

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E
VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE CARÇAÇA
SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA CARNE
DE BOVINOS NELORE**

Camila Pereira de Oliveira
Médica veterinária

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E
VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE CARÇAÇA
SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA CARNE
DE BOVINOS NELORE**

Camila Pereira de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto

Coorientador: Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

O48e	<p>Oliveira, Camila Pereira de</p> <p>Efeito da estimulação elétrica de carcaça sobre características físico-químicas da carne de bovinos Nelore / Camila Pereira de Oliveira. -- Jaboticabal, 2023</p> <p>43 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Otávio Rodrigues Machado Neto</p> <p>1. Nelore. 2. Ciência da carne. 3. Maciez. 4. Perdas por cocção. I. Título.</p>
------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DE CARÇAÇA SOBRE
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA CARNE DE BOVINOS NELORE

AUTORA: CAMILA PEREIRA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO

COORIENTADOR: WELDER ANGELO BALDASSINI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Zootecnia, pela Comissão
Examinadora:

Prof. Dr. OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / FMVZ UNESP - Botucatu

Pesquisador Dr. MARCELO ARANDA DA SILVA COUTINHO (Participação Virtual)
Brazil Beef Quality (BBQ) / Piracicaba/SP

Prof. Dr. LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO (Participação Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / FMVZ / UNESP - Botucatu/SP

Jaboticabal, 07 de novembro de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAMILA PEREIRA DE OLIVEIRA, filha de Adriano Santos de Oliveira e Claudete Aparecida Pereira de Oliveira, nascida em Muzambinho, Minas Gerais, Brasil, no dia 25 de setembro de 1996. Em março de 2015, iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus Jaboticabal, graduando-se em fevereiro de 2020. Em agosto de 2020, iniciou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível mestrado acadêmico, área de conhecimento – Produção Animal, na Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus Botucatu. No dia 29 de junho de 2022, submeteu-se à banca para qualificação da Dissertação e no dia 7 de novembro de 2022 realizou sua defesa.

Apoio Financeiro

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

Sumário

	Página
CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES GERAIS	2
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Transformações do músculo no período post mortem	4
2.2. Maciez da carne bovina	7
2.3. Estimulação elétrica	8
3. REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2	19
Resumo	20
Abstract	21
1. Introdução	23
2. Material e métodos	23
2.1. <i>Animais e tratamentos</i>	25
2.2. <i>Coleta de amostras</i>	25
2.3. <i>Força de cisalhamento</i>	26
2.4. <i>Coloração instrumental da carne e pH</i>	26
2.5. <i>Perdas por cocção e capacidade de retenção de água</i>	26
2.6. <i>Comprimento de sarcômero</i>	27
2.7. <i>Índice de fragmentação miofibrilar</i>	27
2.8. <i>Análises estatísticas</i>	28
3. Resultados e discussão	28
3. <i>Caracterização das amostras</i>	29
3.1. <i>Efeitos da estimulação elétrica na maciez da carne</i>	29
3.2. <i>pH final</i>	30
3.3. <i>Cor da carne</i>	31
3.4. <i>Perdas por cocção e capacidade de retenção de água</i>	31
4. Conclusão	32
I – Material Suplementar	39
5. Referências	40

ATESTADO

Atesto que o Projeto "Efeito da estimulação elétrica de carcaça sobre características físico-químicas e moleculares da carne de bovinos Nelore machos e fêmeas " **Protocolo CEUA 0104/2021** , a ser conduzido por Camila Pereira de Oliveira, responsável/orientador Otávio Rodrigues Machado Neto, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	01/09/2021 a 01/09/2022
Nome Comum / Espécie / Linhagem	BOVINA / BOS INDICUS /
Raça	NELORE
Nº de animais machos	30
Nº de animais fêmeas	30
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	530 kg
Peso médio de animais fêmeas	480 kg
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	2 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Animais da FMVZ-UNESP

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 18/08/2021



JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

CAPÍTULO 1

Resumo

O Brasil desempenha uma importante atuação na produção e exportação de carne bovina, e o rebanho, em quase sua totalidade, é composto por animais de origem zebuína (*Bos indicus*), onde a raça Nelore é a mais utilizada, principalmente devido sua adaptabilidade ao clima tropical e sistemas de produção baseados em pastagens. Os animais provenientes de sistemas mais extensivos, baseados em pastagens, apresentam grandes variação nas características de carcaça, o que afeta na qualidade de carne. Buscando atender as exigências de consumidores dispostos a pagar mais por produtos cárneos de qualidade superior, a indústria tem buscado tecnologias aplicadas sobre as carcaças que melhoram a qualidade da carne, sendo a maciez o principal fator. Com a maior demanda por carne bovina, novas tecnologias são testadas e empregadas a fim de melhorar, principalmente, a maciez dos cortes cárneos. Nesse sentido, pesquisadores têm avaliado a aplicação da estimulação elétrica (EE) de carcaças bovinas como ferramenta de melhoria da qualidade da carne. A aplicação da tecnologia nas carcaças bovinas tem efeito positivo nas características físico-químicas da carne porque leva à aceleração da glicólise post-mortem, por adiantar a produção de ácido láctico, possibilitando que o pH alcance 6 antes que a temperatura muscular atinja 15°C. Além disso, a EE pode otimizar os efeitos da maturação por adiantar a taxa de proteólise, através da intensificação da atividade de enzimas como, calpaína e caspases.

Palavras-chave: *Bos indicus*, ciência da carne, maciez, perdas por cocção.

Abstract

Brazil plays an important role in the production and export of beef, and the herd, in almost its entirety, is composed of animals of Zebu origin (*Bos indicus*), where the Nelore breed is the most used, mainly due to its adaptability to the tropical climate and pasture-based production systems. Animals originating from more extensive, pasture-based systems show large variations in meat characteristics, which affects meat quality. Seeking to meet the demands of consumers willing to pay more for higher quality meat products, the industry has sought technologies applied to carcasses that improve meat quality, with tenderness being the main factor. With the greater demand for beef, new technologies are being tested and used in order to improve, mainly, the tenderness of meat cuts. In this sense, researchers have evaluated the application of electrical stimulation (EE) to bovine carcasses as a tool to improve meat quality. The application of technology in beef has a positive effect on the physicochemical characteristics of the meat because it leads to the mixing of post-mortem glycolysis, by facilitating the production of lactic acid, allowing the pH to reach 6 before the muscle temperature reaches 15°C. Furthermore, EE can optimize the effects of advantage by slowing down the rate of proteolysis by enhancing the activity of enzymes such as calpain and caspases.

Keywords: *Bos indicus*, meat science, tenderness, cooking loss.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil desempenha uma importante atuação na produção e exportação de carne bovina, possuindo desde 2014 o maior rebanho comercial de bovinos, a nível mundial, com aproximadamente 225 milhões de animais (IBGE, 2021). O país ocupa a segunda posição de maior produtor de carne bovina, sendo produzidas 9,71 milhões de toneladas carcaça equivalente (TEC). Desse total, 25,51% são referentes à exportação, enquanto o equivalente a 74,49% foi destinado ao mercado interno (FAO, 2020; ABIEC, 2022). O rebanho, em quase sua totalidade, é composto por animais de origem zebuína (*Bos indicus*), onde a raça Nelore é a mais utilizada, principalmente devido sua adaptabilidade ao clima tropical e sistemas de produção baseados em pastagens (Ferraz e Felício, 2010).

Os animais provenientes de sistemas mais extensivos, baseados em pastagens, apresentam grandes variação nas características de carcaça e qualidade de carne. Em parte, isso ocorre devido à grande variação no padrão das carcaças (peso e maturidade fisiológica) e em parâmetros como a espessura de gordura subcutânea - EGS (gordura de acabamento) (Chardulo et al., 2013). A EGS é um fator importante para a proteção da carcaça na câmara fria, e pode contribuir na prevenção do encurtamento pelo frio (Baldassini et al., 2016). Além disso, os animais *Bos indicus*, na maioria das vezes, apresentam limitações relacionadas à qualidade da carne, principalmente menor maciez, quando comparados a bovinos de origem europeia, tais como bovinos Aberdeen Angus. Dessa forma, entender os aspectos relacionados aos parâmetros de qualidade de animais zebuínos torna-se necessário para uma intervenção mais eficiente no processo de melhoria na qualidade da carne e aceitabilidade pelo consumidor final (Ferraz e Felício, 2010; Gursansky et al., 2010).

Buscando atender as exigências de consumidores dispostos a pagar mais por produtos cárneos de qualidade superior, a indústria tem buscado tecnologias aplicadas sobre as carcaças que melhoram a qualidade da carne (Zhang et al., 2019). A maciez, segundo Ji et al., (2021), é considerada o parâmetro mais importante para a experiência sensorial e satisfação geral, seguido do sabor (Zhang et al., 2019). Com a maior demanda por carne bovina, novas tecnologias são testadas e empregadas a fim de melhorar, principalmente, a maciez dos cortes

cárneos. Nesse sentido, pesquisadores têm avaliado a aplicação da estimulação elétrica (EE) de carcaças bovinas como ferramenta de melhoria da qualidade da carne (Adeyemi e Sazili, 2014; Polidori e Vincenzetti, 2017).

A EE foi usada pela primeira vez na Nova Zelândia, e posteriormente na Austrália, com o objetivo de evitar a diminuição da maciez da carne causada pelo encurtamento pelo frio e a ocorrência de carnes escuras, duras e secas (*dark, firm e dry* – DFD) (Hwang et al., 2003). A aplicação da tecnologia nas carcaças bovinas tem efeito positivo nas características físico-químicas da carne porque leva à aceleração da glicólise post-mortem, por adiantar a produção de ácido láctico, possibilitando que o pH alcance 6 antes que a temperatura muscular atinja 15°C.

Além disso, a EE pode otimizar os efeitos da maturação por adiantar a taxa de proteólise, através da intensificação da atividade de enzimas como, calpaína e caspases (Bhat et al., 2018b). Ou seja, a carne atinge melhor nível de maciez em menos tempo, quando comparada a carcaças não estimuladas (Zhang et al., 2019). Também é observado efeito positivo da EE na cor da carne, um estudo de Jaspal et al., 2020, mostrou que carcaças estimuladas produzem uma carne com maior luminosidade (L^*), coloração vermelha (a^*) e coloração amarela (b^*), sendo esses parâmetros essenciais para as condições visuais do produto. Por outro lado, o uso indevido da EE, como a estimulação elétrica excessiva, pode causar efeitos negativos na qualidade da carne e pode causar, por exemplo, o encurtamento pelo calor, fenômeno que afeta a maciez (Zhang et al., 2019).

As voltagens comumente empregadas na EE são, baixa (em média 100V), média (em média 300V) e alta (pico acima de 1130V) (Zhang et al., 2019), cada uma fornece resultados particulares sobre a qualidade da carne (Hwang e Thompson, 2000; Gursansky et al., 2010). Um estudo com EE de 300V feito na China (Zhang et al., 2019) mostrou que, independente da voltagem, a aplicação da EE tem efeitos positivos na maciez da carne. No entanto, voltagens mais baixas conferem maior segurança à equipe envolvida no processo.

A corrente elétrica, frequência, amplitude de pulso, duração do estímulo e tempo de aplicação post-mortem já foram relatados na literatura como fatores de influência no resultado da EE de carcaças (Bhat et al., 2019). O efeito da EE pode estar relacionado ao genótipo do animal, tal como demonstrado no estudo de

Gursansky et al. (2010), que descreveram maior resposta da EE, em relação ao amaciamento, em carcaças de animais *Bos indicus* quando comparados aos *Bos taurus*. Os autores relacionaram esses resultados ao sistema de calpaína dos zebuínos, que é mais sensível à degradação no período pré-rigor.

A maciez da carne pode ser afetada por fatores intrínsecos e extrínsecos como, relação pH-temperatura pós-abate, pH final, comprimento das fibras musculares (como um indicador do estado de contração muscular), concentração de tecido conectivo, tipo de fibra (branca ou vermelha), atividade das enzimas musculares e gordura intramuscular. Esses fatores podem ter efeitos positivos ou negativos sobre a maciez da carne (Purchas, 2014; Whipple et al., 1993). A maturação é uma outra ferramenta que pode ser aplicada para intensificar a maciez dos cortes cárneos. Alguns estudos mostram o efeito potencializador da EE sobre a maturação (Gursansky et al., 2010; Zhang et. al., 2019), onde carnes que precisariam de 28 dias de maturação para alcançar determinada maciez, com a EE, foram necessários apenas 14 dias para atingirem os mesmos (Gursansky et al., 2010).

Embora os aspectos de qualidade visual da carne crua sejam determinantes no momento da compra (Li et al., 2011), a preferência por uma carne mais macia é unânime (Beerman et al., 2009; Purchas, 2014; Ji et al., 2021). Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi investigar os efeitos da EE sobre a qualidade da carne de bovinos Nelore, avaliando-se características físico-químicas em diferentes tempos de maturação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Transformações do músculo no período *post mortem*

O *rigor mortis* é o primeiro processo fisiológico que ocorre para a conversão do músculo em carne. O mesmo se estabelece durante as primeiras 12h do post-mortem, e depende de fatores como, espécie, tipo da fibra muscular e condições ante e post-mortem (Bote, 2017).

Na conversão do músculo em carne uma série de alterações bioquímicas ocorrem no músculo do animal. Esse processo se inicia quando os mecanismos homeostáticos entram em falência (Matarneh et al., 2017), e pode ter impacto

notável sobre a qualidade do produto e sua aceitação como alimento (Savell et al., 2005; Pearson e Young, 2012). Os parâmetros de qualidade da carne podem ser fortemente influenciados por fatores intrínsecos como, genética, raça, classe sexual, tipo de músculo e idade do animal e de fatores extrínsecos sendo esses, nutrição, saúde e bem-estar animal, manejo de estresse, clima e inclui também o manejo pré e pós-abate, com o manuseio das carcaças no frigorífico (Savell et al., 2005; Bote, 2017; Álvarez et al., 2019).

Após a sangria, quando o animal entra em anoxia (ausência ou diminuição da oxigenação), a musculatura esquelética continua, por tempo limitado, a síntese e utilização de ATP, a fim de manter a homeostase celular (Matarneh et al., 2017). Isso só é possível pela ação da enzima creatina quinase (CK) catalisa a transferência de um fosfato inorgânico da creatina fosfato (CP) em adenosina difosfato (ADP) para a formação de ATP e creatina. Como o armazenamento da CP é limitada, essa fase ocorre por um curto período de tempo. Com a depleção total de ATP se dá a ligação irreversível da actina com a miosina, com isso os músculos não se relaxam, dando uma característica inextensível aos mesmos, essa fase é descrita como *rigor mortis* (Devine et al., 2014a; Matarneh et al., 2017; Álvarez et al., 2019).

Além disso, a ausência de ATP durante a anoxia post-mortem prejudica a absorção de Ca^{++} pelo retículo sarcoplasmático, resultando em hipercalcemia no citosol (Devine et al., 2014a; Matarneh et al., 2017; Álvarez et al., 2019). A sobrecarga de Ca^{++} leva ao estresse oxidativo, causado pela formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), e faz com que ocorra a degradação das mitocôndrias, externalizando o citocromo C que é responsável a ativação de complexos enzimáticos importantes como, sistema calpaína-calpastatina (Ouali et al., 2006; Álvarez et al., 2019).

A queda do pH (acidificação da carcaça), que ocorre pelo acúmulo dos produtos da glicólise e hidrólise de ATP que são, respectivamente, lactato e íons de hidrogênio (H^+), influencia a atividade de uma série de enzimas e dificulta a homeostase do organismo (Matarneh et al., 2017). O pH passa de 7,0 (no momento do abate) para, em média, 5,6 após o estabelecimento do *rigor mortis* (Person, 2012).

O desenvolvimento do metabolismo post-mortem é essencial para definir a qualidade da carne, a velocidade de declínio do pH pode levar a defeitos de qualidade como, carnes escuras (DFD) – corte com cor escura, textura firme e que retém água, sendo o mais comum; carnes PSE (pale, soft e exsudative – carne pálida, textura mole e que perde muita água; ou carne ácida, sendo a DFD a mais importante na indústria da carne vermelha (Bote, 2017; Matarneh et al., 2017).

A condição de DFD ocorre em função da deficiência de glicogênio no músculo pela exposição crônica ao estresse no período pré-abate. A quantidade inadequada de glicogênio finaliza o metabolismo post-mortem antes do normal, e limita a queda do pH (Viljoen et al., 2002; Devine, 2014a; Bote, 2017; Matarneh, 2017). A incidência desse defeito varia de acordo com o sistema de produção, animais submetidos a dietas de alta energia tem maior produção de ácidos graxos de cadeia curta no ambiente ruminal, como o propionato, que por sua vez aumenta a capacidade de deposição de glicogênio no músculo, dificultando a ocorrência de DFD (Daly et al., 1999).

A EE é uma ferramenta que tem sido implantada na indústria frigorífica de alguns países (Austrália, EUA, Brasil) para melhorar a qualidade da carne. A tecnologia modifica os eventos bioquímicos durante o *rigor mortis*, antecipando os processos relacionados à essa fase, como a aceleração da taxa glicolítica (Hope-Jones et al., 2010). A aceleração da glicose anaeróbia e a queda mais rápida do pH, reduzem de 15 a 20 horas para de 5 a 10 horas o tempo de estabelecimento do *rigor mortis*, iniciando precocemente o processo de proteólise (amaciamento da carne) (Savell et al., 2005; Lawrie e Ledward, 2006).

2.2. Maciez da carne bovina

O músculo é um tecido vivo que tem como função primária produzir força e movimento no corpo do animal (Purslow, 2017). É formado por fibras contráteis altamente especializadas unidas por uma complexa ligação de tecido conectivo (Bote, 2017).

A qualidade da carne é um conceito muito amplo e envolve diversos aspectos inter-relacionados, pode ser influenciada por fatores antes mesmo do nascimento animal até o momento do preparo do produto. A maciez da carne é a um dos

principais traços de qualidade e tem sido muito estudada por sua importância na satisfação, aceitação e decisão de compra dos consumidores (Beerman, 2009; Ji et al., 2021). A maciez pode ser afetada por um conjunto de fatores como grupo genético, manejo, e até mesmo por fatores durante o processo do abate, como pH final, temperatura da câmara fria, comprimento do sarcômero, tipo de fibra (oxidativa, glicolítica), atividade das enzimas musculares e gordura intramuscular (Whipple et al., 1993; Purchas, 2014).

O principal fator associado à diminuição da maciez é o *cold shortening*, que ocorre quando a temperatura do músculo sofre declínio inferior a 15°C fibras antes que o *rigor mortis* se estabeleça, diminuindo assim o comprimento das musculares (Xiong, 2017). Esse fenômeno está relacionado à contração muscular prolongada, e ocorre pela ineficiência da bomba Ca^{++} presente na membrana do retículo sarcoplasmático (Devine et al., 2014). Nesse sentido, a EE pode atuar diminuindo os níveis de ATP antes que o *rigor mortis* seja estabelecido, por causar fortes contrações e aceleração da glicólise, isso irá influenciar sobre o fluxo de íons, como a maior liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático (Savell et al., 2005; Devine et al., 2014).

A grande inconsistência da maciez é o principal motivo da insatisfação do consumidor, e foi identificado como um grande problema para a indústria da carne vermelha por reduzir o consumo de carne bovina. Nesse sentido, a maturação é uma ferramenta amplamente usada para melhorar a maciez da carne, e em combinação com a estimulação elétrica (EE) pode ser potencializada (Zhang et al., 2019). O método de maturação mais adotado pela indústria da carne é o procedimento úmido a vácuo, por manter as características naturais da carne, garantir maior tempo de prateleira e possuir facilidade no armazenamento e transporte (Warren e Kastner, 1992; Hodges et al., 1974).

Os efeitos positivos dessa técnica já foram relatados por uma série de estudos (Brooks et al., 2000; Smith et al., 2008; Colle e Doumit, 2017). Para testar a eficácia da maturação na maciez, Lepper-Billie et al., (2016) investigaram carcaças de marmoreio baixo ou escasso (pela classificação USDA – *Select*), submetidas a 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias de maturação. Os efeitos positivos da maturação foram comprovados, por resultar em uma carne muito macia, ou seja, com baixos valores

de Warner-Bratzler shear force (WBSF < 3,2 kg) desde o primeiro tempo de maturação (14 dias). Além disso, Ferguson et al. (2000) e Riley et al. (2019), observaram que a carne de animais *Bos taurus* entram no processo de maturação nas primeiras horas do post-mortem, enquanto para os *Bos indicus* o processo é mais tardio, isso leva à uma menor atividade e velocidade dos efeitos proteolíticos, e limita a obtenção com qualidade superior (Chardulo et al., 2013).

Durante o processo de maturação, o amaciamento se dá pela proteólise de proteínas miofibrilares e citoesqueléticas, assim como as alterações no tecido conjuntivo (Jeremiah, et. al., 2003; Chriki et al., 2013). A maturação é caracterizada pela quebra de proteínas estruturais do músculo por meio da ação de algumas enzimas endógenas, como por exemplo, as calpaínas (Devine, 2014a). As calpaínas são responsáveis por iniciar o processo de degradação muscular, e se apresentam em duas formas, a mi-calpaína (principal) e a m-calpaína. A atividade da mi-calpaína depende do Ca^{++} armazenado no retículo sarcoplasmático, dessa forma como a EE faz com que ocorra uma liberação massiva de Ca^{++} , desencadeia em um aumento na atividade dessa enzima (Matarneh et al. 2017).

A calpastatina por sua vez, é responsável por inibir e/ou reduzir a ação da calpaína no músculo (Devine, 2014a). Animais *Bos indicus* apresentam maior atividade de calpastatina em sua composição genética, sendo essa uma das razões para o menor grau de maciez da raça (Ferguson et al., 2000; Gursansky et al., 2010; Riley et al., 2019).

2.3. Estimulação elétrica

Os estudos sobre EE tiveram seus primeiros relatos em 1749, quando Benjamin Franklin observou que a carne de peru quando submetida a estímulos elétricos apresentou maior maciez no post-mortem. A partir de 1950 as pesquisas ficaram mais sólidas, e a função da EE começou a ser elucidada (Devine et al. 2014b), para mais tarde, em 1970, iniciar sua implementação na indústria. A tecnologia foi empregada pela primeira vez na Nova Zelândia, em seguida na Austrália, principalmente para evitar o *cold shortening* e a ocorrência de carnes escuras (DFD) (Hwang et al., 2003).

A EE é caracterizada pela passagem de uma corrente elétrica através da carcaça, causando vigorosas contrações que refletem no aumento do consumo energético, resultando na antecipação do início do *rigor mortis*, e conseqüentemente no declínio mais acelerado do pH, isso garante que o pH chegue a 6 antes que a temperatura muscular atinja 15°C (Devine et al., 2014b; Simmon et al., 2008). Otimiza também os efeitos da maturação por adiantar a taxa de proteólise (Bhat et al., 2018b).

Pesquisas conduzidas nos últimos anos para avaliar o potencial da EE de carcaças no amaciamento de diferentes cortes cárneos descreveram resultados positivos sobre a maciez da carne medida instrumentalmente e/ou por testes sensoriais (Bhat et al., 2018a; Bhat et al., 2018b; Bhat et al., 2018c). Nesses estudos, os pesquisadores demonstraram que a ruptura física da matriz miofibrilar é um fator que contribui para melhorar a maciez da carne, contudo, o mecanismo mais aceito (i.e., efeito mais pronunciado sobre a maciez) foi relacionado à aceleração da proteólise, mediada pelo sistema calpaína-calpastatina.

O processo de degradação proteica (proteólise) atua em todas as proteínas musculares, incluindo tecido conjuntivo (Hwang et al., 2003), e o amaciamento da carne ocorre conforme as proteínas estruturais são degradadas. Antes do estabelecimento completo do *rigor mortis* não são observadas mudanças significativas de maciez (Devine e Graafhuis, 1995). As carcaças submetidas à EE apresentam menor quantidade de miofilamentos e de proteínas estruturais (troponina-T, actina e miosina), o que pode estar relacionado com a maior fragmentação miofibrilar e melhora maciez da carne (Chizzotti, et al., 2018).

A aceleração da proteólise pode ser classificada como um efeito secundário da EE de carcaças mediado pela interação tempo-temperatura-pH, que afeta fatores como estabilidade e atividade enzimática (Hwang, et al., 2003). Esse mecanismo foi confirmado também em outros estudos (Bekhiy et al., 2014; Bekhit et al., 2017), e mostrou melhores resultados durante o processo de maturação em carcaças submetidas à EE, por antecipar a proteólise.

Existem diferentes voltagens de EE empregadas na indústria, a baixa (em média 100V), alta (pico acima de 1130V) e, mais recente, iniciaram-se análises com a média voltagem (em média 300 V). Ainda que existam dúvidas em relação

à voltagem, tempo e duração a serem aplicados no estímulo, essa ferramenta traz benefícios para a qualidade da carne, principalmente em relação à maciez (Zhang et al., 2019). Os parâmetros aplicados na estimulação elétrica podem variar de acordo com o peso da carcaça e devem ser ajustados considerando a segurança dos funcionários envolvidos na atividade e os resultados esperados pela indústria (Polidori et al., 1999; Hwang & Thompson, 2001a; Gursansky et al., 2010). Os parâmetros recomendados para estimulação podem variar de acordo com o peso da carcaça, as mais pesadas necessitam de menos estímulos para atingir uma taxa semelhante de glicólise, quando comparadas às mais leves. Isso acontece por apresentarem maior densidade de proteínas miofibrilares, que por conta da glicólise e queda do pH mais acelerados, facilita a saída da água e pode diminuir a capacidade de reter água. Sendo recomendado estímulos mais curtos e menos intensos (Warner et al., 2014; Webb et al., 2020).

A corrente elétrica, frequência, amplitude de pulso, duração do estímulo e tempo de aplicação post-mortem já foram relatados na literatura como fatores que influenciam no resultado da EE de carcaças (Bhat et al., 2019). Foi demonstrado por Simmons et al. (2008), que depois de 30 segundos de estimulação constante da carcaça, as respostas caem em até 20% quando comparado à aplicação de 10 segundos de estímulo. Nesse mesmo estudo de Simmons et al. (2008), a velocidade de declínio do pH foi 35% menor quando aplicada uma frequência de 50Hz em relação a de 15Hz. Os autores atribuíram esse resultado ao acúmulo de potássio extracelular, que faz com que a carcaça fique resistente à estimulação adicional.

Segundo Devine et al., 2014b, carcaças zebuínas estimuladas apresentam carne mais macia do que carcaças de bovinos europeus não estimulados. Um estudo de Gursansky et al. (2010) comparou o efeito da EE relacionado ao genótipo, e identificou melhores resultados (i.e., ação mais expressiva) da EE em animais *Bos indicus* quando comparados aos *Bos taurus*. Os autores atribuíram esse efeito ao sistema calpaína-calpastatina dos zebuínos, que é mais sensível a degradação no período pré-rigor.

Os efeitos positivos da EE nos parâmetros de qualidade da carne já foram evidenciados por recentes estudos (Zhang et al., 2019; Biffin et al., 2020; Jaspal

et al., 2020; Ji et al, 2020; Zhao et al., 2022), sendo a maciez a característica mais impactada. Segundo esses pesquisadores, carcaças *Bos taurus* que foram submetidas à EE produziram carnes mais macias (menores valores de FC), quando comparadas às que não receberam o estímulo. Por mais que existam diversos estudos relacionados à EE, e que sua utilização na indústria da carne vermelha seja amplamente recomendada na literatura internacional, poucos estudos descreveram seus efeitos sobre carcaças de animais Nelore de diferentes categorias, notadamente machos inteiros e novilhas.

3. REFERÊNCIAS

ADEYEMI, K. D.; SAZILI, A. Q. Efficacy of carcass electrical stimulation in meat quality enhancement: A review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 27, n. 3, p. 447, 2014.

ÁLVAREZ, C.; MORÁN, L.; KEENAN, D. F.; MULLEN, A. M.; DELGADO-PANDO, G. Mechanical and biochemical methods for rigor measurement: relationship with eating quality. **Journal of Food Quality**, v. 2019, p. 1-14. 2019.

BALDASSINI, W. A., CHARDULO, L. A. L., SILVA, J. A. V., MALHEIROS, V. A. D., ESPIGOLAN, R., BALDI, F. S., ALBUQUERQUE L. G., FERNANDES, T.T. & PADILHA, P. M. Meat quality traits of Nelore bulls according to different degrees of backfat thickness: a multivariate approach. **Animal Production Science**, v. 57, n. 2, p. 363-370, 2016.

ABIEC. **Beef Report 2022**. São Paulo: 2022. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>. Acesso em: 21 jun. 2022.

BEERMAN, D.H. ASAS centennial paper: A century of pioneers and progress in meat science in the United States leads to new frontiers. **Journal of Animal Science**, 87, 1192-1198, 2009.

BEKHIT, A. E.-D. A., CARNE, A., HA, M.; FRANKS, P. Physical Interventions to Manipulate Texture and Tenderness of Fresh Meat: A Review. **International Journal of Food Properties**, v. 17, p. 433-453, 2014.

BEKHIT, A. E. D. A.; CARNE, A.; RYDER, K.; HA, M.; KONG, L. Manipulation of meat structure: Use of exogenous proteases. In: BEKHIT, A. E. D. A. **Advances**

in **meat processing technology**, Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2017. cap. 4, p. 65-120.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Current and future prospects for the use of pulsed electric field in the meat industry. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2, 1–15, 2018a.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 17(04), 841–859, 2018b.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Pulsed electric field operates enzymatically by causing early activation of calpains in beef during ageing. **Meat Science**, 153, 144–151, 2018c.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Does pulsed electric field have a potential to improve the quality of beef from older animals and how? **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 56, p. 102194, 2019.

BOTE, C. L. Chemical and biochemical constitution of muscle. In: TOLDA, F. **Lawrie's Meat Science**. 8. ed. Woodhead Publishing, 2017. p. 99-158.

BROOKS, J.C.; BELEW, J.B.; GRIFFIN, D.B.; GWARTNEY, B.L.; HALE, D.S.; HENNING, W.R. & SAVELL, J.W. National beef tenderness survey 1998. **Journal of Animal Science**, 78, 1852–1860, 2000.

CHAUHAN, S. S.; PONNAMPALAM, E. N.; DUNSHEA, F. R.; WARNER, R. D. Breed and Nutrition Effects on Meat Quality and Retail Color after Lamb Pre-Slaughter Stress. **Meat and Muscle Biology**, v. 3, n. 1, p. 147-157, 2019.

CHARDULO, L. A. L.; SILVEIRA, A. C.; VIANELLO, F. Analytical aspects for tropical meat quality assessment. In: **Food quality, safety and technology**. Springer, Vienna, 2013. p. 53-62.

CHIZZOTTI, M. L.; RODRIGUES, R. T. S.; SILVA, L. H. P.; ESTRADA, M. M.; ASSIS, D. E. F. & BENEDETI, P. D. B. **Proteomics and Metabolomics of Meat Quality**. 2018.

CHRIKI, S., RENAND, G., PICARD, B., MICOL, D., JOURNAUX, L., & HOCQUETTE, J. F. Metaanalysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. **Livestock Science**, 155, 424–434, 2013.

COLLE, M. J.; DOUMIT, M. E. Effect of extended aging on calpain-1 and-2 activity in beef longissimus lumborum and semimembranosus muscles. **Meat science**, v. 131, p. 142-145, 2017.

DALY, C.C., YOUNG, O.A., GRAAFHUIS, A.E., MOORHEAD, S.M., EASTON, H.S., 1999. Some effects of diet on beef meat and fat attributes. **New Zealand Journal of Agricultural Research**. 42, p. 279-287.

DEVINE, C. E. Conversion of Muscle to Meat. In: **Encyclopedia of Meat Sciences**, 2. ed. Elsevier, p. 360-396, 2014a.

DEVINE, C. E.; GRAAFHUIS, A. E. The basal toughness of unaged lamb. **Meat science**, v. 39, n. 2, p. 285-291, 1995.

DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L.; HWANG, I. H.; FERGUSON, D. M.; RICHARDS, I. Electrical Stimulation. In: **Encyclopedia of Meat Sciences**, 2. ed. Elsevier, p.486-496, 2014b.

FAO. 2020. Animal Products and Health. **Meat and Meat Products**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html> > Acesso em: 7 abr. 2022.

FERRAZ, José Bento Sterman; DE FELÍCIO, Pedro Eduardo. Production systems—An example from Brazil. **Meat science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FERGUSON, D. M.; JIANG, S. T.; HEARNSHAW, H.; RYMILL, S. R.; THOMPSON, J. M. Effect of electrical stimulation on M. Longissimus protease activity and tenderness in cattle with different proportions of *Bos taurus indicus* content. **Meat Science**, v. 55, p. 265-272, 2000.

GURSANSKY, B.; O'HALLORAN, J. M.; EGAN, A.; DEVINE, C. E. Tenderness enhancement of beef from *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle following electrical stimulation. **Meat Science**, v. 86, p. 635-641, 2010.

HANNULA, T., & PUOLANNE, E. The effect of cooling rate on beef tenderness: The significance of pH at 7 C. **Meat Science**, 67, 403–408, 2004.

HODGES, J. H., CAHILL, V. R., & OCKERMAN, H. W. Effect of vacuum packaging on weight loss, microbial growth and palatability of fresh beef wholesale cuts. **Journal of Food Science**, 39, 143–146, 1974.

HOPE-JONES, M; STRYDOM, P.E; FRYLINCK, L. & WEBB, E. C. The efficiency of electrical stimulation to counteract the negative effects of β -agonists on meat tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, v. 86, n. 3, p. 699-705, 2010.

HWANG, I. H.; DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. **Meat Science**, v. 65, n. 2, p. 677-691, 2003.

HWANG, I. H., & THOMPSON, J. M. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. **Meat Science**, 58, 135–144, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Indicadores IBGE - Estatística da Produção Pecuária**. Disponível em: < IBGE | Biblioteca | Detalhes | Indicadores IBGE: estatística da produção pecuária>. Acesso em: 16 mai. 2022.

JEREMIAH, L. E., DUGAN, M. E. R., AALHUS, J. L., & GIBSON, L. L. Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. **Meat Science**, 65, 1013–1019, 2003.

JIANG, Shann-Tzong. Contribution of muscle proteinases to meat tenderization. Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, **Life Sciences**, v. 22, n. 3, p. 97-107, 1998.

JI, X.; LUO, X.; ZHU, L.; MAO, Y.; LU, X.; CHEN, X.; HOPKINS, D. L. & ZHANG, Y. Effect of medium voltage electrical stimulation and prior ageing on beef shear force during superchilled storage. **Meat Science**, v. 172, p. 108320, 2021.

LEPPER-BLILIE, A. N.; BERG, E. P.; BUCHANAN, D.S & BERG, P. T. Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. **Meat Science**, v. 112, p. 63-68, 2016.

LAWRY, R. A.; LEDWARD, D. A. **Lawrie's meat science**. 2006.

MATARNEH, S. K.; ENGLAND, E. M.; SCHEFFLER, T. L.; GERRARD, D. E. The Conversion of Muscle to Meat. In: TOLDRA, F. **Lawrie's Meat Science**, v. 8. ed. 2017. Cap.5.

MARTINS, T. S., SANGLARD, L. M. P., SILVA, W., CHIZZOTTI, M. L., LADEIRA, M. M., SERÃO, N. V. L., PAULINO, P. V. R. & DUARTE, M. S. Differences in skeletal muscle proteolysis in Nellore and Angus cattle might be driven by Calpastatin activity and not the abundance of Calpain/Calpastatin. **The Journal of Agricultural Science**, v. 155, n. 10, p. 1669-1676, 2017.

MILLER, R. K. United States initiatives to reduce variability in beef and pork eating quality. In: **International Congress of Meat Science and Technology**. 1997. p. 52.

MOKRY, F. B., HIGA, R. H., MUDADU, M. A., LIMA, A. O., MEIRELLES, S. L. C., SILVA, M. V. G. B., CARDSO, F. F., OLIVEIRA, M. M., URBINATI, I., NICIURA, S. C. M., TULLIO, R. R., ALENCAR, M. M. & REGITANO, L. C. A. Genome-wide association study for backfat thickness in Canchim beef cattle using Random Forest approach. **BMC genetics**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2013.

O'QUINN, T. G.; LEGAKO, J. F.; BROOKS, J. C. & MILLER, M. F. Evaluation of the contribution of tenderness, juiciness, and flavor to the overall consumer beef eating experience. **Translational Animal Science**, v. 2, n. 1, p. 26-36, 2018.

OUALI, A.; HERRERA-MENDEZ, C. H.; COULIS, G; BECILA, S.; BOUDJELLAL, A.; AUBRY, L. & SENTANDREU, M. A. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat science**, v. 74, n. 1, p. 44-58, 2006.

PEARSON, A. M. & YOUNG, R. B. Postmortem Changes during Conversion of Muscle to Meat. In: **Muscle and meat biochemistry**, cap. 13, p 403-444. Elsevier, 2012.

POLIDORI, P., LEE, S., KAUFFMAN, R. G., & MARSH, B. B. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: Effects on meat quality. **Meat Science**, 53, 179–182, 1999.

POLIDORI, P.; VINCENZETTI, S. The use of electrical stimulation in meat production. In: **Meat and Meat Processing**, **Nova Science Publishers**, p.133-154, 2017.

PURCHAS, R.W., 2014. Tenderness measurement. In: DEVINE, C., DIKEMAN, M. (Eds.), **Encyclopedia of Meat Sciences**, vol. 3. Elsevier, Oxford, p. 452-459, 2014.

PURSLOW, P. P. The Structure and Growth of Muscle. In: TOLDRA, F. **Lawrie's Meat Science**, v. 8. ed. 2017. cap.3, p. 67-114.

PURSLOW, P. P.; GAGAOUA, M.; WARNER, R. D. Insights on meat quality from combining traditional studies and proteomics. **Meat Science**, v. 174, p. 108-423, 2021.

RILEY, D. G.; MILLER, R. K.; NICHOLSON, K. L.; GILL, C.A.; HERRING, A. D.; RIGGS, P. K.; SAWYER, J. E.; SAVELL, J.W.; SANDERS, J.O. Genome association of carcass and palatability traits from Bos indicus-Bos taurus crossbred steers within electrical stimulation status and correspondence with steer temperament 1. **Carcass. Livestock Science**, v.229, p. 150-158, 2019.

RODRIGUES, T. P.; SILVA, T. J. P.; CARVALHO, E. C. Q.; FREITAS, M. Q. & PAULINO, F. O. Caracterização do processo de rigor mortis em músculos de eqüinos e maciez da carne. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1225-1230, 2004.

SAVELL, J. W.; MUELLER, S. L.; BAIRD, B. E. The chilling of carcasses. **Meat science**, v. 70, n. 3, p. 449-459, 2005.

SIMMONS, N. J., DALY, C. C., CUMMINGS, T. L., MORGAN, S. K., JOHNSON, N. V., & LOMBARD, A. Reassessing the principles of electrical stimulation. **Meat Science**, 80, 110–122, 2008.

SMITH, R.D., NICHOLSON, K.L., NICHOLSON, J.D.W., HARRIS, K.B., MILLER, R.K., GRIFFIN, D.B., & SAVELL, J.W. Dry versus wet aging of beef: retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US choice and US select short loins. **Meat Science**, 79, 631–639, 2008.

TANG, J., FAUSTMAN, C., MANCINI, R.A., SEYFERT, M., HUNT, M.C. Mitochondrial reduction of metmyoglobin: dependence on the electron transport chain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53, 5449-5455, 2005.

THOMPSON, J. Managing meat tenderness. **Meat Science**, v. 62, n. 3, p. 295-308, 2002.

THRIFT, F. A., SANDERS, J. O., BROWN, BORWN, A. H., HERRING, A. D., RILEY, D. G., DEROUEN, S. M., HOLLOWAY, J. W., WYATT, W. E., VANN, R. C., CHASE JR. C. C., FRANKE, D. E., CUNDIFF, L. V. & BAKER, J. F. Prewearing, postweaning, and carcass trait comparisons for progeny sired by subtropically

adapted beef sire breeds at various US locations. **The Professional Animal Scientist**, v. 26, n. 5, p. 451-473, 2010.

VILJOEN, H. F.; DE KOCK, H. L.; WEBB, E. C. Consumer acceptability of dark, firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks. **Meat science**, v. 61, n. 2, p. 181-185, 2002.

WARREN, K. E., & KASTNER, C. L. A comparison of dry-aged and vacuum-aged beefstrip loins. **Journal of Muscle Foods**, 3, 151–157, 1992.

WEBB, E. C.; AGBENIGA, B. Timing and duration of low voltage electrical stimulation on selected meat quality characteristics of light and heavy cattle carcasses. **Animal Production Science**, v. 60, n. 7, p. 967-977, 2020.

WHIPPLE, G., KOOHMARAIE, M., DIKEMAN, M.E., CROUSE, J.D., HUNT, M.C., KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**. 68, 2716-2728, 1990.

XIONG, Y. L. The Storage and Preservation of Meat: I – Thermal Technologies. In: TOLDA, F. **Lawrie's Meat Science**. 8. ed. Woodhead Publishing, 2017. cap. 7, p. 222-247, 2017

ZHANG, Y.; JI, X.; MAO, Y.; LUO, X.; ZHU, L. & HOPKINS, D. L. Effect of new generation medium voltage electrical stimulation on the meat quality of beef slaughtered in a Chinese abattoir. **Meat science**, v. 149, p. 47-54, 2019.

ZYBERT, A.; TARCZYŃSKI, K.; SIECZKOWSKA, H. Meta-analysis of the effect of chilling on selected attributes of fresh pork. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. 14061, 2019.

CAPÍTULO 2*

“A estimulação elétrica de carcaças melhora a maciez e a cor da carne de bovinos Nelore machos não castrados e fêmeas ”

*Artigo científico elaborado de acordo com as normas do periódico Meat Science – <https://www.journals.elsevier.com/meat-science>.

Guia de formatação da APA (7ª edição)

Resumo

A estimulação elétrica (EE) de carcaça é uma tecnologia amplamente usada na indústria frigorífica para acelerar a queda de pH e a taxa de glicólise, afetando positivamente nos parâmetros de qualidade de carne por melhorar a maciez e prevenir o encurtamento pelo frio. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da EE de carcaças na qualidade da carne de bovinos Nelore machos e fêmeas. Foram utilizadas 60 carcaças bovinas, distribuindo-se as meias-carcaças em quatro grupos experimentais de acordo com a classe sexual: 30 machos EE; 30 machos controle, 30 fêmeas EE; e 30 fêmeas controle. A EE foi aplicada em cada meia carcaça direita antes da entrada na câmara fria e compreendeu dez estímulos elétricos de 120V, 60Hz e 5mA, enquanto a meia carcaça esquerda não recebeu estímulo (controle). Na desossa (24h após o abate), amostras do *Longissimus thoracis* (LT) entre a 12ª e 13ª costelas de todas as carcaças foram coletadas para processamento e análises de qualidade, submetidas à maturação por 14, 21 e 28 dias. Os dados foram examinados por medida repetida no tempo, e as diferenças significativas foram consideradas quando $P \leq 0,05$, e tendências quando $P < 0,10$. Os resultados mostraram que a EE diminuiu ($P < 0,05$) os valores de força de cisalhamento (FC) em ambos os sexos. Ocorreu interação entre a EE e os tempos de maturação sobre a FC, evidenciando a potencialização da proteólise pelo uso da tecnologia. Foi encontrada uma melhora significativa ($P < 0,01$) na coloração da carne de bovinos fêmeas, principalmente na luminosidade (L^*), teor de amarelo (b^*) e no pH da carne. Houve redução na perda por cocção nas fêmeas ($P = 0,01$) e na perda por gotejamento na carne dos machos ($P = 0,04$) e fêmeas ($P = 0,07$). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas relacionadas a capacidade de retenção de água ($P > 0,05$). O índice de fragmentação miofibrilar da carne tendeu a ser maior nas carcaças EE ($P < 0,10$). Por fim, não foi observada diferença em relação ao comprimento de sarcômero ($P > 0,05$). Os resultados indicaram que a EE melhorou as características de qualidade de carne de bovinos zebuínos machos e fêmeas, especialmente maciez, coloração e pH.

Palavras-chave: *Bos indicus*, ciência da carne, maciez, perdas por cocção.

Abstract

Electrical stimulation (ES) is a wide technology used in the red meat industry to accelerate the pH decline and glycolysis rate, hence improving meat quality by reducing meat toughness and minimizing the effects of cold shortening. This study aim to evaluate the effect of ES on physical traits of meat from Nellore bulls and heifers. Samples from the Longissimus thoracis (LT) were used, 30 ES bulls, 30 control bulls, 30 ES heifers and 30 control heifers. The EE was applied before cooling, by 10 electrical impulses of 120V, 60 Hz and 5mA, 10 seconds each impulse. The left side of the carcass did not receive ES (control). At the deboning LT samples were collected between 12th and 13th rib to further analyses and then aged for 14, 21 and 28 days. The difference between the averages of treatments was compared by Tukey test, using the MIXED procedure of SAS (version 9.4) the statistical model included the fixed effects of electrical stimulation and aging. Data were analysed as repeated measures. The results showed that EE can improve tenderness, by decreasing shear force values of bulls and heifer meat ($P < 0.05$). There was an interaction between EE and aging times on shear force (SF), evidencing the potentiation of proteolysis by the use of technology. The aging time, regardless of treatment, affected the meat traits ($P \leq 0.05$). Furthermore, the ES heifers presented higher L^* (lightness) ($P < 0.01$) and b^* (yellowness) ($P < 0.01$). In addition, the ES heifers' cooking loss had a reduction ($P = 0.015$), regardless of the treatments the animals had a similar cooking loss and drip loss ($P = 0.04$, heifers e $P = 0.07$, bulls). On the other hand, no significant differences were observed related to water holding capacity ($P > 0.05$). Myofibrillar fragmentation index from ES animals tend to show higher values ($0.05 \leq P < 0.10$). There was no difference in the sacomere lenght ($P > 0.05$). Electrical stimulation affects the meat quality traits of Nellore bulls and heifers, improving the tenderness, color and pH.

Keywords: *Bos indicus*, meat science, tenderness, cooking loss.

1. Introdução

Grande parte do rebanho brasileiro, é composto por animais de origem zebuína (*Bos indicus*), e a raça Nelore é a mais utilizada pela adaptabilidade ao clima tropical (Ferraz e Felício, 2010). Esses animais, em comparação às raças britânicas e continentais (*Bos taurus*), produzem carcaças magras com tendência a apresentar uma carne mais dura, devido a maior susceptibilidade ao encurtamento pelo frio, a resposta mais lenta à maturação e fatores bioquímicos e genéticos da raça, isso representa um desafio para a indústria em produzir carne bovina com características sensoriais esperadas (Gursansky et al., 2010), visto que a maciez é considerada o parâmetro mais importante para a experiência sensorial e satisfação geral (Ji et al., 2021), seguido do sabor (Zhang et al., 2019).

A maior demanda por carne bovina tem aumentado, e a implementação de novas tecnologias com o objetivo de melhorar as características de qualidade da carne, principalmente a maciez dos cortes cárneos, se tornou necessária. Nesse sentido, uma ferramenta que vem sendo amplamente adotada é a estimulação elétrica (EE) de carcaças (Adeyemi e Sazili, 2014; Polidori e Vincenzetti, 2017). A EE foi usada inicialmente para evitar o endurecimento da carne causado pelo encurtamento pelo frio e a ocorrência de carnes escuras (*dark, firm e dry – DFD*) (Hwang et al., 2003).

A EE é caracterizada pela passagem de uma corrente elétrica através da carcaça, causando vigorosas contrações que refletem no aumento do consumo energético, resulta na antecipação do início do *rigor mortis*, e conseqüentemente no declínio mais acelerado do pH, isso garante que o pH chegue a 6 antes que a temperatura muscular atinja 15°C (Devine et al., 2014b; Simmon et al., 2008). A tecnologia também otimiza a ação da maturação por adiantar a taxa de proteólise (Bhat et al., 2018b), e é observado efeito positivo da EE na cor da carne. Por outro lado, o uso indevido da EE, como a estimulação por tempo prolongado e em alta voltagem, pode causar efeitos negativos na carne como o encurtamento pelo calor (Zhang et al., 2019). Para obter resultados mais satisfatórios é recomendado que a EE seja aplicada na carcaça quente logo após o abate (Devine et al. 2014).

A melhora na maciez obtida pela aplicação da EE pode estar relacionada com a habilidade da mesma em acelerar a degradação de proteínas miofibrilares e aumentar a atividade das proteases, que só é possível pela antecipação do início

do *rigor mortis*. A EE aumenta a concentração de Ca^{++} intracelular, e como a atividade das calpaínas é cálcio dependente, a ação das mesmas se antecipa (Hwang e Thompson 2001a, Koohmarie e Geesink, 2006). Outro mecanismo que justifica a maior maciez das carnes do tratamento com EE, mesmo que menos pronunciado, é a ruptura física das fibras musculares causada pelo impacto da corrente elétrica no tecido muscular (Hwang, Devine e Hopkins, 2003).

Fatores como corrente elétrica, frequência, amplitude de pulso, duração do estímulo e tempo de aplicação post-mortem podem influenciar o resultado da EE (Bhat et al., 2019), assim como o genótipo do animal, tal como demonstrado no estudo de Gursansky et al. (2010), que encontraram efeito de amaciamento mais pronunciado da EE em carcaças de animais *Bos indicus* quando comparados aos *Bos taurus*. Os autores relacionaram esse efeito ao sistema de calpaína de animais zebuínos ser mais sensível a degradação no período pré-rigor, uma vez que as duas raças apresentaram os mesmos níveis de calpaína após o abate.

Por mais que existam estudos relacionados à EE, e que sua utilização na indústria da carne vermelha seja amplamente recomendada e difundida, ainda é carente na literatura a descrição dos seus efeitos sobre carcaças de animais Nelore em diferentes categorias, como por exemplo em machos inteiros e novilhas, avaliando-se a carne desses animais sobre tempos de maturação distintos. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi investigar os efeitos da EE sobre as características de qualidade da carne de bovinos Nelore machos e fêmeas, submetidos a diferentes tempos de maturação.

2. Material e métodos

2.1. Animais e tratamentos

Os procedimentos adotados neste experimento seguiram os padrões éticos de pesquisa estabelecidos pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual Paulista, campus de Botucatu (FMVZ-UNESP), conforme Protocolo nº0104/2021.

O presente estudo foi realizado em abatedouro comercial de bovinos, sob fiscalização federal, localizado em Estrela D'oeste – Estado de São Paulo. Sessenta bovinos Nelore (*Bos indicus*), sendo 30 machos não castrados e 30

fêmeas, com idade média de 20 a 24 meses (mensurada pela avaliação de maturidade dental), foram aleatoriamente selecionados de um confinamento comercial, localizado a 10 km da indústria frigorífica. Os animais foram recriados a pasto com suplementação por 12 meses e, subsequentemente, confinados por no mínimo 110 dias. Todos foram abatidos no mesmo dia. As carcaças apresentaram peso médio de $302,5 \pm$ e $247,5 \pm$ para machos e fêmeas, respectivamente.

No processamento do abate, todas as carcaças foram identificadas, lavadas e, imediatamente antes da entrada na câmara fria, a meia carcaça direita (MCD) de cada animal recebeu dez estímulos elétricos de 120V, 60Hz e 5mA, de 10 segundos cada, na região cranial da carcaça (abaixo do cupim). Os parâmetros elétricos foram obtidos pelo estimulador elétrico da *Seven Industrial*®. Já a meia carcaça esquerda (MCE) do mesmo animal não recebeu os estímulos elétricos (controle).

2.2. Coleta de amostras

Amostras biológicas do músculo *Longissimus thoracis* – LT entre a 12^a e 13^a vertebra torácica, em sentido caudal, foram removidas na desossa, após 24 horas, para posteriores análises laboratoriais (físico-químicas). Além disso, foram mensurados no momento da desossa (24h após o abate), a área de olho de lombo (AOL), a espessura de gordura subcutânea (EGS) e o pH final de todas as carcaças do estudo. Para a condução de análises físico-químicas da carne em laboratório as amostras do músculo LT foram porcionadas em bifes de 2,54 cm, embaladas a vácuo e maturadas por 14, 21, e 28 dias. A maturação foi conduzida à temperatura de 0 a 2°C em BOD, modelo TE – 371 da TECNAL, em sacos plásticos para alto vácuo e baixa permeabilidade ao oxigênio. Atingido o respectivo tempo alvo de maturação, todas as amostras foram congeladas em freezer a -20°C até a realização de análises.

2.3. Força de cisalhamento

A análise de força de cisalhamento (FC) foi mensurada considerando três tempos de maturação (14, 21 e 28 dias). As recomendações da *American Meat Science Association* foram seguidas (AMSA, 2015). As amostras foram colocadas

em uma grelha acoplada a um refratário de vidro. Um termopar conectado a um termômetro digital (DT-163, Instrumentação ATP, Ashy-de-la-Zouch, Reino Unido) foi utilizado, o qual foi inserido no centro de cada amostra para monitorar a temperatura interna.

Os bifes foram assados em forno industrial elétrico (Feri90, Venâncio Aires, Rio Grande do Sul, Brasil) a 170 °C. Ao atingir 40 °C de temperatura os bifes foram virados até atingir temperatura final de 71 °C. Subsequentemente, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 15 minutos, pesadas e refrigeradas a 4 °C por 24h.

Para a determinação da FC foram retirados da amostra cilindros de 1,27 cm de diâmetro, em sentido paralelo à fibra, com o auxílio de uma furadeira industrial. Oito cilindros de cada amostra foram cisalhados (em sentido perpendicular à fibra) usando o texturômetro digital Brook-field CT-3 (AMETEK Brookfiel, Middleborough, MA, EUA), equipado com a lâmina Warner-Bratzler de aço inoxidável com 3,07 mm de espessura e formato de V (ângulo de 60° C) (Baldassini et al., 2021). Os resultados foram apresentados, em quilogramas, pela média das oito observações feitas por amostra

2.4. Coloração instrumental da carne e pH

A coloração da carne (L^* - luminosidade; a^* - coloração vermelho; b^* - coloração amarelo); h^* - hue (intensidade da cor) C^* - Croma (saturação da cor) foi mensurada em todos os tempos de maturação a partir do sistema CIELAB utilizando-se um colorímetro KONICA MINOLTA - CR 400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), com padrão de fonte de luz A, ângulo de observação 10°, abertura de 5,0 cm e display Y: 0,01 a 160% de reflectância. A unidade foi calibrada de acordo com as indicações do fabricante, e posteriormente foi determinada a média em três diferentes regiões do músculo LT, sempre com 30 min de exposição prévia da amostra sob refrigeração de 2 a 5 °C (*blooming time*).

O valor de h^* , que é um indicador de ângulo no qual o vetor irradia entre o quadrante vermelho-amarelo, foi demonstrado pela seguinte equação: (Cañeque et al., 2004; Pflanzler e Felício, 2011)).

$$h^* = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

E o valor de C^* foi demonstrado pela seguinte fórmula:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

O pH das carcaças (24h post-mortem) foi mensurado na 12^a costela usando um pHmetro digital (modelo AK86, AKSO Instruments) com probe penetrativa. O pHmetro foi calibrado com soluções tampões de pH 4,00 e 6,86 a 25 °C.

2.5. Perdas por cocção e capacidade de retenção de água

As perdas por cocção (PPC) foram divididas em perdas por evaporação e gotejamento, essas foram determinadas em porcentagem. A perda por gotejamento foi obtida usando apenas a diferença de peso do refratário antes e depois da cocção. E a perda por evaporação foi determinada pela diferença de peso das amostras antes e após a cocção. As seguintes equações foram usadas:

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

$$\text{Gotejamento} = \frac{\text{peso da amostra cozida}}{\text{peso da amostra} \times 100}$$

$$\text{Evaporação} = \left(\frac{PPC}{\text{peso da amostra} \times 100} \right) - \text{gotejamento}$$

A capacidade de retenção de água foi calculada, em duplicata, pela diferença de pesos de uma porção de carne (aproximadamente 0,5 g por amostra), antes e depois de ser submetida a uma pressão de 10kg por cinco minutos (Torrecilhas et al., 2021).

2.6. Comprimento de sarcômero

O comprimento de sarcômero (CS) foi mensurado com os cubos usados anteriormente na avaliação da força de cisalhamento, e seguiu a metodologia proposta por Cross, West e Dutson (1981). Com auxílio de uma pinça e bisturi, foram seccionadas porções (2mm x 2mm x 3mm), obtidas paralelamente à orientação das fibras musculares de cada cubo, totalizando 6 porções por amostra.

As mesmas foram encubadas *overnight* em solução tampão (0,1 M NaHPO₄ + 0,2 M sacarose) à 4 °C. A média de 36 observações por amostra foram usadas para determinar o comprimento dos sarcômeros, conforme a equação:

$$CS = \frac{0,6328 \times D \times \sqrt{\frac{r^2}{D} + 1}}{T}$$

onde:

D = a distância em mm entre a amostra e a folha de papel onde a imagem é projetada (geralmente 100mm); T o espaço entre as bandas de difração; e $632,8 \times 10^{-3}$ o comprimento de onda do laser.

2.7. Índice de fragmentação miofibrilar

A proteólise post-mortem foi estimada determinando o índice de fragmentação miofibrilar (MFI), pelo método descrito por Culler et al. (1978), de acordo com procedimentos adaptados para bovinos *Bos indicus* (Borges et al., 2014).

2.8. Análises estatísticas

Os resultados de carne foram analisados quanto à presença de dados discrepantes, homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos. Os dados foram expressos pelas médias e seus respectivos erros. As diferenças entre as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, pelo Proc Mixed do SAS (versão 9.4). A EE, o efeito da maturação e suas interações foram analisados como efeito fixo. As análises mensuradas nos três tempos de maturação foram analisadas como medida repetida no tempo, sendo elas FC, perdas e coloração. Diferenças no valor de $P < 0,05$ foram consideradas significativas e tendências foram consideradas para $0,05 \leq P < 0,10$.

3. Resultados e Discussão

3.1. Efeitos da estimulação elétrica na maciez da carne

As carcaças de bovinos Nelore machos e fêmeas submetidas à EE apresentaram valores de FC menores, ou seja, uma carne mais macia em comparação às carcaças não estimuladas (controle) (Tabela 1). Houve interação ($P = 0,00$) entre a EE e o tempo de maturação para FC da carne do grupo das fêmeas, as carcaças estimuladas no primeiro tempo de maturação (14 dias) resultaram em carnes com menor FC em comparação ao grupo controle, o mesmo padrão foi observado no segundo tempo de maturação (21 dias). Além disso, as carcaças de fêmeas estimuladas tiveram resultados mais expressivos de FC, apresentando uma redução de 0,65 kg comparadas as não estimuladas, enquanto os machos apresentaram redução de 0,24 kg entre os tratamentos.

O processo de degradação proteica (proteólise) atua em todas as proteínas musculares, incluindo tecido conjuntivo (Hwang et al., 2003), e o amaciamento da carne está relacionado com a degradação das proteínas estruturais, tanto que antes do estabelecimento completo do rigor mortis não são observadas mudanças significativas de maciez (Devine e Graafhuis, 1995). As carcaças submetidas à EE irão apresentar menor quantidade de miofilamentos e de proteínas estruturais (troponina-T, actina e miosina), o que pode resultar em maiores valores de MFI e melhora maciez da carne (Chizzotti, et al., 2018).

Segundo Ferguson et al. (2000) e Zhang et al. (2019), o nível de maciez da carne de carcaças estimuladas e não estimuladas tende a se igualar conforme a proteólise se prolonga, essa característica foi observada no presente estudo, com o aumento do tempo de maturação a diferença da FC entre os tratamentos foi reduzida pelo estabelecimento da proteólise.

Adicionalmente, independente da EE, a maturação influenciou na FC das carnes de machos e fêmeas, apresentando redução conforme o aumento do tempo mesmo nas carcaças do grupo controle (Tabela 1). Ying-Hong, Su e Mei-hu (2011), mostraram que animais que receberam a EE apresentaram carnes com a FC 23% menor quando comparada os não estimulados e, assim como no presente estudo, observaram que com o aumento do tempo de maturação o efeito da EE foi reduzido. Além disso, Smith et al. (2016) reportaram o maior efeito sobre

amaciamento da carne com a combinação da EE e maturação, amostras submetidas à EE maturadas por 10 dias apresentaram valores médios de FC de 5,5 kg enquanto as não estimuladas 7,75 kg. O impacto positivo da EE na maciez foi descrito também por Hwang e Thompson (2001a) e Miller, et al. (2001); Hwang et al. (2004) e Zhang et al. (2019).

Em relação ao MFI, como esperado, as carcaças que receberam a EE apresentaram maiores valores de MFI ($P = 0,09$ e $P = 0,07$, para machos e fêmeas, respectivamente), ou seja, tiveram a maior degradação de proteínas. Amostras com maiores MFI foram aquelas com menor FC, muito provavelmente devido à maior degradação de proteínas estruturais como, titina, nebulina, desmina e troponina-T, as quais conhecidamente afetam a maciez da carne (Webb et al., 2020).

Não foi observada influência das carcaças estimuladas e não estimuladas em relação ao comprimento dos sarcômeros ($P > 0,05$) (Tabela 4). O valor médio encontrado foi, 1,55 μm (variando entre: 1,49 e 1,60 μm), e indica que houve um grau de encurtamento pelo frio nos tratamentos avaliados (Devine et al., 2002). Os resultados corroboram com outros estudos (Aalhus et al., 1994; Pearce et al., 2009; Zhang et al., 2019), que também não obtiveram diferença significativa em relação ao comprimento de sarcômero e EE. Isso indica que, a melhoria na maciez obtida com a aplicação da EE no presente estudo não teve relação com o comprimento do sarcômero. De qualquer forma, existem autores que relacionam a habilidade da EE de prolongar a proteólise com a capacidade de anular possíveis efeitos negativos do encurtamento do sarcômero na maciez da carne (Hwang et al. 2004).

3.3. pH e cor da carne

No presente estudo, o pH final da carne das fêmeas foi afetado pela EE das carcaças ($P = 0,04$), onde a carne dos animais que foram submetidos à estimulação apresentou pH menor em comparação ao grupo de fêmeas do grupo controle (5,54 e 5,57, respectivamente, com EPM = 0,01 e $P = 0,55$). Os animais dessa mesma categoria submetidos à EE também apresentaram diminuição acentuada na FC. Os resultados de pH da carne e FC podem estar relacionados,

visto que carcaças com menor pH final ($< 5,8$) têm o amaciamento mais rápido, fenômeno pode ser justificado pela ativação imediata das catepsinas nas condições fornecidas, levando à degradação antecipada de proteínas do citoesqueleto, como a desmina e troponina-T (Li et al., 2014).

Por outro lado, os animais machos não tiveram o pH da carne afetado pela EE ($P = 0,55$), as carcaças estimuladas apresentaram valor de 5,58, enquanto as não estimuladas 5,59 (EPM = 0,01). Zhang et al. (2019), avaliaram os efeitos da estimulação de média voltagem em bovinos chineses, e encontraram o mesmo resultado, no entanto, houve diferença em relação a curva da queda do pH, os animais que tiveram as carcaças estimuladas tiveram um declínio mais acelerado. Além disso, a temperatura no pH 6,0 de animais com a carcaça estimulada foi maior (entre 28,6 °C e 31,2 °C) quando comparada as não estimuladas (21,5 °C). A combinação de altas temperaturas em baixo pH pode ativar as mi-calpaínas e iniciar precocemente a proteólise, sendo esse um efeito positivo (Hwang e Thompson, 2001b), contudo, se a temperatura for excessivamente alta, isto é $> 35^{\circ}\text{C}$ em pH 6,0 (Webb et al., 2020), pode diminuir a capacidade de retenção de água e resultar em uma carne com aparência PSE (*pale, soft e exudative*) (Shen et al., 2009).

A aplicação da EE como uma ferramenta de melhoria da coloração da carne já foi estabelecida por uma série de autores (Holman, et al., 2017; Li et al., 2011). Como a coloração da carne depende, principalmente, da taxa de declínio do pH e da degradação de proteínas (Jaspal et al., 2021), a mesma pode ser influenciada pelo tratamento com EE.

No presente estudo, a EE afetou os parâmetros de coloração da carne (Tabela 2), onde a carne de bovinos machos que receberam estimulação apresentou ($P \leq 0,05$) maiores valores de b^* (teor de amarelo) em comparação a carne de carcaças não estimuladas. Semelhante comportamento foi observado no grupo das fêmeas, onde a estimulação aumentou os valores de b^* em comparação ao grupo controle (6,68 vs. 6,17, respectivamente). A EE também afetou a luminosidade (L^*) da carne ($P = 0,01$), as fêmeas do tratamento controle apresentaram menor valor de L^* em comparação ao EE.

A antecipação da acidificação e a desnaturação de proteínas miofibrilares causadas pela EE, resultam em uma maior refletância da luz na superfície da carne, que ocorre pela quantidade elevada de água livre na superfície da célula, promovendo aspecto mais fresco e brilhante à carne (Pearson e Dutson, 1985; Jaspal et al., 2021.), no entanto, em alguns casos, pode causar uma aparência mais pálida (Zhang et al., 2019; Jaspal et al., 2021).

A saturação da cor foi mensurada pelo Chroma (C^*), um indicador que determina a intensidade do teor de vermelho (Insausti et al., 1999), o parâmetro não foi afetado pela EE ($P > 0,05$), mas apresentou aumento conforme os tempos de maturação (maiores valores conforme a maturação se prolongou). Outro parâmetro avaliado foi o h^* , que é complementar a luminosidade, o aumento de seus níveis pode ser indicativo de descoloração da carne. Nesse caso, houve relação entre a EE e h^* , animais do tratamento com EE apresentaram maiores valores, indicando uma menor coloração das amostras.

O teor e a intensidade de vermelho da carne (a^* e C^* , respectivamente) não foram afetados pela aplicação da EE em ambas as categorias ($P = 0,84$ para machos e $P = 0,27$ para fêmeas), divergindo dos resultados encontrados em outros estudos, onde as carnes do tratamento com EE apresentaram maiores valores de a^* , quando comparadas ao controle (Toohey et al., 2008; Nazli et al., 2010; Li et al., 2011; Jaspal et al., 2021). Os maiores valores de a^* na carne de animais estimulados pode ser justificada pela maior taxa de proteólise dos mesmos, que enfraquece estruturas das miofibrilas, e afeta as ligações de actina-miosina. Dessa forma, o oxigênio consegue penetrar mais profundamente nas fibras, que forma uma barreira de oximioglobina mais espessa, resultando em uma coloração avermelhada mais acentuada (Toohey et al., 2008).

Os parâmetros de coloração da carne tanto de machos como de fêmeas, independente do tratamento, foram afetados pelo tempo de maturação. Em geral, todos os parâmetros de coloração L^* , a^* , b^* e C^* , aumentaram conforme o tempo de maturação se prolonga. Esses dados estão de acordo com valores demonstrados por outros por Li et al., (2014).

3.4. Perdas por cocção e capacidade de retenção de água

Os resultados referentes às perdas foram subdivididos em perda por cocção, evaporação e gotejamento (Tabela 3). No presente estudo as fêmeas que receberam a EE apresentaram ($P = 0,01$) menores valores de perda cocção quando comparadas ao controle, por outro lado, na categoria dos machos não foi observada diferença entre os tratamentos ($P = 0,24$). Por outro lado, não houve relação entre a EE e as perdas por evaporação, o valor de P foi maior que 0,05 em ambas as categorias testadas.

Os valores de perdas por gotejamento foram menores ($P < 0,05$) nos machos estimulados em comparação aos não estimulados e o mesmo foi observado nas fêmeas (Tabela 3). Esse efeito pode ser explicado pela ativação antecipada das enzimas proteolíticas, que podem degradar proteínas do citoesqueleto, como a desmina, isso faz com que libere espaço entre as fibras musculares, possibilitando uma maior retenção de água, ou seja, uma menor perda (Ji et al., 2021). Em um estudo de Aalhus et al. (1994), foram usadas duas voltagens de estimulação (baixa e alta) e carcaças não estimuladas (controle) para avaliar as diferenças entre os tratamentos. Assim como no presente estudo, foi encontrado que carcaças estimuladas, tanto em baixa, quanto em alta voltagem, apresentam menor perda por gotejamento.

A EE não afetou a CRA (Tabela 4) em ambas as categorias avaliadas ($P > 0,05$). Li et al. (2011) apresentaram dados semelhantes, e citam em seu trabalho que a EE pode afetar negativamente a CRA apenas no início do post-mortem, mas quando o mesmo é estabelecido tem efeito benéfico. Isso ocorre porque o declínio acelerado do pH pode afetar na interação entre a água e as proteínas, e resulta numa menor CRA. Li et al., (2011) sugerem também que o efeito da EE sobre a CRA pode depender das condições de resfriamento da carcaça, voltagem empregada, tipo de fibra muscular e da espécie empregada.

4. Conclusão

Os resultados do presente estudo mostraram que a EE foi efetiva na melhoria das características de qualidade da carne, principalmente em relação à maciez, coloração e pH. Além disso, por antecipar a proteólise, pode reduzir o

tempo de maturação da carne estabelecido nas plantas frigoríficas. Frente ao exposto, tecnologia pode ser recomendada para a indústrias que processam carcaças zebuínas porque pode contribuir para diminuir problemas recorrentes e comuns como a inconsistência na padronização do produto e prevenir possíveis efeitos negativos sobre a carcaça (encurtamento pelo frio, com conseqüente piora da cor e maciez da carne), resultando em economia para a cadeia produtiva. Estudos adicionais relacionados aos parâmetros ideais para aplicação da estimulação elétrica como, voltagem, frequência, duração do estímulo, momento e local de aplicação, são recomendados.

Tabela 1 – Efeito da estimulação elétrica de carcaça sobre a maciez da carne de bovinos Nelore machos e fêmeas.

Tempo (dias)	Macho		EPM	Tempo	ES	TE*ES
	Estimulado	Não estimulado				
	FC ¹					
14	3,86	4,11				
21	3,72	3,92	0,13	0,00	0,00	0,97
28	3,55	3,82				
	MFI ²					
10	56,98	43,74	5,25		0,09	-
	CS ³					
10	1,60	1,58	0,02		0,55	-
Tempo (dias)	Fêmea		EPM	Tempo	ES	TE*ES
	Estimulado	Não estimulado				
	FC					
14	3,43	4,48				
21	3,03	3,93	0,16	<0,00	<0,00	<0,00
28	3,26	3,27				
	MFI					
10	80,06	64,31	0,51		0,11	-
	CS					
10	1,53	1,49	0,12		0,12	-

EE: estimulação elétrica; EPM: erro padrão da média; TE: tempo de maturação; TE*EE: interação tempo e estimulação elétrica. FC¹: força de cisalhamento, MFI²: índice de fragmentação miofibrilar e CS³: comprimento de sarcômero.

Tabela 2 – Efeito da estimulação elétrica de carcaça sobre a coloração da carne (L*, a*, b*, hue* e C*) de bovinos Nelore machos e fêmeas avaliados em três tempos de maturação.

Tempo (dias)	Macho		EPM	TE*ES	Tempo	ES
	Estimulado	Não estimulado				
Coloração L*						
14	31,1	31,45				
21	32	30,56	0,54	0,09	<0,00	0,09
28	33,06	32,12				
Coloração a*						
14	11,87	11,13				
21	11,77	12,73	0,45	0,05	<0,00	0,84
28	13,17	13,02				
Coloração b*						
14	6,14	5,64				
21	5,89	5,95	0,16	<0,00	<0,00	<0,00
28	7,54	5,61				
Coloração h*						
14	26,74	26,27				
21	26,71	25,28	0,80	<0,00	0,6296	<0,00
28	29,91	22,69				
Coloração C*						
14	13,31	12,51				
21	13,15	14,07	0,44	<0,00	<0,00	0,29
28	15,20	14,13				
Tempo (dias)	Fêmea		EPM	TE*ES	Tempo	ES
	Estimulado	Não estimulado				
Coloração L*						
14	34,6	32,89				
21	35,38	33,87	0,47	0,92	<0,00	<0,00
28	36,63	35,29				
Coloração a*						
14	11,13	11,92				
21	11,44	12,17	0,44	0,03	<0,00	0,27
28	13,72	13,03				
Coloração b*						
14	6,62	6,12				
21	6,86	6,17	0,14	0,26	0,32	<0,00
28	6,56	6,22				
Coloração h*						
14	31,09	27,52	0,83	<0,00	<0,00	<0,00

	21	31,23	27,10				
	28	25,12	25,94				
Coloração C*							
	14	12,99	13,42				
	21	13,37	13,67	0,41	0,09	<0,00	0,98
	28	15,23	14,49				

EE: estimulação elétrica; EPM: erro padrão da média; TE: tempo; TE*EE: interação tempo e estimulação elétrica.

Tabela 3 – Efeito da estimulação elétrica de carcaça sobre as perdas da carne (perdas por cocção e gotejamento) de bovinos Nelore machos e fêmeas avaliados em três tempos de maturação.

Tempo (dias)	Macho		SEM	P-valor		
	Estimulado	Não estimulado		TE*ES	Tempo	ES
Perda por cocção						
14	92,61	96,75				
21	99,73	101,68	2,37	0,86	0,01	0,24
28	100,22	101,40				
Perda por gotejamento						
14	4,54	4,97				
21	5,24	5,57	0,32	0,98	<0,00	0,04
28	5,44	5,81				
Evaporação						
14	21,47	20,25				
21	22,72	21,54	0,59	0,00	0,02	0,33
28	22,32	22,20				
CRA						
10	63,14	62,96	0,56	-	-	0,49
Tempo (dias)	Fêmea		SEM	P-valor		
	Estimulado	Não estimulado		TE*ES	Tempo	ES
Perda por cocção						
14	69,54	79,85				
21	72,92	76,96	2,40	0,16	0,27	0,02
28	77,99	78,77				
Perda por gotejamento						
14	6,40	7,66				
21	6,78	6,37	0,51	0,06	0,23	0,07
28	6,64	7,29				
Evaporação						
14	24,05	23,27				
21	23,18	22,86	0,69	0,44	0,05	0,59
28	24,01	22,72				
CRA						
10	63,00	64,11	0,51	-	-	0,11

EE: estimulação elétrica; EPM: erro padrão da média; TE: tempo; TE*EE: interação tempo e estimulação elétrica.

I – Material suplementar

Caracterização das amostras

A caracterização das amostras foi feita com base nos dados de composição química, AOL e EGS (Tabela S1). No músculo LT, na altura da 13^a costela, no lado esquerdo da carcaça foram mensurados AOL e EGS. A EGS foi medida com o auxílio de um paquímetro digital. E a AOL foi mensurada de acordo com Cezar et al. (2007), uma transparência foi posicionada na área seccionada, e o contorno do músculo foi desenhado com caneta permanente. Posteriormente, as filhas foram escaneadas e lidas no programa computacional ImageJ, calibrado para medir a área em cm².

A análise de composição centesimal será conduzida por espectroscopia de infravermelho no equipamento FoodscanTM (FOSS, Hillerod, Denmark) para a determinação de colágeno, gordura intramuscular, proteína, umidade e minerais. As amostras serão descongeladas a 4°C por 24h e a gordura subcutânea do músculo LT será removida com bisturi para a análise. Em seguida, o bife será moído e homogeneizado em um processador por 5 minutos, com aproximadamente 180g de amostra (Anderson, 2007). Serão realizadas três leituras por amostra e a cada leitura a amostra será retirada da placa, homogeneizada novamente e recolocada na placa.

Tabela S1. Caracterização das amostras do experimento com base na composição química (colágeno, proteína, gordura, umidade e matéria mineral), AOL e EGS.

Caracterização das amostras			
Variáveis	Machos	Fêmeas	EPM
AOL	78,70	62,59	1,66
EGS	7,63	9,91	0,37
Colágeno	1,81	1,68	-
Proteína	24,22	23,72	-
Gordura	2,97	3,86	-
Umidade	71,09	70,00	-
Matéria mineral	1,71	2,41	-

EPM: erro padrão da média.

5. Referências

AALHUS, J. L., JONES, S. D. M., LUTZ, S., BEST, D. R. & ROBERTSON, W. M. The efficacy of high and low voltage electrical stimulation under different chilling regimes. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 74, n. 3, p. 433-442, 1994.

ADEYEMI, K. D.; SAZILI, A. Q. Efficacy of carcass electrical stimulation in meat quality enhancement: A review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 27, n. 3, p. 447, 2014.

AMSA. Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat; **American Meat Science Association Educational Foundation**: Des Moines, ID, USA, 2015.

BALDASSINI, W.A., CHARDULO, L.A.L., SILVA, J.A. V, MALHEIROS, J.M., DIAS, V.A.D., ESPIGOLAN, R., BALDI, F.S., ALBUQUERQUE, L.G., FERNANDES, T.T., PADILHA, P.M., 2017. Meat quality traits of Nellore bulls according to different degrees of backfat thickness: A multivariate approach. **Anim. Prod. Sci.** 57, 363–370. <https://doi.org/10.1071/AN15120>.

BALDASSINI, W. A., Machado Neto, O. R., Fernandes, T. T., de Paula Ament, H., Luz, M. G., Santiago, B. M. e Chardulo, L. A. Testing different devices to assess the meat tenderness: preliminary results. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2441-2446, 2021.

BEERMAN, D.H. ASAS centennial paper: A century of pioneers and progress in meat science in the United States leads to new frontiers. **Journal of Animal Science**, 87, 1192-1198, 2009.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Current and future prospects for the use of pulsed electric field in the meat industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2, 1–15, 2018a.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(04), 841–859, 2018b.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Pulsed electric field operates enzymatically by causing early activation of calpains in beef during ageing. **Meat Science**, 153, 144–151, 2018c.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L. & BEKHIT, A. E. A. Does pulsed electric field have a potential to improve the quality of beef from older animals and how? **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 56, p. 102194, 2019.

BORGES, B., CURI, R. A., BALDI, F., FEITOSA, F. L. B., ANDRADE, W. B. F., ALBUQUERQUE, L. G., OLIVEIRA, H. N. & CHARDULO, L. A. L. . Polymorphisms in candidate genes and their association with carcass traits and meat quality in Nellore cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 364-371, 2014.

CAÑEQUE, V., PÉREZ, C., VELASCO, S., DÍAZ, M.T., LAUZURICA, S., ÁLVAREZ, I., RUIZ DE HUIDOBRO, F., ONEGA, E., DE LA FUENTE, J. Carcass and meat quality of light lambs using principal component analysis. **Meat science**, v. 67, n. 4, p. 595-605, 2004.

CROSS, H.R., WEST, R.L., DUTSON, T.R. 1981. Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. **Meat Science**, 5: 261-266.

CULLER, R.D., PARRISH JR, F. C., SMITH, G.C. & CROSS, H. R. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine Longissimus muscle. **Journal of Food Science**, 43:1777.

DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L.; HWANG, I. H.; FERGUSON, D. M.; RICHARDS, I. Electrical Stimulation. In: **Encyclopedia of Meat Sciences**, 2. ed. Elsevier, p.486-496, 2014.

DEVINE, C. E., PAYNE, S. R., PEACHEY, B. M., LOWE, T. E., INGRAM, J. R., and COOK, C. J. High and low rigor temperature effects on sheep meat tenderness and ageing. **Meat Science**, v. 60, n. 2, p. 141-146, 2002.

FERGUSON, D. M.; JIANG, S. T.; HEARNSHAW, H.; RYMILL, S. R.; THOMPSON, J. M. Effect of electrical stimulation on M. Longissimus protease activity and tenderness in cattle with different proportions of *Bos taurus indicus* content. **Meat Science**, v. 55, p. 265-272, 2000.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. **Meat science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

GORNALL, A.G., BARDAWILL, C.J., DAVID, M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol. Chem.** 177, 751–766.

GURSANSKY, B.; O'HALLORAN, J. M.; EGAN, A.; DEVINE, C. E. Tenderness enhancement of beef from *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle following electrical stimulation. **Meat Science**, v. 86, p. 635-641, 2010.

HOLMAN, B. W. B., VAN DE VEN, R. J., MAO, Y., COOMBS, C. E. O., & HOPKINS, D. L. (2017). Using instrumental (CIE and reflectance) measures to predict consumers' acceptance of beef colour. **Meat Science**, 127, 57–62.

HWANG, I. H.; DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. **Meat Science**, v. 65, n. 2, p. 677-691, 2003.

HWANG, I. H. & THOMPSON, J. M. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. **Meat Science**, 58, 135–144, 2001a.

HWANG, I. H.; THOMPSON, J. M. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. **Meat science**, v. 58, n. 2, p. 135-144, 2001b.

HWANG, I. H., PARK, B. Y., CHO, S. H. & LEE, J. M. (2004). Effects of muscle shortening and proteolysis on Warner–Bratzler shear force in beef Longissimus and semitendinosus. **Meat Science**, 68, 497–505.

JASPAL, M. H., IJAZ, M., AKHTAR, M. J., NSIR, J., ULLAH, S., BADAR, I. H., YAR, M. K & AHMAD, A. Effect of carcass electrical stimulation and suspension methods on meat quality characteristics of Longissimus lumborum of young buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls. **Food Science of Animal Resources**, v. 41, n. 1, p. 34, 2021.

JELENÍKOVÁ, J., PIPEK, P. & STARUCH, L. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. **Meat Science**, v. 80, n. 3, p. 870-874, 2008.

JI, X.; LUO, X.; ZHU, L.; MAO, Y.; LU, X.; CHEN, X.; HOPKINS, D. L. & ZHANG, Y. Effect of medium voltage electrical stimulation and prior ageing on beef shear force during superchilled storage. **Meat Science**, v. 172, p. 108320, 2021.

KARUMENDU, L. U., VAN DE VEN, R., KERR, M. J., LANZA, M. & HOPKINS, D.L. Particle size analysis of lamb meat: Effect of homogenization speed, comparison with myofibrillar fragmentation index and its relationship with shear force. **Meat Science**, v. 82, n. 4, p. 425-431, 2009.

KOOHMARAIE, M., & GEESINK, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, 74(1), 34–43.

LI, C., LI, J., LI, X., HVIID, M & LUNDSTROM, K. Effect of low-voltage electrical stimulation after dressing on color stability and water holding capacity of bovine longissimus muscle. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 559-565, 2011.

LI, P., WANG, T., MAO, Y., ZHANG, Y., NIU, L., LIANG, R. & ZHU, L. Effect of ultimate pH on postmortem myofibrillar protein degradation and meat quality characteristics of Chinese yellow crossbreed cattle. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

MILLER, R. K. United States initiatives to reduce variability in beef and pork eating quality. In: **International Congress of Meat Science and Technology**. 1997. p. 52.

MILLER, M. F., CARR, M. A., RAMSEY, C. B., CROCKETT, K. L. & HOOVER, L. C. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 12, p. 3062-3068, 2001.

NAZLI, B., CETIN, O., BINGOL, E. B., KAHRAMAN, T. & ERGUN, O. Effects of high voltage electrical stimulation on meat quality of beef carcasses. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 3, p. 556-560, 2010.

PEARCE, K. L., HOPKINS, D.L., WILLIAMS, A., JACOB R. H., PETHICK, D. W. & PHILIPS, J. K. Alternating frequency to increase the response to stimulation from medium voltage electrical stimulation and the effect on objective meat quality. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 188-195, 2009.

PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. Scientific basis for electrical stimulation. In: **Advances in meat research**. Springer, Dordrecht, 1985. p. 185-218.

PFLANZER, S. B.; DE FELÍCIO, P. E. Effects of teeth maturity and fatness of Nellore (*Bos indicus*) steer carcasses on instrumental and sensory tenderness. **Meat Science**, v. 83, n. 4, p. 697-701, 2009.

PFLANZER, S. B; DE FELÍCIO, P. E. Moisture and fat content, marbling level and color of boneless rib cut from Nellore steers varying in maturity and fatness. **Meat Science**, v. 87, n. 1, p. 7-11, 2011.

POLIDORI, P.; VINCENZETTI, S. The use of electrical stimulation in meat production. In: **Meat and Meat Processing, Nova Science Publishers**, p.133-154, 2017.

PURCHAS, R.W., 2014. Tenderness measurement. In: DEVINE, C., DIKEMAN, M. (Eds.), **Encyclopedia of Meat Sciences**, vol. 3. Elsevier, Oxford, p. 452-459, 2014.

RØDBOTTEN, R.; NILSEN, B. N.; HILDRUM, K. I. Prediction of beef quality attributes from early post mortem near infrared reflectance spectra. **Food Chemistry**, v. 69, n. 4, p. 427-436, 2000.

SIMMONS, N. J., DALY, C. C., CUMMINGS, T.L., MORGAN, S. K., JOHNSON, N. V., & LOMBARD, A. Reassessing the principles of electrical stimulation. **Meat Science**, 80, 110–122, 2008.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, Mohammad. Evaluation of slice shear force as an objective method of assessing beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 10, p. 2693-2699, 1999.

SHEN, Qingwu W.; DU, Min; MEANS, Warrie J. Regulation of postmortem glycolysis and meat quality. **Applied muscle biology and meat science**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, p. 175-194, 2009.

SMITH, M. A., BUSH, R. D., & VAN DE VEN, R. J., & HOPKINS, D. L. (2016). Effect of electrical stimulation and ageing period on alpaca (*Vicugna pacos*) meat and eating quality. **Meat Science**, 111, 38–46.

TOOHEY ES, HOPKINS DL, STANLEY DF, NIELSEN SG. 2008. The impact of new generation pre-dressing medium-voltage electrical stimulation on tenderness and colour stability in lamb meat. **Meat Science**. 79:683-691.

TORRECILHAS, J. A., SAN VITO, E., FIORENTINI, G., DE SOUZA CASTAGNINO, P., SIMIONI, T. A., LAGE, J. F., AND BERCHIELLI, T. T. Effects of supplementation strategies during the growing phase on meat quality of beef cattle finished in different systems. **Livestock Science**, v. 247, p. 104465, 2021.

WHIPPLE, G., KOOHMARAIE, M., DIKEMAN, M.E., CROUSE, J.D., HUNT, M.C., KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**. 68, 2716-2728, 1990.

YING-HONG, J., SHU C.A.W. & MEI-HU, M. (2011). Effects of diferente stimulation on tenderness of beef carcasses. **International Conference on New Technology of Agricultural**, 827-830.

ZHAO, G., BAI, X., TIAN, W., RU, A., LI, J., WANG, H., WANG, K., XIAO, K., ZHU, C. & LI., H. The effect of shower time, electrolyte treatment, and electrical stimulation on meat quality of cattle longissimus thoracis muscle in cold weather. **Meat Science**, v. 184, p. 108664, 2022.

ZHANG, Y.; JI, X.; MAO, Y.; LUO, X.; ZHU, L. & HOPKINS, D. L. Effect of new generation medium voltage electrical stimulation on the meat quality of beef slaughtered in a Chinese abattoir. **Meat science**, v. 149, p. 47-54, 2019.

ZHANG, Y.; JI, X.; MAO, Y.; LUO, X.; ZHU, L. & HOPKINS, D. L. Effect of new generation medium voltage electrical stimulation on the meat quality of beef slaughtered in a Chinese abattoir. **Meat science**, v. 149, p. 47-54, 2019.

