47 bilhões, e em volume foi para a casa de 2 milhões de toneladas pela primeira vez na história do setor (1). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC) as ações futuras do Projeto "Brazilian Beef" será voltada especificamente para a promoção da carne *gourmet* brasileira em mercados como Europa, países árabes e China (2).

Em geral, o mercado de alimentos é muito competitivo, sendo que a oferta de um produto com elevada qualidade pode reduzir a competição pelo preço, conferindo ao fornecedor a oportunidade de agregar mais valor a seu produto. Em muitos casos, um certo nível de qualidade constitui pré-requisito importante para consumidores com maior poder aquisitivo (3).

Uma das estratégias empregadas para a melhoria dos atributos sensoriais da carne é a maturação (4). Além de promover a maciez, durante a maturação são formados precursores de aroma e sabor, que na cocção da carne formam compostos voláteis e não voláteis, que conferem um perfil de sabor característico e distinto daquele referente à carne não maturada assada (4).

O aumento na maciez durante a maturação é atribuído a ação de enzimas, principalmente da ação das catepsinas e calpaínas. As catepsinas podem atuar na degradação da actina e miosina, enquanto que as calpaínas tem atividade proteolítica variada, atuando principalmente sobre as proteínas da linha Z (5). Essas mudanças levam a um "afrouxamento" da estrutura muscular, levando a uma queda da tensão isométrica, conseqüentemente aumentando a maciez da carne (3). A técnica de maturação consiste na estocagem de cortes cárneos, por um período de 7 a 21 dias, em temperaturas acima do ponto de congelamento da carne, ou seja, em torno de -1 a 2 °C (6).

A maturação pode ser realizada de duas maneiras: a maturação úmida (*wet aging*) na qual a carne é embalada a vácuo e armazenada sob refrigeração por um período de tempo, e a maturação a seco (*dry aging*), na qual o processo é realizado com a carne sem embalagem, sob condições controladas de tempo,

temperatura, controle de ventilação e umidade relativa (7). Até o desenvolvimento da embalagem a vácuo na década de 1960, a única opção para maturar a carne bovina era a maturação a seco (8). A partir dos anos 70, à medida que a embalagem a vácuo se tornou uma forma alternativa para o acondicionamento de carne bovina, primeiro nos Estados Unidos e então, internacionalmente, a maturação a seco foi substituída pela maturação úmida. A partir da década de 1980, bem mais de 90 % da carne bovina era comercializada dessa forma (9).

A maturação úmida atualmente é o método mais utilizado na indústria de carne, consistindo em acondicionar cortes cárneos desossados em embalagens a vácuo. Dentre as principais vantagens do processo, além do aumento da maciez, está a praticidade, facilidade de transporte e menores perdas de peso durante a maturação (10). Entre as desvantagens está a formação de exsudado e de sabores indesejáveis tais como sabor metálico, sabor de fígado, sangue e ácido láctico (11). Além disso, a cor mais escura enquanto está embalada a vácuo causa rejeição pelo consumidor (12).

A maturação a seco é uma técnica antiga, praticada em muitos países da Europa e nos Estados Unidos, e atualmente no Brasil tem sido produzida e comercializada por açougues especializados, como um produto que atende nichos de mercado. Porém, apresenta algumas desvantagens em relação ao processo úmido, pois por não possuir a proteção de uma embalagem, há muita perda de produto devido a taxa de encolhimento e perda de peso ocasionada pela perda de umidade durante a maturação, bem como na retirada de aparas (parte ressecada) do produto. Isto ocasiona um aumento considerável dos custos de produção e, conseqüentemente do preço final, por este motivo açougues especializados comercializam a carne maturada a seco como um produto *gourmet* (8,13). Sendo assim, a carne maturada a vácuo (úmido) é mais popular e de preço mais acessível, enquanto que a carne maturada a seco é direcionada para nichos de mercado, sendo realizada por um número menor de fornecedores, que atende principalmente varejistas do mercado *gourmet*.

Na maturação a seco ou *dry aging*, além de ocorrer o amaciamento da carne esperado neste processo, há o desenvolvimento de um sabor considerado como único, descrito como "sabor de maturação a seco", sendo o principal motivo para a produção desse produto (7, 8). Kim et al. (14) avaliaram as

concentrações de diversos metabólitos em carnes maturadas por meio de espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN), sendo relatado que diversos aminoácidos foram encontrados em maior concentração em carnes maturadas a seco comparada as maturadas a vácuo (úmida), incluindo o glutamato que é relacionado ao gosto umami. Esses resultados indicam que a concentração de compostos relacionados ao sabor, como os aminoácidos, pode ser um dos fatores responsáveis pela diferença de sabor entre carnes maturadas a vácuo ou a seco.

Certamente as perdas por evaporação e retirada das aparas é um dos grandes problemas na produção de carne maturada a seco. Essas perdas de peso decorrentes da perda de umidade durante a maturação a seco variam normalmente entre 9 e 15 %, enquanto as perdas devido a maturação úmida variam entre 0,7 e 3 %. As perdas decorrentes das superfícies ressecadas (aparas), nas carnes maturadas a seco, podem chegar a 24 % (8, 10).

Atualmente é crescente a busca por novas estratégias para a produção de carne maturada a seco, com a finalidade de minimizar as perdas. Entre elas pode-se destacar o uso da embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água, também conhecidas como *special bag*. Essa embalagem tem o objetivo de substituir o método de maturação a seco tradicional, mantendo as mesmas características sensoriais, visando minimizar variações durante o processo, contribuindo com a qualidade final do produto. O uso de uma embalagem altamente permeável ao vapor de água pode ser uma alternativa, pois ao mesmo tempo que não impede o processo de maturação a seco, pode diminuir as perdas ocasionadas na retirada das aparas, reduzindo o risco de contaminação microbiológica (7).

Ahnström et al. (7) comparou o método tradicional de maturação a seco sem embalagem e o processo em embalagem altamente permeável ao vapor de água, quanto a aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, onde os resultados indicaram que a utilização de embalagem de alta permeabilidade aumentou o rendimento da peça e limitou a contaminação microbiológica sem alterar as características sensoriais do produto. Em outro estudo conduzido por Stenström et al. (13), sobre preferência do consumidor entre carnes maturadas a seco, a seco em embalagens permeáveis e maturação úmida, foi apontada a preferência pelos dois tipos de maturação a seco.

Uma outra alternativa para diminuição de perdas e para manutenção da qualidade em carnes maturadas a seco é o desenvolvimento e aplicação de filmes ou revestimentos a partir de materiais renováveis, como revestimento comestível a base de polissacarídeos ou base proteica, como por exemplo, a quitosana. A quitosana é um polímero natural derivado do processo de desacetilação da quitina, que é tida como o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza (15). Este material é de baixo custo, uma fonte renovável biodegradável, não tóxica, biofuncional e biocompatível e em sua maioria obtida dos resíduos da indústria pesqueira extraída do exoesqueleto de crustáceos como lagostas, caranguejos e camarões (16). Uma das características da quitosana é a presença de grupos amino livres, o que ocasiona o aumento da capacidade de reagir com várias moléculas, tornando o biopolímero com maior disponibilidade de grupos funcionais, podendo ser empregado tanto nas formas de pó, esferas ou filmes (17). Uma das suas principais propriedades é sua forte ação antimicrobiana e antifúngica (16- 17). Esses polímeros provocam a inibição do crescimento de microrganismos, como por exemplo a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *Shigella dysenteriae*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *coliformes*, *Pseudomonas fluorescens*, e *Candida*. A atividade antimicrobiana da quitosana é conferida por seus grupos aminos que, uma vez em contato com os fluidos fisiológicos, provavelmente são protonados e se ligam a grupos aniônicos desses microrganismos, resultando na aglutinação das células microbianas e ocasionam a inibição do crescimento (18).

A aplicação de quitosana tem sido estudada em carnes e produtos cárneos, tais como pescados (19), carne bovina moída (20) e carne bovina fresca (20, 21), onde foram relatados os efeitos antimicrobianos da quitosana, que inibiu o crescimento de bactérias deteriorantes, reduziu a oxidação lipídica e também resultou em melhores características sensoriais, tendo efeito no desenvolvimento da cor vermelha durante o armazenamento, no caso de carne bovina.

Outro polímero muito utilizado para a obtenção de revestimento comestível é o alginato de sódio. O alginato é um polissacarídeo de ocorrência natural, comercialmente extraído de espécies de algas marrons (22). O uso de alginatos como filmes em aplicações alimentícias tem aumentado nos últimos anos, principalmente devido a sua ação gelificante e espessante, que é resultado

da capacidade de se complexar com íons de cálcio (Ca^{2+}) (23). Este polímero apresenta biodegradabilidade, biocompatibilidade e ausência de toxicidade (24).

Na indústria de alimentos, os alginatos são largamente utilizados como aditivos com a capacidade de aumentar a viscosidade, estabilizar, emulsificar e gelificar soluções aquosas, por exemplo, em sorvetes e molhos para saladas (25).

Na literatura, muitos estudos são encontrados sobre filmes e revestimentos a base de alginato de sódio, na maioria para estender a vida pós-colheita de frutas e hortaliças. Laranjas minimamente processadas submetidas a revestimento de alginato (1 %), apresentaram menor perda de massa ao longo do período de armazenamento (26). Cachos de uva 'Itália' tratados com alginato (1 %) apresentaram menor perda de massa, manutenção da textura, menor intensidade de escurecimento e com boa aceitabilidade sensorial (27).

Alguns estudos em carnes e produtos cárneos também são relatados. Comaposada et al. (28) utilizaram filme de alginato como invólucro para carnes recheadas. Molayi et al. (29) observaram efeito antimicrobiano em revestimento de alginato incorporado de lactoperoxidase. Chidanandaiah et al. (30) utilizaram alginato no revestimento de bifes, armazenados por até 21 dias, sendo que foi observada uma diminuição nos valores de oxidação lipídica e contaminação microbiológica, sem alterar as características sensoriais.

Há vários trabalhos sobre a comparação entre a maturação a seco e úmida (31,32, 33,34, 8). Poucos relatam quais seriam os possíveis compostos de sabor responsáveis por tais diferenças. No Brasil, ainda são escassos os estudos científicos que definam a padronização do processo e a formação de compostos de sabor na maturação a seco (35). Portanto, a determinação de parâmetros para a maturação a seco e o desenvolvimento de alternativas que aumentem os ganhos de peso final do produto e ao mesmo tempo que limitem a contaminação microbiológica, como por exemplo, o uso de embalagens altamente permeáveis e uso de revestimentos comestíveis são de grande importância. Os resultados deste estudo poderão auxiliar o Brasil a ingressar no mercado de carnes *gourmet* e ao mesmo tempo garantir um produto de qualidade. Considerando a importância de estudos para preservação de carne bovina, este projeto propõe a utilização de embalagens e revestimentos

comestíveis, com a finalidade de promover a conservação do produto, sem alterar as propriedades sensoriais da maturação a seco em carne bovina.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tipo de maturação, e os efeitos da utilização de embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água e revestimento de quitosana e alginato de sódio, nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de carne bovina.

Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade da carne, perfil de aroma e preferência do consumidor de carne não maturada e maturada a seco de animais da raça Canchim.
- Avaliar a qualidade da carne, preferência do consumidor, perfil de compostos voláteis e análise de RMN-DT em carne bovina submetida a diferentes métodos de maturação.
- Avaliar o efeito do uso de diferentes embalagens na qualidade físico-química e microbiológica de carne bovina maturada a seco.
- Avaliar o efeito dos métodos de maturação úmido e a seco, a temperaturas de 2 °C e 7 °C, por 21 e 42 dias de maturação, sobre o perfil de metabólitos por ^1H -NMR e perfil de compostos voláteis por CG-EM.

REFERÊNCIAS

1. ABIEC- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne Beef. Beef Report Perfil da Pecuária no Brasil. 2020. [cited 2021 Jan 10] p. 49. Available from: <https://www.beefpoint.com.br/confira-o-beef-report-perfil-da-pecuaria-no-brasil-2020-da-abiec/>
2. ABIEC- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne]. Estatísticas - Balanço da pecuária. 2016 [cited 2016 Jan 10]. p. Available from: <http://www.abiec.com.br/texto.asp?id=8>.
3. Gomide L A M, Ramos E M, Fontes PR. Ciência e qualidade da carne. Viçosa: UFV; 2013. 599 p.
4. Brewer S. The Chemistry of Beef Flavor - Executive Summary. Natl Cattlemen's Beef Assoc. 2007;16.
5. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
6. Judge MD. Principles of meat science. 1989. 417p.
7. Ahnström ML, Seyfert M, Hunt MC, Johnson DE. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. Meat Sci. 2006;73(4):674–9.
8. Savell JW. Dry-Aging of Beef. Natl Cattlemen's Beef Assoc. 2008.
9. Beefpoint. Carne maturada a seco (dry-aged): tudo o que você precisa saber [Internet]. 2014. Available from: <https://www.beefpoint.com.br/aprenda-como-preparar-carne-maturada-a-seco-dry-aged-em-sua-casa/>
10. Warren KE, Kastner CL. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins. J Muscle Foods. 1992;3(2):151–7.
11. Stetzer AJ, Cadwallader K, Singh TK, Mckeith FK, Brewer MS. Effect of enhancement and ageing on flavor and volatile compounds in various beef

- muscles. Meat Sci. 2008;79(1):13–9.
12. El-Din Ahmed Bekhit A, Morton JD, Bhat ZF, Kong L. Meat Color: Factors Affecting Color Stability. Encycl Food Chem. 2019 Jan 1;202–10.
 13. Stenström H, Li X, Hunt MC, Lundström K. Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. Meat Sci. 2014;96(1):661–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.022>
 14. Kim YHB, Kemp R, Samuelsson LM. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. Meat Sci. 2016;111:168–76.
 15. Campos CA, Gerschenson LN, Flores SK. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. Food Bioprocess Technol. 2011;4(6):849–75.
 16. Azevedo VVC, Chaves SA, Bezerra DC, Lia Fook M V, Costa A. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. Rev eletrônica Mater e Process. 2007;2(3):27–34.
 17. Airoidi C. A relevante potencialidade dos centros básicos nitrogenados disponíveis em polímeros inorgânicos e biopolímeros na remoção catiônica. Quim Nova. 2008;31(1):144–53.
 18. Silva HSRC, Santos KSCR dos, Ferreira EI. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. Quim Nova. 2006 Jul;29(4):776–85.
 19. Nunes EMS. Efeito do revestimento de quitosana na vida útil de filé de pargo (*Lutjanus purpureus*) armazenados sob congelamento[Dissertação] Universidade Federal do Ceará; 2014. 69f.
 20. Darmadji P, Izumimoto M. Effect of chitosan in meat preservation. Meat

- Sci. 1994;38(2):243–54.
21. Alves HC. Avaliação Do Efeito De Revestimentos Naturais Na Conservação De Carne Bovina Resfriada E Embalada a Vácuo.[Dissertação] Universidade Federal De São Carlos; 2015. 80f.
 22. Senturk Parreidt T, Müller K, Schmid M. Alginate-Based Edible Films and Coatings for Food Packaging Applications. *Foods*. 2018;7(10):170.
 23. Costa MJ, Marques AM, Pastrana LM, Teixeira JA, Sillankorva SM, Cerqueira MA. Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocoll*. 2018;81:442–8.
 24. Roopa BS, Bhattacharya S. Alginate gels: I. Characterization of textural attributes. *J Food Eng*. 2008;85(1):123–31.
 25. Garcia-Cruz CH, Foggetti U, Da Silva AN. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. *Quim Nova*. 2008;31(7):1800–6.
 26. Groppo VD, Spoto MHF, Gallo CR, Sarmento SBS. Efeito do cloreto de cálcio e da película de alginato de sódio na conservação de laranja “Pera” minimamente processada. *Ciência e Tecnol Aliment*. 2009;29(1):107–13.
 27. Miguel ACA, Dias JRPS, Albertini S, Spoto MHF. Pós-colheita de uva “Itália” revestida com filmes à base de alginato de sódio e armazenada sob refrigeração. *Ciência e Tecnol Aliment*. 2009;29(2):277–82.
 28. Comaposada J, Marcos B, Bou R, Gou P. Influence of surfactants and proteins on the properties of wet edible calcium alginate meat coatings. *Food Res Int*. 2018 Jun 1;108:539–50.
 29. Molayi R, Ehsani A, Yousefi M. The antibacterial effect of whey protein-alginate coating incorporated with the lactoperoxidase system on chicken

- thigh meat. *Food Sci Nutr*. 2018 Jun;6(4):878–83.
30. Chidanandaiah, Keshri RC, Sanyal MK. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) storage. *J Muscle Foods*. 2009;20(3):275–92. <http://dx.doi/abs/10.1111/j.1745-4573.2009.00147.x>
 31. Parrish FC, Boles JA, Rust RE, Olson DG. Dry and wet aging effects on palatability attributes of beef loin and rib steaks from three quality grades. *J Food Sci*. 1991;56(3):601–3.
 32. Dikeman ME, Obuz E, Gök V, Akkaya L, Stroda S. Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef *Longissimus lumborum* steaks. *Meat Sci*. 2013;94(2):228–33.
 33. Li X, Babol J, Wallby A, Lundström K. Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef *gluteus medius* aged in a dry ageing bag or vacuum. *Meat Sci*. 2013;95(2):229–34.
 34. Li X, Babol J, Bredie WLP, Nielsen B, Tománková J, Lundström K. A comparative study of beef quality after ageing *longissimus* muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat Sci*. 2014 Aug 1;97(4):433–42.
 35. Bernardo AP da S, Silva ACM da, Francisco VC, Ribeiro FA, Nassu RT, Calkins CR, et al. Effects of freezing and thawing on microbiological and physical-chemical properties of dry-aged beef. *Meat Sci*. 2020;161:108003.

Capítulo 1.

Qualidade da carne, perfil de aroma e preferência do consumidor de carne não maturada e maturada a seco

RESUMO

Introdução: A maturação é uma alternativa utilizada para melhorar a qualidade sensorial da carne em relação à maciez e agregação de valor ao produto. **Objetivo:** Avaliar qualidade da carne, perfil de aroma e preferência do consumidor de carne não maturada e maturada a seco de animais da raça Canchim. **Métodos:** Foram utilizados cinco animais da raça Canchim (5/8 Charolês x 3/8 Zebu). Os animais foram abatidos aos 36 meses de idade e com 562 kg de peso médio. Após 24 horas *post mortem*, foram retirados os músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* (lado direito da carcaça) com aproximadamente 30 cm de comprimento. Metade de cada músculo foi desossado e cortado em bifes de 2,5 cm largura (amostra não maturada). A outra metade, músculo com osso, foi mantida à temperatura de 1 ± 1 ° C e 70 % de umidade relativa em uma câmara refrigerada por 28 dias (a seco). Após a maturação a seco, as amostras foram desossadas e aparadas. Foram realizadas análises de qualidade da carne (cor, pH, capacidade de retenção de água - CRA, perda por cocção - PPC e força de cisalhamento), oxidação lipídica, análise sensorial e compostos voláteis. **Resultados:** O processo de maturação influenciou significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros de cor, pH e força de cisalhamento. Por outro lado, a PPC e CRA não foram afetadas pelo processo de maturação. A carne bovina maturada a seco mostrou maior intensidade da cor vermelha em relação à carne não maturada. Compostos voláteis de importância odorífera foram encontrados na carne maturada a seco, contribuindo para o seu sabor único, podendo ser um dos fatores, além da maciez, para ser mais preferida do que a carne não maturada neste estudo. **Conclusão:** O processo de maturação a seco apresentou-se como uma boa alternativa para obtenção de um produto que atende aos anseios do consumidor.

Palavras-chave: Sabor; Análise sensorial; Maciez; CG-EM

1. INTRODUÇÃO

A raça bovina Canchim é composta por uma população de bimestiços 5/8 Charolês + 3/8 Zebu, desenvolvida pelo Ministério da Agricultura na então Estação Experimental de São Carlos (atualmente Embrapa Pecuária Sudeste), a partir da década de 1940, por meio do cruzamento alternado entre Charolês e Zebu (Guzerá, Indubrasil e Nelore). Os bovinos da raça Canchim têm sido usados com sucesso em várias regiões do Brasil, tanto como raça pura como em cruzamentos para produção de carne bovina (1). A raça foi criada com o objetivo de unir as qualidades do Zebu, como rusticidade e adaptação ao clima tropical, com as características de precocidade no ganho de peso e rendimento de carne do gado europeu (2,3).

A maturação é a alternativa mais utilizada para melhoria da qualidade sensorial da carne em relação à maciez, além disso agrega valor ao produto, consistindo em um processo pós abate, onde se utiliza condições controladas em que a carne é embalada a vácuo e mantida a temperaturas de -1 a 2°C por determinado número de dias (4). Entretanto, outro método de maturação vem despertando o interesse, a maturação a seco também conhecida como *dry aging*, onde a carne é maturada na ausência de embalagem em condições de temperatura, ventilação e umidade relativa controladas. Apesar de ter como desvantagem menor rendimento durante o processo, vários estudos ressaltam o impacto positivo no sabor do produto, promovendo um sabor acentuado e desejável (5, 6).

Muitos trabalhos sobre maturação a seco são encontrados na literatura (7, 8, 9). No Brasil, estes estudos estão apenas se iniciando, sendo que em sua maioria são utilizados animais de raças europeias. Cerca de 80 % do rebanho brasileiro é composto por animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), que são animais de comprovada rusticidade e adaptação ao ambiente predominante no Brasil (10). Em geral, os animais de raças zebuínas tem a carne menos macia quando comparado com raças europeias (11). Essa diferença na maciez pode ser relacionada à tendência desses animais apresentarem menores marmorização e atividade enzimática, onde animais *Bos indicus* apresentam maiores concentrações da enzima calpastatina no músculo em relação a animais *Bos taurus* (12, 13).

Deste modo, estudos que utilizam raças adaptadas são de grande importância, pois a maturação a seco é uma alternativa para agregar valor à carne no mercado nacional. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da carne, perfil de aroma e preferência do consumidor de carne não maturada e maturada a seco de animais da raça Canchim.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados cinco animais da raça Canchim (5/8 Charolês x 3/8 Zebu), que receberam a mesma ração peletizada (25 % casca de amendoim; 69,23 % grão de milho; 2,27 % farelo de soja; 1 % bicarbonato de sódio; 1,50 % minerais; 1,00 % de ureia e 0,03 % de monensina na matéria seca) durante quatro meses de confinamento. Os animais foram abatidos aos 36 meses de idade e com média de 562 kg de peso vivo. Após 24 horas *post mortem*, foram retirados os músculos *Longissimus thoracis* e *lumborum* (lado direito da carcaça), com aproximadamente 30 cm de comprimento. Metade de cada músculo foi desossado e cortado em bifes de 2,5 cm de espessura (amostra não maturada). A outra metade (amostras com osso) com cerca de 15 cm, foi mantida à temperatura de 1 ± 1 °C e 70 % de umidade relativa em uma câmara refrigerada por 28 dias no processo de maturação a seco. Após a maturação, as amostras de maturação a seco foram desossadas e as aparas foram retiradas, obtendo-se também bifes de 2,5 cm de espessura. As análises descritas a seguir foram realizadas nas amostras não maturadas e maturadas a seco. As amostras de compostos voláteis e análise sensorial foram congeladas a -18°C para posterior análise.

2.2. Cor Objetiva

Foi realizado um corte transversal no músculo 30 minutos antes da leitura para expor a mioglobina ao oxigênio, sendo a leitura foi realizada em três pontos de cada amostra. Com a utilização do colorímetro portátil (Hunter Lab MiniScan XE Plus, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, EUA), as amostras foram analisadas de acordo com o sistema CIELAB, por meio dos parâmetros L* - luminosidade, (0 = preto; 100 = branco), a* = coordenada vermelho/verde (+a

= vermelho e $-a$ = verde) e b^* = coordenada amarelo / azul ($+b$ = amarelo e $-b$ = azul), com iluminante D65 e observador a 10° .

2.3. pH

A análise de pH foi realizada com auxílio de um peagâmetro (Testo AG, model 230, Lenzkirch, Germany), provido de um sensor para leitura de temperatura e outro para leitura de pH. O aparelho foi calibrado antes do início das análises com tampões de pH 7 e pH 4. A leitura foi realizada em cinco pontos de cada amostra.

2.4. Capacidade de retenção de água- CRA

Para análise de determinação da capacidade de retenção de água (CRA), foi utilizada a metodologia descrita por Hamm (14). Foram retiradas de cada amostra três alíquotas de aproximadamente 2 g de carne (triplicata). Essas alíquotas foram pesadas em balança analítica, colocadas entre papel de filtro e este, entre duas placas de acrílico. Um peso de 10 kg foi colocado sobre a placa de acrílico por cinco minutos, logo após foram novamente pesadas. O valor de CRA de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (1):

(1)

$$CRA (\%) = \frac{\text{peso da amostra prensada}}{\text{peso da amostra não prensada}} \times 100$$

2.5. Perda por cocção (PPC) e força de cisalhamento

Para determinação da perda por cocção, bifes com aproximadamente 2,5 cm de espessura foram pesados *in natura* e em seguida submetidos a tratamento térmico em forno combinado da marca Tedesco (Tedesco, Caxias do Sul, RS, Brasil), pré-aquecido à 180°C , até que a temperatura interna atingisse 70°C . Em cada bife foi introduzido um termopar da marca Flyever (modelo FE MUX, São Carlos, SP, Brasil), monitorado por meio do software Embrapa Mux 12. Após os bifes esfriarem à temperatura ambiente, foi realizada uma nova pesagem,

para determinar a perda de peso por cocção. O valor de PPC de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (2):

$$PPC (\%) = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad (2)$$

Após a determinação da perda por cocção, os bifes foram embalados em plástico filme de PVC, devidamente identificados, e levados ao refrigerador à temperatura de 6 °C por um período de 12 h. Utilizando-se um vazador cilíndrico metálico (*coring cutter*), foram retirados paralelamente ao sentido longitudinal das fibras musculares de oito a dez cilindros de 1,27 cm de diâmetro, por bife. Os cilindros foram imediatamente cisalhados em um texturômetro (Texture Analyser TA.XT. Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK), equipado com lâmina de Warner-Bratzler, de 1,016 mm de espessura. O texturômetro foi calibrado adicionando o peso padrão de 10 kg na base superior do braço do texturômetro e as condições de análise foram: velocidade 200 mm/min; célula de carga 50 kg; distância 40 mm. A amostra foi posicionada no centro da lâmina Warner-Bratzler para realização da medida. A média dos resultados de força de cisalhamento dos cilindros de cada bife foi considerada como o valor de maciez final de cada amostra.

2.6. Perda de peso para maturação a seco

Foram realizadas pesagens: no dia inicial do experimento e durante a maturação: na primeira semana as pesagens foram realizadas a cada três dias, e após este período, uma vez por semana até o final do experimento. Foi calculada a perda por evaporação durante o processo e a perda durante a desossa e retirada das aparas.

2.7. Oxidação lipídica

A determinação de oxidação lipídica foi realizada por análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (15). As análises foram realizadas de acordo com a metodologia de Vyncke (16,17) modificada por Sørensen e Jørgensen (18), utilizando o ácido 2-tiobarbitúrico na concentração de 0,04 M. Foram coletadas amostras de carne e gordura nas amostras não maturadas e depois com 28 dias de maturação. Foi utilizada uma alíquota de 2,5 g de amostra, adicionado 7,5 mL de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5 %, 0,1 % propilgalato e 0,1 % de etilenodiamino tetracético dibásico de sódio (EDTA), seguido de homogeneização em ultra turrax durante 30 s a 13.500 rpm e filtrado em papel qualitativo. Três mL deste extrato foram transferidos para um tubo de vidro com tampa rosqueável, sendo adicionados 3 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), tampado e levado em um banho-maria a 100 °C por 40 minutos. Após o resfriamento, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 532 nm em espectrofotômetro (Femto, modelo 432). Para esta análise foram coletadas amostras da carne (região interna) e da gordura de cobertura das peças (região externa). As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra. Os valores foram expressos como substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) em micro mol de malonaldeído (MDA)/kg de carne/gordura usando uma curva padrão (19). As análises foram realizadas em triplicata.

2.8. Análise de compostos voláteis

Preparo da amostra e extração

Esta análise foi realizada com carne de cinco animais de cada tratamento (não maturada e maturação a seco). As amostras de carne foram descongeladas à temperatura de refrigeração (6 °C) por 24 h. Após o descongelamento, foi realizada limpeza da carne com a retirada de gorduras aparentes. Em seguida, a carne foi submetida à cocção em forno elétrico (NKS®, modelo Ford 9 Litros, Queimados, RJ, Brasil), pré-aquecido a 180 °C por aproximadamente 15 minutos, até atingir a temperatura interna de 75 °C, medida com um termopar.

Após a cocção, cada amostra foi triturada por aproximadamente 30 s em um béquer de 600 mL com auxílio de um processador de alimentos (Walita®, modelo Viva RI1364/06, Varginha, MG, Brasil). Alíquotas de 10 g de carne assada foram pesadas em frascos de 60 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/silicone.

Para a extração dos compostos voláteis foi empregada a técnica de microextração em fase sólida (MEFS). A fibra de revestimento utilizada foi a CAR/PDMS (Carboxen/polidimetilsiloxano, Supelco, Bellefonte, Pa, USA). Antes do primeiro uso, a fibra foi condicionada no injetor do cromatógrafo conforme recomendação do fabricante (60 min a 300 °C).

O frasco contendo a amostra triturada foi colocado em banho-maria a 60 °C, permanecendo 10 min sem exposição da fibra (tempo de equilíbrio). Após este período, a fibra foi exposta no *headspace*, onde permaneceu por 65 min. A análise foi realizada em triplicata.

Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás (Shimadzu® modelo QP-2010, Kyoto, Japão), acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolar. A dessorção térmica dos analitos da fibra foi realizada a 300°C em um injetor do tipo *split/slitless* no modo *splitless* por 1 min. A fibra permaneceu no injetor por 15 min para dessorção completa dos compostos voláteis. Um branco de fibra era realizado entre cada procedimento de extração e injeção para confirmar que o efeito memória era inexistente. Os compostos voláteis foram separados em uma coluna DB- 5 MS (5 % fenil, 95 % dimetilpolisiloxano) de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 1µm de espessura de fase estacionária (J&W Scientific®, Santa Clara, CA, USA). A temperatura do forno iniciou em 40 °C, aumentando 4 °C min⁻¹ até 180 °C, em seguida 60 °C min⁻¹ até 300 °C permanecendo nesta temperatura por 5 min.

Foi utilizado o hélio (He) como gás de arraste, com vazão constante de 1mL min⁻¹. O detector de massas quadrupolar foi operado nas seguintes condições: energia de ionização 70 eV, temperatura da interface de 300 °C, fonte de íons 200 °C, modo de varredura, monitorando a faixa de razão massa/carga (m/z) de 35 a 350. Os compostos foram identificados por meio de seus espectros de massa, comparados com os espectros do banco de dados da biblioteca do

CG/EM (NIST, 2002). Para confirmar a identificação, uma solução de n-alcenos (C₇-C₃₀) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi injetada no CG-EM sob as mesmas condições da amostra, com a finalidade de obter os cálculos dos índices de retenção de temperatura programada (LTPRI – *linear temperature programmed retention index*) dos compostos voláteis. A identificação tentativa dos analitos foi realizada comparando-se os LTPRI e os espectros de massa obtidos para a amostra com os espectros de massa e LTPRI da literatura (20), com similaridade de, no mínimo, de 85 % para os espectros de massa, e variação máxima nos LTPRI de ± 10 .

2.9. Teste pareado de preferência

Amostras de carne dos dois tratamentos (não maturadas e maturadas a seco) foram embaladas a vácuo e congeladas a -18 °C para posterior análise sensorial. Um dia antes da análise, as amostras foram colocadas em temperatura de refrigeração para descongelamento. As amostras foram assadas em forno combinado (Tedesco, Caxias do Sul, RS, Brasil) a 180 °C até atingir a temperatura de 71 °C em seu centro geométrico. Após o cozimento foi adicionado 1 g de sal em cada uma das amostras, que foram cortadas em cubos de 2 cm de lado, embaladas em papel alumínio e mantidas em estufa a 60 °C até serem servidas aos provadores. Foi aplicado o teste sensorial, utilizando como ferramenta a comparação pareada de preferência (21), em duas sessões, totalizando 82 consumidores. Cada provador recebeu uma bandeja com duas amostras. As amostras foram codificadas com números aleatórios de três dígitos. Foi oferecido aos provadores pão (de forma) e água para a limpeza do palato entre as amostras. Os provadores foram instruídos a responder qual das duas amostras era a preferida, tendo também a opção "sem preferência". Na Figura 1, pode ser observada a ficha utilizada para este teste. Todos os provadores assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Este estudo foi aprovado em Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos, protocolo CAAE 95235318.5.0000.5504.

Figura 1. Ficha teste pareado preferência

TESTE PAREADO PREFERÊNCIA	
Nome: _____	Data: _____
Estamos fazendo uma pesquisa sobre a preferência do consumidor para este produto. Prove as duas amostras e indique a sua preferência: () Prefiro a amostra _____ () SEM preferência Explique a razão de sua escolha: _____	

2.10. Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o programa estatístico XLSTAT 2012 (22) para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Quando as diferenças foram detectadas, ao nível de 5 %, foi realizado o teste T para comparação de médias entre tratamentos. Para análise sensorial, os dados foram analisados utilizando a tabela Standard Test Method for Directional Difference Test (21), que estabelece um número mínimo de julgamentos, dependendo do total de avaliações, para considerar a diferença significativa em vários níveis de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Qualidade da carne

O processo de maturação influenciou significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros de cor a^* e b^* , pH e força de cisalhamento. Por outro lado, a PPC e CRA não foram afetadas pelo processo de maturação (Tabela1).

Tabela 1. Médias dos parâmetros físico-químicos em amostras de carne bovina não maturada e maturada a seco

Parâmetros	Não maturada	Maturação a seco	Desvio padrão	Valor de p
L*	38,65	39,88	2,74	0,531
Cor a*	17,77 ^a	20,61 ^b	2,48	0,001
b*	14,77 ^a	16,81 ^b	2,42	0,003
pH	5,45 ^a	5,58 ^b	0,07	0,004
CRA (%)	79,37	80,11	5,32	0,864
PPC (%)	26,67	28,53	3,66	0,449
FC (kgf/cm ²)	7,91 ^a	3,61 ^b	1,88	< 0,001

^{ab}Médias com letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05). CRA (Capacidade de Retenção de Água), PPC (Perda por Cocção), FC (Força de Cisalhamento)

Para o parâmetro L*, que indica luminosidade, não foi encontrada diferença significativa (p = 0,531). Os parâmetros a* e b* foram significativamente maiores (p<0,05) para as amostras maturadas por 28 dias, sendo que a* indica a intensidade de vermelho e b* intensidade de amarelo, deste modo a carne maturada a seco foi considerada mais vermelha em relação à carne não maturada.

A mioglobina é o pigmento responsável pela cor vermelha na carne, sendo que sua concentração e seu estado de oxigenação ou oxidação, influenciam diretamente na cor da carne (23). Ao cortar a carne de um animal recém abatido é observado a cor vermelho púrpura. Ao entrar em contato com o ar atmosférico a mioglobina reage com o oxigênio formando a oximioglobina (MbO₂) com aparência vermelho brilhante. Quando exposta por um período prologado ao ar atmosférico ocorre a oxidação da oximioglobina, transformando-se em metamioglobina (MetMb), de coloração marrom, indesejável (24). No processo de oxidação da mioglobina, a quantidade de pigmento é relativamente a mesma, e mudanças em L* não são esperadas, desse modo as mudanças na cor podem ser representadas por a* e b* (25).

O pH variou de 5,45 na carne não maturada a 5,58 nas amostras maturadas a seco com 28 dias. Apesar de apresentar diferença significativa, o pH da carne maturada está dentro da faixa de pH ideal, que é entre 5,5 a 5,8 (26). O pH influencia nas características da qualidade como cor, textura e suculência, valores superiores a 5,8 pode caracterizar uma carne do tipo DFD (dark, firm and dry) (27). O pH elevado compromete a vida de prateleira da carne,

pois pode favorecer o crescimento de microrganismos e as reações enzimáticas (28).

A força de cisalhamento apresentou diferença significativa ($p < 0,05$). Os valores variaram de 7,91 kgf/cm² nas amostras não maturada a 3,61 kgf/cm² nas amostras maturadas a seco por 28 dias. As amostras de carne maturada a seco foram consideradas mais macias. Este resultado era esperado, uma vez que a maturação é o processo de amaciamento da carne, devido a ação proteolítica de enzimas, como as calpaínas e catepsinas (29,30).

3.2. Cálculos de perda de peso para maturação a seco

Os valores para os cálculos de perda durante o processo de maturação a seco estão apresentados na Tabela 2. Em média as peças perderam 17 % do peso inicial ao final de 28 dias. Os ossos corresponderam a 25,05 % e as aparas secas a 27,88 % do peso inicial.

Tabela 2. Valores de perda durante o processo de maturação a seco

	Perda de peso geral (%)	Ossos (%)	Aparas (%)
Média	17,02	25,05	27,88

3.3. Oxidação lipídica – TBARS

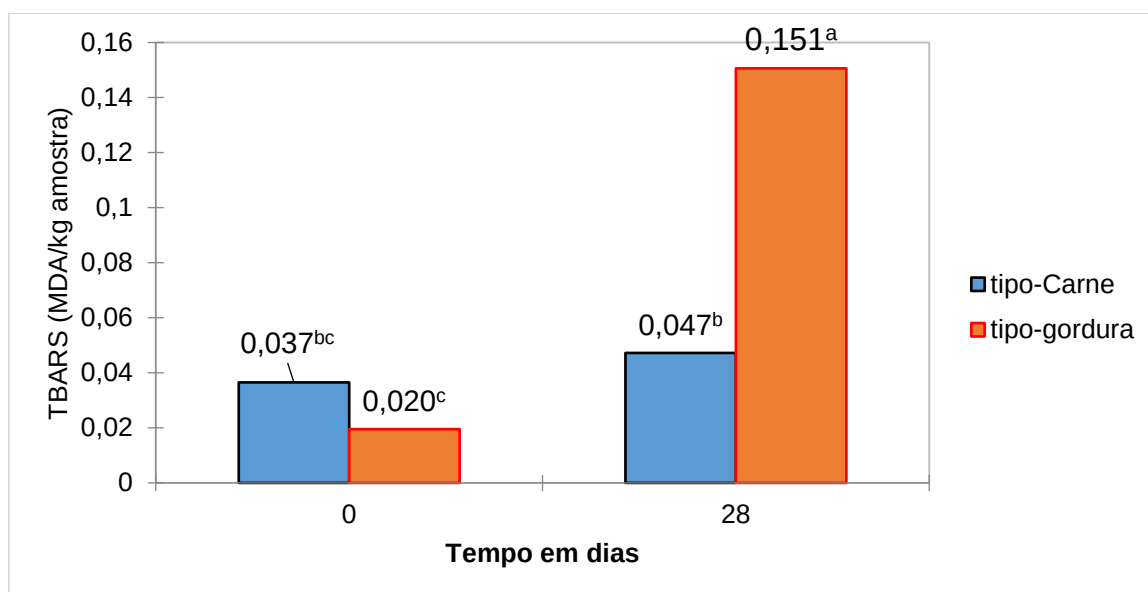
A análise de TBARS quantifica o malonaldeído (MDA), um aldeído com três átomos de carbono, que é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados (31).

Uma interação dupla ($p < 0,0001$) entre o tempo de maturação e o tipo do tecido pode ser observada na Figura 2. Os valores apresentados pelas amostras de carne variaram de 0,037 mg MDA/kg no dia 0 a 0,047 mg MDA/kg com 28 dias. Para gordura os valores variaram de 0,020 mg MDA/kg no dia 0 a 0,151 mg MDA/kg com 28 dias. Observa-se que, apesar da gordura apresentar no início um valor menor de oxidação lipídica, no final do processo de maturação com 28 dias, ela apresentou um valor significativamente maior do que aquele apresentado na amostra de carne. A oxidação pode ser influenciada por vários fatores, como a composição e distribuição química dos lipídeos na matriz (19,

32). Na maturação a seco a carne permanece armazenada sem embalagem, e a gordura fica diretamente exposta a luz e a atmosfera da câmara de refrigeração. Os processos de oxidação são intensificados na presença de oxigênio (15).

A oxidação lipídica é uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação de lipídeos e oxigênio. Ácidos graxos esterificados em triacilgliceróis e fosfolipídios se decompõem em moléculas pequenas e voláteis que produzem os aromas indesejáveis causando a rancidez oxidativa (33). Os valores encontrados na carne neste estudo não indicam que a oxidação seria perceptível sensorialmente, pois segundo Tarladgis et al. (34) valores de limiar de detecção ao odor desagradável é de aproximadamente 1 mg MDA/kg, o que resulta em sabores indesejáveis (34, 35).

Figura 2. Interação entre a maturação e tipo do tecido (carne ou gordura)



P<0,0001

3.4. Perfil de compostos voláteis

Um total de 57 compostos voláteis foram identificados nas carnes não maturadas e maturadas a seco (Tabela 3), sendo classificados de acordo com a classe química em: aldeídos (n=13), hidrocarbonetos (n=12), cetonas (n=9), álcoois (n=8), compostos aromáticos (n=6), ácidos carboxílicos (n=4), compostos sulfurados (n=2), lactona (n=1), pirazina (n=1) e éster (n=1).

Tabela 3. Compostos voláteis identificados em carne bovina não maturada e maturada a seco

Compostos voláteis	Classe química	Número CAS	LTPRI Calc.	LTPRI Lit.	Δ	Não maturada (área)	Maturação a seco (área)
2,3-Butanediona	Cetona	431-03-8	568	578	-10	12976430	11022604
2-Butanona	Cetona	78-93-3	590	598	-8	12369091	13516958
Hexano	Hidrocarboneto	110-54-3	600	600	0	122671	125111
3-metil-butanal	Aldeído	590-86-3	657	655	2	415420	1085324
1-Butanol	Álcool	71-36-3	660	661	-1	111188	109663
2-metil-Butanal	Aldeído	96-17-3	666	663	3	232184	572995
2-metil-3-furantiol	Composto aromático	96-47-9	672	678	-6	.	221453
1-Penten-3-ol	Álcool	616-25-1	682	686	-4	812526	980632
2-Pentanona	Cetona	107-87-9	686	686	0	413786	463907
1-Heptene	Hidrocarboneto	592-76-7	691	697	-6	175695	172448
2,3-Pentanediona	Cetona	600-14-6	695	697	-2	801511	814265
Pentanal	Aldeído	110-62-3	700	699	1	24877731	18528114
3-hidroxi-2-Butanona	Cetona	513-86-0	710	709	1	35109179	33039098
2-metil-2-Butenal	Aldeído	497-03-0	745	745	0	.	159718
Dimetill dissulfeto	Composto sulfurado	624-92-0	752	753	-1	.	489629
1-Pentanol	Álcool	71-41-0	765	766	-1	6142598	6107866
Ácido butanóico	Ácido carboxílico	107-92-6	768	763	5	.	685541
Toluene	C. Aromático	108-88-3	774	771	3	1210647	1358200
2,3 -Butanediol	Álcool	24347-58-8	790	783	7	.	10659029
1-Octene	Hidrocarboneto	111-66-0	791	789	2	207797	127924
3-Etil-3-hexeno	Hidrocarboneto	16789-51-8	797	802	-5	53169	.

Tabela 3. (Continuação)

Octano	Hidrocarboneto	111-65-9	800	800	0	309244	.
Hexanal	Aldeído	66-25-1	802	802	0	78927546	64005783
3-metil - 2-Hepteno	Hidrocarboneto	3404-75-9	809	808	1	107607	21334
1,3-Octadiene	Hidrocarboneto	1002-33-1	827	827	0	492899	448822
2-Hexenal	Aldeído	505-57-7	857	857	0	293827	230455
Ácido Pentanóico	Ácido carboxílico	109-52-4	862	867	-5	252285	278306
1-Hexanol	Álcool	111-27-3	867	867	0	659292	951862
2,2,4-trimetil-heptano	Hidrocarboneto	14720-74-2	878	875	3	972279	244845
2-Heptanona	Cetona	110-43-0	889	889	0	1343289	1212838
2-n-Butilfurano	Composto aromático	4466-24-4	894	895	-1	.	217458
Heptanal	Aldeído	111-71-7	903	902	1	6151801	6003722
Metional	Aldeído	3268-49-3	912	915	-3	.	111590
Butirolactona	Lactona	96-48-0	918	915	3	561691	612108
2,5-dimetilpirazina	Pirazina	123-32-0	919	917	2	60225	.
6-metil -2-heptanona	Cetona	928-68-7	955	955	0	.	233893
Hexanoic acid	Ácido carboxílico	142-62-1	960	970	-10	3551790	2933174
1-Heptanol	Álcool	111-70-6	970	970	0	297857	323923
Benzaldeído	Composto aromático	100-52-7	977	977	0	2981204	3552970
1-Octen-3-ol	Álcool	3391-86-4	980	979	1	3040830	2713581
2,3-Octanediona	Cetona	585-25-1	981	983	-2	6562844	7488003
3-Octanona	Cetona	106-68-3	986	987	-1	.	47198
Dimetill trisulfeto	Composto sulfurado	3658-80-8	991	991	0	.	443977
2-pentil-furano	Composto aromático	3777-69-3	993	993	0	2279856	1777235
Octanal	Aldeído	124-13-0	1005	1004	1	2529005	2398483
Ácido heptanóico	Ácido carboxílico	111-14-8	1055	1062	-7	.	174369

Tabela 3. (Continuação)

Benzeneacetaldeído	Composto aromático	122-78-1	1058	1049	9	.	157540
2-etil- 1-hexanol	Álcool	104-76-7	1028	1028	0	191914	.
2-Octenal	Aldeído	2548-87-0	1063	1062	1	127809	104640
Nonanal	Aldeído	124-19-6	1107	1107	0	2052109	1811843
2-Nonenal	Aldeído	18829-56-6	1165	1167	-2	.	50212
Dodecano	Hidrocarboneto	112-40-3	1198	1200	-2	108173	175897
Decanal	Aldeído	112-31-2	1214	1214	0	42259	24595
Pentil hexanoato	Éster	0540-07-08	1289	1289	0	23364	28380
Tridecano	Hidrocarboneto	629-50-5	1299	1300	-1	65774	44451
Tetradecano	Hidrocarboneto	629-59-4	1399	1400	-1	47872	33336
Pentadecano	Hidrocarboneto	629-62-9	1500	1500	0	31220	33180

LTPRI Calc. = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano LTPRI Lit. =Índice de retenção obtido na literatura, com a coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano. Δ= diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura: LTPRI_{Lit.} – LTPRI_{Calc.}

Quarenta compostos foram comuns a ambos os tratamentos (carne não maturada e maturada a seco), sendo 37 deles com importância odorífera. A Tabela 4 apresenta os compostos que diferiram entre os tratamentos. Apenas quatro compostos (2-etil-1-hexanol, 2,5-dimetilpirazina, 3-etil-3-hexeno e octano) foram encontrados somente na carne não maturada. Treze compostos foram encontrados apenas nas amostras de carne maturada a seco (2-metil-3-furantiol, 2-metil-2-butenal, dimetill dissulfeto, ácido butanóico, 2,3 –butanediol, 2-n-butil furano, metional, 6-metil-2-heptanona, 3-octanona, dimetil trissulfeto, ácido heptanóico, benzenoacetaldeído, 2-nonenal).

Tabela 4. Compostos voláteis e importância odorífera encontrados na carne não maturada ou maturada seco

Amostra	Compostos voláteis	Odor	Referencia
Não maturada	2-Etil- 1-hexanol	Floral, verde	43
Não maturada	2,5-dimetilpirazina	Carne assada, amêndoas	37
Não maturada	3-Etil-3-hexene	alcano	36
Não maturada	Octano	alcano	36
A seco	2-metil-3-furantiol	Carne e frango assados	37
A seco	2-metil-2-Butenal	Malte, verde, fruta, mofo	9
A seco	Dimetill dissulfeto	Cebola, repolho, pútrido	45
A seco	Ácido Butanóico	Doce, rançoso	37
A seco	2,3 -Butanediol	Cacau	37
A seco	2-n-Butil furano	Pungente, doce	37
A seco	Metional	Cheddar/batata frita	44
A seco	6-Metil- 2-heptanona	Cravo, mentol, eugenol	36
A seco	3-Octanona	Mofado, cogumelo, queijo	37
A seco	Dimetil trissulfeto	Sulfurado, gramíneo	45
A seco	Ácido Heptanóico	Queijo	43
A seco	Benzenoacetaldeído	Adocicado	43
A seco	2-Nonenal	Papelão, gordura, pepino	42

Entre os compostos encontrados apenas na carne maturada a seco o álcool 2,3 -butanediol é um composto isolado de produtos de cacau e manteiga de cacau, sendo também produto da fermentação por microrganismos (37). Nas sessões de análise sensorial, o sabor amanteigado na carne foi observado por alguns provadores. A maturação a seco popularmente é conhecida como carne com sabor de manteiga (38). A cetona 2,3-butanediona é responsável pelo sabor característicos de manteiga (39) também foi encontrada neste experimento na amostra de carne maturada a seco. Nas amostras de maturação a seco, ainda foram encontrados os ácidos carboxílicos

butanoico e heptanóico, relacionados com o aroma rançoso e queijo (40), respectivamente. Ácidos carboxílicos são produtos da degradação ácidos graxos de triglicerídeos e fosfolipídios presentes na carne (41).

O aldeído 2-nonenal é um importante composto que origina sabores indesejáveis (*off-flavor*) na indústria de alimentos, principalmente em bebidas alcoólicas, e é relacionado com o sabor de papel/papelão (42). O 2-nonenal tem baixo limiar de detecção e é produto da oxidação de ácidos graxos, como do ácido linoleico -9-hidroperóxido (43).

A reação de Strecker entre um aminoácido e um açúcar redutor, contribui com a formação de vários compostos (33). Como na degradação da metionina, que na reação de Strecker resulta no metional, um composto típico de queijos especialmente do tipo cheddar (44), continuando a reação, o metional libera metanotiol que se oxida facilmente a dimetil dissulfeto (notas de repolho e sulfuroso) e dimetil trissulfeto (aroma sulfuroso) (45). A tiamina, também conhecida como vitamina B₁, quando submetida a degradação térmica, produz compostos formados partir de reações de fragmentação e reorganização do anel tiazol, como o 2-metil-3-furantiol (33), com aroma de carne assada (37).

Análise Sensorial - Teste pareado de preferência

Participaram do teste pareado de preferência 82 provadores, destes 4 responderam que não tinham preferência por nenhuma das duas amostras, para efeito de análise de resultados, as respostas "sem preferência" não foram consideradas. Entre as 78 respostas consideradas válidas, 71 consumidores preferiram a amostra maturada e 7 preferiram a amostra não maturada. Segundo a tabela Standard Test Method for Directional Difference Test (21), tendo-se 78 participantes para que se possa considerar que uma amostra é mais preferida do que outra com nível de significância de 5 %, o número de respostas deve ser de no mínimo 48. Portanto, a amostra maturada foi considerada como a mais preferida em relação à amostra não maturada.

CONCLUSÃO

A carne bovina maturada a seco mostrou maior intensidade para a cor vermelha em relação à carne não maturada. Muitos compostos voláteis de importância odorífera foram encontrados na carne maturada a seco, que deve ter contribuído para o seu sabor único, sendo um dos motivos, além da maciez, para ser mais preferida em relação à carne não maturada neste estudo. Portanto, a maturação a seco é uma boa alternativa para obtenção de um produto que atende aos anseios do consumidor.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimento à Embrapa Pecuária Sudeste pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS:

1. Barbosa PF. A raça Canchim em cruzamentos para a produção de carne bovina. 2004;1–29.
2. Alencar (1988) - Raça Canchim - Origem e Desenvolvimento.pdf.
3. Beefpoint E. Canchim: uma raça para produção de carne com o diferencial de ser adaptada às condições de clima, parasitas e pastagens do Brasil. 2013. [cited 2018 Jan 16] Available from: <https://www.beefpoint.com.br/canchim-uma-raca-para-producao-de-carne>
4. Arima H. Maturação de carnes. In: Qualidade da carne. São Paulo; 2006. p. 153–72.
5. Chambers E. Dry - Aging Effects on Palatability of Beef Longissimus Muscle Dry-Aging Effects on Palatability of. 2016;66:196–9.
6. Ahnström ML, Seyfert M, Hunt MC, Johnson DE. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. Meat Sci. 2006;73(4):674–9.
7. Stenström H, Li X, Hunt MC, Lundström K. Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. Meat Sci. 2014;96(1):661–6.
8. Li X, Babol J, Wallby A, Lundström K. Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef gluteus medius aged in a dry ageing bag or vacuum. Meat Sci. 2013;95(2):229–34.
9. Kim YHB, Kemp R, Samuelsson LM. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. Meat Sci. 2016;111:168–76.
10. ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Rebanho

- bovino brasileiro. 2018. [cited 2019 Mar 16] Available from:<http://abiec.com.br/>
11. Felício PE De. Fatores Ante E Post Mortem Que Influenciam Na. 1997;1–15.
 12. Koochmaraie M. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle mu-calpain. *J Anim Sci.* 1992;70:3071–80.
 13. Wheeler TL, Savell JW, Cross HR, Lunt DK, Smith SB. Mechanisms associated with the variation in tenderness of meat from Brahman and Hereford cattle. *J Anim Sci.* 1990;68(12):4206–20. <https://doi.org/10.2527/1990.68124206x>
 14. Hamm R. 4 - Functional Properties of the Myofibrillar System and Their Measurements. In: Bechtel PJ, editor. *Muscle As Food*. San Diego: Academic Press; 1986. p. 135–99. (Food Science and Technology).
 15. Jongberg S, Skov SH, Tørngren MA, Skibsted LH, Lund MN. Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chem.* 2011;128(2):276–83.
 16. Vyncke W. Direct Determination of the Thiobarbituric Acid Value in Trichloroacetic Acid Extracts of Fish as a Measure of Oxidative Rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichm.* 1970;72 (12):1084–7. [doi/abs/10.1002/lipi.19700721218](https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218)
 17. Vyncke W. Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichm.* 1975;77(6):239–40.
 18. Sorensen G, Jorgensen SS. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift Leb und -forsch.* 1996;202(3):205–10.
 19. Silva FAM, Borges MFM, Ferreira MA. Métodos para avaliação do grau de

- oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Quim Nova*. 1999 Feb ;22(1):94–103. h
20. NIST Mass Spectrometry Data Center, William E. Wallace, director, "Retention Indices" in NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>.
 21. ASTM. Método de teste padrão para teste de diferença direcional. 2008. Available from: www.astm.org
 22. Addinsoft. XLStat data analysis and statistics add-in for MS Excel. Paris, France.; 2012.
 23. El-Din Ahmed Bekhit A, Morton JD, Bhat ZF, Kong L. Meat Color: Factors Affecting Color Stability. *Encycl Food Chem*. 2019 Jan 1;202–10.
 24. de Oliveira Roça R. Propriedades da carne [Internet]. 2011 [cited 2017 Jan 1]. p. 1–11. Available from: <http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca107.pdf>
 25. Hernández Salueña B, Sáenz Gamasa C, Diñeiro Rubial JM, Alberdi Odriozola C. CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat Sci*. 2019 Nov 1;157:107889.
 26. Gomide L A M, Ramos E M, Fontes PR. Ciência e qualidade da carne. Viçosa: UFV; 2013. 599 p.
 27. Miller M. Dark, Firm and Dry Beef. beef facts - Product Enhancement. National Cattlemen's Beef Associationon; 2007.
 28. Pinho A P. Caracterização físico-químicas de carne bovina de marcas comercializadas no município de Porto Alegre. Tese de doutorado, Universidade

- Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 2009.
29. Koohmaraie M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 1994;36(1):93–104.
 30. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
 31. Osawa CC, De Felício PE, Gonçalves LAG. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: Métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Quim Nova.* 2005;28(4):655–63.
 32. Carrapiso AI. Effect of fat content on flavour release from sausages. *Food Chem.* 2007 Jan 1;103(2):396–403.
 33. Damodaran S, Parkin K, Fennema O. *Química de Alimentos de Fennema*. 4th ed. Artmed Editora; 2010. 900 p.
 34. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc.* 1960;37(1):44–8.
 35. Djenane D, Sanchez-Escalante A, Beltrán J, Roncalés P. Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chem.* 2002 Apr 1;76:407–15.
 36. Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. *Meat Sci.* 2007;77(1 SPEC. ISS.):63–80.
 37. The Good Scents Company Information System (TGSCIS). 2020. [cited 2020 May 06] Available from: <http://www.thegoodscentscompany.com/>
 38. Li X, Babol J, Bredie WLP, Nielsen B, Tománková J, Lundström K. A comparative

- study of beef quality after ageing longissimus muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat Sci.* 2014 Aug 1;97(4):433–42. 4
39. Bartowsky EJ, Henschke PA. The 'buttery' attribute of wine diacetyl desirability, spoilage and beyond. *Int J Food Microbiol.* 2004 Nov 15;96(3):235–52.
 40. Kerth CR, Miller RK. Beef flavor: a review from chemistry to consumer. *J Sci Food Agric.* 2015;95(14):2783–98.
 41. Madruga MS, Stephen Elmore J, Dodson AT, Mottram DS. Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chem.* 2009;115(3):1081–7.
 42. Scherer R, Wagner R, Kowalski CH, Godoy HT. (E)-2-Nonenal determination in brazilian beers using headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic coupled mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). *Ciência e Tecnol Aliment.* 2010 May;30:161–5.
 43. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Food Chemistry.* Springer Berlin Heidelberg; 2009.
 44. Arfi K, Spinnler H, Tache R, Bonnarne P. Production of volatile compounds by cheese-ripening yeasts: Requirement for a methanethiol donor for S-methyl thioacetate synthesis by *Kluyveromyces lactis*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2002;58(4):503–10.
 45. Aroma Compounds. In: *Food Chemistry.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 340–402.

Capítulo 2.

Estudo comparativo de métodos de maturação em carne bovina

RESUMO

Introdução: O processo de maturação tem como principal objetivo melhorar a maciez da carne por meio da ação enzimática sobre as proteínas. Esse processo pode ser realizado embalando-se a carne a vácuo (maturação úmida ou *wet-aged*) ou sem qualquer tipo de embalagem (maturação a seco ou *dry-aged*), sendo que nesta última observa-se maiores perdas de rendimento. Para melhorar o rendimento do processo da carne maturada a seco, a utilização de embalagem com alta permeabilidade ao vapor de água seria uma opção. **Objetivo:** Avaliar a qualidade da carne, preferência do consumidor e comportamento da água livre por meio de Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (RMN-DT) de carne bovina submetida a diferentes métodos de maturação. **Métodos:** Para o experimento foram utilizadas seis peças do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (contrafilé), subdivididas em 5 porções e cada porção foi designada para um dos seguintes tratamentos: amostra não maturada, maturação a seco (músculo com osso e desossado), maturação em embalagem com alta permeabilidade ao vapor de água e a vácuo. Foram realizadas análises de cor, pH, capacidade de retenção de água (CRA), perda por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC), umidade, perfil de compostos voláteis, RMN-DT e ordenação preferência para a análise sensorial, realizadas no tempo inicial (exceto sensorial) e aos 28 dias de maturação. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA) e quando houve diferença significativa, foi aplicado teste de Tukey a 5 %. **Resultados:** A FC foi maior ($p < 0,05$) nas amostras não maturadas ($8,98 \text{ kgf/cm}^2$) em relação às maturadas ($3,28 \text{ kgf/cm}^2$), e não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tipos de maturação. A umidade da carne não maturada (73,54 %) não diferiu ($p > 0,05$) da amostra a vácuo (72,65 %), ambas superiores ($p < 0,05$) em relação às amostras maturadas a seco (67,54 %). As amostras maturadas, independente do processo, apresentaram menores valores de pH (5,54) do que as amostras não maturadas (5,64). O método de maturação influenciou na formação do perfil de compostos voláteis. Foi possível diferenciar por RMN-DT os tipos de maturação (úmida e a seco) utilizando o parâmetro de relaxação longitudinal (T_1). Não foi verificada, na análise sensorial, diferença na preferência entre os tratamentos avaliados. **Conclusão:** Concluiu-se que o método de maturação influenciou nos parâmetros da qualidade da carne e perfil de compostos voláteis, sem afetar a qualidade sensorial. A análise de RMN mostrou-se promissora para identificar os diferentes métodos de maturação em carne bovina por meio do tempo de relaxação longitudinal.

Palavras-chave: Qualidade da carne; Sabor; RMN; CG-EM; Análise Sensorial; Compostos Voláteis; Maciez.

1. INTRODUÇÃO

A maturação é um processo que tem por objetivo amaciar a carne por meio da ação proteolítica de enzimas (1). É um processo complexo, afetado por muitos fatores, como as condições de armazenamento, tempo de maturação e temperatura. Deste modo, o processo de conversão do músculo em carne, com diferentes graus de degradação enzimática e desnaturação de proteínas, pode resultar em marcantes variações nas propriedades físico-químicas e sensoriais da carne (2). Existem dois tipos de maturação, a úmida e a seco (3). A maturação úmida (*wet aging*) é uma prática amplamente utilizada na qual a carne é armazenada em uma embalagem selada a vácuo (4). A maturação a seco (*dry aging*), por outro lado, se refere a uma carne armazenada sem embalagem e requer maior controle nas condições do armazenamento - temperatura, ventilação e umidade relativa - para que se possa obter um produto de qualidade (5).

A principal característica da carne maturada a seco é a formação de um sabor único que é atribuído ao processo, descrito como um sabor mais intenso (6-5), além disso, a maioria das carnes maturadas a seco são vendidas por lojas especializadas ou restaurantes por um alto valor agregado (7). Como desvantagem a maturação a seco é um processo dispendioso, pois além da alta porcentagem de perda de peso durante a maturação, requer mais espaço e em alguns casos maiores tempo de armazenamento. Por outro lado, a maturação úmida é um processo que apresenta maior rendimento, maior conveniência no armazenamento e transporte (8). Recentemente, o uso de uma embalagem permeável ao vapor de água tem sido utilizado para a maturação seco (9), como uma nova estratégia, sendo esperada uma menor perda durante o processo e menor risco de contaminação, sem perder a qualidade sensorial do produto (10).

Por se tratar de um produto de alto valor agregado, a identificação quanto ao processo de maturação a que foi submetida a carne seria de grande importância. A análise de Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo ou RMN-DT ou RMN de baixo campo, é uma técnica não destrutiva que poderia ser utilizada para monitorar a perda de água no processo de maturação, a exemplo do monitoramento de processos como aquecimento ou congelamento (11). Não há estudos utilizando o parâmetro de

relaxação longitudinal (T_1) em RMN-DT, com a finalidade de identificar o método de maturação em carne bovina. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da carne, preferência do consumidor, perfil de compostos voláteis e análise de RMN-DT em carne bovina submetida a diferentes métodos de maturação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de carne bovina foram adquiridas em frigorífico comercial. Foram utilizadas seis peças inteiras de aproximadamente 70 cm, do músculo *Longissimus (thoracis e lumborum)* que corresponde a toda porção do contrafilé, de bovinos cruzados Angus x Nelore. As peças foram divididas em cinco partes de aproximadamente 14 centímetros, das quais uma foi utilizada nas análises de carne não maturada (T0) e as outras quatro partes foram divididas aleatoriamente entre os quatro tratamentos de maturação (n=6), para realização das análises de qualidade e sensorial.

2.2. Maturação

As amostras foram submetidas a quatro diferentes tratamentos relacionados à maturação:

- A seco com osso
- A seco sem osso
- Em *Special Bag* - Maturação a seco com a utilização de embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água (2500 g/50 μ /m²/24 h a 38 °C/50 %UR; marca Tublin® 10, TUB-EX ApS, Denmark)
- Úmida, em embalagem a vácuo (permeabilidade O₂ de 44,61gm/m²/24 h, à 23°C UR 70 %; vapor de água 3,65 cc/m²/24 h à 38 °C UR 90 %, marca Metafilms, Sorocaba, SP, Brasil)

Todos os tratamentos foram divididos igualmente em duas câmaras frias da marca Metalfrio (modelo VN50R, São Paulo, SP, Brasil) adaptadas com sistema de controle de temperatura (Coel, modelo P03S, São Paulo, SP, Brasil), à temperatura ajustada de 1

$\pm 1^{\circ}\text{C}$. Um termo higrômetro (Testo, modelo 174H, Lenzkirch, Germany) foi utilizado para monitorar a temperatura e a umidade, sendo que as medidas foram realizadas de 15 em 15 minutos durante os 28 dias de maturação. A umidade monitorada foi em média 70 % no decorrer do experimento.

As análises de qualidade, compostos voláteis e RMN-DT descritas a seguir foram realizadas nas amostras no dia inicial do experimento (T0) e aos 28 dias de maturação (T28). Para análise sensorial foram utilizadas as amostras maturadas por 28 dias. As amostras de compostos voláteis e análise sensorial foram congeladas a -18°C para posterior análise.

2.3. Perdas durante o processo de maturação

Foram realizadas pesagens no dia inicial do experimento e durante o período de maturação: na primeira semana as pesagens foram realizadas a cada três dias e depois uma vez por semana até o final do experimento (28 dias). Foram calculadas as seguintes perdas no experimento.

- Evaporação (maturação a seco) e gotejamento (úmida) - relação entre o peso inicial e o peso final do processo de maturação
- Aparas – retiradas das superfícies ressecadas ao final do processo de maturação a seco.

2.4. Cor Objetiva e pH

Com a utilização do colorímetro portátil (Hunter Lab MiniScan XE Plus, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, EUA), as amostras foram analisadas de acordo com o sistema CIELAB, por meio dos parâmetros L^* - luminosidade, (0 = preto; 100 = branco), a^* - coordenada vermelho/verde (+a = vermelho e -a = verde) e b^* = coordenada amarelo / azul (+b = amarelo e - b = azul), com iluminante D65 e observador a 10° . Foi realizado um corte transversal ao musculo para expor a mioglobina ao oxigênio, após 30 minutos a leitura foi realizada em três pontos da amostra. Com as medidas obtidas para L^* , a^* e b^* , o Delta E (ΔE) foi calculado com a seguinte formula: $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 +$

$(\Delta b^*)^2]^{1/2}$ (12) , entre a amostra não maturada e os tipos de maturação, bem como entre a amostra submetida a maturação úmida e os tratamentos de maturação a seco.

A análise de pH foi realizada com auxílio de um peagâmetro (Testo AG, model 230, Lenzkirch, Germany), provido de um sensor para leitura de temperatura e outro para leitura de pH. O aparelho foi calibrado antes do início das análises com tampões de pH 7 e pH 4. A leitura foi realizada em cinco pontos de cada amostra.

2.5. Capacidade de retenção de água- CRA, perda por cocção (PPC) e força de cisalhamento

Para análise de determinação da capacidade de retenção de água (CRA), foi utilizada a metodologia descrita por Hamm (13). Foram retiradas de cada amostra, três alíquotas de aproximadamente 2 g de carne cada. Essas alíquotas foram pesadas em balança analítica, colocadas entre papel de filtro e este, entre duas placas de acrílico. Um peso de 10 kg foi colocado sobre a placa de acrílico por cinco minutos, logo após foram novamente pesadas. O valor de CRA de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (1):

(1)

$$CRA (\%) = \frac{\text{peso da amostra prensada}}{\text{peso da amostra não prensada}} \times 100$$

Para determinação da perda por cocção, bifes com aproximadamente 2,5 cm de espessura foram pesados *in natura* e em seguida submetidos a tratamento térmico em forno combinado (Tedesco, Caxias do Sul, RS, Brasil), pré-aquecido à 180 °C, até que a temperatura interna atingisse 70 °C. Em cada bife foi introduzido um termopar da marca Flyever (modelo FE MUX, São Carlos, SP, Brasil), monitorado por meio do software Embrapa Mux 12. Após os bifes esfriarem à temperatura ambiente, foi realizada uma nova pesagem, para determinar a perda de peso por cocção. O valor de PPC de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (2):

(2)

$$PPC (\%) = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Após a determinação da perda por cocção, os bifes foram embalados em plástico filme de PVC, devidamente identificados, e levados ao refrigerador à temperatura de 6 °C por um período de 12 h. Utilizando-se um vazador cilíndrico metálico (*coring cutter*), foram retirados paralelamente ao sentido longitudinal das fibras musculares de oito a dez cilindros de 1,27 cm de diâmetro, por bife. Os cilindros foram imediatamente cisalhados em um texturômetro (Texture Analyser TA.XT. Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK), equipado com lâmina de Warner-Bratzler, de 1,016 mm de espessura. O texturômetro foi calibrado adicionando o peso padrão de 10 kg na base superior do braço do texturômetro e as condições de análise foram: velocidade 200 mm/min; célula de carga 50 kg; distância 40 mm. A amostra foi posicionada no centro da lâmina Warner-Bratzler para realização da medida. A média dos resultados de força de cisalhamento dos cilindros de cada bife foi considerada como o valor de maciez final de cada amostra.

2.6. Teor de Umidade

A determinação do teor de umidade foi realizada em triplicata por meio de secagem em estufa, de acordo com a metodologia 39.1.02 da AOAC - Association of Official Analytical Chemists (14). As amostras foram trituradas em processador de alimentos (Walita®, modelo Viva RI1364/06, Varginha, MG, Brasil). Em cadinhos de alumínio foram pesados 2 g de amostra, levados em estufa a 105 °C por 24 h. Após a retirada da estufa os cadinhos permaneceram por uma hora em dessecador a vácuo, sendo pesados novamente. O teor de umidade em porcentagem foi obtido pela razão entre a perda de massa da amostra retirada da estufa e sua massa original, multiplicada por 100.

2.7. Análise Sensorial - Teste Ordenação Preferência

Amostras de carne dos quatro tratamentos de maturação a 28 dias (seco com osso, seco sem osso, *special bag* e úmida), foram embaladas a vácuo e congeladas a -18 °C para posterior análise sensorial. Um dia antes da análise, as amostras foram

Figura 2. Ficha Teste de Ordenação Preferência

TESTE ORDENAÇÃO PREFERÊNCIA	
Nome: _____	Data: _____
Estamos fazendo uma pesquisa sobre a preferência do consumidor para carne maturada. Por favor, ordene as amostras de acordo com sua preferência, colocando em primeiro lugar aquela que você mais gostou. 1. _____ (+ preferida) 2. _____ 3. _____ 4. _____ (- preferida) Explique a razão de sua preferência ou rejeição da(s) amostra(s): _____	

2.8. Análise de compostos voláteis

Preparo da amostra e extração

A análise foi realizada nas seis amostras de cada tratamento, sendo que as amostras foram separadas em pares (Amostra 1 e 2, 3 e 4, 5 e 6). De cada par foi feito um *pool* que foi analisado em triplicata. As amostras foram descongeladas à temperatura de refrigeração (6 °C) 24 horas antes da análise. Após o descongelamento, foi realizada limpeza da carne com a retirada de gorduras aparentes. Em seguida, cada par de amostras foi submetido à cocção em forno elétrico (NKS®, modelo Ford 9 Litros, Queimados, RJ, Brasil), pré-aquecido a 180 °C por aproximadamente 15 min, até atingir a temperatura interna de 75 °C, medida com um termopar. Após a cocção, os pares foram triturados juntos (*pool* das amostras) por aproximadamente 30 s em um béquero de 600 mL com auxílio de um processador de alimentos (Walita®, modelo Viva R11364/06, Varginha, MG, Brasil). Alíquotas de 10 g de carne assada foram pesadas em frascos de 60 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/silicone.

Para a extração dos compostos voláteis foi empregada a técnica de microextração em fase sólida (MEFS). A fibra de revestimento utilizada foi a CAR/PDMS

(Carboxen/polidimetilsiloxano, Supelco, Bellefonte, Pa, USA). Antes do primeiro uso, a fibra foi condicionada no injetor do cromatógrafo conforme recomendação do fabricante (60 min a 300 °C).

O frasco contendo a amostra triturada foi colocado em banho-maria a 60 °C, permanecendo 10 min sem exposição da fibra (tempo de equilíbrio). Após este período, a fibra foi exposta no *headspace*, onde permaneceu por 65 min.

Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás (Shimadzu® modelo QP-2010, Kyoto, Japão), acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolar. A dessorção térmica dos analitos da fibra foi realizada a 300 °C em um injetor do tipo *split/slitless* no modo *splitless* por 1 minuto. A fibra permaneceu no injetor por 15 minutos para dessorção completa dos compostos voláteis. Um branco de fibra era realizado entre cada procedimento de extração e injeção para confirmar que o efeito memória era inexistente. Os compostos voláteis foram separados em uma coluna DB- 5 MS (5 % fenil, 95 % dimetilpolisiloxano) de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 1µm de espessura de fase estacionária (J&W Scientific®, Santa Clara, CA, USA). A temperatura do forno iniciou em 40 °C, aumentando 4 °C min⁻¹ até 180 °C, em seguida 60 °C min⁻¹ até 300 °C permanecendo nesta temperatura por 5 min.

Foi utilizado hélio (He) como gás de arraste, com vazão constante de 1mL min⁻¹. O detector de massas quadrupolar foi operado nas seguintes condições: energia de ionização 70 eV, temperatura da interface de 300 °C, fonte de íons 200 °C, modo de varredura, monitorando a faixa de razão massa/carga (m/z) de 35 a 350. Os compostos foram identificados por meio de seus espectros de massas, comparados com os espectros do banco de dados da biblioteca do CG/EM (NIST, 2002). Para confirmar a identificação, uma solução de n-alcenos (C₅-C₁₂) e (C₇-C₃₀) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi injetada no CG-EM sob as mesmas condições da amostra, com a finalidade de obter os cálculos dos índices de retenção de temperatura programada (LTPRI – *linear temperature programmed retention index*) dos compostos voláteis. A identificação tentativa dos analitos foi realizada comparando-se os LTPRI e os espectros de massa

obtidos para a amostra com os espectros de massa e LTPRI da literatura (16), com similaridade de, no mínimo, de 85 % para os espectros de massa, e variação máxima nos LTPRI de ± 10 .

2.9. Análise de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN-DT)

Esta análise foi realizada em parceria com a Embrapa Instrumentação (São Carlos – SP) no laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, onde o modelo de análise foi desenvolvido. Foi avaliada a relaxação longitudinal (T_1) medida no espectrômetro de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN-DT) modelo Specfit-Agro (FIT - Fine Instrument Technology, São Carlos, SP, Brasil) (Figura 3).

O sinal da relaxação longitudinal (T_1) possui uma boa correlação com a propriedades físico-químicas e sensoriais da carne bovina (17) e pode fornecer mais informações do que T_2 (18). Desta forma, utilizou-se sequência de pulsos denominada de Inversão Recuperação (IR) que demora cerca de 1 min para medição de T_1 . A IR usada na aplicação foi feita com 16 pontos com uma lista de tempo exponencial até 5s. Os parâmetros utilizados foram os seguintes: $P90^\circ$: 15,5 μ s; $P180^\circ$: 31 μ s; Tau1 (tempo entre o pulso de inversão e o pulso de recuperação) foi de 0,001s até 5s variado de forma exponencial; Tau2: 19 μ s, 32 pontos de aquisição e tempo de repetição de 4s e, como as amostras apresentam um sinal intenso, optou-se por apenas uma média a fim de deixar a sequência rápida.

As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra. De cada bife foram cortados cubos de 2 cm de lado, retirando-se qualquer gordura aparente, analisadas no início T_0 (carne não maturada) e maturadas por 28 dias. As amostras foram colocadas em tubos de vidro com dimensões de 40 x 40 mm de volume útil. Para evitar variação de temperatura durante as medidas, os tubos foram mantidos em estufa a 33 °C por 30 min (Figura 3).

Figura 3. Amostras prontas para análise e equipamento de RMN-DT



Após a aquisição dos sinais, os dados foram transformados utilizando o software da Transformada Inversa de Laplace (TIL). Os dados também foram ajustados utilizando uma equação bi exponencial. A informação obtida pela Transformada Inversa de Laplace (TIL) é similar a obtida pelo ajuste, a diferença é a forma de apresentação. Por meio da TIL é possível obter uma apresentação visual do comportamento dos tempos de relaxação longitudinal, enquanto que pelo ajuste é obtido apenas o valor do tempo de relaxação.

2.10. Análise estatística

Para a análise estatística dos parâmetros da qualidade da carne foi aplicada a análise de variância (ANOVA). Quando foi observada diferença significativa, foi aplicado o teste de médias Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de significância. Para os compostos voláteis foi realizada uma análise exploratória dos dados por meio da análise de componentes principais (ACP), com o objetivo de visualizar os agrupamentos entre os efeitos. Foi utilizado o programa estatístico XLSTAT (19) para a ANOVA e ACP. Para os dados de análise sensorial, foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman (20).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perdas no processo de maturação

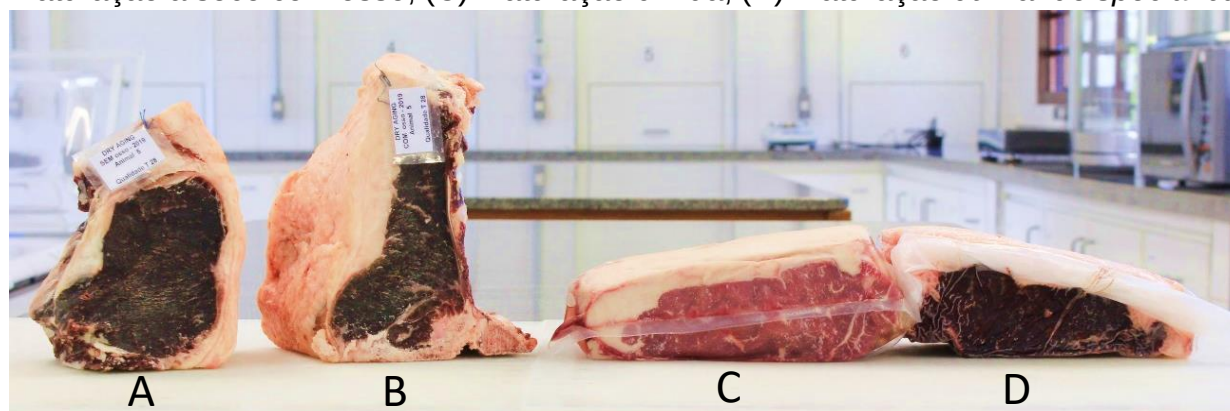
Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) para os valores de perda (evaporação e gotejamento) entre as maturações e na perda de aparas entre as amostras de maturação a seco (sem e com osso e *special bag*). Na tabela 1 são apresentados os valores de perdas por evaporação e gotejamento (exsudado) e aparas. Foi observada menor perda nas amostras de maturação úmida, referente ao exsudato formado durante o período de maturação (perda por gotejamento). Entre as amostras de maturação a seco, a amostra com osso foi a que apresentou menor perda por evaporação e na retirada das aparas, pois o osso protege a peça em duas faces, diminuindo este parâmetro; as amostras sem osso e *special bag* apresentaram valores semelhantes de perda durante a maturação. Na Figura 4 pode-se observar uma imagem com os tratamentos estudados.

Tabela 1. Efeito da maturação nas perdas por evaporação/gotejamento e perdas por aparas

	Úmida	A seco sem osso	A seco com osso	<i>Special bag</i>
Evap/Got. (%)	2,01 ^a	37,63 ^c	26,22 ^b	35,31 ^c
Aparas (%)	-	17,76 ^b	9,42 ^a	17,54 ^b

^{ab}Médias com letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ($P < 0,05$)
Evap/Got...:Evaporação/Gotejamento

Figura 4. Imagem dos tratamentos estudados: (A) maturação a seco sem osso; (B) maturação a seco com osso; (C) maturação úmida; (D) maturação utilizando *special bag*



3.2. Qualidade da carne

Os resultados dos parâmetros de qualidade da carne estão apresentados na Tabela 2. Todos os parâmetros apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tipos de maturação e a carne não maturada.

Tabela 2. Médias ($\pm$ erro padrão) dos parâmetros da qualidade da carne de amostras não maturada e submetidas a diferentes tipos de maturação

Parâmetro	Não maturada	Tipo de maturação				p
		Úmida	A seco sem osso	A seco com osso	<i>Special bag</i>	
L*	39,47 $\pm$ 0,72 ^b	43,26 $\pm$ 0,72 ^a	41,25 $\pm$ 0,72 ^{ab}	42,59 $\pm$ 0,72 ^a	42,54 $\pm$ 0,72 ^a	0,008
a*	15,54 $\pm$ 0,33 ^c	20,12 $\pm$ 0,33 ^a	19,22 $\pm$ 0,33 ^{ab}	18,78 $\pm$ 0,33 ^b	18,41 $\pm$ 0,33 ^b	< 0,001
b*	13,02 $\pm$ 0,42 ^c	17,75 $\pm$ 0,42 ^a	16,14 $\pm$ 0,42 ^b	16,44 $\pm$ 0,42 ^b	15,82 $\pm$ 0,42 ^b	< 0,001
pH	5,64 $\pm$ 0,02 ^a	5,54 $\pm$ 0,02 ^b	5,53 $\pm$ 0,02 ^b	5,53 $\pm$ 0,02 ^b	5,57 $\pm$ 0,02 ^{ab}	0,030
CRA (%)	75,79 $\pm$ 1,15 ^b	73,13 $\pm$ 1,15 ^b	80,81 $\pm$ 1,15 ^a	76,69 $\pm$ 1,15 ^b	80,29 $\pm$ 1,15 ^a	0,001
PPC (%)	25,91 $\pm$ 0,95 ^a	23,45 $\pm$ 0,95 ^{ab}	20,68 $\pm$ 0,95 ^b	24,62 $\pm$ 0,95 ^a	22,42 $\pm$ 0,95 ^{ab}	0,007
FC (kgf/cm²)	8,98 $\pm$ 0,41 ^a	3,00 $\pm$ 0,41 ^b	3,37 $\pm$ 0,41 ^b	3,65 $\pm$ 0,41 ^b	3,11 $\pm$ 0,41 ^b	< 0,001
Umidade (%)	73,54 $\pm$ 0,93 ^a	72,65 $\pm$ 0,93 ^a	66,91 $\pm$ 0,93 ^b	68,55 $\pm$ 0,93 ^b	67,14 $\pm$ 0,93 ^b	< 0,001

^{ab}Médias com letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ($P < 0,05$). CRA (Capacidade de retenção de água), PPC (Perda por cocção), FC (Força de cisalhamento).

Os parâmetros L*, a* e b* apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos de maturação. Os valores de L*, a* e b* foram maiores para as amostras maturadas por 28 dias, em comparação com a amostra não maturada, com exceção do tratamento seco sem osso, para o parâmetro L*. O valor de L* informa o grau de luminosidade ou brilho, dessa forma, de modo geral as carnes maturadas com 28 dias ficaram mais claras do que no tempo inicial do experimento. Entre as amostras maturadas, o valor de L* não apresentou diferença ($p > 0,05$); porém, os parâmetros a* e b* apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostras não maturada e maturadas e entre os tratamentos de maturação. As amostras da carne submetidas à maturação úmida apresentaram maiores valores de b* em relação aos três tipos de maturação a seco, o que indicaria uma carne com maior intensidade de amarelo na maturação úmida, a intensidade de amarelo é influenciada pela quantidade de água na

superfície da carne (23). A cor é um indicador de qualidade, sendo o principal atributo sensorial avaliado no momento da compra. Uma carne com cor diferente da característica vermelho brilhante pode ser rejeitada pelo consumidor (14-15). Kim et al.(24), observaram valores mais baixos dos parâmetros a^* e b^* para carnes maturadas a seco quando comparadas com maturação úmida e atribuiu essa diferença ao menor teor de água nas amostras a seco, que pode resultar em maior absorção de luz devido a menos água na superfície da carne. Ha et al.(25) em um estudo com carne maturada a seco e úmida, encontraram diferença significativa para a^* e b^* , sendo que o valor de a^* aumentou na amostra a seco e b^* aumentou na amostra úmida. Ao contrario deste experimento, Li et al. (9) não encontraram diferença nos parâmetros de cor entre maturação úmida e *special bag*.

Os valores de ΔE foram calculados a partir dos valores obtidos de cor instrumental. Quando o ΔE foi calculado entre a amostra não maturada e os tratamentos de maturação, todos obtiveram valores de ΔE acima de 5 (úmida 7,6; a seco sem osso 5,14; a seco com osso 5,65 e *special bag* 5,05) indicando que o observador pode notar a diferença de cor entre as amostras (26). O ΔE também foi calculado entre a maturação úmida e os tratamentos de maturação a seco. Quando comparado com a amostra a seco sem osso, bem como com aquela em *special bag*, os valores foram de 2,73 e 2,68 respectivamente, indicando que até mesmo um observador inexperiente pode notar a diferença (26), enquanto que para a amostra a seco com osso o valor foi de 1,99 indicando que apenas um observador experiente pode notar a diferença.

Em relação ao pH, foi observado um declínio do pH inicial, de 5,64 na amostra sem maturação para uma média de 5,54 nas amostras maturadas. Entre os tipos de maturação não houve diferença significativa ($p>0,05$). Apesar da diferença significativa entre as amostras não maturada e maturadas, esses valores de pH não afetam a qualidade da carne, pois estão dentro da faixa de pH ideal que é de 5,5 a 5,8 (27).

As amostras dos tratamentos a seco sem osso e *special bag* apresentaram valores de capacidade de retenção de água (CRA) de 80,81 % e 80,29 % respectivamente, sendo significativamente maiores ($p<0,05$) em relação aos demais tratamentos. A CRA é um parâmetro importante para qualidade, pois ela é uma medida da capacidade da carne reter a água durante a aplicação de forças externas (corte,

prensagem, impacto) ou ao longo do processamento (maturação, congelamento, cocção) (1) e influencia outros parâmetros, como na maciez, suculência, cor, perda por cocção (27) e comercialmente a perda de volume e peso durante a cocção é uma preocupação para os processadores de carne(28). Quanto maior a capacidade de retenção de água, menor a perda por cocção (29), o que pode ser observado nas amostras a seco sem osso e *special bag*, que apresentaram CRA mais alta e menor perda por cocção (20,68 %) entre os tratamentos. Os resultados deste estudo estão de acordo com os encontrados por Li et al. (9) onde a CRA de carne maturada a seco em *special bag* apresentou maior valor comparada a úmida e Laster et al. (4) que observaram valores mais altos para PPC na amostra maturada a seco.

Os valores de força de cisalhamento foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre a carne não maturada comparado às amostras maturadas, tanto úmida quanto a seco. Este resultado é esperado pois a maturação promove a atividade proteolítica pela ação de enzimas, proporcionando uma carne mais macia (30). Entre os tipos de maturação não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$), o que sugere que a atividade proteolítica durante o período de maturação é semelhante em ambos os métodos aplicados, a seco e úmida. Estes resultados são similares aos encontrados por DeGeer et al. (5) em um estudo envolvendo carne bovina maturada com e sem osso, bem como com e sem embalagem permeável e por Ahnström et al. (10), com carne maturada a seco tradicional e embalagem permeável, onde não foi encontrada diferença na força de cisalhamento. Em outro estudo semelhante com maturação a seco, *special bag* e a vácuo, por 21 dias a 2,2 °C, não foi encontrada diferença para a força de cisalhamento entre os tratamentos (31).

O teor de umidade foi afetado pelo tipo de maturação. As amostras de carne submetida a maturação úmida apresentaram valores próximos aos da carne não maturada, enquanto que as carnes maturadas a seco com e sem osso e *special bag* apresentaram valores mais baixos de umidade, isto é, perderam mais água. Portanto, a maturação no *special bag*, bem como a presença ou não de osso não impediram a perda de água. Do mesmo modo, Ahnström et al. (10) também não encontraram diferença na umidade entre amostras maturadas a seco tradicional e com *special bag*.

3.3. Análise sensorial

Perfil do consumidor

Setenta pessoas responderam ao questionário sobre consumo de carne bovina não maturada e maturada. A Tabela 3 apresenta os dados coletados na ficha do perfil do consumidor com as informações sobre sexo, idade, escolaridade dos participantes, consumo de carne na semana, modo de consumo, motivo do consumo, se os consumidores consomem carne maturada e se já ouviram falar do método de maturação a seco (*dry aged*).

Tabela 3. Perfil do consumidor

Informação		%	Informação		%
Sexo	Masculino	56	Escolaridade	Fundamental	1
	Feminino	44		Ensino médio	6
Idade	18 e 35 anos	26		Superior completo	23
	36 e 45 anos	39		Superior incompleto	7
	46 a 50 anos	13		Mestrado	20
	Mais de 50 anos	23		Doutorado	43
Consumo de carne bovina		Todos os dias			11
		4 ou mais vezes na semana			36
		2 a 3 vezes por semana			47
		1 vez na semana			6
Modo de consumo (Pode assinalar mais de uma opção)		Assada			86
		Cozida			69
		Frita			67
		Churrasco			73
		Grelhada			57
		Crua			20
Motivo do consumo (Pode assinalar mais de uma opção)		Sabor			94
		Costume			54
		Qualidade			34
		Saudável			30
		Valor nutricional			3
		Valor (preço)			4
Consome carne maturada		Sim			67
		Não			33
Já ouviu falar em <i>dry aged</i> (maturação a seco)		Sim			56
		Não			44

Neste estudo, observou-se maioria de consumidores do sexo masculino (56 %), com idade entre 36 e 45 anos (39 %), com escolaridade de pós-graduação nível doutorado (43 %). A maioria dos participantes relatou consumir carne bovina de 2 a 3 vezes na semana (47 %) e os modos de consumo mais citados foram "assada" e "cozida" com 86 e 69 % respectivamente.

Na questão sobre consumo de carne maturada, foram deixadas opções para o consumidor justificar a resposta. Entre os consumidores que responderam que sim, os principais motivos citados foram: carne mais macia, mais saborosa, qualidade e praticidade. Entre os participantes que responderam não consumir carne maturada, a maioria justificou pelo preço mais elevado, e questões sensoriais também foram consideradas, como cor escura e odor mais "forte"; alguns participantes citaram não ter hábito, não saber a diferença ou nunca ter provado.

Apesar do método de maturação a seco ser relativamente novo no Brasil e a produção feita em pequena escala, uma proporção considerável de pessoas (56 %) respondeu conhecer ou já ter ouvido falar em carne maturada a seco (*dry aged*). Este fato pode ser atribuído ao local da pesquisa, que foi realizada com participantes que trabalham na própria unidade da Embrapa, e são familiarizados com as pesquisas desenvolvidas.

Teste de ordenação preferência

Foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman para a análise dos dados do teste de ordenação preferência. Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os processos de maturação (Tabela 4), considerando que a diferença necessária para dizer que uma amostra é mais preferida em relação a outra é 41, segundo a Tabela de Newell e MacFarlane (20).

Tabela 4. Diferença entre o somatório do teste de ordenação preferência das amostras maturadas de carne bovina

	Tipo de maturação			
	Úmida	A seco sem osso	A seco com osso	<i>Special bag</i>
Soma total	207	179	203	191
Úmida		28	4	16
A seco sem osso			-24	-12
A seco com osso				12
<i>Special bag</i>				

Não significativo; * significativo ao nível de 5 % pelo teste de Friedman

Na literatura são encontrados diversos estudos com resultados contraditórios. Em um estudo com maturação a seco e úmida, os consumidores não foram capazes de perceber diferença entre as amostras de maturação úmida e a seco, o que poderia indicar que os consumidores não estão acostumados com as características sensoriais da maturação a seco (4). Em um outro estudo conduzido por Ahnström et al. (10) em um teste de análise descritiva com maturação a seco e *special bag*, não foram encontradas diferenças entre os atributos sensoriais como sabor, maciez e suculência. Dikerman et al. (31) em uma análise com painel treinado revelou poucas diferenças entre as carnes maturadas a vácuo, a seco ou em *special bag*, resultando em palatabilidade semelhante. No entanto, outros estudos apontam que consumidores percebem a diferença entre amostras com *special bag*, mais preferidas do que as amostras maturadas a seco tradicional e a vácuo.(32). Em um outro estudo com maturação úmida, a seco e em *special bag*, amostras maturadas a seco tradicional e *special bag* foram preferidas (7). A principal razão para a produção de carne bovina maturada a seco é devido a formação de um sabor diferenciado (3). No entanto, os atributos sensoriais como o sabor são difíceis de estudar pois geralmente requerem um painel treinado para avaliar a complexidade das notas positivas e negativas que podem ocorrer na carne em geral e na carne maturada a seco em particular (33). Neste estudo, uma vez que não houve diferença significativa na maciez instrumental (força de cisalhamento, Tabela 2) entre as amostras maturadas e todas foram consideradas macias, os provadores não perceberam a diferença entre as amostras, principalmente em relação ao sabor. Deste modo, nenhuma amostra foi a mais preferida.

3.4. Análise de compostos voláteis

No geral, 82 compostos voláteis foram identificados (tabela 5) e classificados como aldeídos (n=19), hidrocarbonetos (n=14), álcoois (n=10), cetonas (n=9), compostos aromáticos (n=8), ácido carboxílico (n=5), éster (n=5), pirazinas (n=4), compostos sulfurados (n=3), terpenos (n=3), éter (n=1) e lactona (n=1). Muitos compostos contribuem para a formação do sabor e aroma em carne, sendo produtos ou são alterados pelo processamento, armazenamento ou cocção (34). Os precursores do sabor na carne bovina são divididos em compostos solúveis em água (açúcares e aminoácidos) e lipídeos (35). As principais reações que ocorrem durante o cozimento são a reação de Maillard, entre um aminoácido e um açúcar redutor, a degradação térmica da tiamina e a oxidação de lipídios, resultando em compostos de sabor (36).

Tabela 5. Área dos compostos voláteis identificados em carne maturada por diferentes métodos

T.R.	Composto	IRL	Classe	Tipo de maturação				
				Não maturada	Úmida	Seco sem osso	Seco com osso	<i>Special bag</i>
9,23	2,3-Butanediona	570	Cetona	77754	64447	113742	88712	109595
9,46	2-Butanona	592	Cetona	134761	189559	233700	205800	204692
9,55	Hexano	600	Hidrocarboneto	775	1999	1588	1904	1921
9,75	2-Metilfurano	605	C. Aromático			930	599	
10,04	Acetato de etila	612	Éster	1938	8376	52313	18215	9001
10,27	Metil etil sulfeto	617	C. Sulfurado			240		
11,97	3-Metilbutanal	657	Aldeído	3255	16366	44075	21670	22647
12,12	1-Butanol	661	Álcool			1047	944	1321
12,3	2-Metilbutanal	667	Aldeído	2402	9739	31495	14611	13727
13,05	1-Penten-3-ol	683	Álcool	3375	4493	2453	3339	3008
13,20	2-Pentanona	686	Cetona	11874	13207	12630	14787	12908
13,40	1-Heptene	691	Hidrocarboneto	1133	1096	726	852	686
13,56	2,3-Pentanediona	695	Cetona	2820	2893	3576	2665	2725
13,77	Pentanal	700	Aldeído	118911	99124	69883	91891	71152
14,32	3-hidroxi-2-Butanona	711	Cetona	294767	261177	403591	338674	422673
15,30	3-metil-3-buten-1-ol	732	Álcool		838	716	933	620
15,41	3-metil-1-butanol	734	Álcool		676	2000	605	2505
15,63	2-metil-1-butanol	739	Álcool					568
15,65	2-metil ácido propanoico	739	Ac. carboxílico			1433		
15,97	2-metil-2-butenal	746	Aldeído		998	1762	1280	1473

16,20	Piridina	750	C. Aromático			1417	1307	1110
16,30	Dimetil dissulfeto	752	C. Sulfurado	2106	1658	3170	2113	2807
16,79	2,3,3-Trimetilpentano	762	Hidrocarboneto	1447	995	1993	1255	1945
16,94	1-Pentanol	765	Álcool	49433	38897	24469	33398	26761
17,12	Ácido butanoico	770	Ac. carboxílico		29225	29335	27427	21235
17,40	Tolueno	775	C. Aromático	18480	22818	32408	22585	19789
17,94	3-metil-2-butenal	786	Aldeído		665	865	743	848
18,14	5-Hexenal	790	Aldeído			1137	1116	970
18,22	1-Octene	792	Hidrocarboneto	1130	920	1416	792	1318
18,54	Butanoato de etila	799	Éster			12980	3455	3627
18,64	Octano	800	Hidrocarboneto	14377	19825	11623	11434	9053
18,78	Hexanal	803	Aldeído	589750	436996	370349	439845	374575
19,09	3-metil-2-heptene	809	Hidrocarboneto	587	468	755		801
19,36	2-Octene	815	Hidrocarboneto	468	591	472	424	
19,97	1,3-Octadiene	830	Hidrocarboneto	3972	4017	2615	2648	2276
20,13	Metilpirazina	831	Pirazina			8972	2606	
21,43	2-Hexanal	857	Aldeído	2003	1253	912	991	707
21,74	Ácido pentanoico	864	Ac. carboxílico					2063
21,95	1-Hexanol	868	Álcool	8289	6489	5256	6087	5483
22,28	Acetato de 3-metilbutilo	874	Éster			4117		
23,04	2-Heptanona	890	Cetona	12123	9346	9565	10859	8744
23,26	2-n-Butilfurano	894	C. Aromático			1002		
23,71	Heptanal	904	Aldeído	50887	35124	22921	27588	18769
23,84	2-butoxi-etanol	906	Éter			3315	2057	3923
24,10	Metional	913	Aldeído		2219	3274	2242	3038
24,21	2 (5H) Furanona	915	C. Aromático			2413		
24,36	Butirolactona	918	Lactona	5485	8834	18617	15014	15113
24,45	2,5-Dimetilpirazina	919	Pirazina	1798		10507	4472	
25,77	Alpha. pineno	948	Terpeno	14251	22450	14291	22492	19393
26,18	6-metil-2-heptanona	955	Cetona	1301		995	718	
26,36	Ácido hexanóico	961	Ac. carboxílico	13439	15161	13997	14687	13311
26,80	1-Heptanol	969	Álcool	4155	19521	1385	2235	839
26,89	3-Metilnonano	970	Hidrocarboneto		915			
27,16	Benzaldeído	977	C. Aromático	42980	49372	69740	55197	53369
27,29	1-Octen-3-ol	980	Álcool	43696	31122	25374	26861	20773
27,37	2,3-Octanediona	982	Cetona	78220	66861	50367	62103	53205
27,53	6-metil-hepten-2-ona	985	Cetona	614	769	1493	1070	1179
27,81	Dimetil trissulfeto	991	C. Sulfurado	1714	1189	3509	2006	1846
27,93	2-Pentilfurano	994	C. Aromático	16403	9992	8831	8109	7543
27,98	Hexanoato de etila	995	Éster			1279		
28,19	Decano	1000	Hidrocarboneto	674	1773	861	563	2868
28,46	Octanal	1005	Aldeído	33058	22701	17399	16964	12410
28,60	Trimetilpirazina	1009	Pirazina		1018	4941	2589	

29,23	3-Carene	1022	Terpeno	1499	1883	1276	1814	1580
30,10	Limoneno	1042	Terpeno	17911	25137	16905	22081	21910
30,75	Benzenoacetaldéido	1058	C. Aromático		2093	3979	1986	2883
31,01	2-Octenal	1063	Aldeído	1017	800	700	791	748
31,31	1-Octanol	1070	Álcool	4076		994	744	1299
31,89	3-etil-2,5-dimetilpirazina	1083	Pirazina			864	547	
32,91	Nonanal	1107	Aldeído	50006	34735	30013	26479	20882
34,80	Ácido octanóico	1153	Ac. carboxílico			794		
35,32	2-Nonenal	1167	Aldeído	374		204		213
36,37	Octanoato de etila	1193	Éster			116		
36,65	Dodecano	1200	Hidrocarboneto			642		
37,06	Decanal	1216	Aldeído	781	686	610	490	433
38,51	2-Decenal	1277	Aldeído	297				
39,05	Tridecano	1300	Hidrocarboneto	1046	922	821	938	640
39,27	Undecanal	1313	Aldeído	282	185			
40,49	Tetradecano	1400	Hidrocarboneto	566	532	499	476	367
40,67	Dodecanal	1417	Aldeído		234			
41,60	Pentadecano	1500	Hidrocarboneto	578	707	795	649	558
41,78	Tridecanal	1521	Aldeído		412			

T.R.: Tempo de retenção min.; IRL: Índice de Retenção Linear

Em relação ao número de compostos formados em cada tratamento, as amostras com maturação a seco sem osso e com osso obtiveram o maior número de compostos, 75 e 82 respectivamente. Nas amostras não maturada, úmida e *special bag* foram identificados 52, 58 e 61 compostos respectivamente. Nos compostos identificados, 44 foram em comum, presentes em todos os tratamentos. Alguns compostos foram identificados apenas em determinado tratamento. Na carne não maturada o aldeído 2-decenal apareceu apenas nas amostras do tempo inicial, e é descrito em literatura como tendo sabor de sebo (34). Na maturação úmida foram identificados os compostos 3-metilnonano (hidrocarboneto), dodecanal e tridecanal, ambos compostos descritos com sabor tipo ceroso (*waxy*).

Nas amostras com embalagem com alta permeabilidade ao vapor de água (*special bag*), dois compostos foram identificados apenas neste tratamento, o álcool 2-metilbutanol produto da reação de Maillard da degradação da leucina (37), e o ácido pentanoico que é um compostos da oxidação do ácido linoleico (38) que é associado ao sabor ácido e odor de queijo (39).

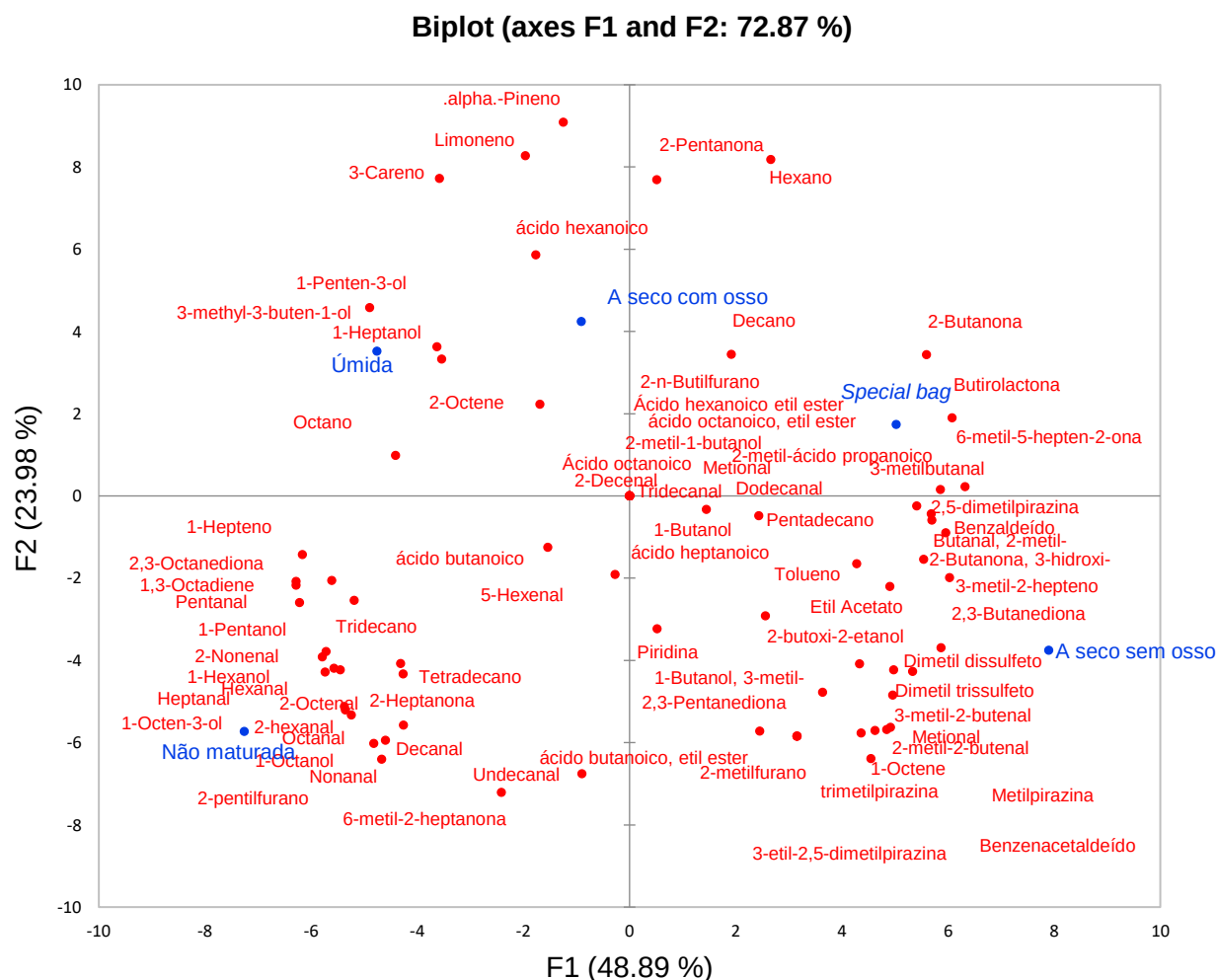
Nas amostras de maturação a seco sem osso, apareceram 9 compostos apenas para este tratamento, como o metil etil sulfeto que é um composto associado com aroma de alho/enxofre (40), 2-metil ácido propanoico, acetato de 3-metilbutila que apresenta aroma frutado tipo banana/cacau (39), 2-n-butilfurano que apresenta sabor doce/frutado (39), 2(5H)-furanona aroma tipo de caramelo/ amanteigado (38), ácido octanóico associado ao sabor rançoso (41), dodecano (hidrocarboneto), os ésteres hexanoato de etila e octanoato de etila associados ao aroma frutado (42). Nenhum composto apareceu apenas na maturação a seco com osso. Mas entre a amostras a seco com e sem osso foram comuns os compostos 2-metilfurano, metilpirazina e 3-etil-2,5-dimetilpirazina. Pirazinas são compostos heterocíclicos, produtos da reação de Maillard, geralmente associados ao sabor assado (36).

Durante o processo de maturação a ação proteolítica das enzimas pode ser influenciada por diversos fatores, como a temperatura, umidade, tipo de maturação, tempo de maturação e disponibilidade de oxigênio (43, 44). Neste estudo foi observado que a maturação a seco sem osso e com osso aumentou o número de compostos voláteis nas amostras. Esse aumento pode estar associado as condições da maturação a seco. Uma vez que a carne é armazenada sem embalagem, uns dos principais efeitos desse método é a perda de água por evaporação e a exposição ao oxigênio que pode contribuir com processos de oxidação (45). Entre as amostras de maturação a seco foram observados importantes compostos para a formação do sabor, entre eles compostos como as pirazinas, furanos e sulfetos que são provenientes da degradação de aminoácidos (46), aminoácidos livres aumentam com o tempo de armazenamento devido a ação proteolítica durante a maturação (47). Compostos produtos de oxidação lipídica como 2 - metil ácido propanoico e ácido octanóico foram encontrados e podem ser associado ao sabor de ranço. As condições da maturação a seco, como a exposição ao oxigênio que favorece os processos de oxidação, podem ter contribuído com a formação dos compostos encontrados neste estudo. Além disso, a perda de água durante esse processo pode influenciar no processos bioquímicos, como reações de hidrólise, condensação e reações de oxi-redução (45), a perda de água também pode contribuir com o aumento na concentração dos metabólitos precursores de sabor (23).

O aumento no número de compostos de sabor encontrados neste estudo nas amostras de maturação a seco, está de acordo com a literatura. Segundo Lee et al. (48) a maturação a seco pode produzir carne com uma concentração mais alta de compostos ativos de sabor e precursores de aroma voláteis em relação a maturação úmida. Alguns estudos relatam a carnes de maturação a seco apresentam características de sabor mais intensificado, como sabor mais forte e torrado (3, 49). Li et al. (9) realizou análise com painel treinado em amostras maturadas a seco, *special bag* e úmida, observou que as amostras a seco apresentaram notas mais altas para o gosto umami, odor e sabor de carne na manteiga.

Para mostrar as variações entre cada tratamento com base em compostos voláteis individuais, uma ACP foi criada (Figura 5). O primeiro componente principal (PC1) descreveu 48,89 % e o segundo componente principal (PC2) descreveu 23,98 % da variação total, totalizando 72,87 %. A amostra não maturada está localizada no quadrante inferior, separada das amostras maturadas e próxima a compostos com importância odorífera provenientes de oxidação de ácidos graxos como os aldeídos 2-hexanal, heptanal, octanal, nonanal e os álcoois 1-octen-3-ol (cogumelo), 1-hexanol (lenha / grama cortada) e 1-octanol (gorduroso / ceroso / oleoso) (34). A amostra *special bag* está próxima as cetonas 2-butanona e 6-metil-5-hepten-2-ona, a lactona butirolactona e ao aldeído 3-metilbutanal. A amostra maturada a seco sem osso localiza-se no quadrante inferior direito, com o maior número de compostos, próxima a compostos de importância odorífera como as cetonas 3-hidroxi-2-butanona e 2,3-butanediona, aos compostos sulfurados dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto, e as pirazinas metilpirazina e trimetil pirazina. As amostras dos tratamentos de maturação a seco com osso e úmida estão no mesmo quadrante, onde é observada menor formação de compostos. A amostra de maturação úmida está próxima aos álcoois 1-heptanol (oleoso / gorduroso) (34), 1-penten-3-ol e 3-methyl-3-buten-1-ol. A amostra a seco com osso está mais próxima a compostos como o 2-n-butilfurano e ácido hexanóico (cheiro de bode) (34). Esses resultados indicam que o tipo de maturação influencia na formação dos compostos voláteis. Essa diferenciação qualitativa na carne bovina maturada por diferentes métodos, pode contribuir com a determinação de compostos que possivelmente podem estar associados na diferenciação sensorial do aroma dessas carnes.

Figura 5. Análise de componentes principais (ACP) de compostos voláteis presentes na carne assada maturada por diferentes métodos: maturação a seco sem osso, a seco com osso, *special bag* e maturação úmida

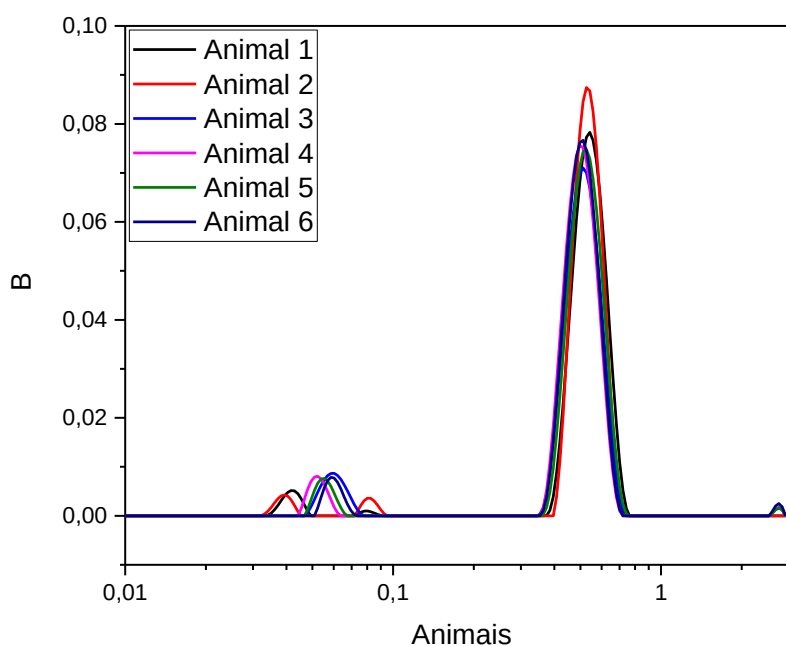


3.5. Ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN-DT)

Para verificar que as amostras provenientes dos seis animais utilizados no experimento não apresentavam diferenças consideráveis, foi comparado o sinal das

amostras no tempo zero, ou seja, antes da maturação, para cada um dos animais. Observa-se a presença de dois picos (Figura 6), sendo que o mais intenso ($\sim 0,5s$) é o sinal da água livre presente na carne (água intracelular) e o menor ($\sim 0,05s$) é proveniente de moléculas de água “ligada” (água da parede celular, por exemplo) (50). A relaxometria de RMN é uma técnica única para estudar a qualidade da carne, pois é possível obter informações diretas sobre as propriedades da água, como distribuição, compartimentação e mobilidade (51).

Figura 6. Transformada Inversa de Laplace das amostras de carne de seis animais diferentes no T0



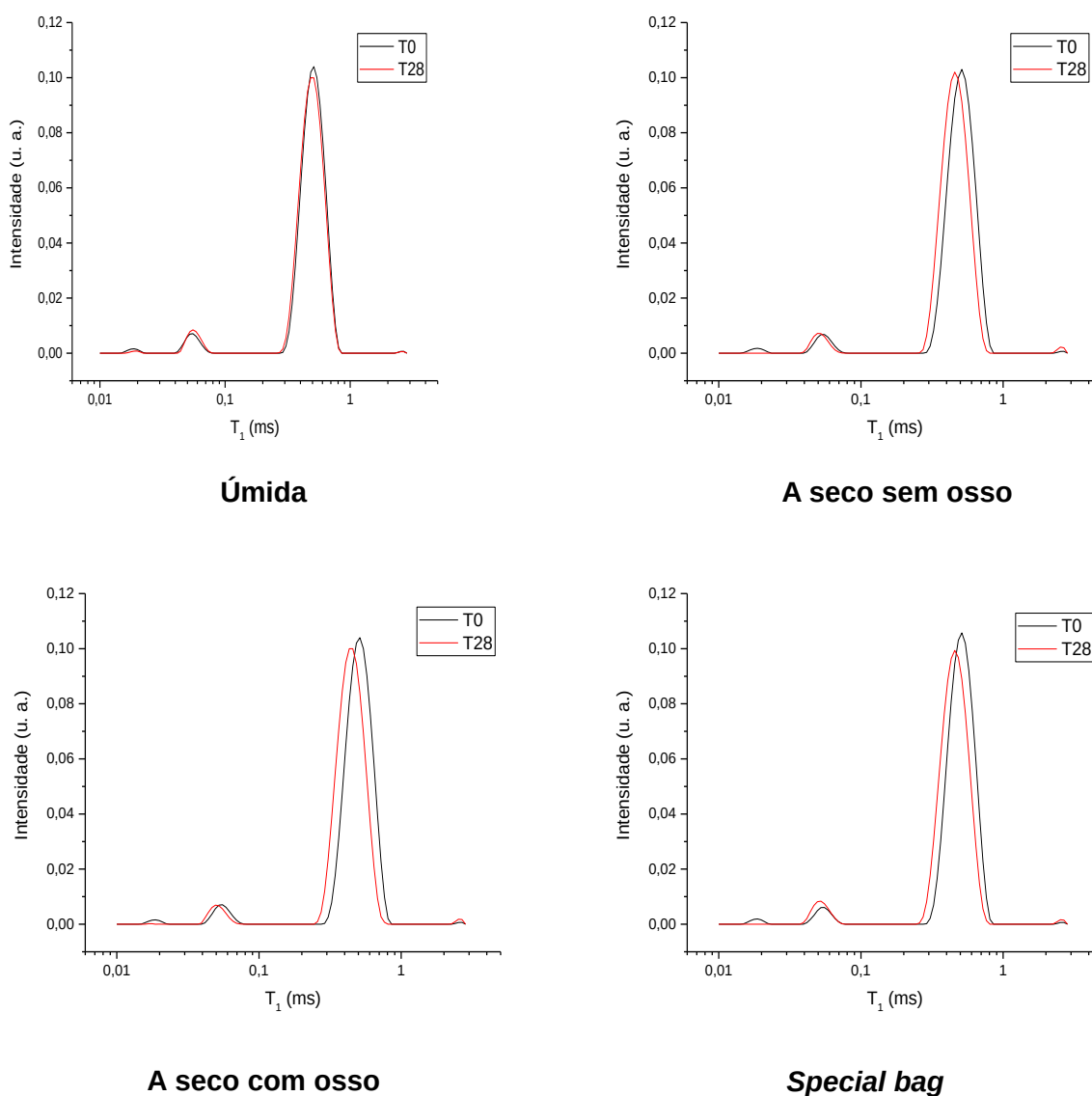
Apesar do pico menor ter apresentado diferença entre os animais, o pico maior que corresponde a água livre, mostrou que as amostras não apresentavam diferenças consideráveis entre si e, qualquer diferença que foi observada durante o processo de maturação, foi proveniente da própria maturação.

O T_1 médio do pico de interesse para as amostras no tempo zero foi de 0,54s e o desvio padrão de 0,015s. Os sinais das transformadas inversas de Laplace de todas as amostras são apresentados no anexo 2.

Evolução da relaxação T_1 em função do tempo de maturação

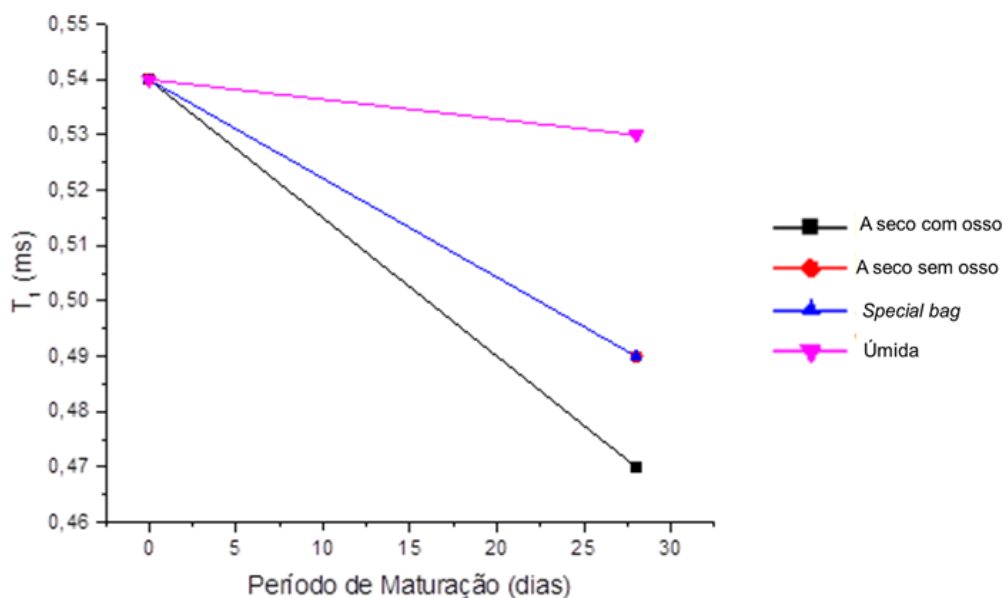
Os gráficos da Transformada Inversa de Laplace evidenciando a dinâmica do T_1 nos métodos de maturação estão apresentados na Figura 7. O sinal de interesse é o pico maior referente a água livre. O tempo inicial (T_0) é igual em todos os tratamentos. Para o tempo de 28 dias de maturação observa-se que o sinal da maturação úmida está sobreposto ao sinal do tempo inicial, esse comportamento é atribuído a menor perda de água durante a maturação úmida, o que pode ser confirmado com os valores obtidos na análise de umidade, com 72,65 %, sem diferença significativa da amostra não maturada com o valor de 73,54 %. Por outro lado, nos tratamentos de maturação a seco o sinal referente ao tempo de 28 dias está deslocado para a esquerda. As maturações a seco sem osso, com osso e *special bag* apresentaram uma dinâmica do tempo de relaxação muito parecida. A diferença no comportamento da água encontrado neste estudo entre as amostras de maturação a seco pode estar relacionado a capacidade de retenção de água, uma vez que os valores de umidade não apresentaram diferença entre essas amostras. Boa parte da água do músculo está no meio intracelular, e estão fortemente ligadas, outra parte da água está associada ao meio extracelular, são moléculas de água livre fracamente ligadas, e podem migrar lentamente para a superfície da carne, onde evapora ou se desprende (27). A maturação a seco sem osso e *special bag* apresentaram valores significativamente maiores para a análise de CRA (Tabela 2), sendo 80, 81 % (sem osso) e 80,29 % (*special bag*), enquanto que para a amostra a seco com osso o valor de CRA (76,69 %) foi significativamente menor.

Figura 7. Transformada Inversa de Laplace evidenciando a dinâmica do T_1 em carne maturada por diferentes métodos



Na Figura 8 observa-se como os valores de T_1 mudaram conforme os diferentes tipos de maturação. Foi utilizada a média dos sinais obtidos na análise das amostras de 6 animais em cada um dos tratamentos no T0 e 28 dias. As amostras submetidas a maturação úmida, apresentaram um tempo de relaxação longitudinal maior, devido a menor perda de água nos 28 dias de maturação nessas amostras. As amostras de maturação a seco sem e com osso e *special bag*, com maior perda de umidade durante o processo de maturação ficaram com o sinal com tempo mais curto de T_1 .

Figura 8. Evolução do T_1 das amostras de carne maturada a seco sem osso, a seco com osso, *special bag* e maturação úmida no tempo inicial (T_0) e aos 28 dias de maturação



Baseado nos valores de T_1 obtidos neste experimento, foi possível identificar o processo de maturação que as carnes foram submetidas, pois na análise elas forneceram resultados diferentes. É um estudo promissor e interessante, com potencial para auxiliar na identificação de fraudes, que podem ocorrer devido a diferença na precificação do produto (52). Essa identificação foi possível apenas utilizando o parâmetro de relaxação longitudinal (T_1), que foi adquirido com uma sequência que normalmente não é utilizada, devido ao longo tempo de medição necessário para coletar vários pontos, sendo considerada uma análise lenta quando comparada a relaxação transversal (18), porém, neste trabalho foi utilizado uma IR que demora apenas 1 minuto, o que possibilitou uma determinação rápida do valor de T_1 das amostras de carne. Os resultados desta análise podem auxiliar no desenvolvimento de um protocolo de identificação dos processos de maturação, o que é interessante, pois a maturação a seco apresenta um alto valor agregado devido principalmente as perdas durante o processo. Um teste rápido para determinar o tipo de maturação pode auxiliar os órgãos de fiscalização, visto que o fracionamento da carne maturada a seco dificulta visualmente a identificação do produto. É necessário um estudo com maior número de amostras e em

diferentes tempos de armazenamento para validar a análise de RMN-DT como um método de identificação do tipo de maturação.

4. CONCLUSÃO

Os diferentes métodos de maturação influenciaram os parâmetros da qualidade da carne. No método tradicional de maturação úmida, como era esperado, observou-se maior rendimento no final do processo e menor perda de umidade. Entre as amostras de maturação a seco, a seco com osso apresentou menores perdas de aparas no final, enquanto que as amostras sem osso e *special bag* apresentaram resultados de perda de aparas semelhantes. A maturação proporcionou o aumento da maciez em todos os tratamentos, sem diferenças entre os métodos a seco e úmido. No teste de análise sensorial, nenhuma amostra foi mais preferida do que a outra. O perfil de compostos voláteis foi influenciado pelo método de maturação, sendo observada maior formação de compostos nas amostras maturadas a seco com e sem osso. Com base nos resultados de RMN apresentados, a análise mostrou um alto potencial para identificação do tipo de maturação a qual foi submetida a carne, entretanto mais estudos são recomendados para validar o método. Concluiu-se neste estudo que a maturação a seco com osso ainda é a melhor opção dentre as opções para maturação a seco, tendo em vista maior rendimento, não havendo diferença na maciez ou na preferência dos produtos, mesmo com a formação de compostos voláteis diferenciados.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimento à Embrapa Pecuária Sudeste pelo financiamento do projeto, e à Embrapa Instrumentação pelo suporte nas análises de RMN-DT.

REFERÊNCIAS

1. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
2. Felício PE De. Fatores Ante E Post Mortem Que Influenciam Na. 1997;1–15.
3. Campbell RE, Hunt MC, Levis P, Chambers IV E. Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. J Food Sci. 2001;66(2):196–9.
4. Laster MA, Smith RD, Nicholson KL, Nicholson JDW, Miller RK, Griffin DB, et al. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer sensory attribute evaluations of steaks from ribeyes, strip loins, and top sirloins from two quality grade groups. Meat Sci. 2008 Nov;80(3):795–804.
5. DeGeer SL, Hunt MC, Bratcher CL, Crozier-Dodson BA, Johnson DE, Stika JF. Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. Meat Sci. 2009;83(4):768–74.
6. Sitz BM, Calkins CR, Feuz DM, Umberger WJ, Eskridge KM. Consumer sensory acceptance and value of wet-aged and dry-aged beef steaks. J Anim Sci. 2006 May;84(5):1221–6.
7. Stenström H, Li X, Hunt MC, Lundström K. Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. Meat Sci. 2014;96(1):661–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.022>
8. Parrish FC, Boles JA, Rust RE, Olson DG. Dry and wet aging effects on palatability attributes of beef loin and rib steaks from three quality grades. J Food Sci.

- 1991;56(3):601–3.
9. Li X, Babol J, Wallby A, Lundström K. Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef gluteus medius aged in a dry ageing bag or vacuum. *Meat Sci.* 2013;95(2):229–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.009>
 10. Ahnström ML, Seyfert M, Hunt MC, Johnson DE. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Sci.* 2006;73(4):674–9.
 11. Lee JR, Baianu IC, Bechtel PJ. Hydration Behavior of Heart Muscle Studied by Nuclear Magnetic Relaxation. Changes with Heat Treatment in Muscle Hydration and Water Distribution in Heart Muscle. *J Agric Food Chem.* 1992;40(12):2350–5.
 12. AMSA. Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association. Champaign, Illinois; 2012.
 13. Hamm R. 4 - Functional Properties of the Myofibrillar System and Their Measurements. In: Bechtel PJ, editor. *Muscle As Food*. San Diego: Academic Press; 1986. p. 135–99. (Food Science and Technology).
 14. Becker J. Official methods of analysis. *Assoc Anal Communities.* 2012;1(Volume 1):141–4.
 15. Bento R de A, Andrade SAC, Silva AMAD. *Análise Sensorial de Alimentos.* 2013;135.
 16. NIST Mass Spectrometry Data Center, William E. Wallace, director, "Retention Indices" in NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>
 17. Pereira FMV, Pflanzner SB, Gomig T, Gomes CL, de Felício PE, Colnago LA. Fast

- determination of beef quality parameters with time-domain nuclear magnetic resonance spectroscopy and chemometrics. *Talanta*. 2013;108:88–91.
18. Moraes TB, Monaretto T, Colnago LA. Rapid and simple determination of T1 relaxation times in time-domain NMR by Continuous Wave Free Precession sequence. *J Magn Reson*. 2016;270:1–6.
 19. Addinsoft. XLStat data analysis and statistics add-in for MS Excel. Paris, France.; 2012.
 20. Newell GJ, MacFarlane JD. Expanded Tables for Multiple Comparison Procedures in the Analysis of Ranked Data. *J Food Sci*. 1987;52(6):1721–5. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05913.x>
 21. Hood DE, Riordan EB. Discolouration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *Int J Food Sci Technol*. 1973;8(3):333–43. doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1973.tb01721.x
 22. El-Din Ahmed Bekhit A, Morton JD, Bhat ZF, Kong L. Meat Color: Factors Affecting Color Stability. *Encycl Food Chem*. 2019 Jan 1;202–10.
 23. Purchas, R.W. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. *Meat Sci*. 1990; .27:120-140.
 24. Kim YHB, Kemp R, Samuelsson LM. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. *Meat Sci*. 2016;111:168–76.
 25. Ha M, McGilchrist P, Polkinghorne R, Huynh L, Galletly J, Kobayashi K, et al. Effects of different ageing methods on colour, yield, oxidation and sensory qualities of Australian beef loins consumed in Australia and Japan. *Food Res Int*. 2019;125:108528.

26. Mokrzycki W, Tatol M. Color difference Delta E - A survey. *Mach Graph Vis.* 2011;20:383–411.
27. Gomide, L. A. M.; Ramos, E. M. ; Fontes PR. *Ciência e qualidade da carne*. Viçosa: UFV; 2013. 599 p.
28. Purslow PP, Oiseth S, Hughes J, Warner RD. The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. *Food Res Int.* 2016;89(Part 1):739–48.
29. Bouton PE, Harris P V., Shorthose WR. Effect of ultimate ph upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. *J Food Sci.* 1971;36(3):435–9.
30. Koohmaraie M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* 1994;36(1):93–104.
31. Dikeman ME, Obuz E, Gök V, Akkaya L, Stroda S. Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef Longissimus lumborum steaks. *Meat Sci.* 2013;94(2):228-33.
32. Li X, Babol J, Bredie WLP, Nielsen B, Tománková J, Lundström K. A comparative study of beef quality after ageing longissimus muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat Sci.* 2014 Aug 1;97(4):433–42.
33. Savell JW. *Dry-Aging of Beef*. Natl Cattlemen's Beef Assoc. 2008.
34. Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. *Meat Sci.* 2007;77(1 SPEC. ISS.):63–80.
35. Koutsidis G, Elmore JS, Oruna-Concha MJ, Campo MM, Wood JD, Mottram D. Water soluble precursor of beef flavor: I. Effect of diet and breed. *Meat Sci.* 2008;79:124–30.

36. Mottram DS. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 1998;62(4):415–24.
37. Reineccius G. *Flavor Chemistry and Technology*. CRC Press; 2005.
38. Aroma Compounds. In: *Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 340–402.
39. The Good Scents Company Information System (TGSCIS). 2020. [cited 2020 May 06] Available from: <http://www.thegoodscentscompany.com/>
40. Assoc. F EM. Fema. Flavor Ingredient Library. [Internet]. 2020. [cited 2020 Apr 13] Available from: <https://www.femaflavor.org/flavor-library>
41. DeMan JM. *Principles of Food Chemistry*. Science. 1999. 595 p.
42. Gambetta JM, Bastian SEP, Cozzolino D, Jeffery DW. Factors influencing the aroma composition of Chardonnay wines. *J Agric Food Chem.* 2014 Jul;62(28):6512–34.
43. Toldrá F, Flores M. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1998 May;38(4):331–52.
44. Van H, Hwang I, Jeong D, Touseef A. Principle of Meat Aroma Flavors and Future Prospect. *Latest Res into Qual Control*. 2012;
45. L ND, Lehninger AL, Cox MM, Nelson DL, Cox MM, Cox UMM, et al. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman; 2005.
46. Watanabe A, Kamada G, Imanari M, Shiba N, Yonai M, Muramoto T. Effect of aging on volatile compounds in cooked beef. *Meat Sci.* 2015;107:12–9.
47. Watanabe A, Ueda Y, Higuchi M. Effects of slaughter age on the levels of free

- amino acids and dipeptides in fattening cattle. *Anim Sci J*. 2004;75(4):361–7.
48. Lee HJ, Yoon JW, Kim M, Oh H, Yoon Y, Jo C. Changes in microbial composition on the crust by different air flow velocities and their effect on sensory properties of dry-aged beef. *Meat Sci*. 2019;153:152–8.
 49. Warren KE, Kastner CL. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beef strip loins. *J Muscle Foods*. 1992;3(2):151–7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4573.1992.tb00471.x>
 50. Bertram HC, Andersen HJ. NMR and the water-holding issue of pork. *J Anim Breed Genet*. 2007;124(s1):35–42.
 51. Bertram HC, Ersen HJ. Applications of NMR in Meat Science. *Annu Reports NMR Spectrosc*. 2004 Jan 1;53:157–202.
 52. Spink J, Moyer DC. Defining the Public Health Threat of Food Fraud. *J Food Sci*. 2011;76(9):R157–63.

ANEXOS

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

1. Você está sendo convidado para participar da pesquisa " **Análise sensorial de carne bovina ou ovina in natura e produtos processados derivados** ".
2. O objetivo deste estudo é determinar a qualidade sensorial da carne bovina ou ovina submetidas a diferentes tecnologias, tais como alta pressão, secagem, cura, cozimento, maturação a seco e úmido, revestimento com embalagens comestíveis, *sous vide* ou hambúrguer.
3. Você foi selecionado e sua participação não é obrigatória.
4. Você pode recusar ou desistir do teste sensorial a qualquer momento, sendo que não sofrerá nenhum dano, bem como não terá nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.
5. Sua participação nesta pesquisa consistirá em realizar o teste sensorial conforme instruções, que pode envolver ou não ingestão de carne bovina ou ovina assada ou processada, de acordo com o tipo de tecnologia empregada. Você estará participando de um teste com:

Tipo de amostra	Teste sensorial
(X) carne bovina () carne ovina	() teste de diferença
(X) in natura () processada	() teste descritivo de aparência (sem ingestão de amostra)
	(X) teste de aceitação

5. Considerando que toda pesquisa envolve riscos, para minimiza-los informamos que para garantir a segurança microbiológica do produto foram tomadas as seguintes providências: a. No caso de carne *in natura*, os animais foram abatidos em estabelecimento comercial, com inspeção estadual ou federal, assegurando a segurança alimentar. Produtos processados foram elaborados em laboratório, seguindo as boas práticas na obtenção dos produtos; b. Para carne *in natura* e produtos processados, as amostras foram armazenadas sob congelamento a -18°C. Para análise sensorial as amostras foram descongeladas em geladeira desde o dia anterior, e no dia seguinte serão preparadas de acordo com o tipo: apenas cortadas (produtos processados consumidos sem tratamento térmico e/ou cozidas em temperatura adequada até uma temperatura interna de 75°C, assegurando a qualidade/segurança da mesma; c. Para evitar risco de contaminação durante o período de armazenamento e preparo foram tomadas providências de padrão de higiene já praticadas no manuseio das amostras de alimentos. As amostras foram armazenadas em condições adequadas, evitando a deterioração e possíveis alterações das características microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais. Caso o participante sofra de algum tipo de alergia, deverá informar esta condição, quando será avaliada a pertinência de sua participação.
6. Caso sinta-se desconfortável em responder o questionário você pode encerrar sem prejuízos;
7. As informações fornecidas na pesquisa serão utilizadas única e exclusivamente para fins de pesquisa e a identidade e qualquer dado pessoal dos respondentes será mantida em sigilo.
8. Caso tenha qualquer dúvida estaremos a postos para esclarecimentos.
9. Quanto aos benefícios, informamos que os dados obtidos serão utilizados para fornecer informações que contribuam para a pesquisa no que se refere à qualidade sensorial da carne bovina e ovina processada, o que auxiliará na escolha de tecnologias que possam fornecer carne *in natura* ou processada de qualidade aos consumidores. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação.
10. Não haverá ressarcimento de despesas pelo seu tempo para responder a este questionário.
11. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar. O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, localizada na Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP – Brasil. Fone (16) 3351-8110. Endereço eletrônico: cephumanos@ufscar.br

Endereço para contato (24 horas por dia e sete dias por semana):

Pesquisadora Responsável: Renata Tieko Nassu, R.G. 15.158.217

Embrapa Pecuária Sudeste Rodovia Washington Luiz, km 234 – Fazenda Canchim, C.P. 339 – São Carlos – SP

Telefone: 16-3411-5681

Local e data: _____

Nome do Pesquisador (legível)	Nome do Participante (legível)
Assinatura do Pesquisador	Assinatura do Participante

Anexo 2: Tempos de relaxação longitudinal (T1) para as amostras no T0 e T28

Tratamentos	Amostras	T₁ (s) T0	T₁(s) T28
Não maturada	Animal 1	0,55687	-
Não maturada	Animal 2	0,55386	-
Não maturada	Animal 3	0,5322	-
Não maturada	Animal 4	0,52078	-
Não maturada	Animal 5	0,54127	-
Não maturada	Animal 6	0,5272	-
Seca com osso	Animal 1	-	0,47103
Seca com osso	Animal 2	-	0,47873
Seca com osso	Animal 3	-	0,51138
Seca com osso	Animal 4	-	0,45295
Seca com osso	Animal 5	-	0,45971
Seca com osso	Animal 6	-	0,47025
Seca sem osso	Animal 1	-	0,50353
Seca sem osso	Animal 2	-	0,49438
Seca sem osso	Animal 3	-	0,4899
Seca sem osso	Animal 4	-	0,47395
Seca sem osso	Animal 5	-	0,49178
Seca sem osso	Animal 6	-	0,47878
Úmida	Animal 1	-	0,53539
Úmida	Animal 2	-	0,52759
Úmida	Animal 3	-	0,54107
Úmida	Animal 4	-	0,5026
Úmida	Animal 5	-	0,54217
Úmida	Animal 6	-	0,51068
Special bag	Animal 1	-	0,47343
Special bag	Animal 2	-	0,46185
Special bag	Animal 3	-	0,49974
Special bag	Animal 4	-	0,49877
Special bag	Animal 5	-	0,49977
Special bag	Animal 6	-	0,50872

Capítulo 3.

Estudo do efeito de embalagens nas características de qualidade da carne bovina maturada a seco

RESUMO

Introdução: A maturação é um processo que promove o aumento da maciez em carnes. Um dos métodos utilizados é a maturação a seco, que além da maciez confere um sabor diferenciado. Tendo em vista que neste processo ocorrem muitas perdas e possíveis contaminações, novas alternativas têm sido estudadas, tais como o uso de embalagens permeáveis e revestimentos comestíveis. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de diferentes embalagens na qualidade físico-química e microbiológica de carne bovina maturada a seco, visando diminuir as perdas durante o processo e maior estabilidade do produto. **Métodos:** Foi utilizado o músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (contrafilé), submetido aos seguintes tratamentos: amostra não maturada, maturação a seco tradicional sem embalagem, maturação em embalagem com alta permeabilidade ao vapor de água, com revestimentos de quitosana ou de alginato de sódio. As amostras foram maturadas a $1 \pm 1^\circ\text{C}$ por 14 e 28 dias. Foram realizadas análises de cor, pH, capacidade de retenção de água (CRA), perda por cocção (PPC), força de cisalhamento (FC), umidade, atividade de água, oxidação lipídica e proteica, análises microbiológicas (psicrotróficos, bolores e leveduras). **Resultados:** A força de cisalhamento e oxidação lipídica não foram afetados pelos tratamentos. O parâmetro a^* da cor foi maior na amostra em embalagem permeável. Em todos os tratamentos observou-se um aumento do pH aos 14 dias e diminuição aos 28 dias. A CRA e PPC apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tipo de embalagem e tempo de maturação. Para oxidação lipídica, as amostras com revestimento de quitosana e alginato de sódio, se mostraram mais estáveis aos 28 dias em relação aos outros tratamentos. Em relação a análise microbiológica, os psicrotróficos apresentaram crescimento tanto na superfície externa quanto na interna, aos 14 e 28 dias em todos os tratamentos, enquanto que a contagem de bolores e leveduras apresentaram aumento apenas aos 28 dias em todos os tratamentos. Apenas a amostra em embalagem permeável (interna) apresentou crescimento de bolores e leveduras significativamente menor ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. **Conclusão:** O uso da embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água foi a melhor opção para o processo de maturação a seco, com menor perda durante o processo e menor crescimento de bolores e leveduras.

Palavras-chave: Qualidade da carne; Maturação; Revestimentos; Quitosana; Alginato de sódio; Maciez.

1. INTRODUÇÃO

A maturação a seco é uma técnica na qual a carne é armazenada sem embalagem em condições de temperatura e umidade controladas (1). Também conhecida como *dry aging*, a carne maturada por este processo é considerada como uma iguaria nos restaurantes brasileiros (2). O processo de maturação a seco é dispendioso devido às altas taxas de encolhimento (6 a 15 %) e perda de aparas (3 a 24 %). Além disso, pode apresentar risco de contaminação microbiológica (3). A principal razão para utilizar o método de maturação a seco é a obtenção de um produto com sabor considerado único e característico de “carne maturada a seco”, intenso, com notas de nozes e manteiga (4, 5, 6).

Atualmente há grande interesse na produção de carne maturada a seco, mas as perdas ocasionadas pelo processo e os riscos de contaminação microbiológica e oxidação que podem afetar sua qualidade, são um problema. Entre as estratégias e técnicas já utilizadas para produzir carne maturada a seco com qualidade, pode-se mencionar a utilização das embalagens altamente permeáveis ao vapor de água (*special bag*), com a finalidade de reduzir a contaminação por microrganismos, oxidação lipídica e as perdas por evaporação e aparas (7, 8). Alguns estudos comparando o método tradicional de maturação a seco com uso da embalagem permeável ao vapor de água, demonstraram bons resultados, tais como redução de crescimento de leveduras (9), obtenção de produto com características sensoriais semelhantes àqueles submetidos a maturação a seco tradicional (6) e proporcionar estabilidade oxidativa (10).

Outros tipos de embalagens podem ser utilizadas no processo de maturação a seco, mantendo as características do produto, como a aplicação de revestimentos comestíveis a base de quitosana e alginato de sódio, sendo que estes filmes apresentam alta permeabilidade ao vapor de água e baixa permeabilidade ao oxigênio (11). A quitosana é um biopolímero, e pode ser obtida a partir da desacetilação da quitina. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose, sendo o principal componente do exoesqueleto de crustáceos (12). A quitosana tem sido amplamente utilizada em alimentos, devido às suas vantagens distintas de fácil processamento, biodegradabilidade, baixa toxicidade, biocompatibilidade e disponibilidade (13). O alginato de sódio é um biopolímero extraído a partir de algas marinhas marrons

(14), sendo um composto de grande interesse, pois é biodegradável, biocompatível, pode agir como espessante, possui capacidade de formar películas e revestimentos não tóxicos (15,16). Pesquisas tem sido realizadas utilizando revestimentos comestíveis em carnes vermelhas, com quitosana (17,18,19) e alginato de sódio (20). Poucos estudos relatam a aplicação de revestimentos comestíveis combinado com o processo de maturação a seco a exemplo de Gudjónsdóttir et al. (21), onde foi aplicado um filme de quitosana a carne maturada a seco, com bons resultados em termos de rendimento, redução de contagens de microrganismos, em comparação com a maturação a seco tradicional. Tendo em vista que durante o processo de maturação a seco ocorrem muitas perdas e possíveis contaminações, novas alternativas têm sido estudadas, tais como o uso de embalagens permeáveis e revestimentos comestíveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de diferentes embalagens na qualidade físico-química e microbiológica de carne bovina maturada a seco, visando diminuir as perdas durante o processo e maior estabilidade do produto.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

As amostras de carne bovina foram adquiridas em frigorífico comercial, sendo de animais machos da raça Angus. Foram coletadas 12 peças inteiras do músculo *Longissimus (thoracis e lumborum)* que corresponde a toda porção do corte conhecido como contrafilé. As peças tinham em média 60 cm, sendo que de cada peça foram retirados 4 pedaços com 12,5 cm e um pedaço com cerca de 10 cm para as análises do tempo inicial (amostra não maturada). As peças de 12,5 cm foram distribuídas aleatoriamente entre os oito tratamentos de maturação, de modo que cada tratamento contou com seis repetições.

2.2. Maturação

As amostras foram submetidas a quatro tratamentos de maturação a seco em dois tempos de maturação, 14 e 28 dias.

- A seco sem revestimento (controle)
- A seco com revestimento de quitosana (1 %)
- A seco com revestimento de alginato de sódio (1,5 %)
- Em *Special Bag* - Maturação a seco com a utilização de embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água (2500 g/50 μm^2 /24 h a 38 °C/50 % UR; marca Tublin® 10, TUB-EX ApS, Denmark)

Todos os tratamentos foram divididos igualmente em duas câmaras frias da Metalfrio (modelo VN50R, São Paulo, SP, Brasil) adaptadas com sistema de controle de temperatura (Coel, modelo P03S, São Paulo, SP, Brasil), a temperatura ajustada foi de $1 \pm 1^\circ\text{C}$. Um termo higrômetro (Testo, modelo 174H, Lenzkirch, Germany) foi utilizado para monitorar a temperatura e a umidade, sendo que as medidas foram realizadas de 15 em 15 min durante os 28 dias de maturação. A umidade monitorada foi em média 70 %. As peças foram pesadas e reposicionadas a cada três dias. Ao final do tempo de maturação de 14 ou 28 dias, as peças foram pesadas, tiveram as aparas retiradas e novamente pesadas para cálculos de rendimentos

2.3. Preparo e aplicação dos revestimentos

Para obtenção do revestimento à base de quitosana, foi preparada uma solução filmogênica, com 1 % m/v quitosana e 0,5 % m/v de glicerol, solubilizados em ácido láctico a 1 % (v/v). A mistura foi homogeneizada em béquer, com auxílio de um agitador magnético, durante 12 h à temperatura ambiente, segundo Alves (22).

Em relação ao revestimento de alginato, foram preparadas duas soluções para sua composição: uma de alginato de sódio, obtida pela adição de 1,5 % (m/v) de alginato de sódio em água destilada estéril a temperatura ambiente, homogeneizada em um liquidificador de alta rotação (Skimsen, modelo TA-02-

N, Brusque-SC) e uma solução de cloreto de sódio 1,5 %. A solução de alginato foi aplicada primeiro nas peças, e em seguida a solução de cloreto de sódio.

Para aplicação dos revestimentos nas peças de carne, foi utilizada a técnica de aspersão, com auxílio de um pulverizador manual. A solução filmogênica foi aplicada uniformemente em todos os lados da peça. Em seguida as amostras foram colocadas em grades por 60 min na câmara fria a 2 °C até a secagem parcial do revestimento. Após esse período, as peças foram pesadas e levadas para as câmaras de maturação.

2.4. Perda de peso durante o processo de maturação

Foram realizadas pesagens no dia inicial do experimento e durante a maturação, para calcular as seguintes perdas:

- Evaporação - relação entre o peso inicial e o peso ao final do processo de maturação;
- Corte (aparas) – relação entre o peso das aparas (superfícies ressecadas) e o peso da peça inteira ao final do processo de maturação.

2.5. Qualidade da carne

2.5.1. Cor e pH

Com a utilização do colorímetro portátil (Hunter Lab MiniScan XE Plus, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, EUA), as amostras foram analisadas de acordo com o sistema CIELAB, por meio dos parâmetros L, a* e b*, onde luminosidade (L^* 0 = preto; 100 = branco), a* = coordenada vermelho/verde (+a = vermelho e -a = verde) e b* = coordenada amarelo / azul (+b = amarelo e -b = azul), com iluminante D65 e observador a 10°. A leitura da cor foi realizada em três pontos da amostra. Com as medidas obtidas para L^* , a* e b*, o Delta E (ΔE) foi calculado com a seguinte formula: $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ (23), entre as amostras controle e os tratamento com embalagens nos tempos de 14 e 28 dias, bem como entre os respectivos tratamentos aos 14 e 28 dias.

A análise de pH foi realizada com auxílio de um peagâmetro (Testo AG, model 230, Lenzkirch, Germany), provido de um sensor para leitura de temperatura e outro para leitura de pH. O aparelho foi calibrado antes do início das análises com tampões de pH 7 e pH 4. A leitura foi realizada em cinco pontos das amostras.

2.5.2. Capacidade de retenção de água (CRA), perda por cocção (PPC) e força de cisalhamento

Para análise de determinação da capacidade de retenção de água (CRA), foi utilizada a metodologia descrita por Hamm (24). Foram retiradas das amostras três alíquotas de aproximadamente 2 g de carne cada. Essas alíquotas foram pesadas em balança analítica, colocadas entre papel de filtro e este, entre duas placas de acrílico. Um peso de 10 kg foi colocado sobre a placa de acrílico por cinco minutos, logo após foram novamente pesadas. O valor de CRA de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (1):

(1)

$$CRA (\%) = \frac{\text{peso da amostra prensada}}{\text{peso da amostra não prensada}} \times 100$$

Para determinação da perda por cocção, bifes com aproximadamente 2,5 cm de espessura foram pesados *in natura* e em seguida submetidos a tratamento térmico em forno combinado (Tedesco, Caxias do Sul, RS, Brasil), pré-aquecido à 180 °C, até que a temperatura interna atingisse 70 °C. Em cada bife foi introduzido um termopar da marca Flyever (modelo FE MUX, São Carlos, SP, Brasil), monitorado por meio do software Embrapa Mux 12. Após os bifes esfriarem à temperatura ambiente, foi realizada uma nova pesagem, para determinar a perda de peso por cocção. O valor de PPC de cada amostra foi calculado de acordo com a fórmula (2):

(2)

$$PPC (\%) = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Após a determinação da perda por cocção os bifes foram embalados em plástico filme de PVC, devidamente identificados, e levados ao refrigerador à temperatura de 6 °C por um período de 12 h. Utilizando-se um vazador cilíndrico metálico (*coring cutter*), foram retirados paralelamente ao sentido longitudinal das fibras musculares de oito a dez cilindros de 1,27 cm de diâmetro, por bife. Os cilindros foram imediatamente cisalhados em um texturômetro (Texture Analyser TA.XT. Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK), equipado com lâmina de Warner-Bratzler, de 1,016 mm de espessura. O texturômetro foi calibrado adicionando o peso padrão de 10 kg na base superior do braço do texturômetro e as condições de análise foram: velocidade 200 mm/min; célula de carga 50 kg; distância 40 mm. A amostra foi posicionada no centro da lâmina Warner-Bratzler para realização da medida. A média dos resultados de força de cisalhamento dos cilindros de cada bife foi considerada como o valor de maciez final de cada amostra.

2.5.3. Teor de Umidade e atividade de água (Aa)

A determinação do teor de umidade foi realizada em triplicata por meio de secagem em estufa, de acordo com a metodologia 39.1.02 da AOAC - Association of Official Analytical Chemists (25). As amostras foram trituradas em processador de alimentos Walita®, modelo Viva RI1364/06 (Varginha, MG, Brasil). Em cadinhos de alumínio foram pesados 2 g de amostra, levados em estufa a 105 °C por 24 h. Após a retirada da estufa os cadinhos permaneceram por uma hora em dessecador a vácuo, sendo pesados novamente. O teor de umidade em porcentagem foi obtido pela razão entre a perda de massa da amostra retirada da estufa e sua massa original, multiplicada por 100.

A atividade da água foi determinada utilizando-se um analisador de atividade de água da marca Aqualab modelo 4TE, Decagon, (Pullman, Estados Unidos). Amostras com aproximadamente 2 mm de espessura foram retiradas da parte externa seca e da parte interna dos bifes de cada tratamento e colocadas em um recipiente descartável específico para o equipamento. As análises foram realizadas em triplicata.

2.6. Oxidação lipídica

A determinação de oxidação lipídica foi realizada por análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (26). As análises foram realizadas de acordo com a metodologia de Vyncke (27,28) modificada por Sørensen e Jørgensen (29), utilizando o ácido 2-tiobarbitúrico na concentração de 0,04 M. Foram coletadas amostras no tempo inicial e nos tempos 14 e 28 dias de maturação. Foi utilizada uma alíquota de 2,5 g de amostra, adicionado 7,5 mL de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) 7,5 %, propilgalato (PG) 0,1 % e etilenodiamino tetra acético dibásico de sódio (NA₂EDTA) 0,1 %, seguido de homogeneização em ultra turrax durante 30 s a 13.500 rpm e filtrado em papel qualitativo. Três mL deste extrato foi transferido para tubo de vidro com tampa rosqueável, sendo adicionados 3 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), tampado e levado em um banho-maria a 100 °C por 40 minutos. Após o resfriamento, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda de 532 nm em espectrofotômetro da marca Pharmacia Biotech, modelo Ultrospec 2000. Os resultados foram expressos como substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) em micro mol de malonaldeído (MDA)/kg de carne usando uma curva padrão. As análises foram realizadas em triplicata.

2.7. Oxidação proteica

A análise de oxidação proteica foi realizada pelo método de determinação de tióis, utilizando como reagente o ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (DTNB), conforme descrito por Ellman (30).

Uma alíquota de 1,0 g de carne foi homogeneizada em 25 mL de dodecilsulfato de sódio (SDS) a 5,0 % dissolvido em tampão Tris hidroximetil aminometano (TRIS) 100 mM a pH 8,0 com o auxílio de um equipamento Ultra Turrax (Marconi, modelo MA102, Piracicaba, SP, Brasil). Os homogenatos foram colocados em banho-maria a 80 ° C por 30 min, depois filtrados.

Na primeira etapa da análise foi determinado a concentração de proteína em um espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV-1601PC Kyoto, Japão), utilizando uma curva padrão preparada a partir de albumina de soro bovino (BSA). Nesta etapa a leitura foi realizada com 250 µL de amostra diluída em 3 mL de SDS, para calibrar o equipamento a solução de SDS foi utilizada como branco, a concentração foi medida em 280 nm.

Em uma segunda etapa para determinar a concentração de tióis, foram diluídos 500 µL da amostra em 2 mL de TRIS e adicionados 500 µL de DTNB 10 mM. A absorbância foi medida em 412 nm antes e depois da adição de DTNB, utilizando como branco uma solução 2mL TRIS, 500 µl SDS e 500 µL de DTNB 10nM. As amostras permaneceram 30 minutos em ausência de luz após a adição do DTNB. A concentração de tióis foi calculada com base em uma curva padrão de 5 pontos, variando de 0,4 a 83,3 µM, preparada com L-cisteína diluída em SDS a 5,0 % em tampão TRIS 100 mM, pH 8.0 O teor de tióis foi expresso em nmol tiol / mg de proteína. As análises foram realizadas em triplicata.

2.8. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas na amostra não maturada (T0), bem como nas amostras maturadas aos 14 e 28 dias. Foram coletadas amostras de três peças de cada tratamento, em cada tempo. Com auxílio de um bisturi e pinça foram retirados 25 g de carne e colocadas em embalagens estéreis. Na parte externa, as amostras foram coletadas em três pontos diferentes da peça e após a toaleta, alíquotas da parte interna foram coletadas. Cada amostra foi homogeneizada com 225 mL de água peptonada 1 % (Neogen®) em um homogenizador de amostra “*stomacher*” (Logen LS 1901, Logen Scientific, São Paulo, Brazil) por 2 min à 230 rpm. Foram realizadas diluições decimais em água peptonada.

Para a contagem de micro-organismos psicotróficos foi utilizada a técnica de plaqueamento em superfície em ágar padrão para contagem (PCA, Neogen®), com incubação a 7° C por 10 dias, de acordo com a metodologia da American Public Health Association (APHA). A contagem de bolores e leveduras foi realizada em ágar Dichloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC, Neogen®), com incubação a 25 °C por 5 dias.

2.9. Análise estatística

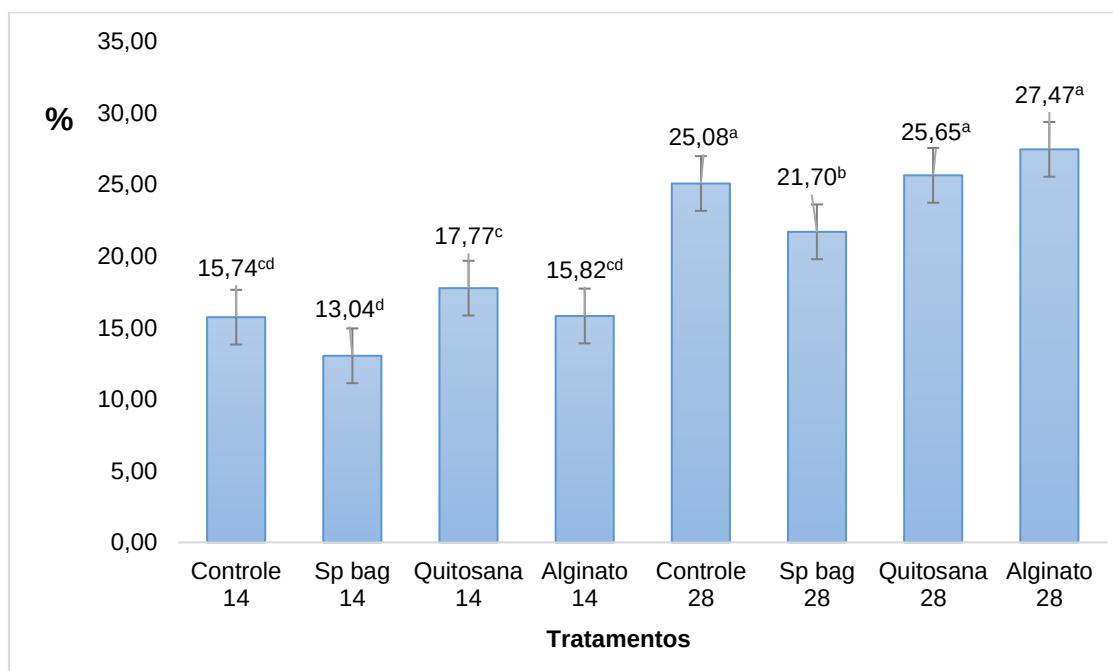
A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o programa estatístico XLSTAT 2012 para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Quando as diferenças foram detectadas, ao nível de 5 %, foi aplicado o teste de Tukey para comparação de médias entre tratamentos. Foi avaliado o efeito do uso de embalagens e do tempo de 14 ou 28 dias de maturação, em um fatorial 4x2 com 6 repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perdas de evaporação e aparas

Na Figura 1 são apresentados os valores de perda por evaporação nas amostras maturadas nos processos a seco (controle), em embalagem permeável ao vapor de água, com revestimentos de quitosana ou alginato de sódio, aos 14 e 28 dias de maturação. Em relação a perda por evaporação durante o período de maturação, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que a amostra em embalagem permeável apresentou os menores valores (13,04 % e 21,70 %) aos 14 e 28 dias respectivamente. As amostras com ambos os revestimentos apresentaram valores de evaporação próximos aos da amostra controle tanto aos 14 como aos 28 dias. Os resultados deste estudo indicam que a embalagem permeável foi a melhor opção para diminuir a perda por evaporação durante a maturação a seco. Do mesmo modo, Dikeman et al. (31) observaram menores perdas por evaporação em carnes maturadas em embalagem permeável comparada a amostras maturadas pelo método tradicional, por 21 dias.

Figura 1. Perda por evaporação ao final da maturação a seco, em embalagem permeável, revestimentos de quitosana ou alginato de sódio aos 14 e 28 dias de maturação

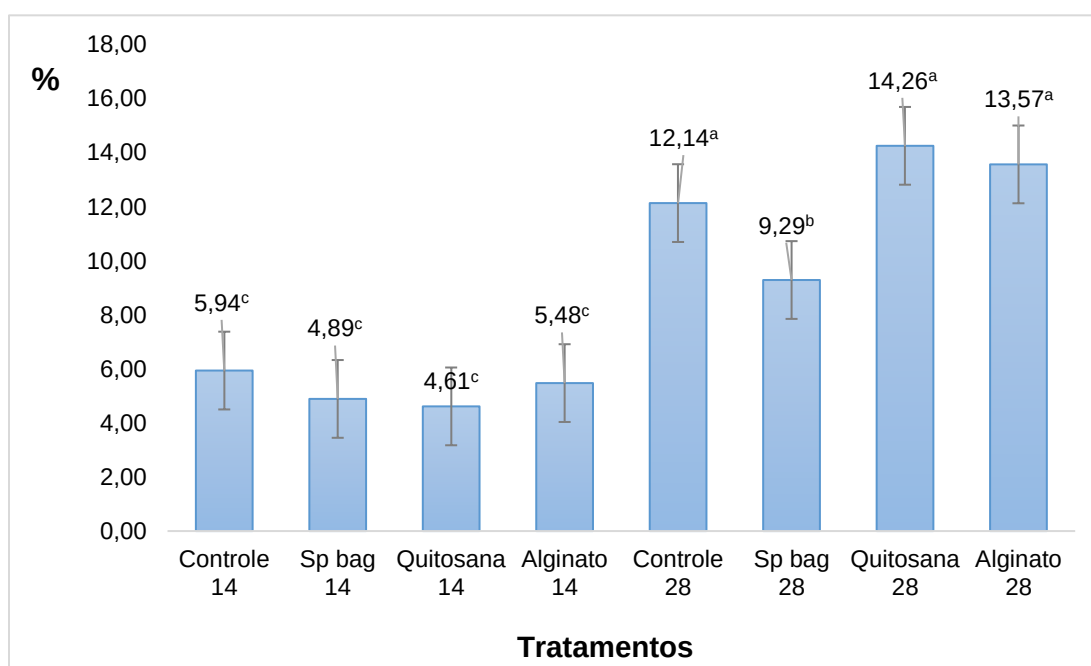


^{abcd}Médias com letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Sp bag: *Special bag*

Na figura 2 são apresentados os valores de perda de aparas nas amostras maturadas pelos processos a seco, em embalagem permeável ao vapor de água, com revestimentos de quitosana ou alginato de sódio aos 14 e 28 dias de maturação.

Na retirada das aparas observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos (com 14 e 28 dias). Aos 14 dias as perdas de aparas não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para os quatro tratamentos. Aos 28 dias, houve aumento na perda de aparas em todos os tratamentos, porém a amostra embalada em *special bag* foi significativamente menor ($p < 0,05$), comparada aos demais tratamentos.

Figura 2. Perda das aparas ao final da maturação a seco, em embalagem permeável, revestimentos de quitosana ou alginato de sódio aos 14 e 28 dias de maturação



^{ab}Médias com letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Sp bag: *Special bag*

Nas análises de perda por evaporação e aparas era esperado um efeito do uso de revestimentos, no entanto eles apresentaram valores similares a amostra controle. A alta permeabilidade ao vapor de água dos filmes a base de quitosana e alginato (11) pode ter sido o motivo para obtenção deste resultado.

3.2. Qualidade da carne

Os resultados da análise de variância para as análises físico-químicas de cor instrumental (L^* , a^* e b^*), pH, capacidade de retenção de água, força de cisalhamento (maciez instrumental), umidade e atividade de água estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios ($\pm$ erro padrão) dos parâmetros da qualidade físico-química de carnes maturadas a seco em diferentes embalagens

	14 dias					28 dias				<i>p</i>
	Não maturada	Controle	Sp bag	Quitosana	Alginato	Controle	Sp bag	Quitosana	Alginato	
L*	39,76 $\pm$ 0,74	40,89 $\pm$ 0,95	41,02 $\pm$ 0,95	41,03 $\pm$ 0,95	41,24 $\pm$ 0,95	38,51 $\pm$ 0,95	38,51 $\pm$ 0,95	40,57 $\pm$ 0,95	40,68 $\pm$ 0,95	0,269
a*	19,12 $\pm$ 0,36 ^{ab}	19,31 $\pm$ 0,47 ^{ab}	19,15 $\pm$ 0,47 ^{ab}	18,47 $\pm$ 0,47 ^b	19,19 $\pm$ 0,47 ^{ab}	18,94 $\pm$ 0,47 ^{ab}	20,73 $\pm$ 0,47 ^a	17,50 $\pm$ 0,47 ^b	18,03 $\pm$ 0,47 ^b	0,001
b*	16,24 $\pm$ 0,32	16,03 $\pm$ 0,41	16,13 $\pm$ 0,41	15,35 $\pm$ 0,41	16,30 $\pm$ 0,41	15,44 $\pm$ 0,41	16,57 $\pm$ 0,41	14,77 $\pm$ 0,41	15,46 $\pm$ 0,41	0,056
pH	5,53 $\pm$ 0,01 ^b	5,68 $\pm$ 0,02 ^a	5,68 $\pm$ 0,02 ^a	5,67 $\pm$ 0,02 ^a	5,65 $\pm$ 0,02 ^a	5,53 $\pm$ 0,02 ^b	5,53 $\pm$ 0,02 ^b	5,54 $\pm$ 0,02 ^b	5,53 $\pm$ 0,02 ^b	< 0,001
CRA (%)	73,33 $\pm$ 0,83 ^e	78,79 $\pm$ 1,08 ^{cd}	77,87 $\pm$ 1,08 ^d	80,08 $\pm$ 1,08 ^{bcd}	79,48 $\pm$ 1,08 ^{bcd}	83,76 $\pm$ 1,08 ^b	83,13 $\pm$ 1,07 ^{bc}	83,15 $\pm$ 1,08 ^{bc}	87,83 $\pm$ 1,08 ^a	< 0,001
PPC (%)	26,28 $\pm$ 1,14 ^a	21,16 $\pm$ 1,47 ^{bcd}	26,08 $\pm$ 1,47 ^{ab}	20,28 $\pm$ 1,47 ^{bcd}	24,00 $\pm$ 1,47 ^{abc}	18,74 $\pm$ 1,47 ^{cd}	20,03 $\pm$ 1,46 ^{bcd}	20,66 $\pm$ 1,47 ^{bcd}	15,73 $\pm$ 1,47 ^d	< 0,001
FC (kgf/cm ²)	4,15 $\pm$ 0,31	3,18 $\pm$ 0,40	4,38 $\pm$ 0,40	3,94 $\pm$ 0,40	4,34 $\pm$ 0,40	4,19 $\pm$ 0,40	3,07 $\pm$ 0,40	3,38 $\pm$ 0,40	3,01 $\pm$ 0,40	0,051
Um.interna (%)	72,84 $\pm$ 0,85 ^a	70,70 $\pm$ 0,85 ^{ab}	72,09 $\pm$ 0,85 ^a	70,81 $\pm$ 0,85 ^{ab}	72,25 $\pm$ 0,85 ^a	72,50 $\pm$ 0,85 ^a	70,33 $\pm$ 0,85 ^{ab}	69,75 $\pm$ 0,85 ^{ab}	67,15 $\pm$ 0,85 ^b	0,001
Um.externa(%)		45,59 $\pm$ 1,44 ^b	54,52 $\pm$ 1,44 ^a	45,65 $\pm$ 1,44 ^b	52,27 $\pm$ 1,44 ^a	40,04 $\pm$ 1,44 ^{bcd}	43,22 $\pm$ 1,44 ^{bc}	37,43 $\pm$ 1,44 ^{cd}	35,85 $\pm$ 1,44 ^d	<0,001
Aa interna	0,9895 $\pm$ 0,00	0,9862 $\pm$ 0,00	0,9876 $\pm$ 0,00	0,9880 $\pm$ 0,00	0,9866 $\pm$ 0,00	0,9863 $\pm$ 0,00	0,9873 $\pm$ 0,00	0,9853 $\pm$ 0,00	0,9883 $\pm$ 0,00	0,659
Aa externa		0,9672 $\pm$ 0,00 ^b	0,9806 $\pm$ 0,00 ^a	0,9632 $\pm$ 0,00 ^{bc}	0,9727 $\pm$ 0,00 ^{ab}	0,9425 $\pm$ 0,00 ^d	0,9620 $\pm$ 0,00 ^{bc}	0,9515 $\pm$ 0,00 ^{cd}	0,9445 $\pm$ 0,00 ^d	<0,001

^{abcd}Médias com letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.; CRA: Capacidade de Retenção de Água; PPC: Perda por Cocção; FC: Força de cisalhamento; Um.: Umidade; Aa: atividade de água.

Não foram observadas diferenças ($p>0,05$) para L^* (luminosidade) e b^* (amarelo). Foi observada diferença significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro a^* . A amostra em embalagem permeável ao vapor de água (*special bag*) aos 28 dias apresentou o maior valor 20,73 (a^*) indicando maior intensidade da cor vermelha em relação às amostras revestidas com quitosana aos 14 e 28 dias e alginato aos 28 dias (valores 18,47; 17,50 e 18,03 respectivamente).

A cor é uma característica de qualidade importante e um fator determinante para a vida de prateleira (32). As amostras com revestimento de quitosana e alginato (28 dias) apresentaram menor intensidade para a cor vermelha, o que poderia ser atribuído a disponibilidade de oxigênio (34), tendo em vista que estes materiais apresentam baixa permeabilidade ao oxigênio, favorecendo a formação de metamioglobina (19).

Na Tabela 2 são apresentados os valores de ΔE calculados a partir dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*). Em relação as amostras com 14 dias comparado ao controle 14 dias, os valores de ΔE ficaram entre 0 e 1, o que significa que não é possível a diferença ser percebida (35). Aos 28 dias, foram encontrados valores entre 2 e 3,5, indicando que até um observador inexperiente pode notar a diferença (35). Quando foram comparados os tempos 14 e 28 dias para o mesmo tratamento, para as amostras em embalagem permeável, o ΔE foi 3, indicando que até um observador inexperiente poderia notar a diferença (35) e para as amostras com revestimentos de quitosana e alginato, ficaram entre 1 e 2, que indica que apenas um observador experiente poderia notar diferença na cor (35).

Tabela 2. Valores de ΔE obtidos dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*), calculados entre controle e tratamentos 14 dias, controle e tratamentos 28 dias e entre 14 e 28 dias dos tratamentos de embalagens.

	ΔE		
	<i>Special bag</i>	Quitosana	Alginato
A seco 14 x embalagens*	0,23	1,09	<0
A seco 28 x embalagens*	2,12	2,6	2,35
Emb. 14 x 28 Emb. **	3	1,22	1,54

*Maturação a seco tradicional comparado aos tratamentos com embalagens aos 14 e 28 dias

**Tratamentos de embalagens 14 dias versus tratamentos de embalagens 28 dias (comparados entre o mesmo tipo de embalagem)

Para o pH foi encontrada diferença significativa ($p < 0,001$) entre as amostras não maturadas e os tratamentos com 14 e 28 dias. Foi observado um aumento significativo do pH aos 14 dias em todas as amostras e aos 28 dias um declínio em todos os tratamentos não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) em relação ao valor da carne não maturada. Em outros estudos também não foram encontradas diferenças no pH em relação ao método de maturação a seco tradicional e *special bag* no mesmo tempo de maturação (7-8).

Neste estudo foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) da CRA entre as amostras maturadas em relação a amostra não maturada. Na amostra revestida com alginato 28 dias, foi observado um valor de CRA maior (87,83 %), em relação aos outros tratamentos. O menor valor de CRA encontrado entre os tratamentos foi na *special bag* 14 dias (77,87 %). A CRA é a capacidade da carne de reter sua umidade ou água durante a aplicação de forças externas, como corte, aquecimento, trituração e prensagem (36). A menor capacidade de retenção de água da carne implica perdas do valor nutritivo pelo exsudato liberado, resultando em carne mais seca e com menor maciez (37). Em geral, a CRA aumenta com a maturação, em razão da desorganização miofibrilar causada pela ação enzimática das calpaínas e catepsinas, que podem aumentar os sítios de ligação, onde a água antes livre se torna ligada ou imobilizada (38). Uma possível razão para o aumento da CRA na amostra com alginato seria a ação quelante do revestimento (39), devido a presença de cátions na carne, como o Ca^{2+} , Mg^{2+} e Zn^{2+} . A adição de qualquer quelante pode aumentar a CRA, esta ação quelante com o cálcio aumenta os sítios de ligação para a água livre (40).

Houve diferença significativa ($p < 0,001$) para perda por cocção entre os tratamentos de embalagens. A amostra em embalagem permeável e alginato com 14 dias apresentaram valores semelhantes a carne não maturada (26,08 %, 24 % e 26,28 % respectivamente). A amostra revestida com alginato com 28 dias de maturação, apresentou o menor valor de PPC (15,73 %). Do mesmo modo, Dikeman et al. (31) e DeGeer et al. (6) também encontraram maiores perdas por cocção nas carnes maturadas em embalagem permeável ao vapor de água com as mesmas especificações das embalagens utilizadas neste experimento, quando comparadas com as carnes maturadas a seco sem embalagem.

A maciez instrumental, avaliada pela força de cisalhamento, não foi afetada ($p>0,05$) pelos tipos de embalagem utilizados ou pelo tempo de maturação. Esperava-se que na maturação nos tempos de 14 e 28 dias, a maciez da carne diminuísse, isto é, apresentasse menores valores de força de cisalhamento, conforme demonstrado por Koohmaraie (41). Este efeito pode não ter sido observado neste estudo devido o experimento ter se iniciado após 15 dias de abate, quando as amostras permaneceram embaladas a vácuo em câmara fria no frigorífico, já tendo passado pelo processo de maturação neste período. A redução da força de cisalhamento é maior nos períodos iniciais (42). Ao comparar o valor da amostra inicial, com as amostras maturadas aos 14 e 28 dias, a maciez já estava estabelecida. Considerando como valor limite de força de cisalhamento de 5,0 kgf para uma carne macia (43), as amostras no início do experimento apresentaram em média valor de 4,15 kgf, deste modo, pode-se dizer que as amostras no início do experimento já eram consideradas macias. Entre os tratamentos estudados, os valores de força de cisalhamento variaram de 3,01 a 4,38 kgf/cm². Semelhante aos resultados deste estudo, Ahnström et al. (9) comparando maturação a seco tradicional e em embalagem permeável, com animais da raça Angus por 14 e 21 dias, também não encontraram diferença entre os tratamentos e a média da força de cisalhamento foi de 2,40 kgf/cm², sendo que esse estudo foi iniciado 11 dias após o abate.

Foi observada diferença significativa ($p<0,001$) nos valores de umidade interna e externa entre os todos os tratamentos. Em relação a umidade interna, observa-se que as amostras em embalagem permeável com 14 dias (72,09 %) alginato 14 dias (72,25 %) e controle 28 dias (72,50 %) não apresentaram diferença em relação a mostra não maturada (72,84 %). A amostra com o valor mais baixo em relação a todos os demais tratamentos, foi a com revestimento de alginato de sódio com 28 dias (67,15 %).

Nos resultados de umidade externa, observa-se valores mais altos nas amostras maturadas em embalagem permeável (54,52 %) e com revestimento de alginato (52,27 %) ambas com 14 dias, e os valores mais baixos foram encontrados nas amostras com 28 dias revestidas com quitosana (37,43 %) e alginato (35,85 %). Para o tratamento com revestimento de quitosana também foram observados valores mais baixos para umidade externa aos 14 dias (45,65 %) não apresentado diferença do controle (45,59 %) e aos 28 dias (37,43 %). A

perda de umidade nas amostras com revestimento, principalmente na parte externa, pode ter ocorrido devido à alta permeabilidade ao vapor de água atribuída aos filmes a base de quitosana (44) e alginato de sódio (45,46).

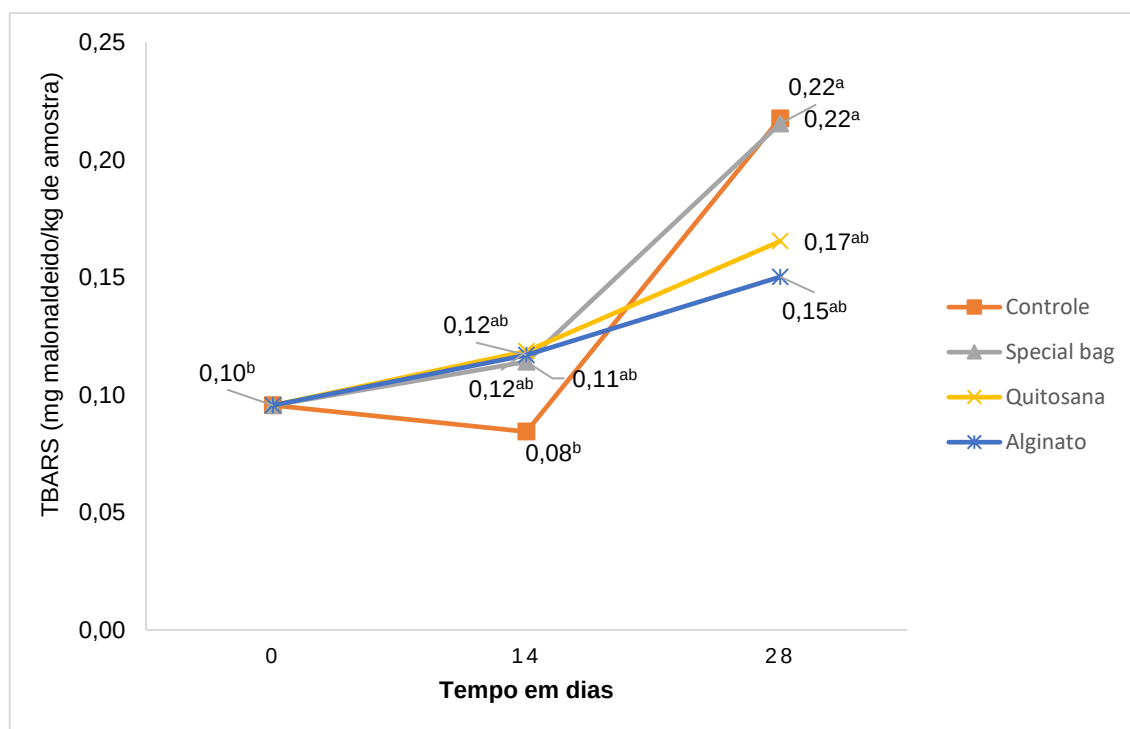
A atividade de água interna não apresentou diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos, o que significa que apesar da atividade de água externa ter diminuído no decorrer da maturação, este parâmetro foi mantido na parte interna. Foi encontrada diferença significativa ($p<0,001$) para os valores de atividade de água externa. A amostra na embalagem permeável aos 14 dias apresentou o maior valor (0,9806) enquanto que as amostras maturada a seco (controle) e com revestimento de alginato aos 28 dias apresentaram os valores mais baixos, 0,9425 e 0,9445 respectivamente.

Enquanto o teor de umidade refere-se apenas a quantidade de água presente nos alimentos, a atividade de água mede a disponibilidade de água livre no alimento e correlaciona-se as taxas de crescimento de microrganismos e as taxas de muitas reações de degradação, tornando-se um indicativo de estabilidade (47). Na literatura são encontrados valores de atividade de água para a multiplicação de microrganismos, por exemplo *Pseudomonas* spp. (0,97 Aa) e *Escherichia coli* (0,96 Aa) (48). Sendo assim, valores mais baixos de Aa encontrados na crosta externa das amostras de alguns tratamentos deste estudo, podem contribuir com a estabilidade microbiológica no produto.

3.3. Oxidação lipídica

Para a análise de oxidação lipídica foi observado efeito significativo ($p<0,001$) entre os tratamentos. A Figura 3 apresenta os resultados de TBARS em mg malonaldeído/kg de amostra nos tempos 0, 14 e 28 dias. O controle 14 com 0,08 mg de MDA kg⁻¹ não apresentou diferença em relação a amostra não maturada que apresentou valor de 0,10 mg de MDA kg⁻¹, mas apresentou diferença ($p<0,05$) dos tratamentos com embalagens aos 14 dias. Entre as amostras com embalagens aos 14 dias não houve diferença.

Figura 3. Valores médios de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em mg malonaldeído/kg de amostra em carnes maturadas.



^{ab} Médias com letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

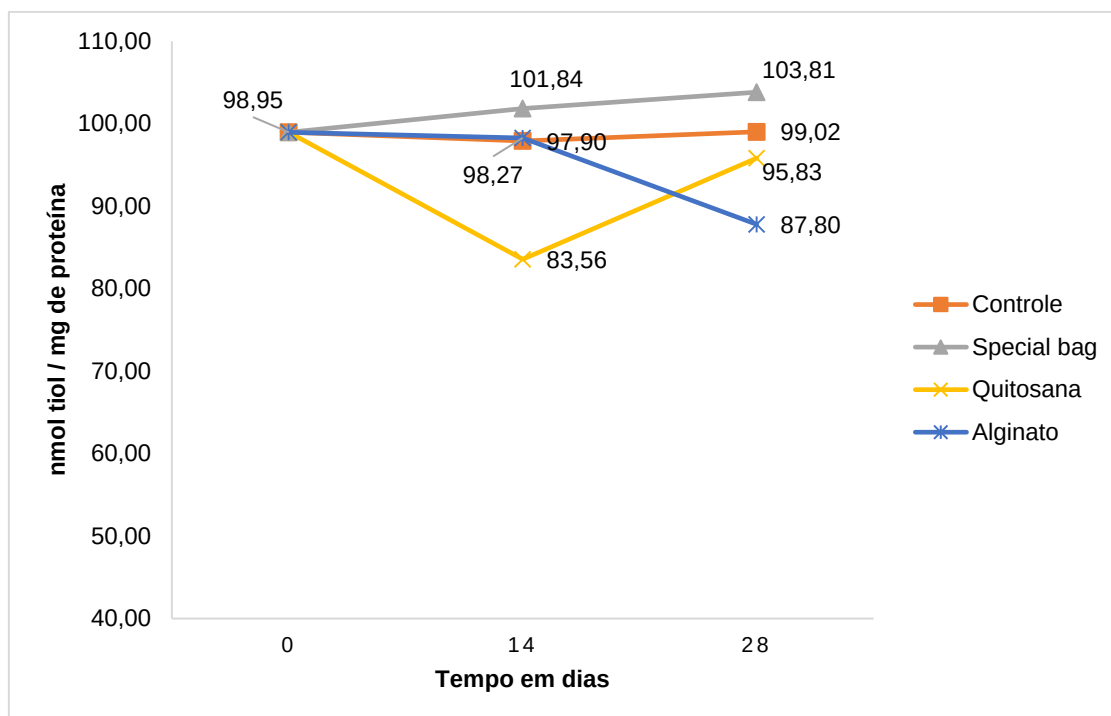
Valores mais altos de TBARS ($0,22 \text{ mg de MDA kg amostra}^{-1}$), foram observados nas amostras maturada a seco e na embalagem permeável (*special bag*) com 28 dias de maturação. Segundo Tarladgis et al. (49) geralmente, valores de TBARS maiores que $1,0 \text{ mg malonaldeído kg}^{-1}$ geralmente são associados ao sabor e odor rançoso em carnes, portanto todas as amostras foram consideradas dentro do parâmetro aceitável por serem menores do que o valor citado. As amostras com 28 dias de maturação com revestimento de quitosana e alginato não apresentaram diferença nas médias, quando comparado às médias encontradas nas amostras com revestimentos aos 14 dias de maturação, o que poderia indicar que a utilização dos revestimentos contribuiu para manter a estabilidade oxidativa. O uso de revestimentos pode evitar a oxidação de lipídios (18,20). Os revestimentos de quitosana e alginato apresentam uma ótima barreira a permeabilidade ao oxigênio, sendo favorável para a diminuir as reações de oxidação (50,11).

Condições aeróbias na maturação a seco podem favorecer a oxidação lipídica ao longo do tempo (33). Em geral, os resultados obtidos neste estudo não apresentaram valores altos para oxidação de lipídios para todos os tratamentos. Deste modo, pode se dizer que a maturação a seco no período de até 28 dias e a utilização de filmes de revestimento contribuíram com a obtenção de um produto com estabilidade oxidativa, sendo um fator importante para manter a qualidade sensorial, uma vez que, compostos de oxidação lipídica são precursores de sabores indesejáveis (51). Cardoso et al. (18) em carne bovina refrigerada com revestimento à base quitosana, observaram valores mais baixos de TBARS comparado à revestimento de gelatina sem quitosana, atribuindo esse resultado propriedade antioxidante da quitosana. A atividade antioxidante da quitosana se deve à sua capacidade de eliminar os radicais livres e quelar os íons de ferro (52).

3.4. Oxidação proteica (Tióis)

Não houve efeito significativo das embalagens nos valores de tióis ($p>0,05$) entre em todos os tratamentos. Os valores de oxidação proteica permaneceram estáveis durante o período do experimento (Figura 4). A oxidação de proteínas é indesejada, pois é prejudicial para qualidade da carne, ela pode causar alterações na cor, sabor, textura, CRA e ainda na perda do valor nutricional da carne fresca e processada (53). A oxidação proteica é um dos maiores indicadores de deterioração da carne (54). A oxidação de proteínas é responsável por muitas modificações biológicas, tais como fragmentação ou agregação de proteínas e diminuição da solubilidade das proteínas que afetam a qualidade da carne e dos produtos cárneos (55). Era esperado que os tratamentos com embalagens apresentassem valores menores de oxidação em relação ao controle, uma vez que os processos de oxidação proteica podem aumentar na presença de oxigênio (56).

Figura 4. Valores médios de oxidação proteica pelo método de determinação de tióis em nmol tiol / mg de proteína em amostras de carne maturada.



3.5. Análises microbiológicas

A legislação brasileira não estabelece padrões microbiológicos para carnes maturadas a seco, como também não estabelece padrões para demais microrganismos deteriorantes, como bactérias psicrotróficas, bolores e leveduras. Microrganismos indicadores e deteriorantes são frequentemente utilizados na avaliação da qualidade microbiológica de alimentos, podendo fornecer informações sobre contaminações, deteriorações, indicando condições inadequadas de processamento, produção e armazenamento. Entre os indicadores utilizados estão os microrganismos aeróbios: psicrotróficos, mesófilos, enterobactérias, bolores e leveduras (48). Neste experimento foi realizado o método de contagem em placas para psicrotróficos e bolores e leveduras.

Bactérias psicrotróficas são aquelas capazes de se desenvolver em temperaturas de refrigeração entre 0 °C e 7°C, são associadas a deterioração de produtos refrigerados (57). Em geral, bactérias psicrotróficas podem ser divididas em duas categorias: bactérias gram-positivas, incluindo *Bacillus*,

Corynebacterium, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Listeria*, *Paenibacillus* e *Microbacterium* e bactérias gram-negativas, como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobact*, *Yersinia*, *Aeromonas* e *Chromobacterium* (58). E os bolores e leveduras estão amplamente distribuídos no ambiente e são bastante resistentes às condições adversas como baixo pH e atividade de água (57).

Neste experimento as análises microbiológicas foram realizadas no dia inicial na amostra não maturada, aos 14 e 28 dias de maturação. As contagens para psicrotróficos, bolores e leveduras na superfície e no interior das amostras estão apresentados na Tabela 3. Os valores são expressos em log UFC (Unidade Formadora de Colônia) por peso (g).

No início do experimento (T0) a amostra não maturada apresentou para microrganismo psicrotróficos o valor de 3,36 log UFC/g e bolores e leveduras ficaram abaixo do limite de detecção (< 1 log UFC/g).

As contagens de micro-organismos psicrotróficos apresentaram diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos, tanto na superfície externa quanto na interna. Na parte interna da peça a amostra maturada a seco (controle) com 14 dias apresentou a menor contagem 2,86 UFC/g log comparada com a amostra com revestimento de quitosana com 28 dias (4,75 log UFC/g). No entanto entre os tratamentos com embalagens não houve diferença significativa na parte interna das amostras para psicrotróficos. Em relação a parte externa, foi observado aumento em relação ao início do experimento, porém entre os tratamentos não houve diferença.

Para bolores e leveduras as amostras com 14 dias (interna e externa), não apresentaram crescimento, ficando abaixo do limite de detecção. No tempo de 28 dias, as amostras em embalagem permeável (*special bag*) na porção interna apresentaram um valor significativamente menor ($p < 0,05$) para o crescimento de bolores e leveduras. Li et al. (8) também observaram menor crescimento de leveduras nas amostras em embalagem permeável em relação a amostras de maturação a seco sem embalagem. Do mesmo modo, Ahnström et al. (9) observaram menor crescimento na maturação em embalagem permeável, o que poderia indicar que o uso de um embalagem permeável ao vapor de água seria a opção mais indicada para controlar o crescimento de

Tabela 3. Contagens microbianas ($\pm$ erro padrão) em amostras maturadas a seco em diferentes embalagens (log UFC/g)

	Não maturada	14 dias				28 dias				<i>p</i>
		Controle	Sp bag	Quitosana	Alginato	Controle	Sp bag	Quitosana a	Alginato	
Psic. Int.*	3,36 $\pm$ 0,27 ^{ab}	2,86 $\pm$ 0,38 ^b	3,19 $\pm$ 0,38 ^{ab}	4,29 $\pm$ 0,38 ^{ab}	4,30 $\pm$ 0,38 ^{ab}	4,71 $\pm$ 0,38 ^a _b	3,66 $\pm$ 0,37 ^a _b	4,75 $\pm$ 0,38 ^a	4,66 $\pm$ 0,38 ^a _b	0,01
Psic. Ext.*	3,38 $\pm$ 0,27 ^b	4,44 $\pm$ 0,38 ^{ab}	5,13 $\pm$ 0,38 ^a	4,25 $\pm$ 0,38 ^{ab}	4,70 $\pm$ 0,38 ^{ab}	4,77 $\pm$ 0,38 ^a _b	5,33 $\pm$ 0,37 ^a	4,96 $\pm$ 0,38 ^a	5,29 $\pm$ 0,38 ^a	0,01
B. Lev. Int.*	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	3,09 $\pm$ 0,24 ^a	2,13 $\pm$ 0,23 ^b	2,90 $\pm$ 0,24 ^a	3,16 $\pm$ 0,24 ^a	< 0,001
B. Lev.Ext.*	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	<1,00 $\pm$ 0,00 ^c	2,59 $\pm$ 0,37 ^a	3,37 $\pm$ 0,36 ^a	3,12 $\pm$ 0,37 ^a	3,44 $\pm$ 0,37 ^a	< 0,001

^{abc}Médias com letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$). Sp bag (special bag) Psic.: Psicrotróficos; B. Lev.: Bolores e Leveduras; Int: amostra coletada na parte interna da amostra; Ext.: Amostra coletada na parte externa da amostra.

*Limite de detecção: 2 log UFC/g

microrganismos. Na superfície externa das amostras, não foi detectada diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos aos 28 dias.

Os valores para crescimento de microrganismos psicrotróficos, bolores e leveduras obtidos neste estudo, estão próximos aos encontrados por Astrid (60) em um estudo com maturação a seco e *special bag*, para psicrotróficos nas amostras armazenadas a 2 °C com 65 % de umidade, onde foram obtidos os seguintes valores aos 21 dias na parte externa de 2,88 log UFC/g (a seco) e 4,22 log UFC/g (*special bag*), na parte interna 6,22 log UFC/g (a seco) e 4,61 log UFC/g (*special bag*). Bernardo et al. (61) em amostras de maturação a seco encontraram valores de 4,07 para psicrotróficos e 3,02 log UFC/g para bolores e leveduras aos 28 dias de maturação.

Não foi observado efeito em relação ao uso dos revestimentos de quitosana e alginato neste experimento como esperado. Para o tratamento com quitosana era esperado menor crescimento de microrganismos, tendo em vista que vários trabalhos relatam ação antimicrobiana e antifúngica associada ao filme de quitosana (17, 62, 63). Em relação ao revestimento de alginato é citado na literatura com a propriedade de formar uma barreira física (64). Em um estudo com carne bovina com revestimentos de alginato com e sem compostos ativos da casca de abacaxi Loureço et al. (65) observaram que os revestimentos de controle sem compostos ativos não apresentaram efeito significativo na diminuição da carga microbiana de aeróbios mesófilos e *Pseudomonas* spp. Do mesmo modo, Benavides et al. (14) observou o filme de alginato usado como controle não inibiu o crescimento de microrganismos, enquanto que os tratamentos com óleo essencial de orégano inibiram o crescimento.

Neste experimento a embalagem permeável (*special bag*) mostrou-se como a melhor alternativa para diminuir o crescimento de microrganismos em carnes maturadas a seco, obtendo menor crescimento de psicrotróficos aos 14 dias e menor crescimento de bolores e leveduras aos 28 dias no interior das amostras.

4. CONCLUSÃO

Neste estudo, o uso da embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água, mostrou-se a melhor opção para o processo de maturação a seco, apresentando menor perda por evaporação durante o período de maturação, preservando a umidade interna do produto, maior valor de a^* aos 28 dias indicando maior intensidade da cor vermelha e menor crescimento na parte interna de bolores e leveduras aos 28 dias de maturação.

O uso de revestimentos de quitosana e alginato são promissores, tendo em vista que as amostras com revestimento apresentaram bons resultados na análise de oxidação lipídica. Porém, não diminuíram as perdas por evaporação e de aparas. Em estudos futuros, deve-se testar outras combinações na formulação de quitosana e alginato e suas propriedades em relação a permeabilidade ao vapor de água, bem como analisar a possibilidade da incorporação de compostos bioativos e óleos essenciais na formulação dos revestimentos, para aumentar a atividade antimicrobiana e antioxidante proporcionando uma maior vida de prateleira do produto.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimento à Embrapa Pecuária Sudeste pelo financiamento do projeto e a Embrapa Instrumentação pelo uso de equipamentos e instalações.

REFERÊNCIAS

1. Smith RD, Nicholson KL, Nicholson JDW, Harris KB, Miller RK, Griffin DB, et al. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. *Meat Sci.* 2008;79(4):631–9.
2. Brazil FS. Dry Aging é um processo seguro para maturação de carnes? [Internet]. 2019. [cited 2020 Dec 22] Available from: <https://foodsafetybrazil.org/dry-aging-e-seguro/>
3. Dashdorj D, Tripathi VK, Cho S, Kim Y, Hwang I. Dry aging of beef; Review. *J Anim Sci Technol.* 2016;58(1):1–11. <http://dx.doi.org/10.1186/s40781-016-0101-9>
4. Savell JW. Dry-Aging of Beef. *Natl Cattlemen's Beef Assoc.* 2008.
5. Campbell RE, Hunt MC, Levis P, Chambers IV E. Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. *J Food Sci.* 2001;66(2):196–9.
6. DeGeer SL, Hunt MC, Bratcher CL, Crozier-Dodson BA, Johnson DE, Stika JF. Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Sci.* 2009;83(4):768–74.
7. Stenström H, Li X, Hunt MC, Lundström K. Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. *Meat Sci.* 2014;96(1):661–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.022>
8. Li X, Babol J, Bredie WLP, Nielsen B, Tománková J, Lundström K. A comparative study of beef quality after ageing longissimus muscle using a dry ageing bag, traditional dry ageing or vacuum package ageing. *Meat Sci.* 2014; 97(4):433–42.
9. Ahnström ML, Seyfert M, Hunt MC, Johnson DE. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Sci.* 2006;73(4):674–9.

10. Zhang R, Yoo MJY, Farouk MM. Oxidative stability, proteolysis, and in vitro digestibility of fresh and long-term frozen stored in-bag dry-aged lean beef. *Food Chem.* 2020;128601.
11. Nair MS, Tomar M, Punia S, Kukula-Koch W, Kumar M. Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Int J Biol Macromol.* 2020;164:304–20.
12. Silva HSRC, Santos KSCR dos, Ferreira EI. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Quim Nova.* 2006 Jul;29(4):776–85.
13. Liu X, Xu Y, Zhan X, Xie W, Yang X, Cui SW, et al. Development and properties of new kojic acid and chitosan composite biodegradable films for active packaging materials. *Int J Biol Macromol.* 2020;144:483–90.
14. Benavides S, Villalobos-Carvajal R, Reyes JE. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J Food Eng.* 2012;110(2):232–9.
15. Sachan NK, Pushkar S, Jha A, Bhattcharya A. Sodium alginate: the wonder polymer for controlled drug delivery. *J Pharm Res.* 2009;1191–9.
16. Liakos I, Rizzello L, Bayer IS, Pompa PP, Cingolani R, Athanassiou A. Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads. *Carbohydr Polym.* 2013 Jan;92(1):176–83.
17. Darmadji P, Izumimoto M. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Sci.* 1994;38(2):243–54.
18. Cardoso GP, Dutra MP, Fontes PR, Ramos A de LS, de Miranda Gomide LA, Ramos EM. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. *Meat Sci.* 2016;114:85–94.
19. Vargas M, Albors A, Chiralt A. Application of chitosan-sunflower oil edible films to pork

- meat hamburgers. *Procedia Food Sci.* 2011;1:39–43.
20. Alexandre S, Vital ACP, Mottin C, do Prado RM, Ornaghi MG, Ramos TR, et al. Use of alginate edible coating and basil (*Ocimum spp*) extracts on beef characteristics during storage. *J Food Sci Technol.* 2020; <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04844-1>
 21. Gudjónsdóttir M, Gacutan MD, Mendes AC, Chronakis IS, Jespersen L, Karlsson AH. Effects of electrospun chitosan wrapping for dry-ageing of beef, as studied by microbiological, physicochemical and low-field nuclear magnetic resonance analysis. *Food Chem.* 2015;184:167–75.
 22. Alves HC. Avaliação do efeito de revestimento de quitosana na conservação de carne bovina resfriada e embalada a vácuo [Dissertação]. Universidade Federal de São Carlos; 2015. 80f.
 23. AMSA. Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association. Champaign, Illinois; 2012.
 24. Hamm R. 4 - Functional Properties of the Myofibrillar System and Their Measurements. In: Bechtel PJ, editor. *Muscle As Food*. San Diego: Academic Press; 1986. p. 135–99. (Food Science and Technology).
 25. Becker J. Official methods of analysis. Assoc Anal Communities. 2012;1(Volume 1):141–4.
 26. Jongberg S, Skov SH, Tørngren MA, Skibsted LH, Lund MN. Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chem.* 2011;128(2):276–83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.015>
 27. Vyncke W. Direct Determination of the Thiobarbituric Acid Value in Trichloroacetic Acid Extracts of Fish as a Measure of Oxidative Rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichm.*

1970;72(12):1084–7

28. Vyncke W. Evaluation of the Direct Thiobarbituric Acid Extraction Method for Determining Oxidative Rancidity in Mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichm.* 1975;77(6):239–40. <https://doi/abs/10.1002/lipi.19750770610>
29. Sorensen G, Jorgensen SS. A critical examination of some experimental variables in the 2-thiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. *Zeitschrift Leb und -forsch.* 1996;202(3):205–10.
30. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959;82(1):70–7.
31. Dikeman ME, Obuz E, Gök V, Akkaya L, Stroda S. Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef *Longissimus lumborum* steaks. *Meat Sci.* 2013;94(2):228–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.002>
32. El-Din Ahmed Bekhit A, Morton JD, Bhat ZF, Kong L. Meat Color: Factors Affecting Color Stability. *Encycl Food Chem.* 2019 Jan 1;202–10.
33. Ribeiro FA, Lau SK, Pflanzner SB, Subbiah J, Calkins CR. Color and lipid stability of dry aged beef during retail display. *Meat Sci.* 2021;171:108274.
34. Cervera MF, Karjalainen M, Airaksinen S, Rantanen J, Krogars K, Heinämäki J, et al. Physical stability and moisture sorption of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(1):69—76. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.015>
35. Mokrzycki W, Tatol M. Color difference Delta E - A survey. *Mach Graph Vis.* 2011;20:383–411.
36. de Oliveira Roça R. Propriedades da carne [Internet]. 2011 [cited 2017 Jan 1]. p. 1–11. Available from: <http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/ Gestao etecnologia/Teses/Roca107.pdf>

37. Pardi MC. Ciencia higiene e tecnologia da carne. CEGRAF-UFG/Niteroi:EDUFF; 1993.
38. Gomide, L. A. M.; Ramos, E. M. ; Fontes PR. Ciência e qualidade da carne. Viçosa: UFV; 2013. 599 p.
39. Senturk Parreidt T, Müller K, Schmid M. Alginate-Based Edible Films and Coatings for Food Packaging Applications. *Foods*. 2018;7(10):170.
40. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
41. Koohmaraie M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci*. 1994;36(1):93–104.
42. Dransfield E. Optimisation of tenderisation, ageing and tenderness. *Meat Sci*. 1994;36(1–2):105–21.
43. Lawrie RA. Ciência da carne. 6th ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. 384 p.
44. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Sci Technol*. 2010;43(6):837–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
45. Olivas GI, Barbosa-Cánovas G V. Alginate–calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT - Food Sci Technol*. 2008;41(2):359–66.
46. Costa MJ, Marques AM, Pastrana LM, Teixeira JA, Sillankorva SM, Cerqueira MA. Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocoll*. 2018;81:442–8.
47. Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema O. Química de Alimentos de Fennema. 4th ed. Artmed Editora; 2010. 900 p.
48. Franco BDG de M, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. Atheneu; 1996.
49. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L. A distillation method for the

- quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc.* 1960;37(1):44–8.
50. Chang W, Liu F, Sharif HR, Huang Z, Goff HD, Zhong F. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. *Food Hydrocoll.* 2019;90:50–61.
 51. Mottram DS. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 1998;62(4):415–24.
 52. Anraku M, Gebicki JM, Iohara D, Tomida H, Uekama K, Maruyama T, et al. Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies. *Carbohydr Polym.* 2018;199:141–9.
 53. Kim YH, Huff-Lonergan E, Sebranek JG, Lonergan SM. High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat Sci.* 2010;85(4):759–67.
 54. Park D, Xiong YL, Alderton AL. Concentration effects of hydroxyl radical oxidizing systems on biochemical properties of porcine muscle myofibrillar protein. *Food Chem.* 2007;101(3):1239–46.
 55. Terevinto A, Ramos A, Castroman G, Cabrera MC, Saadoun A. Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat. *Meat Sci.* 2010;84(4):706–10.
 56. Lund MN, Lametsch R, Hviid MS, Jensen ON, Skibsted LH. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. *Meat Sci.* 2007 Nov;77(3):295–303.
 57. Salfinger Y, Tortorello M Lou. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.* Tortorello M Lou, Salfinger Y, editors. American Public Health Association; 2015.

58. Wei Q, Wang X, Sun D-W, Pu H. Rapid detection and control of psychrotrophic microorganisms in cold storage foods: A review. *Trends Food Sci Technol.* 2019;86:453–64.
59. ANVISA AN de VS-. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. 2001 p. 48.
60. Silva ACM DA. Efeito de diferentes métodos de maturação na microbiota de carne bovina e comportamento de *Listeria innocua* durante processo de maturação a seco.[Dissertação]. Universidade Estadual De Campinas FA; 2019.
61. Bernardo AP da S, Silva ACM da, Francisco VC, Ribeiro FA, Nassu RT, Calkins CR, et al. Effects of freezing and thawing on microbiological and physical-chemical properties of dry-aged beef. *Meat Sci.* 2020;161:108003.
62. Jo C, Lee JW, Lee KH, Byun MW. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Sci.* 2001;59(4):369–75.
63. Abdallah MRS, Mohamed MA, Mohamed HMH, Emara MMT. Improving the sensory, physicochemical and microbiological quality of pastirma (A traditional dry cured meat product) using chitosan coating. *LWT.* 2017;86:247–53.
64. Tavassoli-Kafrani E, Shekarchizadeh H, Masoudpour-Behabadi M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydr Polym.* 2016;137:360–74.
65. Lourenço SC, Fraqueza MJ, Fernandes MH, Moldão-Martins M, Alves VD. Application of Edible Alginate Films with Pineapple Peel Active Compounds on Beef Meat Preservation. *Antioxidants (Basel, Switzerland).* 2020 Jul;9(8).

Capítulo 4.

Artigo: “Effects of temperature and type of aging on the metabolite profile of beef”

Submetido para publicação no periódico científico: *Meat Science*

Effects of temperature and type of aging on the metabolite profile of beef

Vanessa Cristina Francisco^a, Felipe Marinelli Saraiva Ferreira^c, Luiz Ferreira Neves Junior^b, Daniel Rodrigues Cardoso^{b, e}, Sérgio Bertelli Pflanzner^c, Renata Tieko Nassu^{d, e}.

^aSão Paulo State University (UNESP), School of Pharmaceutical Sciences, Rod. Araraquara-Jaú, km 1, 14800-903, Araraquara, São Paulo, Brazil

^bInstituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador-São-Carlense 400, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

^cDepartament of Food Technology, University of Campinas, Rua Monteiro Lobato, 80, 13083-862 Campinas, São Paulo, Brazil

^dEmbrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234 –13560-970 São Carlos, São Paulo, Brazil

^eCNPq researcher

Highlights

- ¹H- NMR spectroscopy is an efficient technique to determine the profile of metabolites in meat
- Temperature and type of aging affected the metabolite formation in beef
- Higher temperature and longer aging time favored the formation of metabolites related to the proteolytic action

ABSTRACT

During the aging process, many enzymes involved in the metabolic paths remain active, mainly the proteolytic enzymes, releasing peptides and amino acids that contribute to meat flavor. This study assessed the effect of wet and dry aging methods, submitted to temperatures of 2 °C and 7 ° C, for 21 and 42 days of aging, on the profile of beef metabolites. Five samples of each treatment were analyzed by high-resolution Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR spectroscopy). Thirty-five metabolites were quantified in the samples from non-aged and aged beef. Aged meat, regardless of the type, temperature, and aging time, showed higher concentrations of metabolites, mainly in amino acids, compared to non-aged meat. Higher temperature (7 °C) and longer aging time (42 days) favored the proteolytic reactions of the aging process. The ^1H -NMR spectroscopy technique proved to be efficient to identify differences between processes and could be used as a tool of analysis to decide the best aging conditions, contributing to the formation of flavor precursor compounds, improving sensory quality of aged meat.

Keywords: NMR, beef, flavor precursors, meat quality, metabolomics

1. INTRODUCTION

Tenderness is the most important meat feature for consumers (Koochmaraie, 1994) and flavor is the second (Warner et al., 2010) most important factor for meat quality and acceptance (Donald S., 1998). The aging process enhances meat quality, improving tenderness and flavor (Campbell et al., 2001). Two aging processes are commonly used. Wet-aging or vacuum-packaged meat, which is the most common aging method due to practical storage procedures (Stenström et al., 2014). Dry-aging is the process that involves no packaging and it is used at a smaller scale. It is associated to the development of much appreciated flavor, compensating for losses during the aging process (DeGeer et al., 2009).

The *post mortem* metabolism is responsible for changes during the aging process, which contribute to meat quality, mainly tenderness and flavor (Bertram & Ersen, 2004; Brewer, 2007). During aging, many enzymes involved in the metabolic paths remain active, mostly the proteolytic enzymes (Ramanathan et al., 2020). Besides proteolysis, lipid oxidation affects meat quality and oxidation products are linked to the rancid flavor (Resconi et al., 2013). Aging conditions, such as oxygen availability, temperature, air relative humidity, and aging time lead to the formation of different metabolites (Van et al., 2012). Therefore, changes in these parameters affect the product quality. Temperature is one of the most important parameters to be controlled, as high temperatures accelerate enzymatic reactions, potentiating the effects. However, undesirable aromas could result from higher temperatures (Savell, 2008; Dashdorj, Tripathi, Cho, Kim, & Hwang, 2016). Besides, high temperatures could lead to greater water loss through evaporation during aging (Krokida et al., 2003), which could favor the concentration of flavor compounds.

Identifying and quantifying the profile of metabolites are important to recognize the quality attributes and determine the best aging conditions, since the profile of metabolites

influences the sensory properties of meat (Bertram, 2017). In metabolomics, the high-resolution Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR) is a technique that allows studying the profile of food metabolites (Mannina et al., 2012). Polar metabolites are precursors of flavor, such as leucine, isoleucine, methionine, and glucose, and identifying these compounds is crucial, as inadequate conditions generate off-flavor compounds (Koutsidis et al., 2008a). The ^1H -NMR is recognized as a useful tool for determining meat quality. Several studies report its use to investigate the *post-mortem* metabolism in aged meats, including wet- and dry-aging (Kim et al., 2016), storage of meat with antimicrobial activity packaging (Ercolini et al., 2011), aging meat for 7, 14 and 21 days (Graham et al., 2010), aged meat in during 21 days at 2 °C (Graham et al., 2012), and effect of the addition of yerba mate to the diet of animals on 14-day aged meat (de Zawadzki et al., 2017). Knowing the metabolite profile of aged meat is an important tool to identify the aging type and determine the aging process parameters for temperature and time. Nevertheless, few studies have investigated the effect of these parameters combined on the profile of metabolites of aged beef. Therefore, this study evaluated the effect of wet- and dry- aging processes, different temperatures, and time on the formation of metabolites in beef during the aging process, using the ^1H -NMR technique.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Sampling

We collected bone-in loins (~ 55cm, *M. Longissimus thoracis et lumborum*, from the 6th thoracic vertebra to the 3th lumbar vertebra) from both sides of five carcasses of Nellore intact male cattle (approximately 36 months of age, 245 ± 25 kg of carcass weight, pH < 5.9,

and subcutaneous fat thickness measure between 12th and 13th ribs from 3 to 10mm) at a commercial packing plant at two days *post-mortem*. The loins were placed on plastic bags, put on ice, and transported to the Meat Laboratory at the Food Technology Department of Unicamp. In the laboratory, each loin was divided into four sections (eight loin sections per animal). Each loin section was assigned to one of the eight treatments: wet- or dry- aging, stored at 2 °C or 7 °C, and aged for 21 or 42 days, according to a predetermined complete block design. A non-aged beef sample (2.5 cm steak from each carcass / just one side) was collected and frozen for the analyses.

2.2. Aging

The sections assigned for the wet aging process were deboned and vacuum packaged (Cryovac® BB 2620 packages, Cryovac Brasil Ltda., with 50µm of thickness, O₂ permeability of 20 cm³/m², 24 h, bar at 23 °C and 0 % relative humidity, and a maximum CO₂ permeability of 100 cm³/m², 24 h, bar at 23 °C, 0 % relative humidity). The bone-in loin sections were placed in the aging chamber with the subcutaneous fat upward for the dry-aged treatments. Every three days, the samples were rotated inside the chamber to avoid any location effect. The aging chambers (model VN50R, Metalfrio 2010, Brazil) were set to work at 75 ± 5 % relative humidity and 2.5 m/s airspeed.

After aging and trimming, the loin sections were cut, one steak was frozen (-20°C), and assigned to the metabolite analysis by high-resolution NMR. The non-aged meat samples were also frozen for the analyses.

2.3. Metabolite analysis by high-resolution Nuclear Magnetic Resonance (¹H- NMR spectroscopy)

The samples remained frozen until the day of analysis. The frozen samples were chopped in a food processor (Walita®, Viva RI1364/06, Varginha, Brazil). The metabolites were extracted and analyzed according to the procedures described by Beckonert et al. (Beckonert et al., 2007) and Zawadzki et al. (de Zawadzki et al., 2017). One gram of each sample was weighed, placed in 15 mL Falcon tubes, and 4.0 mL of methanol and 0.85 mL water were added, and then homogenized in Vortex equipment (Starlab, N2400-6010, Hamburg, Germany). Afterward, 2 mL of chloroform was added and homogenized again, following an addition of 2 mL water. The mixture was centrifuged for 15 min at 1.000g at 4 °C to remove protein, fat, and connective tissue precipitate. The supernatant was carefully removed into Eppendorf tubes and dried at a concentration centrifuge (Speed-Vac, Thermo Savant, Holbrook, NY, USA). The dried extract containing the polar metabolites was resuspended in a phosphate buffer (100 mM, pH 7.4, D₂O, containing 0.5 mM TMSP-d₄) and transferred to a 5mm precision NMR tube. The metabolite spectra of ¹H- NMR were obtained in a NMR Bruker AVANCE III 600 MHz spectrometer (Rheinstetten, Germany). The equipment operated at ¹H 600.13 MHz frequency, equipped with a 5-mm ¹H TXI (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Germany) probe. A pre-saturation pulse sequence was used to obtain ¹H- NMR. Each spectrum had a spectral width of 20.55 ppm, 32 k pixels, and 128 transients. The water peak irradiated during relaxation time was 4 sec. The spectra processing was done using the ≈ Chenomx NMR suite 7.7 (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada) software to correct manually the phase and baseline and calibrate the TMSP-d₄ peak up to 0.0 ppm. The polar metabolite was identified by its chemical dislocations and quantified according to the information from the software library Chenomx.

2.4. Statistical analysis

Non-aged samples (control) and combinations of type of aging, temperature, and aging time were compared by the analysis of variance (ANOVA). A factorial design of 2 x 2 x 2 was performed and an ANOVA was applied to verify the effects of aging type (dry and wet), temperature (2 °C and 7 °C), and aging time (42 and 21 days) as fixed factors and their interactions were considered. When significant differences were observed, the Tukey test was applied at 5 %. The principal component analysis (PCA) was also performed. All the statistical analyses were performed in the XLSTAT software (Addinsoft, 2012).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Thirty-five metabolites were quantified and important amino acids were found for flavor formation in meat (Belitz et al., 2009), such as L-alanine, L-leucine, valine, methionine, tyrosine, isoleucine, L-glutamine, L-phenylalanine creatinine, carnosine, and creatine (Dragsted, 2010). Concentration values, according to the isolated factors regarding aging type, temperature, and time, compared to the non-aged sample, are shown in Table 1. The compounds affected by the isolated factors were discussed only if they were not involved in any double or triple interactions.

3.1. Type of aging (wet- or dry-)

When comparing non-aged with aged samples, ten compounds showed increased concentration values ($p < 0.05$) in aged samples: L-alanine, L-glutamic acid, isoleucine, L-leucine, L-lysine, L-phenylalanine, L-threonine, valine, carnitine, and succinate. During the aging process, enzymatic reactions change metabolites, mainly due to the proteolytic action of μ and m-calpains resulting in peptides (Brewer, 2007) and free amino acids (Watanabe

et al., 2004). Nishimura et al. (Nishimura et al., 1988) also observed an increase in these compounds during beef storage for up to 12 days at 4 °C.

Regarding the effect of aging type, L-phenylalanine, succinate, and urea showed higher concentration values for the wet-aged samples. The dry-aged samples showed higher values ($p < 0.05$) for L-threonine than the wet-aged ones, which is an amino acid derived from homoserine (Reitzer, 2014) and is a precursor of aromatic compounds related to the cheese aroma (Ganesan & Weimer, 2007). Kim et al. (2016) found a higher concentration of amino acids in dry-aged beef than wet aging. However, in the study conducted by the authors, the meat was aged for only 21 days. The same occurred to carnitine, a quaternary ammonia compound found in mammals plasma and tissue, obtained by the diet synthesized from lysine and methionine (Shimada et al., 2004). Fructose concentration was higher for the dry-aged process and, since it is a reducing sugar, it has an important role in the initial phase of Maillard reaction, affecting the flavor of dry-aged beef when cooked (Belitz et al., 2009). Dry-aged beef is known to present lower moisture content than wet-aged beef, which could increase the concentration of some compounds (Li et al., 2013).

3.2. Aging temperature

Between the non-aged and samples aged at 2 °C or 7 °C, nine compounds showed increased concentration values ($p < 0.05$) after aging: L-alanine, L-glutamic acid, L-glutamine, isoleucine, L-leucine, L-lysine, L-proline, valine, and succinate.

As for the aging temperature, L-alanine, L-glutamic acid, L-lysine, L-phenylalanine, valine, and succinate showed increased concentrations ($p < 0.05$) at a higher temperature (7°C), as it contributes to speeding the enzymatic reactions, such as proteolysis (Belitz et

al., 2009). We observed that all increased compounds were in the majority of amino acids, except for succinate. L-glutamic acid is a compound related to the improvement of food flavor and umami taste (DeMan, 1999) and is described as a flavor enhancer. The increase of L-glutamic acid is due to proteolysis and also can be formed by glutamine carboxylation (Lana et al., 2015).

3.3. Aging time

The aging time affected the concentration of seven metabolites, and significant differences ($p < 0.05$) were found for L-alanine, L-glutamic acid, Isoleucine, L-leucine, L-lysine, L-phenylalanine and valine, when comparing the non-aged to samples aged for 21 or 42 days. Isoleucine, L-leucine, L-lysine, L-phenylalanine, and valine increased their concentrations at 42 days of aging. As the aging time increased, the proteolytic action of enzymes also increased, resulting in a larger concentration of free amino acids (Nishimura & Kato, 1988; Koutsidis et al., 2008b). An increase of metabolites has already been observed in vacuum-packaged meat up to 140 days, mainly free amino acids and organic acids (Frank et al., 2020). The increase in concentrations of free amino acids influences meat flavor (Zhao, Schieber, & Gänzle, 2016).

Table 1. Concentration of metabolites ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat) and comparison between non-aged beef and aging types at different temperatures and aging times.

	Factor									
	Type of aging			Temperature		Aging time		<i>p</i> -value		
	non-aged	Dry aging	Wet aging	2 °C	7 °C	21 days	42 days	Aging	Temp.	Time
Amino acids										
L-Alanine	492.64 ^{bx1}	1114.49 ^a	1101.89 ^a	946.71 ^x	1253.34 ^y	1045.48 ²	1171.61 ²	0.009	0.0005	0.006
Aspartate	1208.54	2024.02	1697.49	1785.30	1945.45	1913.97	1825.68	0.257	0.366	0.395
Glycine	716.62	1401.07	1258.61	1258.38	1401.28	1289.05	1378.55	0.073	0.073	0.087
L-Glutamic acid	17.42 ^{bx1}	690.73 ^{ab}	1239.60 ^a	499.21 ^{bx}	1353.18 ^{ay}	657.12 ¹²	1242.72 ²	0.011	0.0005	0.009
L-Glutamine	2138.02 ^y	3900.98	3153.98	3131.01 ^{xy}	3921.53 ^x	3650.14	3446.32	0.051	0.044	0.147
L-Histidine	23505.30	18435.99	21838.47	20074.71	20014.10	21795.84	18289.59	0.218	0.607	0.203
Isoleucine	60.58 ^{by1}	474.99 ^a	570.45 ^a	436.01 ^x	595.28 ^x	358.72 ²	681.42 ³	0.001	0.0004	< 0.0001
L-Leucine	138.58 ^{bz1}	1011.54 ^a	1220.18 ^a	837.62 ^y	1353.83 ^x	839.19 ²	1380.93 ³	0.000	< 0.0001	< 0.0001
L-Lysine	30.34 ^{by1}	540.22 ^a	607.74 ^a	414.95 ^y	712.72 ^x	414.18 ¹	730.03 ²	0.016	0.001	0.001
Methionine	650.10	617.94	708.67	626.84	691.16	657.51	664.06	0.449	0.670	0.991
L-Phenylalanine	30.26 ^{cz1}	306.21 ^b	449.21 ^a	304.66 ^y	435.54 ^x	276.83 ²	470.64 ³	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
L-Proline	72.72 ^y	223.22	250.60	113.72 ^{xy}	345.69 ^x	158.58	313.72	0.425	0.011	0.091
Tyrosine	19.78	40.37	67.32	34.76	69.49	70.89	35.30	0.303	0.189	0.177
L-Threonine	1564.24 ^b	5372.91 ^a	1614.39 ^b	3012.84	4121.67	3965.02	3231.09	0.022	0.490	0.572
Valine	135.46 ^{bz1}	701.31 ^a	913.21 ^a	638.38 ^y	947.20 ^x	546.01 ²	1056.73 ³	0.002	0.0004	< 0.0001
Aminas										
Carnitine	853.70 ^b	2024.35 ^a	1276.78 ^b	1753.48	1597.83	1733.12	1609.54	0.004	0.131	0.139
Choline	414.42	399.65	297.73	305.95	392.30	389.12	313.92	0.077	0.147	0.215
Creatine	13248.16	13825.73	13099.05	13461.73	13501.23	14781.48	12183.67	0.859	0.992	0.143
Dimethylamine	106.64	157.61	182.15	142.52	193.06	161.89	176.51	0.475	0.261	0.534
Acids										
Acetoacetate	4.02	51.32	63.32	28.54	82.44	59.03	54.94	0.375	0.054	0.408
L-Lactic acid	41488.74	50376.05	48710.35	47018.50	51889.82	51060.34	48118.61	0.237	0.095	0.184
Malonate	277.76	401.46	1499.39	307.25	1468.12	340.71	1499.15	0.276	0.241	0.241

Table 1 (continued)

Pyroglutamic acid	108.58	201.55	172.71	185.64	189.98	199.44	176.43	0.237	0.322	0.266
Pyruvic acid	4.94	18.64	8.54	13.15	14.51	15.01	12.73	0.070	0.481	0.452
Succinate	210.64 ^{by1}	360.94 ^b	668.41 ^a	349.35 ^y	646.42 ^x	422.13 ¹²	590.13 ²	0.001	0.001	0.038
Alcohol										
Glycerol	615.76	830.02	594.48	663.71	768.08	696.43	741.15	0.393	0.784	0.897
Carbohydrates										
Fructose	260.12 ^{ab}	461.82 ^a	111.60 ^b	245.22	342.26	305.17	287.71	0.002	0.652	0.961
D-Glucose	1247.46 ^{ab}	2150.46 ^a	793.19 ^b	1500.64	1517.48	1601.94	1417.11	0.002	0.906	0.820
Myo-inositol	204.90	562.98	347.44	500.58	425.96	460.72	461.67	0.075	0.301	0.361
Purines										
Hypoxanthine	16.28	67.11	68.79	63.51	71.84	70.58	65.23	0.125	0.112	0.120
Xanthine	52.14	71.79	93.94	76.41	87.47	77.42	87.07	0.382	0.561	0.578
Other compounds										
Betaine	22.98	314.85	210.54	243.16	285.66	222.37	308.82	0.081	0.148	0.101
Creatinine	192.08	510.28	135.64	321.93	343.60	382.71	284.02	0.193	0.898	0.814
3-Hydroxyisobutyrate	28.52	68.78	46.92	36.88	77.77	42.83	74.09	0.554	0.249	0.397
Urea	625.26 ^{ab}	2675.45 ^a	360.16 ^b	1100.18	2013.34	2270.14	894.11	0.002	0.304	0.106

Different letters or numbers in the same row within each factor indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$)

a, b, c Type of aging

x, y, z; Temperature

1,2,3 Aging time

The increase of amino acids in aged samples was expected, as proteases and peptidases increase the concentration of free amino acids (Koutsidis, 2008; S. F. Graham, 2010). The control of enzymatic activities depends on time, temperature, water activity, and processing type (Toldrá & Flores, 1998). In this study, a significant increase in the concentration of compounds was observed, mainly at a higher temperature (7°C) and longer aging time (42 days), as in metabolites, such as L-glutamic acid, which showed an increase of roughly 70-fold in comparison to non-aged samples, isoleucine, L-lysine, L-leucine, and L-phenylalanine. During the aging time, the differences found are related to biochemical activities, such as glycolysis, citric acid cycle, proteolysis, and purine metabolism (Cônsolo et al., 2021).

3.4. Interactions

A double interaction between type and time of aging was found for D-glucose and urea (Table 2). For wet-aging at 42 days, a decrease in D-glucose was observed compared to dry-aged samples, but not with the wet-aged sample at 21 days. Water loss to evaporation during dry-aging could contribute to the increase of concentration in some metabolites (Kim et al., 2016). Koutsidis et al. (2008b) reported an increase in the reduction sugars, such as glucose, during aging up to 21 days. Urea concentration was significantly ($p < 0.01$) higher in the dry-aged sample for 21 days. In wet-aged samples, aging time did not affect urea concentration; however, it decreased at 42 days in dry aging. Urea is a metabolite from protein and amino acids degradation (Paixão et al., 2006) and the dry-aging process affected urea concentration over time. Some

microorganisms in meat use urea as an energy source (Nychas et al., 2008), explaining the higher value of this compound in the dry-aged sample, once water activity is more significant in wet-aged samples, favoring microbial growth.

Table 2. Values for type of aging x time interaction for concentration of metabolites ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)

Metabolite ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)	Wet-aging		Dry-aging	
	21 days	42 days	21 days	42 days
D-Glucose	1329.97 ^{ab}	226.84 ^b	1841.07 ^a	2369.33 ^a
Urea	393.36 ^b	331.41 ^b	4041.32 ^a	1344.26 ^b

^{a, b} different letters in the same row indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$)

A double interaction type and temperature of aging was observed for choline, malonate, and succinate (Table 3). Wet aging and temperature did not affect ($P > 0.05$) the choline concentration. However, in the dry-aging process, a higher temperature (7 °C) led to an increase in the compound, the highest value found for aging type x temperature combination. Choline is a quaternary amine that has an important role in the structural integrity of cellular membranes (Zeisel & Blusztajn, 1994) and is one of the B complex vitamins (Santana et al., 2014). The dry-aging samples present more significant water loss during the process, which could affect the disintegration of membranes (Straadt et al., 2014). Higher temperatures can further increase water loss, which explains a more significant amount of choline.

Table 3. Values for type of aging x temperature interaction for concentration of metabolites ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)

Metabolite ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)	Wet-aging		Dry-aging	
	2 °C	7 °C	2 °C	7 °C
Choline	304.73 ^b	285.881 ^b	315.98 ^b	483.01 ^a
Malonate	222.93 ^b	2913.92 ^a	382.79 ^b	418.80 ^b
Succinate	446.44 ^b	896.05 ^a	262.87 ^b	449.05 ^b

^{a, b} different letters in the same row indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$)

For malonate and succinate, interactions were observed between the type and temperature of aging (Table 3), the aging time, and temperature of aging (Table 4). Both compounds showed the highest concentration values for wet-aged samples at 7 °C. Dry aging did not affect the concentration of these compounds at the temperatures studied. Higher temperatures increase enzyme reaction rates (Nelson & Cox, 2018). In addition to the presence of water at higher concentrations in wet-aged samples may have contributed to the increase in reactions. Regarding the time x temperature double interaction, both succinate and malonate showed higher values at 42 days, at 7 °C, but not at 21 days. This fact is possibly associated to the growth of microorganisms, mainly lactic acid bacteria, responsible for the production of organic acids (Martinis, Santarosa, & Freitas, 2003; Zalán, Hudáček, Štětina, Chumchalová, & Halász, 2010). The succinic acid is one of the organic acids found in muscular tissue (Belitz et al., 2009) and its concentration could affect meat properties, such as color, with the reduction of metmyoglobin (Ramanathan et al., 2011). Abraham, Dillwith, Mafi, VanOverbeke, & Ramanathan (2017) observed the increase of metabolites during the aging process and higher concentrations of succinate contributed to color stability.

Table 4. Values for time x temperature interaction for concentration of metabolites ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)

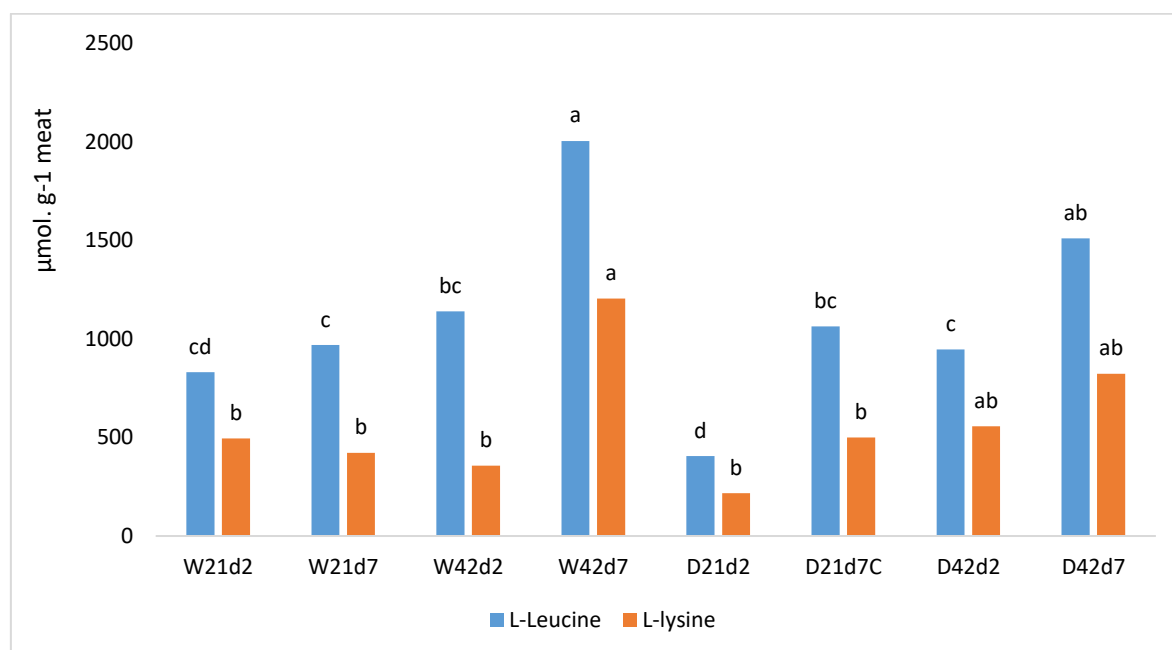
Metabolite ($\mu\text{mol. g}^{-1}$ meat)	21 days		42 days	
	2 °C	7 °C	2 °C	7 °C
Malonate	305.12 ^b	369.17 ^b	300.59 ^b	2963.55 ^a
Succinate	338.40 ^b	489.12 ^b	370.91 ^b	855.98 ^a

^{a, b} different letters in the same row indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$)

A triple interaction (aging type, temperature, and time) was observed for L-leucine and L-lysine (Figure 1). Higher L-leucine values were observed for both wet- and dry-aged beef, at 42 days and 7 °C. On the other hand, lower values

were found at 21 days and 2°C. L-lysine showed the highest concentration value for wet aging for 42 days at 7 °C and dry aging for 42 days at 2 °C and 7 °C. Lysine is associated to the sweet taste (Macleod, 1994; DeMan, 1999) and is a precursor of pyrazines related to the roasted flavor (Donald S., 1998).

Figure 1. Triple interaction: aging type x temperature x aging time for metabolite L-leucine and L-lysine



a, b, c, d different letters indicate significant difference by the Tukey test ($P < 0.05$). The interaction effect is discussed for each metabolite separately.

W21d2: wet aging for 21 days at 2°C; W21d7: wet aging for 21 days at 7°C; W42d2: wet aging for 42 days at 2°C; W42d7C: wet aging for 42 days at 7°C; D21d2C: dry-aging for 21 days at 2°C; D21d7: dry-aging for 21 days at 7°C; D42d2: dry-aging for 42 days at 2°C; D42d7: dry-aging for 42 days at 7°C.

L-leucine and L-lysine are essential amino acids, such as L-glutamic acid, histidine, isoleucine, methionine, phenylalanine, proline, threonine, and valine (Nelson & Cox, 2018), which were all found in this study. Changes in the concentration of these metabolites in the *post mortem* muscle are due to the enzyme proteolytic activity, which could be increased by the aging type, temperature, and aging time. Higher temperatures favor enzymatic processes and microbial deterioration resulting in strange odor and flavor (Savell, 2008).

Many amino acids found in this study are precursors of flavor in beef, Maillard reaction, or Strecker degradation (Koutsidis et al., 2008a; Mottram, 1998; Belitz et al., 2009). For example, L-alanine is associated to the sweet taste (Macleod, 1994; DeMan, 1999). Strecker degradation of alanine forms acetaldehyde and others, which can react with H₂S and result in sulfides and thiols (Macleod, 1994). Important beef flavor compounds present low odor threshold (Goodner & Rouseff, 2011). Metabolites leucine, isoleucine, phenylalanine, threonine, and valine are precursors for flavor formation, as participate of the Strecker degradation and form the aldehydes 2- and 3 – metilbutanal, have malt flavor (Belitz et al., 2009) and other aromatic compounds, such as pyrazines (3), related to roasted, peanut, or nut flavors (DeMan, 1999). Amino acids, such as glycine and L-alanine, contribute to the sweet taste, while L-phenylalanine, L-leucine, L- tyrosine, and isoleucine favor a bitter taste (Ramalingam, Song, & Hwang, 2019). Valine is mildly sweet (DeMan, 1999) and could form methyl propanal (Shahidi, 1994), due to Strecker degradation.

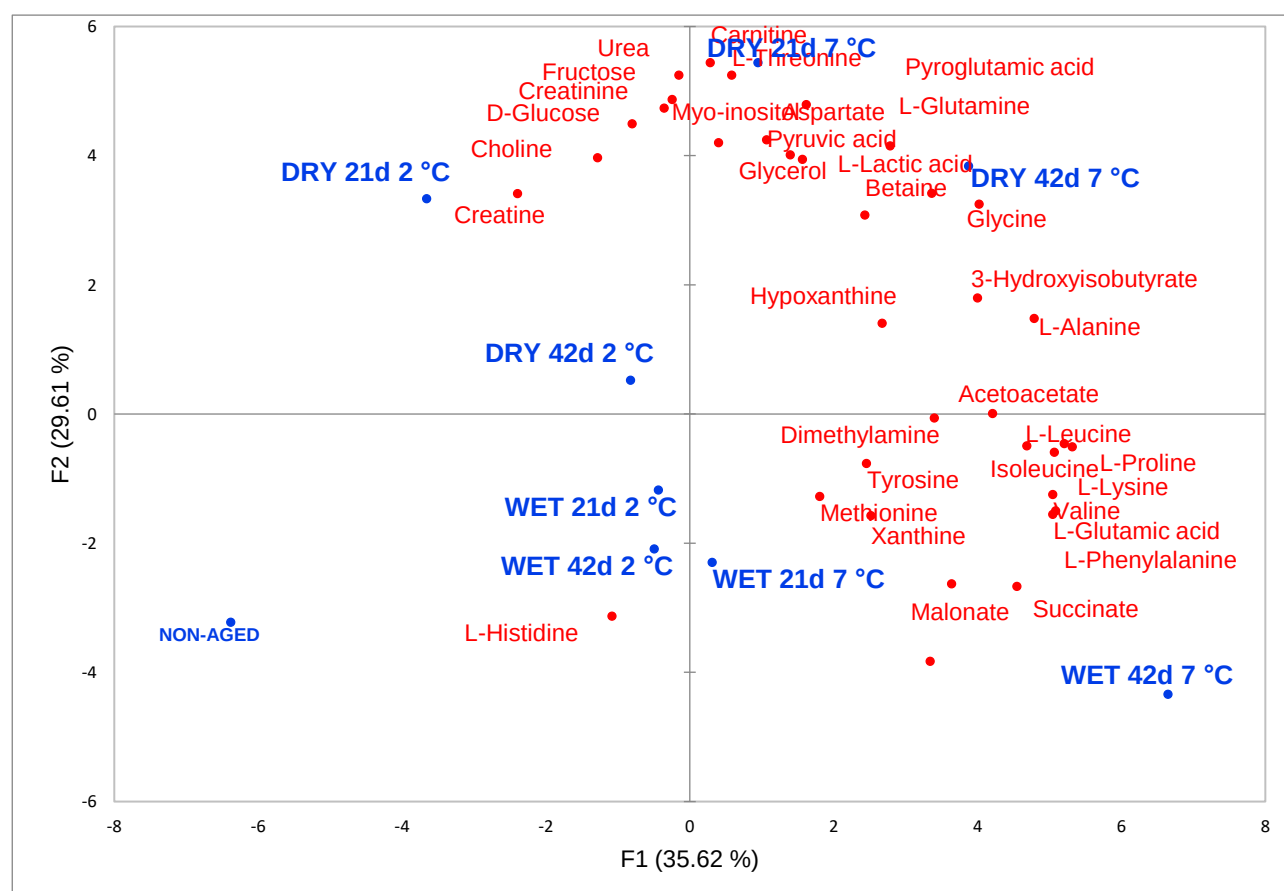
3.5. The PCA

The principal component analysis (PCA) biplot is shown in Figure 2. The first component (PC1) described 35.62 %, while the second component (PC2) described 29.61 % of the total variation of 65.23 %. The non-aged samples were located far from the wet- and dry-aged samples. The metabolites formed were more abundant in the PC1 positive side, close to both wet- and dry-aged samples at higher (7°C) temperature. Samples were also separated by temperature in PC1. Samples at 2 °C were located in a quadrant with a smaller number of metabolites, close to D-glucose, choline and creatine, while samples at 7 °C are closer to a larger number of metabolites, such as pyruvic acid, glycine and

betaine. Dry-aged samples at 21 days at 2 °C presented related compounds, such as creatine, D-glucose, and choline, while dry-aged samples at 21 days at 7 °C are related to carnitine, urea, and L-threonine. PC2 separated samples by the aging type, where dry-aged samples are located in the positive side of this component, in the upper side of the biplot. In contrast, wet-aged samples are in the negative side, the lower bottom of the biplot. Wet-aged samples at 42 days at 7 °C were close to the malonate, succinate, L-phenylalanine, and the L-glutamic acid. Dry-aged samples at 42 days at 7 °C were close to metabolites such as glycine and betaine.

Figure 2. Principal component analysis biplot containing metabolites in non-aged meat and different aging treatments at two different temperatures and times.

4. CONCLUSION



Significant changes were found in the profile of metabolites, affected by the aging type, temperature, and aging time. The main differences in

concentrations of metabolites are related to the proteolysis process, which occurs during the aging process. Concerning the aging type, the concentration of amino acids, such as L-glutamic acid and L-phenylalanine tended to be higher in wet-aged samples, while other compounds, such as amine carnitine and sugars, such as fructose and D-glucose, were higher in dry-aged samples. Higher temperatures led to a higher concentration of most compounds and the longer aging time contributed to the increase in their concentration. This study revealed that the ^1H -NMR spectroscopy technique is efficient to identify differences between the processes and could be used as a quick tool of analysis to decide the best aging conditions. Future studies using a larger number of repetitions are necessary to validate the NMR analysis as an indicator for the aging type, sensorial features, and volatile compounds to determine the effects of metabolites on flavor of aged beef.

Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support from São Paulo Research Foundation - FAPESP (Project: 2016/02853-9) and in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflict of interest.

Credit author statement

Vanessa Cristina Francisco: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing. **Felipe Marinelli Saraiva Ferreira:** Methodology, Resources. **Luiz Ferreira Neves Junior:** Methodology, Formal analysis, Data curation. **Daniel Rodrigues Cardoso:** Writing - Review & Editing. **Sérgio Bertelli Pflanze:** Writing - Review & Editing, Project administration, Funding acquisition, Supervision. **Renata Tieko Nassu:** Conceptualization, Formal analysis, Writing - Review & Editing, Project administration, Funding acquisition, supervision.

REFERENCES

- Abraham, A., Dillwith, J. W., Mafi, G. G., VanOverbeke, D. L., & Ramanathan, R. (2017). Metabolite Profile Differences between Beef Longissimus and Psoas Muscles during Display. *Meat and Muscle Biology*, 1(1), 18.
<https://doi.org/10.22175/mmb2016.12.0007>
- Addinsoft. (2012). *XLStat data analysis and statistics add-in for MS Excel* (No. 2012).
- Beckonert, O., Keun, H. C., Ebbels, T. M. D., Bundy, J., Holmes, E., Lindon, J. C., & Nicholson, J. K. (2007). Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. *Nature Protocols*, 2(11), 2692–2703.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2007.376>
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg.
- Bertram, H. C. (2017). NMR Spectroscopy and NMR Metabolomics in Relation to Meat Quality. *New Aspects of Meat Quality*, 355–371.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00014-X>
- Bertram, H. C., & Ersen, H. J. (2004). Applications of NMR in Meat Science. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 53, 157–202.
[https://doi.org/10.1016/S0066-4103\(04\)53003-X](https://doi.org/10.1016/S0066-4103(04)53003-X)
- Brewer, S. (2007). The Chemistry of Beef Flavor - Executive Summary. *National Cattlemen's Beef Association*, 16.
- Campbell, R. E., Hunt, M. C., Levis, P., & Chambers IV, E. (2001). Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. *Journal of Food Science*, 66(2), 196–199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb11315.x>
- Cônsolo, N. R. B., Rosa, A. F., Barbosa, L. C. G. S., Maclean, P. H., Higuera-Padilla, A., Colnago, L. A., & Titto, E. A. L. (2021). Preliminary study on the characterization of Longissimus lumborum dark cutting meat in Angus × Nellore crossbreed cattle using NMR-based metabolomics. *Meat Science*, 172, 108350. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108350>
- Dashdorj, D., Tripathi, V. K., Cho, S., Kim, Y., & Hwang, I. (2016). Dry aging of beef; Review. *Journal of Animal Science and Technology*, 58(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s40781-016-0101-9>

- de Zawadzki, A., Arrivetti, L. O. R., Vidal, M. P., Catai, J. R., Nassu, R. T., Tullio, R. R., Berndt, A., Oliveira, C. R., Ferreira, A. G., Neves-Junior, L. F., Colnago, L. A., Skibsted, L. H., & Cardoso, D. R. (2017). Mate extract as feed additive for improvement of beef quality. *Food Research International*, 99, 336–347. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.033>
- DeGeer, S. L., Hunt, M. C., Bratcher, C. L., Crozier-Dodson, B. A., Johnson, D. E., & Stika, J. F. (2009). Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Science*, 83(4), 768–774. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.017>
- DeMan, J. M. (1999). Principles of Food Chemistry. In *Science*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Donald S., M. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62(4), 415–424. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00076-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4)
- Dragsted, L. O. (2010). Biomarkers of meat intake and the application of nutrigenomics. *Meat Science*, 84(2), 301–307. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.028>
- Ercolini, D., Ferrocino, I., Nasi, A., Ndagijimana, M., Vernocchi, P., La Storia, A., Laghi, L., Mauriello, G., Guerzoni, M. E., & Villani, F. (2011). Monitoring of Microbial Metabolites and Bacterial Diversity in Beef Stored under Different Packaging Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(20), 7372–7381. <https://doi.org/10.1128/AEM.05521-11>
- Frank, D., Hughes, J., Piyasiri, U., Zhang, Y., Kaur, M., Li, Y., Mellor, G., & Stark, J. (2020). Volatile and non-volatile metabolite changes in 140-day stored vacuum packaged chilled beef and potential shelf life markers. *Meat Science*, 161(November 2019), 108016. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108016>
- Ganesan, B., & Weimer, B. C. (2007). 4 - Amino acid metabolism in relationship to cheese flavor development. In B. C. Weimer (Ed.), *Improving the Flavour of Cheese* (pp. 70–101). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9781845693053.1.70>
- Goodner, K., & Rouseff, R. (2011). Practical Analysis of Flavor and Fragrance Materials. In *Practical Analysis of Flavor and Fragrance Materials*. <https://doi.org/10.1002/9781444343137>

- Graham, S. F., Kennedy, T., Chevallier, O., Gordon, A., Farmer, L., Elliott, C., & Moss, B. (2010). The application of NMR to study changes in polar metabolite concentrations in beef longissimus dorsi stored for different periods post mortem. *Metabolomics*, 6(3), 395–404.
<https://doi.org/10.1007/s11306-010-0206-y>
- Graham, Stewart Francis, Farrell, D., Kennedy, T., Gordon, A., Farmer, L., Elliott, C., & Moss, B. (2012). Comparing GC–MS, HPLC and ¹H NMR analysis of beef longissimus dorsi tissue extracts to determine the effect of suspension technique and ageing. *Food Chemistry*, 134(3), 1633–1639.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.047>
- Kim, Y. H. B., Kemp, R., & Samuelsson, L. M. (2016). Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. *Meat Science*, 111, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.09.008>
- Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36(1), 93–104. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90036-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90036-1)
- Koutsidis, G., Elmore, J. S., Oruna-Concha, M. J., Campo, M. M., Wood, J. D., & Mottram, D. (2008a). Water soluble precursor of beef flavor: I. Effect of diet and breed. *Meat Science*, 79, 124–130.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.08.008>
- Koutsidis, G., Elmore, J. S., Oruna-Concha, M. J., Campo, M. M., Wood, J. D., & Mottram, D. S. (2008b). Water-soluble precursors of beef flavour. Part II: Effect of post-mortem conditioning. *Meat Science*, 79(2), 270–277.
<https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2007.09.010>
- Krokida, M. K., Karathanos, V. T., Maroulis, Z. B., & Marinou-Kouris, D. (2003). Drying kinetics of some vegetables. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 391–403. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00498-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00498-3)
- Li, X., Babol, J., Wallby, A., & Lundström, K. (2013). Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef gluteus medius aged in a dry ageing bag or vacuum. *Meat Science*, 95(2), 229–234.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.009>
- Macleod, G. (1994). The flavour of beef. In Fereidoon Shahidi (Ed.), *Flavor of Meat and Meat Products* (pp. 4–37). Springer US.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2177-8_2

- Mannina, L., Sobolev, A. P., & Viel, S. (2012). Liquid state ^1H high field NMR in food analysis. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 66, 1–39. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2012.02.001](https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2012.02.001)
- Martinis, E. C. P. de, Santarosa, P. R., & Freitas, F. Z. (2003). Caracterização preliminar de bacteriocinas produzidas por seis cepas de bactérias lácticas isoladas de produtos cárneos embalados a vácuo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(2), 195–199. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612003000200016>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2018). *Princípios de Bioquímica de Lehninger* - 7.ed. Artmed Editora.
- Nishimura, T., & Kato, H. (1988). Taste of free amino acids and peptides. *Food Reviews International*, 4(2), 175–194. <https://doi.org/10.1080/87559128809540828>
- Nishimura, T., Rhue, M. R., Okitani, A., & Kato, H. (1988). Components Contributing to the Improvement of Meat Taste during Storage. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52(9), 2323–2330. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.52.2323>
- Nychas, G.-J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., & Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1–2), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.020>
- Paixão, M. L., Valadares Filho, S. C., Leão, M. I., Valadares, R. F. D., Paulino, M. F., Marcondes, M. I., Fonseca, M. A., Silva, P. A., & Pina, D. D. S. (2006). Uréia em dietas para bovinos: Consumo, digestibilidade dos nutrientes, ganho de peso, características de carcaça e produção microbiana. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(6), 2451–2460. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000800035>
- Ramanathan, R., Mafi, G. G., Yoder, L., Perry, M., Pfeiffer, M., VanOverbeke, D. L., & Maheswarappa, N. B. (2020). Chapter 5 - Biochemical changes of postmortem meat during the aging process and strategies to improve the meat quality. In A. K. Biswas & P. K. Mandal (Eds.), *Meat Quality Analysis* (pp. 67–80). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00005-7](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819233-7.00005-7)
- Ramanathan, R., Mancini, R. A., & Dady, G. A. (2011). Effects of pyruvate, succinate, and lactate enhancement on beef longissimus raw color. *Meat*

- Science*, 88(3), 424–428. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.01.021>
- Reitzer, L. (2014). Amino Acid Synthesis. In *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.02427-2>
- Resconi, V. C., Escudero, A., & Campo, M. M. (2013). The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*, 18(6), 6748–6781. <https://doi.org/10.3390/molecules18066748>
- Santana, M. H. M., Costa, F. G. P., Ludke, J. V., & Figueiredo Júnior, J. P. (2014). Interações nutricionais entre aminoácidos sulfurosos, colina e betaína para aves. *Archivos de Zootecnia*, 63(241), 69. <https://doi.org/10.21071/az.v63i241.591>
- Savell, J. W. (2008). Dry-Aging of Beef. *National Cattlemen's Beef Association*.
- Shahidi, F. (1994). Flavor of meat and meat products---an overview. In Fereidoon Shahidi (Ed.), *Flavor of Meat and Meat Products* (pp. 1–3). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2177-8_1
- Shimada, K., Sakuma, Y., Wakamatsu, J., Fukushima, M., Sekikawa, M., Kuchida, K., & Mikami, M. (2004). Species and muscle differences in L-carnitine levels in skeletal muscles based on a new simple assay. *Meat Science*, 68(3), 357–362. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.04.003>
- Stenström, H., Li, X., Hunt, M. C., & Lundström, K. (2014). Consumer preference and effect of correct or misleading information after ageing beef longissimus muscle using vacuum, dry ageing, or a dry ageing bag. *Meat Science*, 96(1), 661–666. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.022>
- Straadt, I. K., Aaslyng, M. D., & Bertram, H. C. (2014). An NMR-based metabolomics study of pork from different crossbreeds and relation to sensory perception. *Meat Science*, 96(2, Part A), 719–728. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.006>
- Toldrá, F., & Flores, M. (1998). The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 331–352. <https://doi.org/10.1080/10408699891274237>
- Van, H., Hwang, I., Jeong, D., & Touseef, A. (2012). Principle of Meat Aroma Flavors and Future Prospect. *Latest Research into Quality Control*. <https://doi.org/10.5772/51110>

- Warner, R. D., Greenwood, P. L., Pethick, D. W., & Ferguson, D. M. (2010). Genetic and environmental effects on meat quality. *Meat Science*, 86(1), 171–183. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.042>
- Watanabe, A., Ueda, Y., & Higuchi, M. (2004). Effects of slaughter age on the levels of free amino acids and dipeptides in fattening cattle. *Animal Science Journal*, 75(4), 361–367. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2004.00198.x>
- Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J., & Halász, A. (2010). Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology*, 230(3), 395–404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>
- Zeisel, S. H., & Blusztajn, J. K. (1994). Choline and human nutrition. *Annual Review of Nutrition* 14(1):269-96. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.14.070194.001413>

Capítulo 5: Análise de compostos voláteis de carne maturada a vácuo e a seco, em diferentes temperaturas e tempos

Aceito para publicação no periódico científico: *Animal Production Science*

Neste capítulo é apresentada a análise de compostos voláteis realizada em amostras de carne bovina, maturadas a vácuo e a seco, sob diferentes temperaturas e tempos, conforme descrito no capítulo 4. Os trechos a seguir são parte integrante do artigo intitulado: **“Dry- and wet-aged beef: effects of aging time and temperature on the microbiological profile, physicochemical characteristics, volatile compounds profile and weight loss of beef from Nellore cattle (*Bos indicus*) ”**, aceito para publicação no periódico científico: *Animal Production Science*, em 5 de abril de 2021.

Ana Paula da Silva Bernardo^a, Felipe Marinelli Saraiva Ferreira^a, Astrid Caroline Muniz da Silva^a, Flávia Souza Prestes^a, Vanessa Cristina Francisco^b, Renata Tieko NASSU^c, Maristela da Silva do Nascimento^a, Sérgio Bertelli Pflanze^a

^a Department of Food Technology, School of Food Engineering, University of Campinas - Unicamp, Campinas – São Paulo, Brazil

^b School of Pharmaceutical Sciences – São Paulo State University (Unesp). Araraquara – São Paulo, Brazil. Rua Expedicionários do Brasil, 1621 - Zip code: 14801-902

^c Embrapa Pecuária Sudeste. São Carlos – São Paulo, Brazil. Rod. Washington Luiz, Km 234 - Fazenda Canchim - Zip code: 13560-970

Abstract

Context: Dry-aged beef is a product with a unique flavor and great value added. Chamber temperature and aging time seem to affect the process significantly, requiring investigations of these conditions for *Bos indicus* meat. **Aims:** This study evaluated the effects of aging conditions (method, temperature, and time) on the microbiological, physicochemical, volatile compounds profile and weight loss characteristics of dry- and wet-aged beef from Nellore cattle (*Bos Indicus*). **Methods:** Beef loins (n= 16) were cut into eight portions and assigned to the treatments in a complete block design combining the aging method (dry or wet), temperature (2 or 7 °C), and time (21 or 42 d). **Key results:** Samples dry-aged at 7 °C had higher weight loss ($P < 0.05$) for both aging times. Although the storage temperature did not affect yield of wet-aged samples ($P > 0.05$), *Enterobacteriaceae* counts increased in the samples stored at 7 °C ($P < 0.05$) compared to 2 °C. Aging for 42 d resulted in greater process losses (drip + evaporation + trimming) for both aging methods ($P < 0.05$). The pH, moisture content, and Warner-Bratzler shear force values were not affected by the aging method, temperature, and time ($P > 0.05$). The qualitative analysis indicated that the volatiles compounds were affected by the aging method and time, but not by the aging temperature. **Conclusions:** The results indicated that higher temperature and longer aging periods are not recommended for both dry and wet aging, due to the increase of process losses of dry-aged samples and the *Enterobacteriaceae* growth on wet-aged samples. **Implications:** This study highlights the importance of controlling dry ageing conditions to produce a safe product and have higher yields. Processing plants or retailers that produce dry or wet-aged meat could use these results to adjust their production systems.

Keywords: dry aging; wet aging; aging time; temperature; beef quality; Nellore cattle.

MATERIALS AND METHODS

Volatile compounds were analyzed for fresh (non-aged) samples and aged samples. The analyses were performed according to the method described by Bernardo et al. (2020). Prior to the analyses, the samples were kept at refrigeration for 24 h and then cooked for the analyses of volatile compounds. For each treatment, as well for fresh samples, four random steaks (1.5 cm thick) were broiled in a pre-warmed electric oven (NKS, 9L, 800 W, Rio de Janeiro, Brazil), until an internal temperature of 75 °C. Then the four steaks were cut into pieces and ground in an food processor (Walita, modelo Viva RI1364/06, Varginha, MG, Brazil) and the pool of samples for each treatment was obtained. Ten grams of this pool were weighed in 60 mL flasks. The analyses were carried out in triplicate for each treatment. We used the solid-phase microextraction technique with a CAR/PDMS (Carboxen/polydimethylsiloxane, df 75 µm, for use with manual holder, needle size 24 ga., Sigma, Bellefonte, PA, USA) fiber as the stationary phase to extract the volatile compounds. The extraction was performed at 60 °C for 10 min in water bath; then, the stationary phase was exposed in the headspace for 65 min. Gas Chromatography, coupled to a Mass Spectrometry (GC-MS - QP-2010 model, Shimadzu® Kyoto, Japan), was used to separate and identify the beef volatile compounds. Thermal desorption was performed at 300 °C in a splitless mode injector for 1 min. The volatile compounds were separated by a DB-5 MS column (5 % phenyl, 95 % dimethylpolysiloxane) of 60 m x 0.25 mm internal diameter and 1 µm width of the stationary phase (J&W Scientific®, Santa Clara, CA, USA). The mass spectrum was set at the scanning mode and the monitoring range from 35 to 350 m/z. Compounds were first identified by their mass spectra, compared to the equipment library database of GC-MS (GC-MS Solution software, Shimadzu® Kyoto, Japan). An n-alkane (C7-C30) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) solution was injected into the equipment under the same conditions as the samples to obtain the LTPRI (linear temperature programed retention index of the volatile compounds) to confirm the identification of compounds. The identification was then confirmed by comparing the LTPRI and the mass spectra with literature data (NIST, 2020). The criteria adopted were, a minimum of 85 % of similarity and a maximum variation of ± 10 %.

Statistical analyses

The profile of volatile compounds was analyzed using the principal component analysis (PCA). Each volatile compound was selected and its area values were adjusted and used to perform the PCA biplot, to check any separation between groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Overall, we recognized 86 volatile compounds (Table 5) and classified as hydrocarbons (n=17), aldehydes (n=16), alcohols (n=12), ketones (n=10), aromatic compounds (n=7), carboxylic acids (n=7), sulfur compounds (n=6), terpenoids (n=3), esters (n=2), furans (n=2), pyrazine (n=2), ether (n=1), and lactone (n=1). The compounds 2-methyl-1-butanol, 2-hexenal, ethyl ester of butanoic acid and 2-methylbutanoic acid ethyl ester were found only in wet-aged samples. While 2-hexenal is related to linolenic acid oxidation, the ethyl ester of butanoic acid and 2-methylbutanoic acid ethyl ester are related to fruit aromas (reaction between ethanol and butyric acid) (Belitz et al., 2009; NCBI, 1988). Trimethyl-pyrazine and 2-pentenal, from pyrazine and aldehydes groups respectively, were found in dry-aged samples from both aging times (21 and 42 d) and temperatures (2 °C and 7 °C). These compounds are related to the Maillard reaction and linked to peanut, nut and roasted aromas. The compound 2-methylthiazole, also related to the Maillard reaction (DeMan, 1999; De Maria et al., 1999), was found in samples that were dry-aged longer (42 d) at both temperatures (Table 5).

Table 5. Volatile compounds identified in cooked beef samples and their association with experimental treatments

RT (min)	Compound	LTPRI	Class	Compound treatment association	Experimental treatments								
					Fresh	Wet-aging				Dry-aging			
						21 days		42 days		21 days		42 days	
						2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C	2°C	7°C
15.98	2-methyl-2-butenal	746	Aldehydes	Aged(1)	395114	315319	193547	193905	189156	223540	450913	538428	
24.13	methional	912	Aldehydes		798050	574121	627273	257534	401953	485226	807991	854955	
13.41	1-heptene	691	Hydrocarbons		35852	35770	47837	40303	19124	24420	30566	34385	
9.56	hexane	600	Hydrocarbons		662670	498561	473788	730790	385775	385155	556404	606993	
16.32	dimethyl disulfide	752	Sulfur compound		428662	647140	771502	892936	171621	178038	435030	477665	
16.57	2-pentenal	757	Aldehydes	Dry aged (2)					2164	13617	39940	15990	
30.28	benzyl alcohol	1045	Aromatic compound.									244988	
26.15	6-methyl-2- heptanone	955	Ketones								84898	74397	
20.13	methylpyrazine	830	Pyrazine						144884			81441	
28.63	trimethyl-pyrazine	1009	Pyrazine						77136	41714	96499	90377	
19.23	2-methylthiazole	811	Sulfur compound	Wet aged (3)							163935	243822	
15.66	2-methyl-1-butanol	738	Alcohols					197283					
21.43	2-hexenal	856	Aldehydes		68347	53273							
21.01	2-methylbutanoic acid ethyl ester	848	Ester					45730					
36.38	ethyl ester of butanoic acid	1191	Ester					545045					
10.15	2-methylthiirane	614	Sulfur compound	Aged at 2°C (4)	25062						52888		
19.81	3-methylbutanoic acid	822	Carboxylic acid	Aged at 7°C (5)				404116				106032	
22.65	n-butyl ether	881	Ether	Aged 21 d (6)	348784	295867			210050				
15.8	ethylcyclopentane	741	Hydrocarbons	Aged 42 d (7)			26935					46071	

Table 5. (continued)

15.4	methylcyclohexane	733	Hydrocarbons					36551					66770	
26.83	1-heptanol	970	Alcohols		18844		33261	81244	88503	33962	43069	79842	61936	
21.49	1-hexanol	867	Alcohols	No association aging/temperature	62688	245462	242932	425965	620005		220105	468473	421404	
18.16	2,3-butanediol	790	Alcohols		179130		886831	1646928						
10.68	2-methyl-1-propanol	626	Alcohols				48929		67143	54851	45894	91814	74888	
15.44	3-methyl-1-butanol	734	Alcohols				189011		1049311	20727	33836	43937		
15.33	3-methyl-3-buten-1-ol	731	Alcohols		81320		53973		56261	54123	98442	59900		
11.73	2-butenal	651	Aldehydes	No association aging/temperature		75639						51023	207940	
35.33	2-nonenal	1167	Aldehydes			15845							21573	18684
31.03	2-octenal	1063	Aldehydes			45612	36383						41502	35511
30.79	Benzeneacetaldehyde	977	Aromatic compound			423682	315792				273233	476736	237046	
16.26	Pyrrole	750	Aromatic compound		67353		34148			124667	136744		139310	
15.73	Thiazole	740	Aromatic compound			113553						110301	255255	
15.63	2-methylpropanoic acid	736	Carboxylic acid						98544	76993	49838	77635		
17.10	Butanoic acid	768	Carboxylic acid				983840	208903	1784765			1045308	1170108	
38.17	Nonanoic acid	1260	Carboxylic acid			29189	18799				3022		37728	
34.82	Octanoic acid	1153	Carboxylic acid				69530					77831	175128	
21.69	Pentanoic acid	862	Carboxylic acid		69297	141779	213836		349825	166482	112220	165500	179091	
23.84	2-butoxy-1-ethanol	906	Ether		40507		62104	161281	211349	211353	206957	286002	310776	
9.73	2-methylfuran	604	Furan			37143			29501			27500	40090	
27.94	2-pentylfuran	933	Furan		130334	351906	293162		212681		185144	232371	184349	
20.14	1,3-octadiene	830	Hydrocarbons			87438	33134					45924		
14.15	2-heptene	708	Hydrocarbons			40361	35554	55086	84716	22990		6889		

Table 5. (continued)

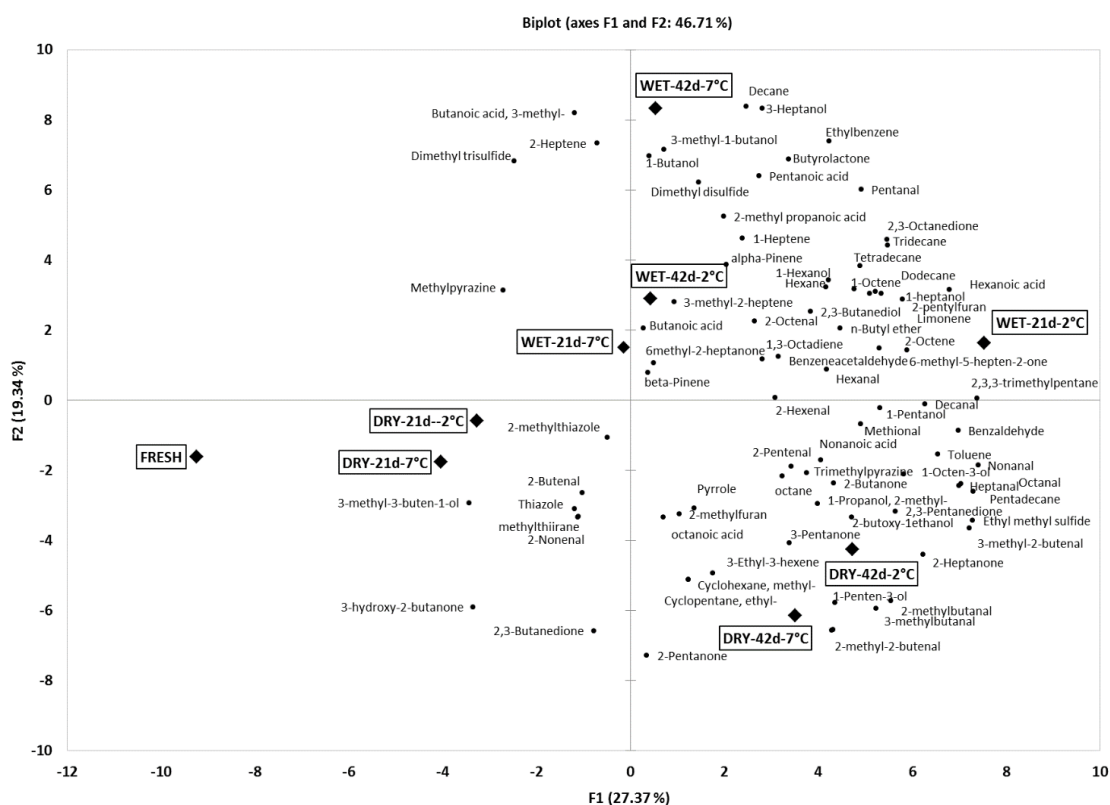
18.52	3-ethyl-3-hexene	797	Hydrocarbons		72057		84605		57441		111496	141628
19.11	3-methyl-2-heptene	809	Hydrocarbons		47899		58017	123453	15261			91527
36.67	Dodecane	1200	Hydrocarbons	32098	424763	133003	62720	162661	43915	48911	47505	
18.66	Octane	800	Hydrocarbons		1822588		1991975	1731825	600346		2013805	2384367
13.65	3-pentanone	696	Ketones			73414		73372	66792	72579	130266	
27.83	Dimethyl trisulfide	991	Sulfur compound		317690	365601	444912	579071			306552	385066
14.65	Methyl propyl sulfide	717	Sulfur compound		46009	39429	37417	38243		30462	40219	42356
28.04	Beta-pinene	995	Terpenes	52080		114883	30400					52813
30.11	Limonene	1042	Terpenes	22057	856903	289484	72256	260270	45950	117647		26765

R T: retention time in minutes; LTPRI: Linear Temperature Programmed Retention Index; (1) Compound related to ageing, regardless of ageing method (wet- or dry-); (2) Compound related to dry aged samples; (3) Compound related to wet-aged samples; (4) compound related to 2C regardless aging; (5) compound related to 7C regardless aging; (6) compound related to 21d-aging regardless temperature; (7) compound related to 42-da aging regardless temperature

Other 36 compounds were found in all nine treatments: Alcohols (1-butanol, 1-octen-3-ol, 1-pentanol, 1-penten-3-ol and 3-heptanol); Aldehydes (2-methylbutanal, 3-methyl-2-butenal, 3-methylbutanal, Decanal, Heptanal, Hexanal, Nonanal, Octanal and Pentanal); Aromatic compounds (Benzaldehyde, Ethylbenzene and Toluene); Carboxylic acids (Hexanoic acid); Hydrocarbons (1-octene, 2,3,3-trimethylpentane, 2-Octene, Decane, Pentadecane, Tetradecane and Tridecane); Ketones (2,3-butanedione, 2,3-octanedione, 2,3-pentanedione, 2-butanone, 2-heptanone, 2-pentanone, 3-hydroxy-2-butanone and 6-methyl-5-hepten-2-one); Lactone (Butyrolactone); Sulfur compounds (Ethyl methyl sulfide); Terpenes (Alpha-pinene).

A PCA was created to show variances between each treatment based on individual volatile compounds (Figure 2). The first principal component (PC1) described 27.37 % and the second principal component (PC2) described 19.34 % of the total variation. Generally, in the PCA biplot, a larger number of volatile compounds can be observed in the wet-aged samples at both temperatures and for dry-aged samples at 42 d, regardless of the temperature. The fresh (non-aged) treatment was clearly separated from the aged samples, but in the same quadrant in samples dry-aged for 21 d, regardless of the temperature, with less formation of volatile compounds. The PC1 is explained by some odoriferous importance meat compounds, such as the hexanoic acid (goaty), 1-heptanol (oily/fatty) and 2-pentylfuran (butter) (Calkins and Hodgen, 2007), which are compounds closely related to the sample wet-aged for 21 d at 2 °C. This specific sample was separated from the other wet-aged samples, although wet-aged samples are located practically in the same quadrant. Samples wet-aged for 42 d at 7 °C were located closed to compounds related to lipid oxidation, such as the pentanoic acid rancid (Mottran, 1998), the Strecker degradation product 3-methyl butanoic acid (parmesan cheese) (Parker, 2015), well as the formation of sulfur compounds from amino acid degradation, such as 3-methyl, dimethyl disulfide and dimethyl trisulfide (cabbage-like aroma), which could undesirably affect meat flavor (Belitz et al. 2009). The samples wet-aged for 21 d at 7 °C and 42 d at 2 °C are related to methylpirazine (earthy aroma) (Belitz et al. 2009) and butanoic acid (rancid) (Kerth and Miller, 2015). The PC2 explained the differences between wet- and dry-aged samples, located in the superior and inferior parts of the PCA plot, respectively. The dry-aged samples were separated by the aging time, but not by temperature, which means that volatile compounds were not affected by temperature. However, at 42 d, the number of volatile compounds was higher, similar to wet-aged samples. Samples dry-aged at 42 d, at both temperatures, were related to lipid oxidation compounds, such as 2-heptanone (fruity/spicy), octanal (fatty), nonanal (fatty/green) and 1-octen-3-ol (mushrooms) (Calkins and Hodgen, 2007), and thiamine degradation compounds: 2-methylbutanal and 3-methylbutanal (malty, nuts and roasted), characteristics of roasted beef (Macleod, 1994, Belitz et al. 2009).

Figure 2. Principal component analysis (PCA) score plot of cooked beef samples and volatile compounds



CONCLUSION

The formation of volatile compounds was influenced by the type of aging, and a greater number of compounds was identified in dry aging. Regarding the temperature, an increase in the compounds at 7 ° C was observed, regardless of the type of aging. The formation of compounds at higher temperatures is not favorable, as they cause oxidation products, such as butanoic and octanoic carboxylic acids, which can interfere with the product's aroma and flavor.

ACKNOWLEDGEMENTS

The current research was funded by the São Paulo Research Foundation (FAPESP - Project: 2016/02853-9) and financed in part by the Coordination of Superior Level Staff Improvement – (CAPES - Financial Code 001). The authors would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for providing scholarship support.

References

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2009). *Food Chemistry*, 4th ed, Springer, Berlin, 444 Heidelberg.1070p.

Bernardo APS, da Silva ACM, Francisco VC, Ribeiro FA, Nassu RT, Calkins CR, Nascimento MS, Pflanzner SB (2020 In press). Effects of freezing and thawing on microbiological and physical- chemical properties of dry-aged beef. *Meat Science*, **161**. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.108003

Calkins CR, Hodgen JM (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, **77**(1), 63–80. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.04.016

De Maria CAB, Moreira RFA, Trugo LC (1999) Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. *Química Nova* **22**(2), 209–17.

DeMan JM (1999). *Principles of Food Chemistry*, 3rd ed., Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD. 1999. 595 p.

Kerth CR, Miller RK (2015) Beef flavor: a review from chemistry to consumer. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95**(14), 2783–98. doi: 10.1002/jsfa.7204

Macleod G (1994) The flavour of beef. In: Shahidi F. Flavor of Meat and Meat Products. Boston, MA: Springer US; p. 4–37. doi: 10.1007/978-1-4615-2177-8

Mottran DS (1998) Flavor formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry* **62**, 415-424. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00076-4

National Center for Biotechnology Information (NCBI)[Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; [1988]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

NIST Mass Spectrometry Data Center, William E. Wallace, director, "Retention Indices" in NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <https://doi.org/10.18434/T4D303>, (retrieved: 15th September, 2020).

Parker J K (2015) Introduction to aroma compounds in foods. In J. K. Parker, J. S. Elmore, & L. Methven (Eds.), *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages* (pp. 3–30). Woodhead Publishing. doi: 10.1016/B978-1-78242-103-0.00001-1

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho avaliou as características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais, perfil de metabólitos e compostos voláteis de carne bovina submetida aos processos de maturação úmida e a seco, e maturação a seco com a utilização de embalagem permeável ao vapor de água ou com revestimento de quitosana e alginato de sódio.

O primeiro experimento (capítulo 1) refere-se a um estudo preliminar com maturação a seco. Foram comparadas amostras não maturadas com carne maturada a seco por 28 dias. Foram observadas mudanças na qualidade físico-química, como aumento da maciez e cor. As amostras apresentaram maior aceitação na análise sensorial e maior formação de compostos voláteis, indicando que o processo de maturação a seco pode ser considerado como uma alternativa viável para melhorar a qualidade sensorial da carne bovina.

O segundo experimento (capítulo 2), em um estudo comparou-se a maturação úmida, a seco com e sem osso e *special bag*, foi observado que o método tradicional de maturação úmida apresentou maior rendimento no final do processo, como esperado. Em relação a maturação a seco as amostras *special bag* e a seco com osso apresentaram menor perda por evaporação ao final do processo. A maturação proporcionou o aumento na maciez em todos os tratamentos, no entanto não houve diferença entre os métodos a seco e úmido para a maciez. Na análise de compostos voláteis as amostras de maturação a seco apresentaram maior número de compostos voláteis de sabor. No entanto, os tratamentos de maturação não apresentaram diferença na preferência. Neste capítulo, a análise de RMN – DT mostrou-se promissora para identificação do tipo de maturação, porém estudos com maior número de repetições e em outros tempos de maturação são recomendados.

No terceiro experimento (capítulo 3) foi avaliado o efeito do uso de embalagens como uma alternativa para melhorar parâmetros do processo de maturação a seco. A utilização de uma embalagem de alta permeabilidade ao vapor de água (*special bag*) mostrou-se a melhor opção neste estudo, pois contribuiu com a redução de perdas e menor crescimento de microrganismos. A utilização de filmes de revestimentos para a maturação a seco é promissora, no entanto, sugere-se em estudos futuros a adição de compostos ativos, como por exemplo o uso de óleos essenciais, aos filmes para aumentar as propriedades

antimicrobianas e antioxidantes e também para alterar a permeabilidade ao vapor de água dos revestimentos. Outra possibilidade seria a combinação entre *special bag* e revestimento.

O quarto experimento compreende as análises dos capítulos 4 e 5, em amostras de maturação úmida e a seco, maturadas por 21 ou 42 dias em duas temperaturas. Foram obtidos o perfil de metabólitos por H-RMN e o perfil de compostos voláteis por CG-EM. Foram observadas diferenças na formação dos perfis de metabólitos e voláteis, indicando que a formação do sabor na carne maturada pode ser diferente dependendo do processo.

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a maturação a seco é uma boa alternativa para melhorar a qualidade da carne e agregar valor ao produto final. No entanto, os resultados da tese e os achados da literatura mostram que o sabor é um atributo complexo para ser avaliado, e que os consumidores no geral ainda não estão familiarizados com as características sensoriais da carne maturada a seco. Mais estudos são necessários para compreender a dinâmica do sabor em carne maturada a seco, como estudos com análise de compostos voláteis, análises olfatométricas e análise sensorial com painel treinado. A aplicação de revestimentos de quitosana e alginato tem potencial para ser utilizada no processo de maturação a seco, no entanto são necessários mais estudos para adequar a formulação, em relação a permeabilidade ao vapor de água e as propriedades antioxidante e antimicrobiana dos revestimentos.