

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MÉTODOS DE PENDURA DA CARÇA E MATURAÇÃO NA
QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS NELORE: UMA
ABORDAGEM METABOLÔMICA**

Murilo Augusto Tagiariolli
Zootecnista, Msc Ciência de Alimentos

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MÉTODOS DE PENDURA DA CARÇA E MATURAÇÃO NA
QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS NELORE: UMA
ABORDAGEM METABOLÔMICA**

Discente: Msc. Murilo Augusto Tagiariolli

Orientador(a): Dr. Luis Artur Loyola Chardulo

Coorientador(a): Dr. Welder Angelo Baldassini

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título
de Doutor em Ciência Animal**

T125m	Tagiariolli, Murilo Augusto Métodos de pendura da carcaça e maturação na qualidade da carne de bovinos Nelore: Uma abordagem metabolômica / Murilo Augusto Tagiariolli. -- Jaboticabal, 2025 88 p. : il., tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Luis Artur Loyola Chardulo Coorientador: Welder Angelo Baldassini 1. Qualidade da carne bovina. 2. suspensão pélvica. 3. métodos de maturação. 4. metabolômica. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MÉTODOS DE PENDURA DA CARÇA E MATURAÇÃO NA QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS NELORE: UMA ABORDAGEM METABOLÔMICA

AUTOR: MURILO AUGUSTO TAGIARIOLLI

ORIENTADOR: LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO

COORIENTADOR: WELDER ANGELO BALDASSINI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Genética e Melhoramento Animal pela Comissão Examinadora:

Luis Artur Loyola
Chardulo:13095
130821

Assinado de forma digital
por Luis Artur Loyola
Chardulo:13095130821
Dados: 2025.08.20
17:09:42 -03'00'

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



Documento assinado digitalmente
NARA REGINA BRANDAO CONSOLATO
Data: 20/08/2025 14:22:58-0300
Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

Profa. Dra. NARA REGINA BRANDAO CÔNSOLO (Participação Virtual)
Departamento de Nutrição e Produção Animal / FMVZ USP Pirassununga



Documento assinado digitalmente
SAULO DA LUZ E SILVA
Data: 20/08/2025 16:57:48-0300
Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

Prof. Dr. SAULO DA LUZ E SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FZEA USP Pirassununga



Documento assinado digitalmente
ROGERIO ABDALLAH CURI
Data: 21/08/2025 14:20:59-0300
Verifique em <https://validar.jb.gov.br>

Prof. Dr. ROGERIO ABDALLAH CURI (Participação Presencial)
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / FMVZ UNESP Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
GERMÁN DARÍO RAMÍREZ ZAMUDIO
Data: 20/08/2025 12:12:02-0300
Verifique em <https://validar.tb.gov.br>

Pesquisador Dr. GERMÁN DARÍO RAMÍREZ ZAMUDIO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FZEA USP Pirassununga/SP

Jaboticabal, 20 de agosto de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Murilo Augusto Tagiariolii é Doutorando em Ciência Animal pela UNESP (2021–atual), com período sanduíche na Universidade de Zaragoza (Espanha), pesquisando qualidade de carne e abordagens ômicas; Mestre em Ciência de Alimentos pela UEM (2019–2021), com dissertação sobre estresse oxidativo e antioxidantes em bovinos; e Bacharel em Zootecnia pela UEL (2014–2018), onde estudou qualidade de carne suína em frigoríficos comerciais. Complementa sua formação com cursos em Higiene e Controle de Qualidade em Alimentos (IFRS, 2020) e experiência em P&D na Alegria Foods (2018).

*"Todo hombre puede ser, si se lo propone,
escultor de su propio cerebro"*
Santiago Ramón y Cajal

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, expresso meus sinceros agradecimentos a Deus, pela força e sabedoria que me guiaram ao longo desta jornada acadêmica. À minha família, meu eterno alicerce: à minha mãe Rosileide, pelo amor incondicional e sacrifícios que tornaram possível minha formação; ao meu pai Adilson, pelo exemplo de trabalho e persistência; à minha irmã Marina, pela alegria e apoio constante; e à minha avó Dirce, pelas orações e carinho que me fortaleceram.

Dedico minha profunda gratidão aos meus orientadores: ao Prof. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo (UNESP), pela orientação dedicada e confiança em meu potencial; ao Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini (UNESP), pelo rigor científico e valiosas contribuições; e às Dras. Maria del Mar Campo Arribas e Jakeline Romero (Universidad de Zaragoza), por tornarem meu intercâmbio sanduíche uma experiência academicamente enriquecedora e pessoalmente transformadora.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço à CAPES pelo financiamento que viabilizou minha pesquisa tanto no Brasil como na Espanha, à UNESP pela excelente formação acadêmica, à UNICAMP pelas colaborações, à empresa Brazil Beef Quality pelas parcerias científicas e ao frigorífico Cowpig pelo apoio em minhas pesquisas.

Gostaria de expressar minha gratidão às pessoas especiais que estiveram ao meu lado durante esta jornada acadêmica. À Julia, Thiago, Rafaela, Tainá, Maria Julia, Francisco e Jaíne, pelo apoio constante e pelos momentos compartilhados que tornaram este caminho mais leve. Aos colegas de laboratório da UNESP e da Universidad de Zaragoza, pela colaboração e companheirismo durante os dias de pesquisa. Também quero agradecer a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, seja com incentivo, conhecimento ou simples presença. Cada um de vocês teve um papel importante nesta conquista.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DA SUSPENSÃO PÉLVICA E MATURAÇÃO NA QUALIDADE SENSORIAL E MOLECULAR DA CARNE DE BOVINOS NELORE: UMA REVISÃO	1
---	----------

CAPÍTULO 2

ALTERAÇÕES METABÓLICAS DO TECIDO MUSCULAR DE BOVINOS NELORE (BOS INDICUS) EM RESPOSTA À SUSPENSÃO PÉLVICA DA CARÇA: IMPACTOS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE	20
--	-----------

CAPÍTULO 3

DRY AGED MELHORA A QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS NELORE (BOS INDICUS): UM OVERVIEW METABOLÔMICO.....	49
---	-----------

CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DA SUSPENSÃO PÉLVICA E MATURAÇÃO NA QUALIDADE SENSORIAL E MOLECULAR DA CARNE DE BOVINOS NELORE: UMA RE-VISÃO

Resumo

A qualidade da carne bovina é significativamente influenciada por fatores como manejo pré-abate, técnicas de processamento e características genéticas dos animais. Este artigo de revisão visa analisar a influência da suspensão pélvica e dos métodos de maturação na qualidade sensorial e molecular da carne de bovinos Nelore. A revisão compila e discute estudos recentes que exploram como essas práticas impactam parâmetros críticos, como maciez, suculência, sabor e valor nutricional da carne, além de detalhar as transformações bioquímicas e estruturais que ocorrem no músculo durante a maturação. A suspensão pélvica é uma técnica que visa melhorar a maciez da carne, impedindo a retração das fibras musculares pós-abate. Evidências científicas sugerem que esta técnica pode resultar em carne significativamente mais macia e com melhor qualidade sensorial em comparação aos métodos tradicionais de suspensão. Esta revisão avalia a eficácia da suspensão pélvica especificamente em bovinos Nelore, uma raça notável por sua rusticidade e qualidade de carne, amplamente utilizada na pecuária brasileira. Além disso, os métodos de maturação, incluindo a maturação a seco (*dry aging*) e a maturação úmida (*wet aging*), são analisados em profundidade. A maturação a seco, realizada em condições controladas de temperatura e umidade, promove a desidratação gradual e a concentração dos sabores, além de alterações enzimáticas que melhoram a maciez da carne. Em contrapartida, a maturação úmida, que se dá em embalagens a vácuo, preserva a umidade e acelera a ação das enzimas proteolíticas. Ambos os métodos apresentam vantagens e desvantagens, sendo a escolha do método ideal dependente das condições de produção e das preferências do mercado consumidor. Este artigo também destaca as abordagens moleculares que elucidam os mecanismos subjacentes às mudanças na qualidade da carne. Este artigo também destaca as abordagens moleculares que elucidam os mecanismos subjacentes às mudanças na qualidade da carne, com ênfase nas técnicas de metabolômica. A análise de marcadores moleculares, junto à utilização avançada de metabolômica, permite a identificação e quantificação dos metabólitos envolvidos nas transformações bioquímicas durante a maturação da carne. Essas abordagens fornecem respostas valiosas sobre a otimização dos processos de maturação, contribuindo para a melhoria da qualidade sensorial e nutricional da carne de bovinos Nelore. Conclui-se que a combinação de suspensão pélvica com métodos de maturação adequados pode resultar em carne de qualidade superior, atendendo às crescentes demandas dos consumidores por produtos de alta qualidade.

Palavras chaves: Qualidade da carne bovina; suspensão pélvica; métodos de maturação; metabolômica

INFLUENCE OF PELVIC SUSPENSION AND AGING ON THE SENSORY AND MOLECULAR QUALITY OF NELORE BEEF: A REVIEW

Abstract

The quality of beef is significantly influenced by factors such as pre-slaughter management, processing techniques, and genetic characteristics of the animals. This review article aims to analyze the influence of pelvic suspension and aging methods on the sensory and molecular quality of Nelore beef. The review compiles and discusses recent studies exploring how these practices impact critical parameters such as tenderness, juiciness, flavor, and nutritional value of the meat, while also detailing the biochemical and structural transformations occurring in the muscle during aging. Pelvic suspension is a technique aimed at improving meat tenderness by preventing post-slaughter muscle fiber retraction. Scientific evidence suggests that this technique can result in significantly softer and better sensory quality meat compared to traditional suspension methods. This review evaluates the effectiveness of pelvic suspension specifically in Nelore cattle, a breed notable for its ruggedness and meat quality, widely used in Brazilian livestock farming. Additionally, aging methods, including dry aging and wet aging, are analyzed in depth. Dry aging, conducted under controlled temperature and humidity conditions, promotes gradual dehydration and flavor concentration, along with enzymatic changes that enhance meat tenderness. In contrast, wet aging, which occurs in vacuum packaging, preserves moisture and accelerates the action of proteolytic enzymes. Both methods have advantages and disadvantages, with the choice of the ideal method depending on production conditions and consumer preferences. This article also highlights molecular approaches elucidating the underlying mechanisms of changes in meat quality, with emphasis on metabolomics and metagenomics. Molecular marker analysis, combined with advanced metabolomics, allows for the identification and quantification of metabolites involved in biochemical transformations during meat aging. These approaches provide valuable insights into optimizing aging processes, contributing to the enhancement of sensory and nutritional quality of Nelore beef. In conclusion, the combination of pelvic suspension with appropriate aging methods can result in superior quality meat, meeting the increasing consumer demand for high-quality products. However, genetic variability among animals and specific production conditions are crucial factors to consider when implementing these practices. Future research should focus on integrating molecular approaches with processing techniques to develop optimized strategies ensuring the consistency and excellence of Nelore beef.

Keywords: Beef quality; pelvic suspension; aging methods; metabolomics

Considerações iniciais

A qualidade da carne é um atributo complexo e multifatorial que abrange aspectos sensoriais, físico-químicos e nutritivos e que são essenciais para atender às expectativas dos consumidores. Dentre os fatores críticos que determinam a qualidade da carne, destacam-se a maciez e o sabor. Estes fatores são influenciados por uma variedade de práticas e técnicas ao longo de toda cadeia produtiva, incluindo a forma com que a carcaça é suspensa e os diferentes métodos de maturação.

A maciez, um dos atributos mais valorizados pelos consumidores, pode ser afetada por fatores genéticos, métodos de processamento e condições de maturação. O sabor, componente essencial da palatabilidade da carne, é determinado por uma complexa interação de compostos voláteis e não voláteis, muitos dos quais podem ser produtos do metabolismo muscular. Nesse contexto, a metabolômica emerge como ferramenta poderosa para a identificação e quantificação destes metabólitos, proporcionando uma visão detalhada das mudanças bioquímicas que ocorrem durante o processamento e armazenamento da carne.

1. Suspensão de carcaça e métodos de maturação no amaciamento da carne

1.1. Suspensão de carcaça

Tradicionalmente, a suspensão da carcaça bovina é realizada pelo tendão calcâneo, que causa a compressão de alguns músculos de grande interesse comercial, como os da região do coxão (Sørheim et al., 2001). Em contrapartida, a maciez da carne bovina está relacionada com o grau de estiramento dos músculos, que geram diferenças no comprimento do sarcômero, variável importante para a definição da textura da carne (Rhee et al., 2004). Visando a melhoraria na maciez da carne ainda não maturada, a suspensão da carcaça pelo osso pélvico é um método já utilizado em alguns países para aumentar o comprimento do sarcômero dos principais músculos de alto valor comercial evitando uma contração indesejável durante o estabelecimento do rigor mortis (Meat Standards Australia beef information kit, 2011).

Com base nos estudos de comprimento de sarcômero de Locker (1960), Hostetler *et al.* (1972) avaliou diferentes cortes cárneos de carcaças bovinas e, após teste sensorial, concluiu que aqueles submetidos à pendura pelo osso pélvico foram mais macios quando comparados aos que sofreram pendura tradicional. Bayraktaroglu; Kahraman (2011) encontraram resultados semelhantes, no qual o comprimento do sarcômero foi 7,5% maior quando comparado à pendura tradicional. Ahnström; Hunt; Lundström, (2012) avaliaram bovinos machos e fêmeas de diferentes idades, nos quais a técnica de suspensão de carcaças pelo osso pélvico melhorou significativamente a maciez da carne dos machos de 34 meses (21%), e diminuiu as diferenças de maciez em relação às fêmeas. Liu *et al.* (2016) obtiveram resultados semelhantes mostrando que a pendura pelo osso pélvico aumentou efetivamente o comprimento dos sarcômeros e melhorou a textura da carne quando comparadas com a suspensão pelo método tradicional (tendão calcâneo), além de demonstrar menor variação de maciez entre os músculos. Em estudo recente conduzido por Basinger *et al.* (2019), demonstrou-se que a pendura de carcaças de cabras pelo osso pélvico aumentou o comprimento do sarcômero.

Bouton; Harris; Shorthose (1972) e Bouton *et al.* (1973) descrevem que a suspensão da carcaça pela pelve diminui a resistência do tecido conjuntivo e colágeno e aumenta a capacidade de retenção de água, resultando em menores perdas durante o processo de maturação destas carnes. Pinheiro & Souza (2011) testaram o método de suspensão da carcaça pelo osso pélvico em ovinos de descarte por 24 horas e reportaram influência na maciez da carne, sendo o método de suspensão pélvica o que apresentou melhor resultado sobre a força de cisalhamento. Adicionalmente, os autores reportaram nenhuma interferência do método de suspensão da carcaça pelo osso pélvico sobre outras características de qualidade da carne como pH, cor e capacidade de retenção de água e as carcaças penduradas pelo método tradicional apresentaram maiores perdas pelo cozimento nos cortes comerciais avaliados.

Segundo Baldassini *et al.* (2023), a suspensão da carcaça pelo osso pélvico melhorou a qualidade da carne dos bovinos, reduzindo o tempo necessário para maturação da carne de 15 para 5 dias sem comprometer, e até favorecendo, as características sensoriais e objetivas. Ademais, a suspensão pelo osso pélvico mostrou ser mais eficaz na melhoria da qualidade da carne de carcaças de

Nelore em comparação com novilhas Brangus, com resultados sensoriais positivos mais consistentes para os bovinos *Bos indicus* (Baldassini et al., 2023).

1.2. Maturação

A maturação visa a melhoria da maciez da carne e tem grande importância para os sistemas de produção de carne bovina no Brasil já que as carnes produzidas no território nacional são menos macias do que na Europa e América do Norte devido a elevada participação da genética zebuína no rebanho bovino brasileiro, além de maior idade de abate e terminação dos animais a pasto. Estes fatores fazem com que tanto a carne consumida no mercado interno quanto a exportada tenham uma aceitação sensorial bem reduzida (De Felício; Pflanzner, 2018).

Durante o processo de maturação da carne ocorrem diversas alterações químicas e estruturais no tecido muscular, incluindo a degradação de proteínas como linha Z, desmina, titina, obscurina e nebulina, além do desaparecimento de troponina-T, que influencia diretamente a maciez da carne (Goll et al., 1992). Segundo mesmo autor, estas transformações são fundamentais para o desenvolvimento do sabor e textura desejada pelos consumidores. Dentre os diversos métodos de maturação existentes, os que se destacam na indústria são o *Wet aging* (maturação úmida) e o *Dry aging* (maturação a seco). O *Wet aging* é um método tradicional no qual os cortes de carne desossados são armazenados em embalagens a vácuo, com alta barreira contravapor de água e oxigênio, e mantidos sob refrigeração de 0 a 2 °C. Esta técnica promove o amaciamento da carne ao longo do tempo devido à exclusão de oxigênio e umidade da embalagem, bem como à manutenção da temperatura baixa, impedindo a oxidação lipídica, retarda o crescimento bacteriano, atividade enzimática indesejada, promovendo uma maturação controlada (De Felício; Pflanzner, 2018). Isso não apenas melhora a maciez, mas também prolonga a vida útil do produto, minimizando a contaminação microbiana devido à esta ausência de oxigênio na embalagem do produto (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016).

O sabor da carne é atributo crucial para os consumidores e na maturação úmida o sabor pode apresentar nuances de “sangue” ou “metálico” que podem não ser apreciados, afetando a aceitação do produto (De Felício; Pflanzner, 2018). Como alternativa para melhoria do sabor, a maturação a seco surge como

processo distinto que envolve o armazenamento dos cortes cárneos em câmaras refrigeradas com um controle rigoroso de umidade, temperatura e ventilação, sem o uso de nenhuma embalagem adicional (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016), permitindo que a carne desenvolva sabores mais concentrados e uma textura mais firme, criando uma experiência sensorial diferenciada para os apreciadores de carne de alta qualidade (Ahnström et al., 2006). Estudos recentes (Berger et al., 2018; DeGeer et al., 2009; Kim et al., 2017; Kim; Kemp; Samuelsson, 2016; Setyabrata et al., 2021) utilizaram alguns parâmetros ideais para a câmara de maturação como temperatura média de 2°C, fluxo de ar mínimo de 0,5 e umidade relativa do ar entre 50% e 78%.

O método *Dry aging* é conhecido por ter forte influência no sabor da carne, gerando um produto único e distinto em relação à carne maturada a vácuo (Setyabrata et al., 2021), remetendo um sabor de “carne assada” e de “castanha” (De Felício; Pflanzner, 2018). O uso de espectrometria de massas auxiliou na identificação de compostos com níveis significativamente elevados de glutamina, ácido glutâmico e ácido aspártico (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016; Setyabrata et al., 2021), que influenciam no sabor umami (Ramalingam; Song; Hwang, 2019) que ocorre devido a liberação de peptídeos *gamma glutamyl* e a presença de alguns microrganismos durante o processo este processo de maturação a seco. No mesmo sentido, recentemente foram identificados metabólitos de glutamina gerados pelo metabolismo da glutathione (Setyabrata et al., 2021).

Segundo Berger *et al.* (2018) a maturação a seco pode melhorar consideravelmente a qualidade da carne de bovinos oriundos de produção extensiva (alimentados com forragem de baixa qualidade nutricional e com baixa marmorização), sem induzir qualquer impacto negativo nas propriedades microbiológicas. Em outro estudo, observou-se menor força de cisalhamento na carne maturada a seco (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016) quando comparado a maturação úmida. Destaca-se que no processo de maturação a seco, as carnes desenvolvem maior desidratação superficial, tornando necessário a remoção dos fragmentos externos da peça, resultando em um maior custo de produção (Dashdorj et al., 2016) e gerando discussões sobre a viabilidade econômica acerca do produto (Witte et al., 2020).

Uma vez que o sabor da carne é parâmetro importante para uma boa qualidade e aceitabilidade geral, o aumento da oxidação dos ácidos graxos durante

a maturação deve ser controlado para que não cause sabores indesejáveis (Gorraiz et al., 2002) como o amargor e o cheiro de ranço, que ocorre devido a oxidação de lipídios (Dashdorj; Amna; Hwang, 2015). Zhang *et al.* (2019) sugerem que a carne bovina se mantém aceitável para os consumidores quando seus valores de TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) atingem níveis de 2,5 mg de malonaldeído (MDA/kg).

1.3. Apoptose, proteólise e amaciamento da carne

As mudanças bioquímicas que acontecem após o abate do animal têm forte influência na qualidade da carne e nas próximas etapas do processamento. A transformação do músculo em carne ocorre a partir de vários processos bioquímicos e biofísicos, ocasionando transformações substanciais no músculo, influenciando diretamente a qualidade da carne (Paredi et al., 2012). O músculo do animal, mesmo depois de abatido, permanece funcional e metabolicamente ativo por vários dias, mesmo não havendo oxigênio circulante e renovação dos produtos metabólicos finais (Paredi et al., 2012).

Assim que o animal é abatido, o fluxo de oxigênio é cessado, fonte importante da geração de adenosina trifosfato (ATP), o que causa esgotamento gradual da energia disponível. Sem o oxigênio, há uma mudança no metabolismo aeróbico para o metabolismo anaeróbico, o que favorece a produção e acúmulo de ácido láctico e a consequente queda do pH, processo denominado acidificação muscular, desnaturação proteica e ativação de enzimas proteolíticas (Huff Lonergan; Zhang; Lonergan, 2010).

A acidificação do músculo gera uma perda na capacidade de retenção de água bem como a liberação de cálcio. Com isso, há um aumento na força iônica devido a incapacidade de funcionamento das bombas de cálcio, sódio e potássio que são dependentes de ATP, causando uma crescente incapacidade da célula manter condições redutoras (Huff Lonergan; Zhang; Lonergan, 2010). A junção desses fatores resulta no aparecimento do *Rigor Mortis*, caracterizado pela maior diminuição do pH e simultânea queda da flexibilidade muscular (Paredi et al., 2012).

O amaciamento da carne é causado pela degradação de proteínas estruturais da carne por proteases endógenas como as catepsinas, calpaínas e outras peptidases musculares (Ba et al., 2014; Kemp et al., 2010). Entretanto, a relação

entre o comprimento do sarcômero e a proteólise foi abordada em poucos estudos, nos quais foram obtidos resultados conflitantes. Wheeler & Koohmaraie (1999) não encontraram efeito do comprimento do sarcômero na degradação da desmina e da troponina-T no músculo *Longissimus* de cordeiro e White, O'Sullivan, O'Neill e Troy (2006) observaram sem clareza o efeito do encurtamento pelo frio na degradação da troponina-T após um período de maturação de 21 dias no músculo *Longissimus* bovino.

2. Perfil de metabólitos

Os metabólitos têm um papel crucial na definição das características de qualidade da carne preferidas pelos consumidores e no aumento do valor nutritivo dos alimentos. Tanto os fatores pré quanto os pós-abate influenciam significativamente a qualidade da carne. O perfil de metabolitos fornece ferramentas robustas para obter uma visão abrangente das pequenas moléculas presentes no tecido muscular post-mortem, como ácidos, aminoácidos, ácidos glicolíticos e tricarboxílicos, ácidos graxos e açúcares, e compreender seu papel na qualidade da carne (Ramanathan et al., 2023). Neste contexto, a análise de perfil dos metabólitos é uma ferramenta poderosa para obter uma compreensão mais profunda das informações biológicas e agrícolas significativas nos perfis do metaboloma global e nas mudanças causadas por fatores nos processos de produção de alimentos (García-Cañas et al., 2012).

Para obter um perfil metabólico, a metabolômica se mostra como diferencial e com alta aceitação pela pesquisa científica, uma vez que é uma técnica bem estabelecida que, quando aplicada a misturas complexas, permite a detecção simultânea de inúmeras moléculas de baixo massa molecular (CASTEJÓN, et al., 2015). Essa técnica mostrou ser muito útil para avaliar de forma confiável amostras de carne em um estudo do perfil de metabolitos (RITOTA, et al., 2012). Sua utilização permite investigar compostos chave que influenciam as propriedades físico-químicas e na percepção sensorial, contribuindo assim para avaliar a palatabilidade da carne e aspectos como cor e capacidade de retenção de água (CRA). Os metabólitos presentes no músculo esquelético, como aminoácidos e açúcares, são afetados por vários fatores como: genética do animal, dieta, tipo de músculo, tratamentos pré e pós abate e processamento da carne e estão

relacionadas às propriedades físico-químicas dos músculos e da carne (Muroya et al., 2020).

2.1. Relação entre perfil de metabólitos e os atributos maciez e sabor da carne bovina

Após o abate do animal, começa a conversão do músculo em carne e isso envolve uma série de processos bioquímicos e físicos. Após o abate, ocorrem interações entre diferentes biomoléculas no tecido muscular. O fluxo sanguíneo cessa, e o metabolismo muda de aeróbico para anaeróbico. As células tentam manter a homeostase e utilizam vários substratos para atender às necessidades energéticas. No entanto, a morte celular se inicia, caracterizada por encolhimento celular e alterações mitocondriais (Ouali et al., 2013). A transição para condições anóxicas após o abate limita as vias de produção de ATP dependentes de oxigênio, como o ciclo do ácido tricarboxílico. As vias glicolíticas predominam, levando ao acúmulo de ácido láctico e queda do pH. O declínio do pH pós-morte depende do potencial glicolítico e pode influenciar a atividade de enzimas relacionadas à maciez, sabor e cor da carne (Ramanathan et al., 2023). Fatores como o teor de glicogênio no tecido antes do abate, o estresse perimorte e as condições de armazenamento influenciam a utilização e acumulação de metabólitos e o pH final da carne (Mahmood et al., 2018).

2.1.1. Maciez

Diversos fatores ante, peri e post-mortem contribuem para a alteração da maciez através da modulação das interações biomoleculares na matriz do tecido muscular (Johnson et al., 2023). Todo o processo de transformação do músculo em carne resulta na formação de metabólitos e diversas pesquisas observaram que glicogênio, glicose, glicose-6-fosfato, frutose-6-fosfato e lactato são responsáveis por 95% do total de intermediários glicolíticos no músculo post-mortem (Dalrymple; Hamm, 1975) e além dos metabólitos, enzimas como calpaínas, catpsinas e proteossomos podem aumentar a proteólise durante o cozimento durante o armazenamento degradando as proteínas do citoesqueleto (King et al., 2019).

O número de estudos do perfil de metabólitos que investigaram a maciez da carne é limitado. O estudo mais recente utilizou a técnica UHPLC-MS para entender o perfil de metabólitos através do exsudato das carnes em diferentes

tempos de maturação (Yu et al., 2024). Esse estudo concluiu que a proteólise é um processo importante durante a maturação no qual as proteínas musculares são degradadas por sistemas enzimáticos endógenos, como calpaínas, catepsinas e proteassomas. Essa degradação resulta na formação de peptídeos e aminoácidos livres, que se relacionam para uma melhor maciez e sabor da carne e a formação de dipeptídeos na qual sua presença no exsudato da carne está relacionada à degradação de proteínas em peptídeos menores. Esses dipeptídeos podem estar associados um papel na textura e sabor da carne, contribuindo para sua maciez e qualidade sensorial (Yu et al., 2024). Por meio das técnicas de CG-MS e UPLC-MS, aminoácidos, pequenos peptídeos e principalmente a metionina e tirosina, além de glicose e glicose-6-fosfato foram relacionadas a carnes de carcaças classificadas como macias em comparação com carcaças classificadas como carne dura, onde foi encontrado ácido málico, ambos aumentando a quantidade com o tempo de maturação (King et al., 2019).

Em uma pesquisa semelhante, o perfil de metabolitos baseado em RMN foi usado para diferenciar carnes macias e duras de bovinos Nelore vs Angus (Antonelo et al., 2020a). Acetil-carnitina, adenina, beta-alanina, fumarato, glutamina e valina apresentaram concentrações mais elevadas em carne macia em comparação com carne dura. No mesmo sentido, lactato, glicose, creatina e glutamina foram identificadas como os quatro compostos mais importantes que diferiam entre carne macia e dura, indicando possíveis alterações em vias metabólicas como o metabolismo de D-glutamina e D-glutamato, metabolismo de beta-alanina, metabolismo de purinas e ciclo do ácido tricarboxílico sugerindo que o perfil metabólico da carne macia e dura era diferente e poderia indicar vias metabólicas alteradas associadas à variabilidade da maciez (Antonelo et al., 2020a)

Abrangendo ainda a maturação da carne, um estudo avaliou o perfil de metabólitos de vacas de descarte da raça Piemontese por abordagem HPLC-MS (Lana et al., 2015). Foram identificados alguns metabólitos que estão relacionados com a maciez da carne, entre eles, o glutamato foi destacado como um metabólito chave, conhecido por estar relacionado com o sabor umami da carne. Aminoácidos como serina e arginina também foram mencionados como possíveis bons preditores dos parâmetros de qualidade final da carne principalmente

por acumularem-se constantemente até o dia 44 de maturação, indicando sua importância na qualidade da carne (Lana et al., 2015).

Em estudo utilizando bovinos Maremmana com abordagem LC-MS e HPLC-MS alguns metabólitos foram relacionados à maciez da carne (D'Alessandro et al., 2012). Foi observado que a concentração relativa de fosfoenolpiruvato, lactato, NADH, NAD⁺, e guanosina monofosfato (GMP) estava associada à maciez da carne. O fosfoenolpiruvato mostrou um aumento médio de mais de 3 vezes da carne macia para a carne dura, juntamente com um aumento substancial nas concentrações relativas de lactato, NADH, NAD⁺ e GMP nas amostras de carne macia. Além disso, a relação entre GSSG/GSH (glutathione oxidada/glutathione reduzida) também foi destacada como um indicador de maciez da carne, com a relação sendo maior na carne macia em comparação com a carne dura. Esses metabólitos estão envolvidos em processos metabólicos e de estresse oxidativo que podem influenciar a maciez da carne bovina (D'Alessandro et al., 2012).

Uma análise baseada em RMN foi utilizada para entender as diferenças de maciez da carne de cordeiros diferindo as formas de resfriamento rápido e muito rápido (Warner et al., 2015). Os músculos submetidos ao resfriamento muito rápido tinham intermediários glicolíticos mais elevados, produtos finais do início do rigor mortis, advindos do metabolismo dos nucleotídeos de adenosina e nicotinato. A presença de níveis mais elevados de glicose e intermediários glicolíticos pode indicar uma maior atividade metabólica e produção de energia no músculo, o que pode contribuir para a maciez da carne. A presença de Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD⁺) em concentrações finais mais baixas pode estar relacionada com processos metabólicos que influenciam a maciez da carne, possivelmente através de vias de sinalização celular e metabolismo energético. Níveis mais elevados de nicotinato podem estar associados a processos metabólicos específicos que impactam a maciez da carne, possivelmente influenciando vias metabólicas relacionadas à qualidade da carne (Warner et al., 2015).

2.1.2. Sabor

A carne possui vários metabólitos como aminoácidos, açúcares, ácidos graxos e vitaminas, que tem a capacidade de desenvolver sabor (Khan; Jo; Tariq,

2015). Segundo mesmo autor, os compostos aromatizantes da carne são produzidos através da oxidação lipídica, reação de Maillard, degradação de vitaminas e interação entre seus produtos de degradação. A análise do perfil de metabólitos se apresenta como uma ferramenta importante e com grande potencial para descobrir e identificar os compostos voláteis e não voláteis contribuintes para o sabor da carne (Lee et al., 2011).

Em estudo que avaliou os metabólitos que desempenham um papel na geração de sabor no aroma da carne de Wagyu (Ueda et al., 2021), a glutamina, conhecida por fornecer um sabor umami a carne, está intimamente relacionada ao aroma e sabor. Além, metabólitos como ácido decanoico, ácido fosfórico e ácido láctico estão envolvidos na geração de sabor e apresentaram relação negativa com γ -hexalactona, um dos compostos odoríferos identificados. Esses ácidos são derivados de inosina monofosfato (IMP), um nucleotídeo relacionado ao sabor umami, que se degrada em hipoxantina durante a maturação post-mortem. Esses resultados sugerem que a composição metabólica da carne, incluindo a presença e concentração desses metabólitos, desempenha um papel crucial na geração do sabor característico da carne de Wagyu (Ueda et al., 2021).

No mesmo sentido, um estudo avaliando o teor de marmoreio do gado coreano (Jeong et al., 2020) encontrou diferenças significativas nos metabólitos relacionados ao sabor entre os grupos de carne com diferentes níveis de gordura, como N,N-dimetilglicina, creatina, lactato, carnosina, carnitina, sn-glicerol-3-fosfocolina, betaína, glicina, glicose, alanina, triptofano, metionina, taurina e tirosina. Dentre eles, carnosina, creatina, glicose e lactato apresentaram níveis significativamente mais altos em carne com alto marmoreio em comparação com carne com baixo marmoreio identificando potenciais marcadores envolvidos em vias metabólicas relacionadas ao sabor da carne, incluindo o metabolismo de carboidratos e aminoácidos (Jeong et al., 2020). Estudos recentes observaram que os metabólitos carnosina, creatina, glicose e lactato foram encontrados em maior quantidade em carne com mais marmoreio, sugerindo que esses metabólitos podem ser usados como marcadores para medições de qualidade da carne, incluindo sabor (KERTH et al., 2023).

O perfil de metabólitos de bovinos das raças Nelore e Angus foram avaliados em estudo brasileiro (Antonelo et al., 2020b). Os metabólitos que

apresentaram diferenças entre as raças foram principalmente glicina, glucose, alanina e carnosina. Essas diferenças podem estar relacionadas a variações nos processos metabólicos específicos de cada raça, como o metabolismo de aminoácidos, glutamina, glutamato, valina, leucina e isoleucina. Esses metabólitos estão envolvidos em vias metabólicas que podem ser influenciadas geneticamente, levando a variações na composição metabólica da carne entre diferentes raças. Essas diferenças nos metabólitos podem contribuir para as variações nas propriedades sensoriais da carne, como sabor e aceitação pelos consumidores (Antonelo et al., 2020b).

A transformação do músculo em carne envolve diversas reações e a liberação de diversos metabólitos (Ramanathan et al., 2023). Em pesquisa brasileira analisando os metabólitos gerados na conversão do músculo em carne e a maturação úmida, foram encontrados compostos relacionados à proteólise, glicólise post-mortem, ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e metabolismo de purinas, ácidos graxos, proteínas e nitrogênio. Esses compostos são importantes para o sabor e aroma da carne, uma vez que a presença de nucleotídeos, aminoácidos livres e carboidratos metabolizados impactam significativamente essas características (Cônsole et al., 2021). Já no processo de maturação, os compostos relacionados ao sabor aumentaram conforme aumentou o tempo de maturação. Foi identificado um aumento contínuo da concentração de metabólitos até 21 dias de maturação, representado por metabólitos de degradação de proteínas; entre 7 e 14 dias, houve um aumento da concentração de metabólitos representado por glicólise e metabolismo de purinas. Essas mudanças nos metabólitos de sabor são destacadas pelos eventos bioquímicos envolvidos na glicólise, no ciclo do ácido cítrico, na degradação de proteínas, na geração de aminoácidos e nos metabolismos de purinas (Cônsole et al., 2021).

A acumulação de aminoácidos durante a maturação da carne está fortemente relacionada à proteólise pós-morte (Kerth et al., 2023). Neste estudo, durante a maturação, houve um aumento na concentração de metabólitos que podem contribuir para o desenvolvimento de diferenças no sabor da carne. Além disso, a maturação da carne reduziu os metabólitos relacionados a sabores indesejáveis, como terpenoides. Estudos anteriores identificaram que metabólitos como carnosina, creatina, glucose, lactato, betaina, glicerol e creatinina estão

correlacionados com os escores de aceitabilidade sensorial da carne bovina (Kerth et al., 2023).

Na maturação pelo método a seco, existe uma maior concentração de metabólitos de sabor (Setyabrata et al., 2021). Essa pesquisa avaliou a maturação úmida e seca da carne bovina e observou maior abundância de precursores de sabor, como dipeptídeos contendo glutamato/glutamina e metabólitos derivados de nucleotídeos, identificados em amostras de carne bovina maturada a seco, comparadas com carne maturada úmida, potencialmente contribuindo para o sabor único associado a produtos maturados a seco durante o cozimento. A liberação de peptídeos de gama-glutamil a partir do envolvimento microbiano durante o processo de maturação a seco e metabólitos de glutamina através do metabolismo da glutatona foram identificados como componentes importantes na geração de sabor da carne maturada a seco (Setyabrata et al., 2021). Estudos mais recentes, além de corroborar com esses resultados, apresentaram alterações nos açúcares redutores. A concentração de açúcares redutores, como ribose e glucose, aumentou após o processo da maturação a seco, indicando uma possível contribuição para o desenvolvimento de sabores únicos por meio da reação de Maillard. Além disso, os compostos voláteis, como aldeídos, álcoois e dissulfeto de carbono, apresentaram variações na concentração nas amostras envelhecidas a seco, o que pode influenciar a complexidade e intensidade do sabor da carne (Setyabrata et al., 2022).

A presença reduzida de metabólitos lipídicos, como terpenoides e esteroides, em amostras de carne maturada a seco em comparação com carne maturada úmida, possivelmente contribuiu para a minimização de aromas e sabores negativos. A observação de mais compostos antioxidantes, como carnitina e glicosídeos, em amostras de carne maturada úmida, sugere um potencial papel na redução da formação de sabor a partir do processo de oxidação lipídica (Setyabrata et al., 2021). Esses resultados sugerem que a metabolômica desempenha um papel fundamental na identificação e compreensão dos metabólitos envolvidos no desenvolvimento do sabor da carne durante a maturação a seco, fornecendo insights valiosos sobre os mecanismos bioquímicos subjacentes a essas mudanças sensoriais (Setyabrata et al., 2022).

Um estudo testou o método de maturação a seco em Novilhas e vaca 'black-and-white' (Bischof et al., 2023a) e doze dos trinta metabólitos analisados

foram significativamente afetados pelo tipo de maturação, indicando que esses metabólitos podem ser considerados biomarcadores potenciais. Além disso, houve uma interação entre o tempo de maturação e o tipo de maturação para quinze metabólitos, incluindo todos os doze metabólitos afetados pelo tipo de maturação. Os metabólitos ácido láctico, anserina, ácido fumárico e O-acetil-L-carnitina diferiram significativamente devido ao tipo de maturação, indicando que a raça e a idade dos animais afetam a composição metabólica e as mudanças durante a maturação da carne (Bischof et al., 2023a). No mesmo sentido, utilizando animais da raça Simental, os mesmos autores descrevem que aminoácidos como fenilalanina, tirosina, e valina estão associados a um sabor amargo. Peptídeos como carnosina e anserina são compostos ativos no sabor 'umami'. Ácidos como aspártico, glutâmico e o nucleotídeo inosina 5'-monofosfato (IMP) também estão associados ao sabor 'umami'. Os metabólitos carnosina, glutamato e IMP correlacionaram-se com atributos sensoriais como sabor, suculência e maciez da carne (Bischof et al., 2023b).

Ao comparar ambos os artigos, as diferenças nos metabólitos entre as raças Simmental e Black-and-White sugerem variações na qualidade e sabor da carne, com impacto nas características sensoriais percebidas pelos consumidores. Além disso, as variações nos metabólitos entre a carne seca e úmida indicam que o processo de maturação afeta a composição química da carne de forma distinta, o que pode influenciar a qualidade e palatabilidade do produto final. Os metabólitos carnitina, creatina, inosina 5'-monofosfato, ácido láctico e O-acetil-L-carnitina variaram significativamente entre carne seca e carne úmida de ambas as raças e os metabólitos acetato, alanina, carnosina, creatinina, glicose, glutamato, glicina, IMP, metionina e succinato diferiram significativamente entre as duas raças (Bischof et al., 2023a, 2023b). Os resultados discutem a influência da raça e do tipo de maturação na composição metabólica da carne bovina. Essas descobertas ressaltam a importância de considerar não apenas a raça do animal, mas também o método de maturação, ao avaliar e otimizar a qualidade da carne bovina (Bischof et al., 2023b).

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.; Frigorífico CowPig em especial ao Renato Sebastiani.

Referências bibliográficas

AHNSTRÖM, Maria Lundesjö *et al.* Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. **Meat Science**, v. 73, n. 4, p. 674–679, 1 ago. 2006.

AHNSTRÖM, Maria Lundesjö; HUNT, Melvin C.; LUNDSTRÖM, Kerstin. Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender–age groups. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 528–535, mar. 2012.

ANTONELO, Daniel *et al.* Metabolites and Metabolic Pathways Correlated With Beef Tenderness. **Meat and Muscle Biology**, v. 4, n. 1, 24 jun. 2020a.

ANTONELO, Daniel S. *et al.* Metabolite profile and consumer sensory acceptability of meat from lean Nellore and Angus × Nellore crossbreed cattle fed soybean oil. **Food Research International**, v. 132, p. 109056, 1 jun. 2020b.

BA, Hoa Van *et al.* Effect of muscle type and vacuum chiller ageing period on the chemical compositions, meat quality, sensory attributes and volatile compounds of Korean native cattle beef. **Animal Science Journal**, v. 85, n. 2, p. 164–173, 2014.

BALDASSINI, Welder *et al.* Bos indicus Carcasses Suspended by the Pelvic Bone Require a Shorter Aging Time to Meet Consumer Expectations Regarding Meat Quality. **Foods**, v. 12, n. 5, p. 930, 22 fev. 2023.

BASINGER, Kelsey L. *et al.* Application of tension to prerigor goat carcasses to improve cooked meat tenderness. **Meat Science**, v. 147, p. 1–5, jan. 2019.

BAYRAKTAROGLU, Alev Gurol; KAHRAMAN, Tolga. Effect of muscle stretching on meat quality of *biceps femoris* from beef. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 580–583, 1 jul. 2011.

BERGER, Jordy *et al.* Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. **Meat Science**, v. 145, p. 285–291, nov. 2018.

BISCHOF, Greta *et al.* Variations in the Metabolome of Unaged and Aged Beef from Black-and-White Cows and Heifers by ¹H NMR Spectroscopy. **Foods**, v. 12, n. 4, p. 785, jan. 2023a.

BISCHOF, Greta *et al.* NMR-based comparison of the metabolome of beef from Simmental and black-and-white young bulls during wet- and dry-aging. **European Food Research and Technology**, v. 249, n. 8, p. 2113–2124, 1 ago. 2023b.

BOUTON, P. E. *et al.* INFLUENCE OF pH AND FIBER CONTRACTION STATE UPON FACTORS AFFECTING THE TENDERNESS OF BOVINE MUSCLE. **Journal of Food Science**, v. 38, n. 3, p. 404–407, 1973.

BOUTON, P. E.; HARRIS, P. V.; SHORTHOSE, W. R. THE EFFECTS OF ULTIMATE pH ON OVINE MUSCLE: WATER-HOLDING CAPACITY. **Journal of Food Science**, v. 37, n. 3, p. 351–355, 1972.

CÔNSOLO, Nara R. B. *et al.* Usando relaxometria TD-NMR e 1D1Espectroscopia de RMN H para avaliar envelhecimento de carne Nelore. **Meat Science**, v. 181, p. 108606, 1 nov. 2021.

D'ALESSANDRO, Angelo *et al.* Love me tender: An Omics window on the bovine meat tenderness network. **Journal of Proteomics**, Special Issue: Farm Animal Proteomics. v. 75, n. 14, p. 4360–4380, 19 jul. 2012.

DALRYMPLE, R. H.; HAMM, R. Postmortem Glycolysis in Prerigor Ground Bovine and Rabbit Muscle. **Journal of Food Science**, v. 40, n. 4, p. 850–853, 1975.

DASHDORJ, Dashmaa *et al.* Dry aging of beef; Review. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 20, 19 maio 2016.

DASHDORJ, Dashmaa; AMNA, Touseef; HWANG, Inho. Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview. **European Food Research and Technology**, v. 241, n. 2, p. 157–171, 1 ago. 2015.

DE FELÍCIO, Pedro; PFLANZER, Sérgio. Maturação da Carne Bovina. v. 12, p. 42, 8 out. 2018.

DEGEER, S. L. *et al.* Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. **Meat Science**, v. 83, n. 4, p. 768–774, dez. 2009.

GARCÍA-CAÑAS, Virginia *et al.* Present and Future Challenges in Food Analysis: Foodomics. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 23, p. 10150–10159, 4 dez. 2012.

GOLL, D. E. *et al.* Role of the calpain system in muscle growth. **Biochimie**, v. 74, n. 3, p. 225–237, 1 mar. 1992.

GORRAIZ, C. *et al.* Effect of Aging Time on Volatile Compounds, Odor, and Flavor of Cooked Beef from Pirenaica and Friesian Bulls and Heifers. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 3, p. 916–922, 2002.

HOSTETLER, R. L. *et al.* Effect of Carcass Suspension on Sarcomere Length and Shear Force of Some Major Bovine Muscles. **Journal of Food Science**, v. 37, n. 1, p. 132–135, 1972.

HUFF LONERGAN, Elisabeth; ZHANG, Wangang; LONERGAN, Steven M. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 184–195, set. 2010.

JEONG, Jin Young *et al.* Metabolomics Analysis of the Beef Samples with Different Meat Qualities and Tastes. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 6, p. 924–937, nov. 2020.

JOHNSON, Logan G. *et al.* Review of Postmortem Protein Oxidation in Skeletal Muscle and the Role of the Peroxiredoxin Family of Endogenous Antioxidants. **Meat and Muscle Biology**, v. 6, n. 3, 21 fev. 2023.

KEMP, Caroline M. *et al.* Tenderness – An enzymatic view. **Meat Science**, Special Issue: 55th International Congress of Meat Science and Technology (55th ICoMST), 16-21 August 2009, Copenhagen, Denmark. v. 84, n. 2, p. 248–256, 1 fev. 2010.

KERTH, Chris R. *et al.* Using untargeted metabolomics and volatile aroma compounds to predict expert sensory descriptors and consumer liking of beef loin steaks varying in quality grade, aging time, and degree of doneness. **Meat Science**, v. 204, p. 109255, 1 out. 2023.

KHAN, Muhammad Issa; JO, Cheorun; TARIQ, Muhammad Rizwan. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. **Meat Science**, v. 110, p. 278–284, 1 dez. 2015.

KIM, Yuan H. Brad *et al.* Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. **Meat Science**, v. 123, p. 57–63, jan. 2017.

KIM, Yuan H. Brad; KEMP, Robert; SAMUELSSON, Linda M. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. **Meat Science**, v. 111, p. 168–176, jan. 2016.

KING, D. Andy *et al.* Metabolomic Investigation of Tenderness and Aging Response in Beef Longissimus Steaks. **Meat and Muscle Biology**, v. 3, n. 1, 28 fev. 2019.

LANA, Alessandro *et al.* Omics integrating physical techniques: Aged Piedmontese meat analysis. **Food Chemistry**, v. 172, p. 731–741, 1 abr. 2015.

LEE, Sang Mi *et al.* Metabolomic approach for determination of key volatile compounds related to beef flavor in glutathione-Maillard reaction products. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 2, p. 204–211, 10 out. 2011.

LIU, Yuqing *et al.* Effect of suspension method on meat quality and ultra-structure of Chinese Yellow Cattle under 12–18°C pre-rigor temperature controlled chilling. **Meat Science**, v. 115, p. 45–49, maio 2016.

LOCKER, R. H. Degree of Muscular Contraction as a Factor in Tenderness of Beef. **Journal of Food Science**, v. 25, n. 2, p. 304–307, 1960.

MAHMOOD, Shahid *et al.* Proteomics of dark cutting *longissimus thoracis* muscle from heifer and steer carcasses. **Meat Science**, v. 137, p. 47–57, 1 mar. 2018.

Meat Standards Australia beef information kit. North Sydney: Meat & Livestock Australia, 2011.

MUROYA, Susumu *et al.* MEATabolomics: Muscle and Meat Metabolomics in Domestic Animals. **Metabolites**, v. 10, n. 5, p. 188, maio 2020.

OUALI, Ahmed *et al.* Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, 59 th International Congress of Meat Science and Technology , 18-23 August 2013 Izmir/Turkey. v. 95, n. 4, p. 854–870, 1 dez. 2013.

PAREDI, Gianluca *et al.* “Muscle to meat” molecular events and technological transformations: The proteomics insight. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4275–4289, jul. 2012.

PINHEIRO, Rafael Silvio Bonilha; SOUZA, Hirasilva Borba Alves de. Methods of discard ewes carcass suspension and the quality of meat. **Food Science and Technology**, v. 31, p. 221–224, mar. 2011.

RAMALINGAM, Vaikundamoorthy; SONG, Zhen; HWANG, Inho. The potential role of secondary metabolites in modulating the flavor and taste of the meat. **Food Research International**, v. 122, p. 174–182, ago. 2019.

RAMANATHAN, Ranjith *et al.* The potential of metabolomics in meat science: Current applications, trends, and challenges. **Journal of Proteomics**, v. 283–284, p. 104926, 15 jul. 2023.

RHEE, M. S. *et al.* Variation in palatability and biochemical traits within and among eleven beef muscles¹²³⁴. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 2, p. 534–550, 1 fev. 2004.

SETYABRATA, Derico *et al.* Elucidating mechanisms involved in flavor generation of dry-aged beef loins using metabolomics approach. **Food Research International**, v. 139, p. 109969, jan. 2021.

SETYABRATA, Derico *et al.* Characterizing the Flavor Precursors and Liberation Mechanisms of Various Dry-Aging Methods in Cull Beef Loins Using Metabolomics and Microbiome Approaches. **Metabolites**, v. 12, n. 6, p. 472, jun. 2022.

SØRHEIM, O. *et al.* Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of *m. longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 57, n. 1, p. 79–85, 1 jan. 2001.

UEDA, Shuji *et al.* Exploring the Characteristic Aroma of Beef from Japanese Black Cattle (Japanese Wagyu) via Sensory Evaluation and Gas Chromatography-Olfactometry. **Metabolites**, v. 11, n. 1, p. 56, jan. 2021.

WARNER, Robyn D. *et al.* *Metabolismo post-mortem* alterado identificado em cordeiro *M. longissimus thoracis et lumborum* resfriado muito rapidamente usando análise metabolômica. **Meat Science**, v. 108, p. 155–164, 1 out. 2015.

WITTE, Franziska *et al.* High-pressure processing of usually discarded dry aged beef trimmings for subsequent processing. **Meat Science**, v. 170, p. 108241, dez. 2020.

YU, Qianqian *et al.* Effect of wet-aging on meat quality and exudate metabolome changes in different beef muscles. **Food Research International**, v. 184, p. 114260, 1 maio 2024.

ZHANG, Yimin *et al.* Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). **Meat Science**, v. 149, p. 114–119, 1 mar. 2019.

CAPÍTULO 2

ALTERAÇÕES METABÓLICAS DO TECIDO MUSCULAR DE BOVINOS NE- LORE (*BOS INDICUS*) EM RESPOSTA À SUSPENSÃO PÉLVICA DA CAR- ÇA: IMPACTOS SOBRE A QUALIDADE DA CARNE

Murilo Augusto TAGIARIOLLI^{1*}; Rafaela Cristina RODRIGUES¹; Arthur Sunhog
ORSI^{3,6}; Elenilson Godoy ALVES FILHO⁴; Nara Regina Brandão CÔNSOLO⁵;
Anderson de Souza SANT'ANA⁶; Welder Angelo BALDASSINI²; Luis Artur Lo-
yola CHARDULO²

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agricultura e Veterinária (FCAV),
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal 14884-900, SP, Brasil

²Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Bo-
tucatu 18610-034, SP, Brasil

³ Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia
de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil

⁴ Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal
do Ceará (UFC), Fortaleza 60455-760, CE, Brasil

⁵ Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veteri-
nária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga
13635-900, SP, Brasil.

⁶ Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Veterinária, 24230-
340, Niterói, RJ, Brasil

*autores correspondentes: murilo.tagiariolli@unesp.br; luis.artur@unesp.br

Resumo

Objetivou-se avaliar alterações metabólicas em carcaças *Bos indicus* suspensas pelo tendão de Aquiles (AS) versus pélvica (PS) no metabolismo e características de qualidade da carne. Foram utilizados dez bovinos Nelore, machos não castrados, terminados em confinamento. As meias carcaças, dos mesmos animais, foram suspensas aleatoriamente pelos métodos AS ($n = 10$) ou PS ($n = 10$) por 48 horas, reduzindo a variação entre animais. Na desossa, amostras do *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) foram coletadas para avaliação por consumidores não treinados quanto à maciez, sabor, suculência e satisfação geral em dois momentos: controle (5 dias post-mortem) e após maturação de 15 dias. Adicionalmente, amostras do LTL foram utilizadas para análises de força de cisalhamento (WBSF), cor (L^* , a^* , b^* , chroma e hue), pH final, perda por cozimento (CL) e perda por descongelamento (PL). Ensaio de metabolômica foram conduzidos utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS) para a identificação de metabólitos voláteis e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^1H NMR) para a identificação de metabólitos não voláteis. Os resultados indicaram que o método PS melhorou a maciez e a satisfação geral da carne em comparação com o método AS ($P < 0,05$). Após 15 dias de maturação, a maciez sensorial foi significativamente maior no grupo PS ($P < 0,01$). Observou-se interação entre o método de suspensão e a maturação ($P < 0,05$). O PS resultou em carne mais macia (menor WBSF) e com menores perdas por cozimento em comparação com o AS ($P = 0,04$). No entanto, os métodos de suspensão não afetaram a cor, pH ou perda por gotejamento da carne. A maturação por 15 dias aumentou o hue ($P < 0,01$), pH ($P < 0,01$), oxidação lipídica ($P < 0,01$) e o índice de fragmentação miofibrilar ($P < 0,01$). A PS favoreceu a formação de compostos voláteis como 1-hexanol e cetonas, que conferem notas herbáceas e frutadas, indicativas de uma maturação acelerada e maior intensidade sensorial. A PS também resultou em maior concentração de aminoácidos livres e acelerou a proteólise, associada possivelmente a liberação de cálcio e glicólise intensificada, resultando em carne mais macia. Em contraste, a AS preservou melhor a integridade muscular, com maior acumulação de succinato e menor degradação proteica, resultando em uma carne menos macia. O método PS melhorou a maciez, o sabor e a suculência da carne, com alterações no perfil metabólico que impactaram positivamente as características sensoriais. Este é o primeiro estudo com bovinos Nelore a descrever alterações metabólicas do tecido muscular em resposta à suspensão pélvica da carcaça e os impactos sobre a qualidade da carne.

Palavras-chave: maciez da carne; metabolômica; suspensão de carcaças, aceitação geral, sabor.

METABOLIC CHANGES IN THE MUSCLE TISSUE OF NELORE CATTLE (*BOS INDICUS*) IN RESPONSE TO PELVIC SUSPENSION: IMPACTS ON MEAT QUALITY

Abstract

The objective of this study was to evaluate metabolic changes in *Bos indicus* carcasses suspended by the Achilles tendon (AS) versus pelvic suspension (PS) and their effects on meat quality characteristics and metabolism. Ten feedlot-finished, non-castrated male Nelore cattle were used. The half-carcasses were randomly suspended by either the AS (n = 10) or PS (n = 10) method for 48 hours. During deboning, samples of the *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) were collected for evaluation by untrained consumers regarding tenderness, flavor, juiciness, and overall satisfaction at two time points: control (5 days post-mortem) and after 15 days of aging. Additionally, LTL samples were used for analyses of Warner-Bratzler shear force (WBSF), color (L, a, b*, chroma, and hue), ultimate pH, cooking loss (CL), and thawing loss (PL). Metabolomic assays were conducted using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) to identify volatile metabolites and nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR) to identify non-volatile metabolites. The results indicated that the PS method improved tenderness and overall satisfaction compared to the AS method ($P < 0.05$). After 15 days of aging, sensory tenderness was significantly higher in the PS group ($P < 0.01$). An interaction between suspension method and aging was observed ($P < 0.05$). PS resulted in more tender meat (lower WBSF) and reduced cooking losses compared to AS ($P = 0.04$). However, suspension methods did not affect meat color, pH, or drip loss. Aging for 15 days increased hue ($P < 0.01$), pH ($P < 0.01$), lipid oxidation ($P < 0.01$), and myofibrillar fragmentation index ($P < 0.01$). PS favored the formation of volatile compounds such as 1-hexanol and ketones, which impart herbaceous and fruity notes, indicative of accelerated aging and greater sensory intensity. PS also led to higher concentrations of free amino acids and accelerated proteolysis, possibly associated with calcium release and enhanced glycolysis, resulting in more tender meat. In contrast, AS better preserved muscle integrity, with greater succinate accumulation and reduced protein degradation, leading to less tender meat. The PS method improved tenderness, flavor, and juiciness, with metabolic profile changes that positively impacted sensory characteristics. This is the first study on Nelore cattle to describe metabolic changes in muscle tissue in response to pelvic suspension and its effects on meat quality.

Keywords: meat tenderness; metabolomics; carcass suspension; overall acceptance; flavor.

1. INTRODUÇÃO

A carne bovina é um dos alimentos mais consumidos em todo o mundo, apreciada por suas características sensoriais como sabor, suculência e, principalmente, maciez (ABIEC, 2023; Godfray et al., 2018). Contudo, a maciez da carne pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo a raça do animal, a

alimentação, o manejo pré-abate e, especialmente, as técnicas de manipulação pós-abate (Shi et al., 2021). Entre as raças criadas no Brasil, o Nelore se destaca por sua adaptação ao clima tropical e por sua importância na pecuária de corte (Silva et al., 2020). No entanto, a carne de animais da raça Nelore é frequentemente associada a uma menor maciez em comparação com raças taurinas, o que representa um desafio significativo para a indústria (Bressan et al., 2011; Santana Filho et al., 2016).

A maciez da carne de bovinos é economicamente importante para produtores e consumidores, afetando a aceitação e o valor do produto no mercado (Santos et al., 2021). A suspensão da carcaça pelo osso pélvico tem demonstrado melhorar a maciez da carne de animais zebuínos (Baldassini et al., 2023; Wolcott et al., 2009) e taurinos (Ahnström et al., 2012; Pogorzelski; Pogorzelska; Wierzbicka, [S.d.]) apresentando resultados mais desejáveis para o mercado. Pesquisas recentes avaliaram o proteoma de bovinos *Bos taurus* sob diferentes suspensões de carcaça (Cai et al., 2021, 2023). No entanto, os mecanismos bioquímicos e metabólicos da suspensão de carcaça que tornam essa técnica eficaz ainda não estão completamente esclarecidos pela literatura, com uma escassez de trabalhos que abordem especificamente animais *Bos indicus*, como a raça Nelore. A falta de um entendimento aprofundado desses processos, particularmente neste biotipo animal de grande importância econômica para o Brasil, limita a formulação de estratégias precisas para otimizar a qualidade da carne nesse contexto.

Nesse contexto, o presente estudo parte da hipótese de que a aplicação de métodos alternativos de suspensão de carcaças, como a suspensão pela pélvis, pode resultar em padrões metabólicos diferentes durante a transformação do músculo em carne, o que acarretaria melhorias na qualidade da carne de bovinos Nelore, em comparação ao método tradicional de suspensão pelo tendão de Aquiles. Acredita-se que a alteração no posicionamento da carcaça durante o resfriamento possa influenciar os processos bioquímicos pós-abate, contribuindo para uma melhor qualidade. Assim, objetivou-se avaliar o impacto de dois métodos de suspensão de carcaças na qualidade da carne de bovinos Nelore, comparando os efeitos dos métodos de suspensão pela pélvis e pelo tendão de Aquiles sobre as alterações físicas, bioquímicas e metabólicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Botucatu (protocolo número 0094/2020; data de aprovação: 12 de agosto de 2020).

2.1. Animais, características de carcaça e coleta de amostras de carne

Foram utilizados 10 bovinos da raça Nelore, machos não castrados, com idade aproximada de 30 meses. Os animais foram terminados em confinamento, apresentando peso vivo médio inicial de 410 ± 11 kg e peso vivo médio final de 590 ± 57 kg. Os animais foram manejados de forma uniforme e submetidos às mesmas condições nutricionais, recebendo dieta composta por 15 % de volumoso (bagaço de cana) e 85 % de concentrado à base de milho (farelo de soja, milho moído, ureia, e uma mistura mineral). Todos foram abatidos em frigorífico comercial (Boituva, São Paulo, Brasil). Os animais foram selecionados aleatoriamente para o estudo com padronização de peso, sexo e raça. O peso de abate foi determinado de acordo com o protocolo comercial do frigorífico baseado nos padrões de seus produtos cárneos.

Dez carcaças foram divididas longitudinalmente em duas partes e pesadas individualmente. As meias carcaças foram suspensas pelo método convencional (tendão calcâneo - AS, $n = 10$), no lado direito da carcaça, ou pelo método de suspensão tenderstreich (osso pélvico - PS, $n = 10$), no lado esquerdo, conforme previamente definido e permaneceram em câmara fria (1°C) por 48 h. Após o resfriamento, todas as carcaças foram avaliadas quanto ao peso de carcaça; idade por ossificação (maturidade fisiológica); espessura de gordura subcutânea (EGS) no contrafilé; área de olho de lombo (AOL); cor da carne; cor da gordura; escore de marmorização e pH final (48 h post-mortem), descrito em materiais anexos, Tabela 1. Após a desossa, amostras do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) (~12 cm) foram coletadas das meias carcaças entre a 11ª e a 13ª costela, as quais foram utilizadas em análises laboratoriais, testes sensoriais de qualidade de carne e análises moleculares.

2.2. Preparação das amostras

As amostras foram cortadas em bifes de 2,54 cm, embaladas a vácuo e identificadas conforme o tratamento AS ou PS. Em seguida, foram submetidas à maturação úmida por 5 e 15 dias em uma incubadora de refrigeração (TE-371, TECNAL, Piracicaba, São Paulo, Brasil), mantida a uma temperatura de 0 a 2 °C. Após o período de maturação, todas as amostras foram congelados a -20 °C. Para os testes sensoriais, dois bifes de cada tratamento e tempo de maturação foram utilizados, enquanto os outros dois bifes foram destinados às análises objetivas da qualidade da carne. Foi retirado uma alíquota de 10 g de cada animal após maturação de 5 dias e foram armazenados a -80 °C para análise posterior do perfil de metabólitos por espectroscopia de ¹H-RMN, para identificação e quantificação de metabólitos não voláteis e cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS), para identificação e quantificação de metabólitos voláteis.

2.3. Análises de qualidade de carne

Amostras de carne bovina dos tratamentos foram analisadas no Laboratório de Ciência da Carne - Universidade Estadual Paulista (UNESP Botucatu, São Paulo, Brasil) conforme descrito por Baldassini et al. (2023). O pH da carne foi medido utilizando um pHmetro digital equipado com sonda de penetração (Modelo AK86, AKSO Instruments, Rio Grande do Sul, Brasil). A coloração da carne (L^* - luminosidade; a^* - coloração vermelho; b^* - coloração amarelo) foi mensurada a partir do sistema CIELAB, em todas as amostras. O índice colorimétrico Croma (quantidade de cor ou saturação de cor) foi calculado pela equação $[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$ e a matriz (coloração real) a partir da fórmula $[\tan^{-1} (b^*/a^*)]$ (Hernández Salueña et al., 2019).

Um bife de cada tratamento foi utilizado para determinar as perdas por cocção e a força de cisalhamento considerando o controle (5 dias) e a maturação (15 dias). As perdas por cocção (PC), dividida em perda por evaporação (PE) e perda por gotejamento (DL) foram determinadas como descrito por pesquisadores (Baldassini et al., 2024). Para a determinação das perdas por cocção e força de cisalhamento (WBSF), as amostras e as bandejas foram pesadas, identificadas e então assadas em forno industrial elétrico (Itália Roma Inox, VENÂNCIO) com um termômetro (termômetro digital Modelo 612, ATP Instrumentation, Ashby-de-la-Zouch, Inglaterra) acoplado no centro geométrico das amostras

para monitorar a temperatura interna. A 40 °C, as amostras de carne foram viradas e permaneceram no forno até atingir a temperatura interna de 71 °C. As amostras foram então mantidas a 21 °C por 15 min e pesadas, como descrito por pesquisadores (Oliveira et al., 2024).

Na determinação da WBSF foi utilizado um analisador de textura Brookfield CT-3 (AMETEK Brookfield, Middleborough, Massachusetts, Estados Unidos) equipado com lâmina Warner-Bratzler Shear Force de aço inoxidável com 3,07 mm de espessura e aresta de corte em formato de V (ângulo de 60°) e velocidade de 20 cm/min. Os bifes assados foram mantidos por 12 h em refrigerador 2 °C em BOD, modelo TE – 371 da TECNAL. Após o resfriamento, foram retirados, de cada bife, oito cilindros de ½ polegada em sentido longitudinal as fibras musculares (Wheeler et al., 1994) para determinação do cisalhamento, e os resultados obtidos foram expressos em quilogramas força (kgf). A capacidade de retenção de água (WHC) foi determinada pela porcentagem de perda de água por pressão (Barbut, 1996). Para medir os produtos de oxidação lipídica foi utilizado o método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (Pikul; Leszczynski; Kummerow, 1989). O índice de fragmentação miofibrilar foi obtido pelo método descrito por pesquisadores (Culler et al., 1978) a partir de três fragmentos de cada amostra (~3.0 g) e homogeneizados com tampão de extração e a concentração de proteína foi estimada pelo método do biureto (Gornall; Bardawill; David, 1949).

2.4. Análise sensorial

As amostras de carne foram transportadas sob refrigeração para o local de teste sensorial. Antes do cozimento, foram imersas em uma solução de NaCl a 5% por 10 segundos para minimizar a variabilidade no sabor e na aceitabilidade geral, garantindo uma avaliação sensorial mais consistente. A análise sensorial foi realizada com consumidores não treinados utilizando um protocolo que utiliza o software *SensoryMeat* (Brazil Beef Quality Ltda., Brazil) maciez (TE), sabor (FL), suculência (JU) e aceitação geral (OA), abordagem utilizada em nossos estudos anteriores (Oliveira et al., 2024). Foram disponibilizados água e garfos e guardanapos descartáveis para garantir o manuseio higiênico e consistente das amostras durante a avaliação. Foram utilizados quarenta e oito consumidores em cada experimento, sendo duas sessões compostas por 24 consumidores

divididos em dois grupos (G1 e G2) de doze consumidores cada. O G2 foi uma repetição do G1 para aumentar a estimativa da variância do erro. Os consumidores receberam sete amostras, sendo a primeira degustação utilizada como amostra de referência (amostra padrão).

Para tanto, uma das amostras testadas foi selecionada aleatoriamente em cada sessão. Depois de degustadas as amostras de referência, os consumidores analisaram as seis amostras subsequentes de três animais, sendo cada animal submetido aos dois métodos de suspensão, lado esquerdo da carcaça (PS) e lado direito (AS), correspondentes às seis amostras. Os bifes foram grelhados em grelha a gás (Char-Broil Signature 3Q – Infrared, Columbus, GA, EUA) e a temperatura interna foi monitorada com termopares (ThermoPro, Modelo TP-16, Hong Kong, China) até serem retirados da grelha quando seu centro geométrico atingiu a temperatura de 63 °C. As amostras foram servidas em caixas descartáveis (Brasil Beef Quality Ltd., Piracicaba, São Paulo, Brasil) com divisórias para evitar comparação visual entre as amostras e para manter a temperatura durante a avaliação

2.5. Perfil de metabólitos

2.5.1. Cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS)

A extração dos compostos voláteis foi realizada em 3 *pools* de amostras de cada tratamento de acordo com literatura (Xu et al., 2016). Após cada ponto de amostragem, as amostras para análise de CG foram imediatamente armazenadas a -80 °C para evitar a perda de analitos. As análises cromatográficas foram realizadas em um Agilent 7890A ligado ao espectrômetro de massa triplo quadrupolo Agilent 7000 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Hélio foi empregado com vazão de 1 mL/min. Os dados foram adquiridos usando a análise qualitativa e quantitativa do software Agilent MassHunter Workstation para QQQ (Agilent Technologies Inc.). Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (Programas Biblioteca Espectral de Massa versão 2.0, 2011, Gaithersburg, Maryland, EUA) O banco de dados MS foi empregado para consulta sobre fragmentação iônica.

Todas as análises foram realizadas no modo splitless, utilizando um liner adequado para análise SPME. Foi utilizada coluna capilar HP-5ms 30 m × 0,25 mm ID × 1,0 µm df (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Os parâmetros de

temperatura do injetor e do forno foram otimizados de (Xu et al., 2016). Após a extração, a dessorção foi realizada imediatamente no injetor do injetor GC a 250 °C. A rampa de temperatura da coluna foi: 40 °C por 1 min, depois elevada para 100 °C a 4 °C/min, e elevada para 230 °C a 6°C/min, que foi a temperatura final mantida por 1 min. Os espectros de massa foram adquiridos usando fragmentação de íons por ionização eletrônica (70 eV). Nitrogênio e Hélio foram empregados como gás de colisão, seguido de aquisição de dados em Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM). A varredura completa foi adquirida antes da análise de MRM usando as seguintes condições: velocidade de varredura de 10.000 amu/s e faixa de massa de 30 a 400 m/z para investigar íons de produto e todas as transições de massa relevantes.

2.5.2. Ressonância magnética nuclear

Para análise de ^1H NMR, foram utilizados 2 *pools* de 5 amostras de cada tratamento. Foram imediatamente armazenadas a -80 °C. Após congelamento e antes da análise de NMR, as amostras foram liofilizadas. Os procedimentos de análise de ^1H NMR foram realizados conforme descrito pela literatura (De Carvalho Baptista, 2018). Os experimentos de NMR foram realizados em um espectrômetro Agilent de 600 MHz equipado com um detector inverso One Probe™ de 5 mm ($^1\text{H}^{19}\text{F}/^{15}\text{N}-^{31}\text{P}$) com gradiente Z ativamente protegido. Os espectros de ^1H NMR foram adquiridos em triplicata sob condições quantitativas usando a sequência de pulso PRESAT para supressão de água em δ 4,86, pulso calibrado para 90° (comprimento de pulso de 9,62 s a 58 dB de potência), 32 varreduras, 64 k de pontos no domínio do tempo com um janela espectral de 20,0 ppm, tempo de aquisição de 5,0 s, atraso de relaxação de 25,0 s. Um valor pré-fixado de 36 para ganho do receptor foi utilizado para todas as aquisições e a temperatura foi controlada para 298 K. Os espectros foram processados aplicando multiplicação exponencial dos FIDs por um fator de 0,3 Hz e transformação de Fourier de 64k pontos. A correção de fase foi realizada manualmente e a correção da linha de base foi aplicada em toda a faixa espectral (Alves Filho et al., 2017). Os compostos da amostra foram identificados através de experimentos de NMR 2D de COSY (espectroscopia de correlação), HSQC (coerência quântica única heteronuclear) e HMBC (correlação de ligações múltiplas heteronucleares) por comparação usando um banco de dados de acesso aberto (www.hmdb.ca) e

literatura. Os compostos que apresentaram grandes variações na quimiometria e não exibiram ressonâncias sobrepostas foram quantificados utilizando o método de referência externa fornecido pelo programa VnmJ™ (versão 4.2, Agilent).

2.6. Análise estatística

2.6.1. Análise estatística de qualidade de carne e sensorial

A análise estatística foi realizada utilizando o software Statistical Analysis System (SAS), versão 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, EUA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando um nível de significância de $P < 0,05$. O modelo estatístico incluiu os tratamentos de carcaça e os tempos de maturação como efeitos fixos, enquanto o animal foi considerado um efeito aleatório. A interação entre o tratamento da carcaça e o tempo de maturação também foi avaliada da seguinte forma:

$$Y_{ij} = \mu + I_i + T_j + A_k + T_j \times A_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ij} = característica de interesse (característica objetiva de qualidade da carne); μ = média geral; I_i = efeito do animal; T_j = efeito do método de suspensão da carcaça; A_k = efeito do tempo de maturação; $T_j \times A_k$ = efeito da interação entre suspensão e maturação; e e_{ijk} = erro aleatório.

As sessões dos testes sensoriais foram organizadas considerando dois fatores de bloqueio, consumidor e ordem de avaliação, em delineamento em quadrado latino (6 x 6 balanceados para vizinhança como descrito por Baldassini et al. (2023)). Foi utilizado o modelo linear generalizado misto considerando distribuição binomial dos dados, por meio do pacote estatístico PROC GLIMMIX (SAS 9.4). O método de eliminação (Bonny et al., 2017) foi adotado, no qual, para cada sessão e para cada amostra, os dois valores mais altos e os dois mais baixos de cada atributo sensorial foram descartados. Para as variáveis sensoriais, o modelo incluiu o método de suspensão (AS e PS) e o tempo de maturação (5 e 15 dias) como efeitos fixos, e a sequência (ordem de degustação das amostras) e o consumidor como efeitos aleatórios. O termo de interação foi testado conforme descrito a seguir:

$$Y_{ijklm} = \mu + C_i + I_i + S_j + T_l + A_m + T_l \times A_m + e_{ijklm}$$

Onde:

Y_{ijklm} = variável de interesse (atributo sensorial de qualidade da carne); μ = média geral; C_i = efeito do consumidor; L_i = efeito do animal; S_j = efeito da sequência; T_l = efeito do método de suspensão da carcaça; A_m = efeito do tempo de maturação; $T_l \times A_m$ = efeito da interação entre método de suspensão e tempo de maturação; e e_{ijklm} = erro aleatório.

2.6.2. Análise estatística multivariada do perfil de metabólitos

A análise estatística multivariada foi aplicada para avaliar a influência de diferentes métodos de suspensão de carcaça (PS e AS) no perfil de metabólitos da carne de bovinos Nelore. Para a variabilidade dos compostos orgânicos voláteis (COV), foi construída uma matriz numérica considerando os resultados semiquantitativos (área de sinais nos cromatogramas de GC-MS); e para a variabilidade dos metabólitos primários polares por ^1H NMR, os resultados quantitativos absolutos (concentrações em μM) foram utilizados para construção da matriz numérica. Cada matriz numérica foi importada separadamente pelo software PLS-Toolbox™ (versão 8.6.2, Eigenvector Research Incorporated, Manson, WA EUA) para avaliação classificatória por Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA), considerando cada suspensão de carcaça (PS e AS) como classe de amostras.

Os conjuntos de dados GC-MS e ^1H NMR foram escalonados automaticamente (centrados na média com escalonamento de variância subsequente) e o algoritmo SVD (*Singular Value Decomposition*) foi aplicado para decompor as matrizes em pontuações, pesos e modelagem resíduos. O método *Venetian Blinds* (10 divisões e espessura da cortina igual a 1) foi utilizado para validação cruzada (CV) sob o nível de confiança de 95%; e o número de Variáveis Latentes (LV) foi escolhido com base nos seguintes parâmetros estatísticos: variância total capturada; distorção do modelo na calibração (bias) e na validação cruzada (CV bias); RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*); RMSECV (*Root Mean Square Error of Cross-validation*); e índice de similaridade (RMSEC/RMSECV) (Ballabio; Consonni, 2013; Freitas et al., 2018). . O número de componentes latentes (LV) foi 2 para ambos os métodos. O erro quadrático médio de calibração (RMSEC) foi de 0,10 no GC-MS e 0,30 no ^1H -NMR, enquanto o erro quadrático

médio de validação cruzada (RMSECV) foi de 0,30 para o GC-MS e 0,59 para o ^1H -NMR. O viés de validação cruzada (CV bias) foi de -0,12 no GC-MS e 0,15 no ^1H NMR.

Devido à complexidade dos conjuntos de dados pelo elevado número de compostos orgânicos (144 compostos orgânicos voláteis VOC obtidos por GC-MS e 52 metabólitos obtidos por ^1H NMR) e pela variabilidade experimental proposta (dois métodos de suspensão de carcaça – PS e AS), uma análise estatística multivariada supervisionada por PLS-DA foi aplicada para classificar as amostras com base na suspensão de carcaça como classes de amostras. As variáveis latentes (LV1 e LV2) geradas pela análise PLS-DA correspondem aos eixos que sintetizam a maior variabilidade dos dados em relação às classes estudadas. LV1 representa o eixo de maior contribuição para a separação entre as classes (PS e AS), enquanto LV2 reflete a segunda maior fonte de variação explicada pelo modelo. Esses eixos representam combinações lineares das variáveis originais (metabólitos ou compostos orgânicos voláteis) que explicam a covariância entre as variáveis dependentes (perfil metabólico) e independentes (método de suspensão). O número de LV foi definido com base em critérios estatísticos como RMSEC, RMSECV, e CV bias.

A análise de enriquecimento de vias metabólicas foi conduzida utilizando-se a plataforma online MetaboAnalyst 5.0. Para tal, a lista dos metabólitos identificados pela análise de RMN ^1H que apresentaram VIP maior que 1 entre os dois tipos de suspensão AS e PS foi submetida ao módulo de Análise de Enriquecimento de Vias. O banco de dados de referência selecionado para a análise foi o Homo sapiens (KEGG), padrão para estudos de tecido muscular. O algoritmo de sobre-representação foi baseado no teste hipergeométrico, e a topologia das vias foi analisada utilizando a medida de centralidade "Betweenness Centrality". As vias metabólicas foram consideradas significativamente enriquecidas com base em um p-value ajustado (FDR) inferior a 0,05, sendo subsequentemente rankeadas e visualizadas de acordo com o seu grau de enriquecimento.

3. RESULTADOS

3.1. Variáveis de qualidade de carne e análise sensorial

Os dados do presente estudo confirmam e expandem os achados prévios de Baldassini et al. (2023). Assim como observado anteriormente, a PS resultou em maior maciez sensorial (especialmente aos 5 dias de maturação, $P < 0,01$) e menor WBSF ($P = 0,024$) na carne de Nelore comparada à suspensão AS, além de uma interação significativa ($P < 0,05$) entre método de suspensão e tempo de maturação para aceitação geral, sabor e suculência, apresentadas na figura 1. A presente análise, no entanto, realizada com uma amostragem completa e complementada por investigações metabólicas, avança na compreensão dos mecanismos subjacentes a essas melhorias de qualidade.

Para as variáveis de TBARS e MFI, não foi observada interação significativa entre os tratamentos (método de suspensão da carcaça e tempo de maturação). Por esse motivo, os resultados referentes à interação não foram apresentados, e as análises foram discutidas considerando os efeitos principais de cada tratamento separadamente. O TBARS aumentou após 15 dias de maturação ($P = 0,008$) e o MFI também foi maior após 15 dias ($P = 0,006$).

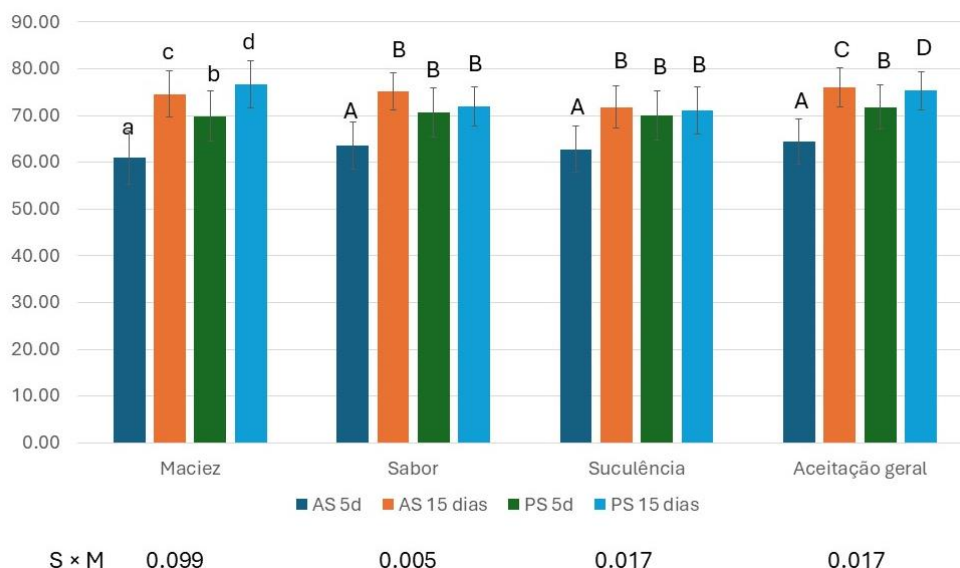


Figura 1. Características sensoriais da carne de amostras maturadas (5 ou 15 dias) de touros Nelore terminados em confinamento, cujas meias-carcaças foram suspensas pelo método tradicional do tendão de Aquiles ou pelo osso pélvico. S = Suspensão; M = Maturação; SxM = Interação. Letras maiúsculas apresentam diferenças para suspensão e letras maiúsculas apresentam diferença para maturação.

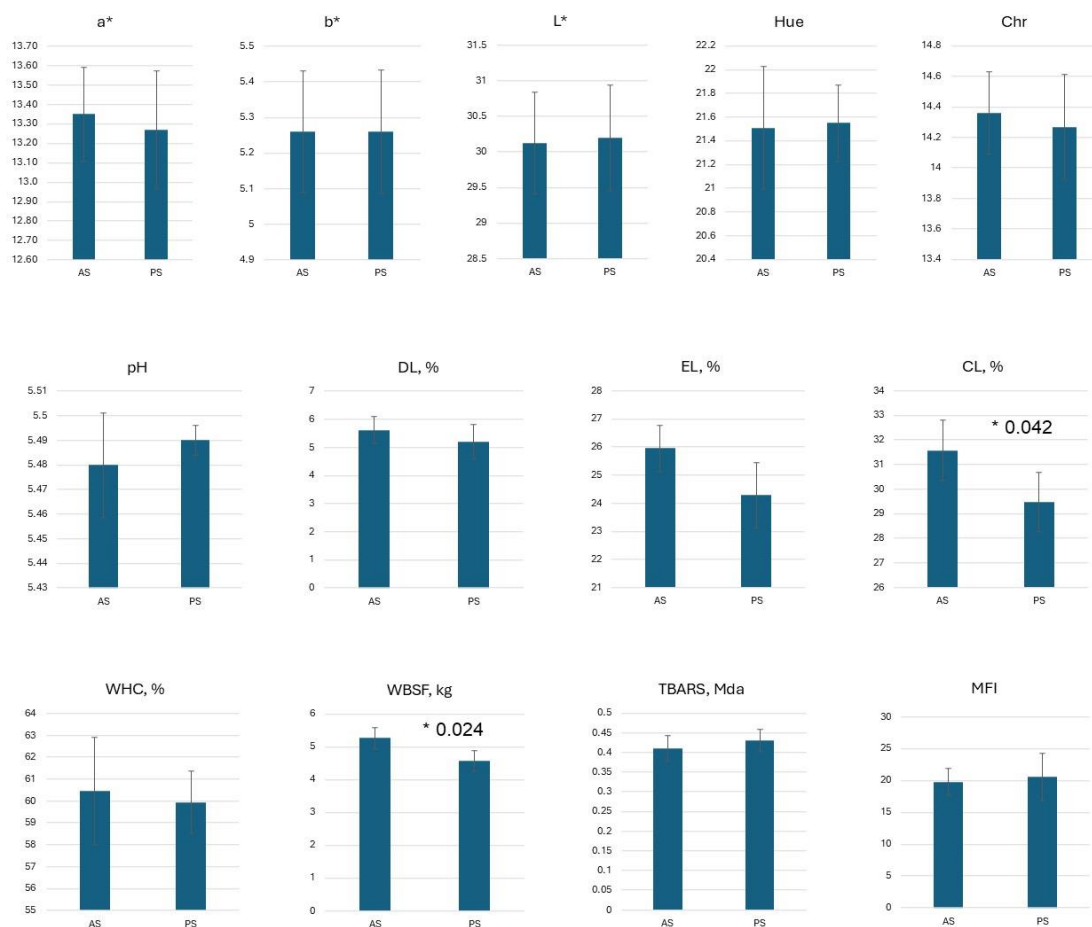


Figura 2. Intensidade de vermelho (a^*); Intensidade de amarelo (b^*); Luminosidade (L^*); Matiz (*Hue*); Croma (*Chr*); Perda por gotejamento (DL); Perda por evaporação (EL); Perdas por cocção (CL); Capacidade de retenção de água (WHC); Força de cisalhamento (WBSF); Oxidação lipídica (TBARS); Índice de fragmentação miofibrilar (MFI).

3.2. Perfil de metabólitos

As Figuras 3a e 3b ilustram clara discriminação das amostras de acordo com a suspensão de carcaça relacionadas à variância total capturada de acordo com o número de LV. A análise realizada com os modelos de GC-MS e $^1\text{H-NMR}$ mostrou que a variância total explicada foi de 69,57% para o GC-MS e 83,74% para o $^1\text{H-NMR}$. De acordo com os resultados multivariados do VOC (Figura 3a) e $^1\text{H-NMR}$ (Figura 3b), as carnes da suspensão AS agruparam-se em valores positivos de LV1; e as carnes da suspensão PS agruparam-se em pontuações negativas de LV1. A análise por VIP revelou as variáveis mais relevantes para a

discriminação dessas amostras (valores das variáveis acima do limite em 1), reduzindo a complexidade de carregamento de 144 para 62 variáveis para VOC (Tabela 1) e de 52 para 20 metabólitos. A Figura 3 apresenta as pontuações (LV1 × LV2) da avaliação dos conjuntos de dados GC-MS (a) e ^1H NMR (b). Adicionalmente, os pesos de LV1 e os resultados de VIP (Importância das Variáveis na Projeção) para GC-MS e ^1H NMR.

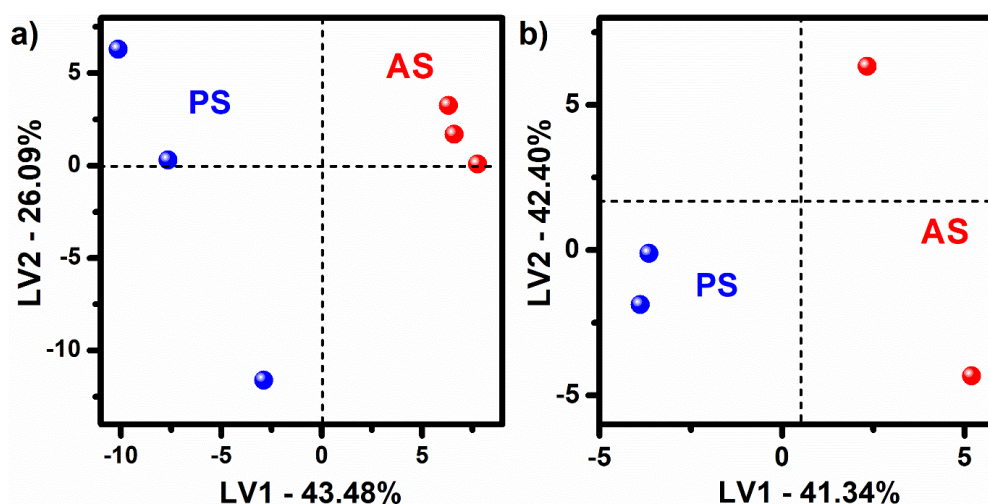


Figura 3 – Pontuações (LV1 × LV2) dos conjuntos de dados GC-MS (a) e ^1H NMR (b) das carnes Nelore, comparando os dois tipos de suspensão de carcaça PS e AS.

Os COV desempenham um papel crucial no aroma e sabor da carne. A suspensão pela pélvis, que acelerou a degradação de proteínas e lipídios, favoreceu a liberação de uma gama mais complexa de voláteis associados a notas agradáveis de aroma e sabor. Compostos como álcoois, cetonas, éteres e aldeídos, foram especialmente abundantes na carne suspensa pela pélvis, sugerindo uma formação acelerada e intensa de precursores químicos de sabor devido a um ambiente bioquímico propício para a proteólise e lipólise.

Table 1 – The LV1 loadings from the PLS-DA evaluations related to Figure 1a (GC-MS dataset), with the variables highlighted by the VIP analysis in bold (values above the threshold at 1), represented by colors related to the respective scores: high values to PS condition in blue, and AS condition in red.

Compostos	LV1	VIP
<i>Álcoois</i>		
1-Hexanol, 2-ethyl-		1.59
2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-		1.59
2,3-Butanediol		1.59

1-Butanol, 2-methyl-	1.54
1-Butanol, 3-methyl-	1.51
1-Hexanol	1.51
1-Pentanol	1.36
1-Tetradecanol	1.35
1-Propanol	1.16
1-Propanol, 2-methyl-	1.03
<i>Cetonas</i>	
2-Heptanone	1.56
2-Nonanone	1.43
2-Hexenal, (E)-	1.24
Cyclobutanone, 2,2,3-trimethyl-	1.22
2-Butanone	1.21
2-Octanone	1.07
<i>Éteres</i>	
Dimethyl ether	1.58
Propylene oxide	1.36
2-Propanol, 1-methoxy-	1.22
Ethyl Acetate	1.56
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	1.48
Acetic acid, methyl ester	1.43
<i>Aldeídos</i>	
Octanal	1.34
Hexanal	1.25
Butanal	1.25
Benzaldehyde	1.22
Heptanal	1.22
<i>Hidrocarbonetos</i>	
Heptane, 2,2,4-trimethyl-	1.57
Hexane, 2,2,5-trimethyl-	1.51
3-Octene, (E)-	1.51
Dodecane	1.5
Decane, 5-methyl-6-methylene-	1.47
Undecane, 5-methyl-	1.47
Cyclopropane, 1-(2-methylbutyl)-1-(1-methylpropyl)-	1.49
Cyclopropane, pentyl-	1.37
1-Octene	1.3
2-Undecene, 3-methyl-, (Z)-	1.29
trans-1-Butyl-2-methylcyclopropane	1.3
Cyclooctane	1.29
Cyclotridecane	1.29
1-Tridecene	1.13
Undecane, 4,4-dimethyl-	1.13
Tridecane, 5-methyl-	1.13
Heptane, 2,3-dimethyl-	1.09
Tetradecane	1.09
Heptane, 3-methyl-	1.07
Ethylbenzene	1.07
Octane	1.05

Heptane, 2,4-dimethyl-	1.03
Cyclooctane, 1,4-dimethyl-, trans-	1.01
Octane, 2-methyl-	1.0
Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-	1.0
3-Carene	1.56
<i>Aminas</i>	
2-Propen-1-amine	1.31
Methylamine, N,N-dimethyl-	1.21
Pyridine	1.12
<i>Outros</i>	
Dimethyl sulfone (Sulfona)	1.09
Dimethyl sulfide (Sulfeto)	1.21

Entre os metabólitos detectados por ^1H -NMR, as carnes das carcaças suspensas pelo método AS apresentaram maiores concentrações dos seguintes compostos (em pesos positivos de LV1 coloridos em vermelho): histidina; succinato; ADP; tirosina; glutamato; inosina; sn-glicero-3-fosfocolina; isoleucina; fenilalanina; metionina; leucina; hipoxantina; e lisina. Por outro lado, as carnes das carcaças suspensas pelo método PS apresentaram maiores concentrações dos seguintes metabólitos (em pesos negativos de LV1 coloridos em azul): maltose; treonina; betaína; serina; glicose; e aspartato, descritos na tabela 2.

Table 2 – The LV1 loadings from the PLS-DA evaluations presented in Figure 1b (^1H NMR dataset), with the variables highlighted by the VIP analysis in bold (values above the threshold at 1), represented by the respective colors: PS condition in blue; and AS condition in red.

Variables	LV1 - 41.34%	VIP
Maltose		1.68
Histidine		1.65
Threonine		1.64
Succinate		1.62
Betaine		1.61
ADP		1.61
Serine		1.54
Tyrosine		1.46
Glutamate		1.39
Inosine		1.35
sn-Glycero-3-phosphocholine		1.31
Isoleucine		1.29
Glucose		1.23
Phenylalanine		1.18
Methionine		1.09
Leucine		1.07

Aspartate		1.04
Hypoxanthine		1.03
Lysine		1.02

A análise de enriquecimento funcional de metabólitos revelou uma série de vias que foram enriquecidas na comparação entre os tratamentos, indicando diferenças em processos bioquímicos específicos (Figura 4). O metabolismo do amido e da sacarose foi enriquecido pelos metabólitos D-maltose e ADP, sugerindo uma mobilização ativa de carboidratos. O metabolismo de selenoaminoácidos foi enriquecido com serina e ADP, enquanto a biossíntese de fosfatidiletanolamina também mostrou enriquecimento com serina e ADP, apontando para uma possível relação entre a síntese de aminoácidos e fosfolipídios de membrana. O Efeito Warburg, caracterizado pelo aumento da glicólise anaeróbica mesmo na presença de oxigênio (Muroya et al., 2023), apresentou enriquecimento com os metabólitos D-glicose, ácido glutâmico, ácido succínico e ADP, refletindo a interligação entre o metabolismo glicolítico e o ciclo do ácido cítrico. No metabolismo da metil-histidina, o metabólito histidina foi detectado como enriquecido, e a reciclagem de amônia foi enriquecida com ácido glutâmico, histidina, serina, ácido L-aspártico e ADP. O ciclo da ureia foi enriquecido com ácido glutâmico, ácido L-aspártico e ADP, indicando uma alta atividade na conversão de amônia em ureia. Esses resultados evidenciam o envolvimento dessas vias em processos fundamentais de metabolismo energético e proteico.

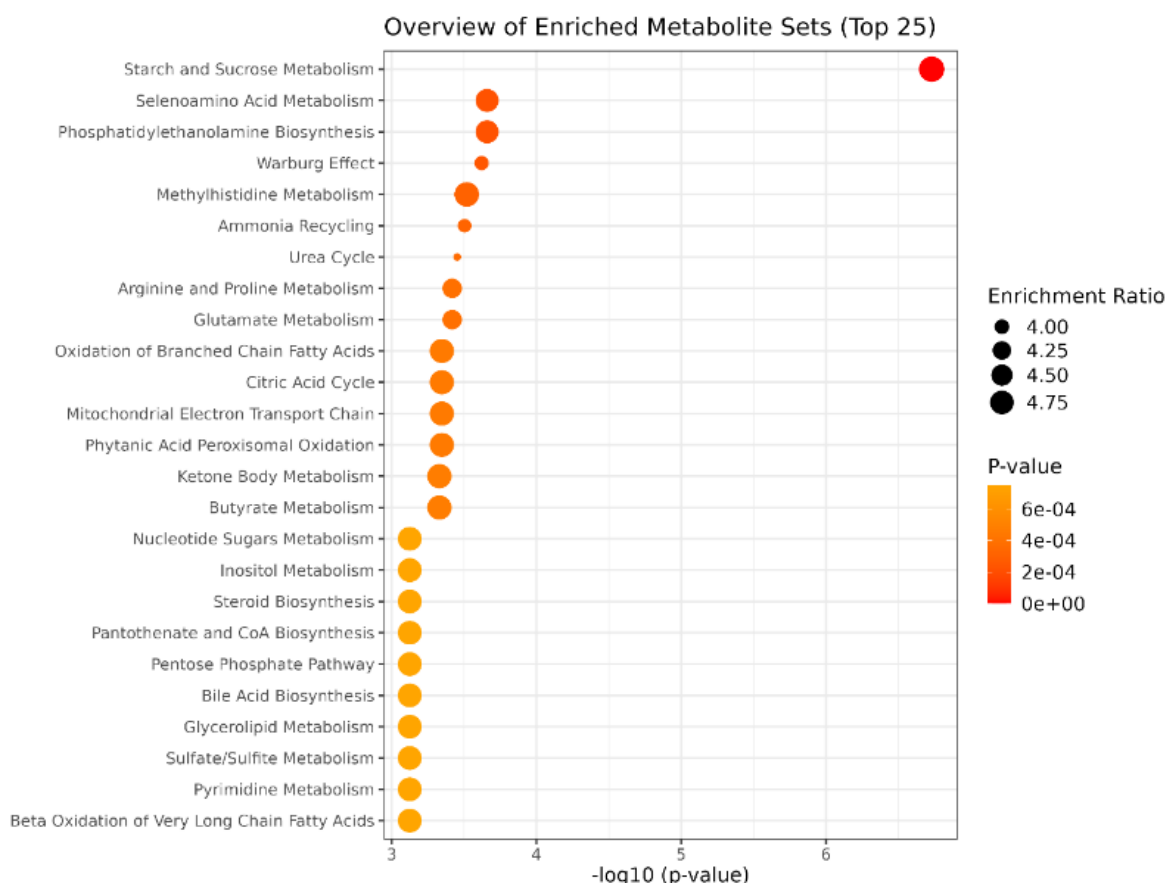


Figura 4. Principais vias metabólicas enriquecidas em *Bos indicus* (Nelore) relacionadas aos métodos de suspensão PS e AS com base em análise metabolômica por $^1\text{H-NMR}$

4. DISCUSSÃO

4.1. Suspensão de carcaça e maturação

A suspensão da carcaça por PS é um método já utilizado em alguns países para melhorar a maciez dos principais músculos de alto valor comercial evitando uma contração indesejável durante o estabelecimento do rigor mortis (Meat Standards Australia beef information kit, 2011). Essa afirmação foi confirmada no presente estudo para a carne bovina de animais Nelore não maturada que, além da tendência a menor WBSF, também diminuiu a CL mesmo em carne não maturada. No entanto, a maciez entre os métodos de suspensão foi reduzida no decorrer dos dias de maturação.

Os resultados corroboram estudos prévios com novilhas Angus (Ahnström et al., 2012) que demonstraram que o PS pode reduzir a WBSF, alcançando níveis de maciez semelhantes à maturação de 7 dias. Estudos com touros Angus

(Ahnström; Hunt; Lundström, 2012) também relataram uma diminuição significativa na WBSF (19% a 21%) em carcaças suspensas por PS. Esses achados reforçam a teoria de que a técnica PS melhora a maciez devido ao aumento no comprimento do sarcômero, o que otimiza a sobreposição dos filamentos de actina e miosina, resultando em uma textura mais macia. No entanto, no presente estudo, a diferença na WBSF entre os métodos de suspensão foi menos evidente após 15 dias de maturação. Isso sugere que, ao longo do tempo, o processo de maturação contribui para melhorar a maciez independentemente do método de suspensão, possivelmente devido à ação contínua de enzimas proteolíticas.

O método PS também reduziu a porcentagem de CL em comparação ao método AS, resultado alinhado com outros estudos (Ahnström et al., 2012; Kamatara et al., 2014; Sørheim et al., 2001). A redução na CL pode ser atribuída à menor contração muscular no PS, que resulta em sarcômeros alongados e maior retenção de água no espaço interfilamentar. Estudos anteriores indicam que músculos menos contraídos mantêm mais água devido ao aumento no espaço disponível entre filamentos (Ahnström et al., 2012). No entanto, resultados contraditórios foram relatados por pesquisadores (Hou et al., 2014) que observaram que a suspensão e a maturação não influenciam a CL. Essa variação pode ser explicada por diferenças nas condições experimentais, como tipo de raça, idade dos animais ou metodologia de análise.

A maturação *pós mortem* da carne bovina é um processo necessário e muito comum afim de melhorar os atributos de qualidade (Terjung; Witte; Heinz, 2021) e essa tecnologia proporciona tempo e ambiente para o desenvolvimento e processos enzimáticos e oxidação (Ouali et al., 2013). O pH da carne tende a aumentar com o tempo de maturação e esse aumento é causado pela alcalinização devido à liberação dos produtos da proteólise *post-mortem* (Lee; Shin, 2019). A estabilidade da cor da carne durante a maturação é influenciada por fatores como o pH e a oxidação da mioglobina (Lindahl, 2011).

O croma e a matiz são parâmetros importantes na avaliação da cor da carne, sendo influenciados por diversos fatores, incluindo o tempo de maturação, pH e a perda de água. O croma representa a intensidade ou saturação da cor, indicando o quão vibrante e intenso é o tom da carne e a matiz refere-se à tonalidade ou ao tom específico da cor, podendo variar de vermelho a marrom (Lindahl, 2011). Durante o processo de maturação da carne, alterações no croma e

no matiz podem ocorrer, refletindo mudanças na composição dos pigmentos musculares e na oxigenação dos tecidos, o que impacta diretamente na percepção visual e na aceitação do produto (Luciano et al., 2009).

Sensorial

Os consumidores na análise sensorial apontaram maior maciez para as carnes suspensas pelo método PS quando comparadas as carnes do tratamento AS, resultados também verificados em outros estudos da literatura (Ahnström et al., 2009; Ahnström; Hunt; Lundström, 2012; Baldassini et al., 2023). Houve interação entre as variáveis sabor, suculência e aceitação geral no método de suspensão e maturação. Isso mostra que a combinação PS e maturação proporciona uma melhora significativa na qualidade da carne, sendo recomendada para garantir a maciez e a aceitabilidade pelos consumidores (MORAN et al., 2021). Com carne de novilhas Angus maturada por 14 dias, pesquisadores (Park et al., 2008) reportaram que o método de suspensão PS afetou todas as características sensoriais, exceto o sabor, destacando a maciez como principal atributo melhorado. Esses resultados corroboram com a atual pesquisa, demonstrando que a suspensão pelo método PS melhorou a maciez sensorial da carne (Pogorzelski et al., 2022).

A interação dos resultados entre os métodos de suspensão e maturação foram condizentes com estudo publicado com animais cruzados Hostein e Limousine/Simmental (Pogorzelski; Pogorzelska; Wierzbicka, [S.d.]). De acordo com os autores, a maturação teve um efeito positivo na maciez da carne, com diferenças significativas entre os períodos de maturação de 7, 14 e 21 dias. A interação entre os tratamentos na avaliação sensorial indicou que o método de suspensão de carcaça e o período de maturação tiveram impactos significativos na maciez, suculência, sabor e aceitação geral dos cortes. Tal como observado no presente estudo, a combinação de suspensão PS e maturação pode afetar de forma distinta a suculência, sabor e aceitação geral devido a localização do músculo LTL (Pogorzelski et al., 2022).

4.2. Metabolomica

Em virtude do alto custo e do tempo de análise demandado pela técnica de RMN ^1H , a estratégia de *pooling* de amostras foi adotada. Este método

otimiza o uso do equipamento e dos recursos, permitindo uma análise metabólica robusta e viável dentro do escopo do projeto. A abordagem garante que o perfil metabólico obtido seja uma representação confiável da resposta média de cada grupo experimental ao tratamento de maturação.

4.2.1. Compostos orgânicos voláteis (CG-MS)

Entre os álcoois detectados, compostos como 1-hexanol e 1-pentanol se destacaram por suas elevadas concentrações, especialmente na PS. Esses compostos são conhecidos por conferir notas herbáceas, que adicionam frescor e complexidade sensorial à carne (Campo et al., 2006). O aumento dessas substâncias na PS pode ser explicado pelo incremento na proteólise, que gera uma rápida disponibilidade de substratos, como aminoácidos livres, favorecendo a formação de compostos voláteis associados ao sabor. Por outro lado, a suspensão por AS apresentou concentrações mais baixas desses álcoois, o que sugere um processo mais lento de degradação proteica, refletindo em um perfil sensorial menos intenso (Saraiva et al., 2015). As cetonas, como 2-heptanona e 2-nonanona, também apresentaram maiores concentrações na PS. Esses compostos são derivados da oxidação de ácidos graxos e proporcionam notas frutadas e maduras, características de carnes bem desenvolvidas e amplamente apreciadas sensorialmente (Bork et al., 2022).

Os aldeídos foram especialmente destacados na PS, contribuindo com notas herbáceas e de gordura oxidada, frequentemente associadas a carnes maturadas. Esses compostos se formam pela degradação de ácidos graxos insaturados, um processo que é intensificado pela rápida depleção energética e pelo ambiente bioquímico mais ácido observado na PS. Isso sugere que a PS favorece uma maturação mais acelerada, promovendo a liberação de aromas típicos de carnes maturadas (Tatiyaborworntham et al., 2022). Além disso, a maior atividade de enzimas lipolíticas na PS pode ter contribuído para intensificar a geração desses aldeídos, reforçando a eficiência desse método em acelerar os processos bioquímicos de maturação.

Por outro lado, os hidrocarbonetos foram mais prevalentes na suspensão por AS, indicando uma menor oxidação lipídica inicial (Fu et al., 2022). Embora esses compostos tenham pouca contribuição direta para o aroma, sua formação

está associada a processos de estabilização lipídica. Na PS, a menor formação de hidrocarbonetos foi acompanhada por um aumento relativo de aldeídos e cetonas, que têm impacto direto no aroma da carne. Isso reforça a ideia de que a PS intensifica os processos bioquímicos ligados à maturação e ao desenvolvimento do aroma (Fu et al., 2022).

4.2.2. Metabólitos não voláteis (NMR)

A maior concentração de aminoácidos livres na suspensão pélvica (PS) indica uma degradação proteica mais avançada. Estudos prévios confirmam que, durante o rigor mortis, ocorre uma rápida quebra de proteínas musculares, resultando no aumento dos níveis de aminoácidos livres e peptídeos (Thompson et al., 2006). A taxa de degradação proteica pode variar conforme as condições estruturais e bioquímicas, explicando o perfil diferenciado entre PS e a suspensão por AS.

O método PS pode acelerar significativamente o processo de rigor mortis possivelmente devido à maior liberação de cálcio, tanto do retículo sarcoplasmático quanto das mitocôndrias. O cálcio intracelular é essencial para a contração muscular e a ativação do rigor mortis, pois possibilita a formação de ligações entre as proteínas contráteis actina e miosina (López-Bote, 2017). Na PS, a ausência de compressão muscular favorece a liberação eficiente de cálcio, resultando em contrações mais eficazes e em um início mais rápido do rigor mortis. Essa aceleração influencia diretamente a textura e a qualidade final da carne (Ahnström et al., 2012).

Além disso, o cálcio intracelular ativa as calpaínas, enzimas dependentes de cálcio responsáveis pela degradação de proteínas miofibrilares, como desmina e titina (Zhao et al., 2025). A ativação precoce das calpaínas na PS, devido à maior disponibilidade de cálcio, pode ter contribuído para o amaciamento mais rápido da carne, promovendo uma proteólise mais intensa. A correlação positiva entre a atividade de calpaínas e a maciez da carne reforça a importância desse mecanismo na melhoria da textura (Wang et al., 2018; Warner et al., 2022).

A alta concentração de maltose na PS indica um metabolismo acelerado de carboidratos. A maltose, glicose e ADP detectados no grupo PS sugerem uma ativação intensificada da glicólise anaeróbica, crucial para a rápida ressíntese de

ATP durante o rigor mortis (Soji; Chulayo, 2020). Esse metabolismo acelerado pode ser explicado pelo aumento da disponibilidade de substratos metabólicos e pela via de metabolização da glicose e maltose, que oferece suporte à produção de energia em condições de estresse celular (Chen et al., 2016). Essas diferenças no metabolismo energético foram evidenciadas pelo enriquecimento das vias metabólicas, sendo que a via mais importante foi a do metabolismo de amido e sucrose, efeito de Warburg, oxidação de ácidos graxos e cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria.

O efeito Warburg, evidenciado pelo aumento de glicose e ácido glutâmico no grupo PS, pode ser outro fator explicativo para as diferenças observadas. O efeito Warburg é caracterizado pelo aumento da glicólise anaeróbica mesmo na presença de oxigênio, sendo geralmente observado em células de rápido crescimento, como células tumorais, mas também presente em células musculares sob estresse (Gómez et al., 2020; Muroya et al., 2023). Em carne bovina, o aumento da glicólise anaeróbica sugere uma rápida utilização dos estoques de glicogênio muscular, o que resulta em uma queda mais rápida do pH post-mortem e aceleração da proteólise.

No grupo AS, a maior concentração de succinato reflete a manutenção prolongada do ciclo de Krebs, indicando que esse método favorece a fosforilação oxidativa e preserva a integridade muscular por mais tempo (Murphy; O'Neill, 2018). Essa manutenção do metabolismo energético retarda o rigor mortis, resultando em menor degradação proteica e menor maciez. Os resultados obtidos, tanto na análise sensorial quanto nos testes objetivos de maciez, confirmam essa observação. Além disso, a maior concentração de histidina e isoleucina na AS está associada à preservação da integridade proteica. A histidina, precursora da carnosina, desempenha um papel como tampão contra acidose, retardando a degradação proteica (Boldyrev; Aldini; Derave, 2013). Embora essa ação limite a ativação de proteases responsáveis pela proteólise, também resulta em carne menos macia, como apontado em estudos prévios sobre métodos de suspensão de carcaças.

5. CONCLUSÃO

A PS demonstrou ser uma estratégia eficaz para melhorar a qualidade da carne Nelore, promovendo uma maciez superior e maior aceitação sensorial quando aliada à maturação. Este método acelera processos bioquímicos cruciais, como a liberação precoce de cálcio, a glicólise anaeróbica e a proteólise intensa, resultando em uma resolução mais rápida do *rigor mortis* e na antecipação da proteólise tardia característica da raça. Além disso, a PS favorece a formação de compostos aromáticos complexos (aldeídos e cetonas), conferindo notas sensoriais mais intensas. Em contraste, a AS mantém o metabolismo energético por mais tempo, com um perfil de desenvolvimento aromático mais lento e equilibrado, associado a notas de frescor e suculência, embora gere um perfil sensorial menos intenso. As diferenças metabólicas entre os métodos explicam integralmente as variações observadas na maciez, sabor e aroma da carne.

Contribuições dos autores

Conceitualização, MAT, LALC, WAB; metodologia, MAT, RCR, ASO; investigação, MAT; recursos LALC; curadoria de dados, MAT, ASO, EGAF; redação — preparação do rascunho original, MAT; redação — revisão e edição, MAT, NRBC, WAB, LALC; visualização, MAT e LALC; supervisão, LALC; administração do projeto, LALC; aquisição de financiamento, LALC Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.; Frigorífico CowPig em especial ao Renato Sebastiani.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. **BEEF REPORT 2023 | PERFIL DA PECUÁRIA NO BRASIL.** , 2023. Disponível em: <<https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Final-Beef-Report-2023-Completo-Ver-sao-web.pdf>>

AHNSTRÖM, M. L. *et al.* Influence of carcass suspension on meat quality of Charolais heifers from two sustainable feeding regimes. **animal**, v. 3, n. 6, p. 906–913, jun. 2009.

AHNSTRÖM, M. Lundesjö *et al.* Influence of slaughter age and carcass suspension on meat quality in Angus heifers. **animal**, v. 6, n. 9, p. 1554–1562, set. 2012.

AHNSTRÖM, Maria Lundesjö; HUNT, Melvin C.; LUNDSTRÖM, Kerstin. Effects of pelvic suspension of beef carcasses on quality and physical traits of five muscles from four gender-age groups. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 528–535, mar. 2012.

ALVES FILHO, Elenilson G. *et al.* 1H NMR spectra dataset and solid-state NMR data of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Data in Brief**, v. 11, p. 136–146, 1 abr. 2017.

BALDASSINI, Welder *et al.* Bos indicus Carcasses Suspended by the Pelvic Bone Require a Shorter Aging Time to Meet Consumer Expectations Regarding Meat Quality. **Foods**, v. 12, n. 5, p. 930, 22 fev. 2023.

BALDASSINI, Welder A. *et al.* Exploring the Longissimus Muscle: Unraveling its Correlation with Meat Quality in Bos indicus and Crossbred Bulls. **Journal of Visualized Experiments (JoVE)**, n. 209, p. e66764, 12 jul. 2024.

BALLABIO, Davide; CONSONNI, Viviana. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. **Analytical Methods**, v. 5, n. 16, p. 3790–3798, 26 jul. 2013.

BARBUT, Shai. Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, n. 3, p. 455–457, set. 1996.

BOLDYREV, Alexander A.; ALDINI, Giancarlo; DERAIVE, Wim. Physiology and Pathophysiology of Carnosine. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 4, p. 1803–1845, out. 2013.

BORK, Leon V. *et al.* Formação de melanoidinas – Reações aldólicas de intermediários de Maillard heterocíclicos e de cadeia curta. **Food Chemistry**, v. 380, p. 131852, 30 jun. 2022.

BRESSAN, Maria Cristina *et al.* Physicochemical properties of meat from Bos taurus and Bos indicus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1250–1259, jun. 2011.

CAI, Wentao *et al.* Effects of Neck-Arm Restraint Suspension of Beef Carcasses on Meat Quality and Proteome of Different Muscles During Post-mortem Aging. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 21 dez. 2021.

CAI, Wentao *et al.* Proteome changes in Neck-arm restraint and Achilles tendon suspensions during early post-mortem aging in cattle. **Livestock Science**, v. 274, p. 105288, 1 ago. 2023.

CAMPO, M. M. *et al.* Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 303–311, 1 fev. 2006.

CHEN, Lijuan *et al.* Phosphorylation of myofibrillar proteins in post-mortem ovine muscle with different tenderness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p. 1474–1483, 2016.

CULLER, R. D. *et al.* Relationship of Myofibril Fragmentation Index to Certain Chemical, Physical and Sensory Characteristics of Bovine Longissimus Muscle. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 4, p. 1177–1180, 1978.

DE CARVALHO BAPTISTA, Rafaela. **Pacu, patinga e tambacu: percepção de segurança, estudo do comportamento microbiológico por modelagem preditiva e metagenômica e desenvolvimento de uma mistura de antimicrobianos naturais para sua**

preservação. Doutora em Ciência de Alimentos—Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 7 maio 2018.

FREITAS, João Vito B. *et al.* Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. **Talanta**, v. 180, p. 329–336, 1 abr. 2018.

FU, Yinghua *et al.* Flavor formation based on lipid in meat and meat products: A review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. e14439, 2022.

GODFRAY, H. Charles J. *et al.* Meat consumption, health, and the environment. **Science**, v. 361, n. 6399, p. eaam5324, 20 jul. 2018.

GÓMEZ, E. *et al.* Metabolomic Profiling of Bos taurus Beef, Dairy, and Crossbred Cattle: A Between-Breeds Meta-Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 32, p. 8732–8743, 12 ago. 2020.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 177, n. 2, p. 751–766, fev. 1949.

HERNÁNDEZ SALUEÑA, Begoña *et al.* CIELAB color paths during meat shelf life. **Meat Science**, v. 157, p. 107889, 1 nov. 2019.

HOU, Xu *et al.* Effect of suspension method and aging time on meat quality of Chinese fat-tened cattle M. Longissimus dorsi **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 640–645, 1 jan. 2014.

KAMATARA, K. *et al.* Influence of age and method of carcass suspension on meat quality attributes of pure bred Ankole bulls. **Livestock Science**, v. 169, p. 175–179, 1 nov. 2014.

LEE, Eun-Joo; SHIN, Han-Seung. Development of a freshness indicator for monitoring the quality of beef during storage. **Food Science and Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 1899–1906, 1 dez. 2019.

LINDAHL, Gunilla. Colour stability of steaks from large beef cuts aged under vacuum or high oxygen modified atmosphere. **Meat Science**, 2011.

LÓPEZ-BOTE, Clemente. Chapter 4 - Chemical and Biochemical Constitution of Muscle. *In*: TOLDRA, Fidel (Org.). **Lawrie's Meat Science (Eighth Edition)**. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. [S.l.]: Woodhead Publishing, 2017. p. 99–158.

LUCIANO, G. *et al.* Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. **Meat Science**, v. 82, n. 2, p. 193–199, 1 jun. 2009.

Meat Standards Australia beef information kit. North Sydney: Meat & Livestock Australia, 2011.

MUROYA, Susumu *et al.* Metabolomic profiling of postmortem aged muscle in Japanese Brown beef cattle revealed an interbreed difference from Japanese Black beef. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 3, p. 506–520, mar. 2023.

MURPHY, Michael P.; O'NEILL, Luke A. J. Krebs Cycle Reimagined: The Emerging Roles of Succinate and Itaconate as Signal Transducers. **Cell**, v. 174, n. 4, p. 780–784, 9 ago. 2018.

OLIVEIRA, Camila P. *et al.* Medium Voltage Electrical Stimulation and Aging Enhance Meat Quality in Crossbred Bulls. **Food and Bioprocess Technology**, 28 dez. 2024.

OUALI, Ahmed *et al.* Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, 59 th International Congress of Meat Science and Technology , 18-23 August 2013 Izmir/Turkey. v. 95, n. 4, p. 854–870, 1 dez. 2013.

PARK, B. Y. *et al.* Effect of carcass suspension and cooking method on the palatability of three beef muscles as assessed by Korean and Australian consumers. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 11, p. 1396–1404, 16 out. 2008.

PIKUL, Jan; LESZCZYNSKI, Dennis E.; KUMMEROW, Fred A. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1309–1313, set. 1989.

POGORZELSKI, Grzegorz *et al.* Towards an integration of pre- and post-slaughter factors affecting the eating quality of beef. **Livestock Science**, v. 255, p. 104795, 1 jan. 2022.

POGORZELSKI, Grzegorz; POGORZELSKA, Ewelina; WIERZBICKA, Agnieszka. Effects of pelvic suspension of beef carcasses and wet aging time of cuts on eating quality and sensory scores of 14 muscles. *[S.d.]*.

RAMALINGAM, Vaikundamoorthy; SONG, Zhen; HWANG, Inho. The potential role of secondary metabolites in modulating the flavor and taste of the meat. **Food Research International**, v. 122, p. 174–182, 1 ago. 2019.

SANTANA FILHO, Nivaldo B. *et al.* Physicochemical and sensory characteristics of meat from young Nellore bulls fed different levels of palm kernel cake. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 10, p. 3590–3595, 2016.

SANTOS, Diva *et al.* The most important attributes of beef sensory quality and production variables that can affect it: A review. **Livestock Science**, v. 250, p. 104573, 1 ago. 2021.

SARAIVA, Cristina *et al.* Implementation of multivariate techniques for the selection of volatile compounds as indicators of sensory quality of raw beef. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3887–3898, 1 jun. 2015.

SHI, Haibo *et al.* Techniques for postmortem tenderisation in meat processing: effectiveness, application and possible mechanisms. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 3, n. 1, p. 21, 22 jul. 2021.

SILVA, Danielly B. S. *et al.* Spliced genes in muscle from Nelore Cattle and their association with carcass and meat quality. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 14701, 7 set. 2020.

SOJI, Zimkhitha; CHULAYO, Amanda Y. WITHDRAWN: Beef tenderness evaluation using early post-mortem muscle nanostructure. **Animal Bioscience**, 21 ago. 2020.

SØRHEIM, O. *et al.* Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of *m. longissimus dorsi*. **Meat Science**, v. 57, n. 1, p. 79–85, 1 jan. 2001.

TATIYABORWORNTHAM, Nantawat *et al.* Paradoxical effects of lipolysis on the lipid oxidation in meat and meat products. **Food Chemistry: X**, v. 14, p. 100317, 30 jun. 2022.

TERJUNG, Nino; WITTE, Franziska; HEINZ, Volker. The dry aged beef paradox: Why dry aging is sometimes not better than wet aging. **Meat Science**, v. 172, p. 108355, fev. 2021.

THOMPSON, J. M. *et al.* Genetic and environmental effects on the muscle structure response post-mortem. **Meat Science**, 52nd International Congress of Meat Science and Technology (52nd ICoMST) 13-18 August 2006 Dublin, Ireland. v. 74, n. 1, p. 59–65, 1 set. 2006.

WANG, Linlin *et al.* Effect of mitochondrial cytochrome c release and its redox state on the mitochondrial-dependent apoptotic cascade reaction and tenderization of yak meat during postmortem aging. **Food Research International**, v. 111, p. 488–497, 1 set. 2018.

WARNER, Robyn D. *et al.* Meat tenderness: advances in biology, biochemistry, molecular mechanisms and new technologies. **Meat Science**, v. 185, p. 108657, 1 mar. 2022.

WHEELER, T. L. *et al.* Effects of cooking and shearing methodology on variation in Warner-Bratzler shear force values in beef2. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 9, p. 2325–2330, 1 set. 1994.

WOLCOTT, M. L. *et al.* Genetics of meat quality and carcass traits and the impact of tenderstretching in two tropical beef genotypes. **Animal Production Science**, v. 49, n. 6, p. 383, 2009.

XU, Yongxia *et al.* Physicochemical Responses and Quality Changes of Turbot (*Psetta maxima*) During Refrigerated Storage. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 1, p. 196–209, 2 jan. 2016.

ZHAO, Yingxin *et al.* Apoptosis and its role in postmortem meat tenderness: A comprehensive review. **Meat Science**, v. 219, p. 109652, 1 jan. 2025.

CAPÍTULO 3

DRY AGED FAVORECE A QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS NELORE (*BOS INDICUS*): UM OVERVIEW METABOLÔMICO

Murilo Augusto TAGIARIOLLI^{1*}; Rafaela Cristina RODRIGUES¹; Arthur Sunhog ORSI^{3,6}; Elenilson Godoy ALVES FILHO⁴; Nara Regina Brandão CÔNSOLO⁵; Anderson de Souza SANT'ANA⁶; Otávio Rodrigues MACHADO NETO^{1,2}; Rogério Abdallah CURI^{1,2}; Guilherme Luis PEREIRA^{1,2}; Welder Angelo BALDAS-SINI^{1,2}; Luis Artur Loyola CHARDULO^{1,2*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal 14884-900, SP, Brasil

²Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu 18610-034, SP, Brasil

³ Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil

⁴ Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza 60455-760, CE, SP, Brasil

⁵ Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga 13635-900, SP, Brasil.

⁶ Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Veterinária, 24230-340, Niterói, Brasil

*Autor a quem a correspondência deve ser endereçada.

E-mail autor correspondente: murilo.tagiariolli@unesp.br; luis.artur@unesp.br

Resumo

Objetivou-se comparar os efeitos da maturação úmida *wetaged* (*Wet*) e a maturação seca *dryaged* (*Dry*) utilizando abordagens físico-química e molecular nas características da carne de bovinos da raça Nelore. Amostras do *Longissimus thoracis et. lumborum* foram coletadas (entre a 12^a e 13^a costela) na desossa (48h post-mortem) de 10 touros Nelore terminados em confinamento comercial com idade média de 30 meses e peso de abate de 590 ± 57 kg. Após a maturação por 28 dias, realizada em um delineamento pareado onde cada amostra Dry e Wet (n=10/grupo) foi proveniente da mesma carcaça, foram determinadas a força de cisalhamento (WBSF), cor da carne (L, a, b*, Chroma [Chr] e Hue), pH final, perdas por cozimento (gotejamento, evaporação e totais), capacidade de retenção de água (WHC), oxidação lipídica (TBARS) e índice de fragmentação

miofibrilar (MFI). Adicionalmente, ensaios de metabolômica foram conduzidos em amostras controle (coletadas após desossa sem aplicação de maturação) e amostras maturadas pelos métodos *Dry* e *Wet* utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS) e ressonância magnética nuclear ($^1\text{H-NMR}$) visando identificação de metabólitos voláteis e não voláteis, respectivamente. O método *Dry* resultou em uma redução no valor de a^* , b^* e L ($P < 0,01$). O *Chr* também foi menor no *Dry* ($P < 0,01$), enquanto o pH foi menor no método *Wet* ($P < 0,01$). A maturação *Wet* apresentou maiores valores para EL e CL ($P < 0,01$). Já o método *Dry* mostrou uma maior WHC ($P < 0,01$). Em relação à oxidação lipídica, o método *Wet* teve menores níveis de TBARS ($P = 0,02$). Na análise de compostos orgânicos voláteis (VOCs), o método *Dry* destacou-se pela maior concentração de compostos relacionados a aldeídos, cetonas, furanoides e aromáticos, enquanto o *Wet* apresentou maior abundância de álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres. A análise de $^1\text{H-NMR}$ revelou que o *Dry* aumentou a concentração de metabólitos como glutamato, colina, acetato e alanina, enquanto o *Wet* influenciou principalmente alanina, carnitina e glicina. A análise de enriquecimento metabólico identificou 25 vias principais, com destaque para o metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos. O método *Dry* mostrou maior atividade em vias como glicólise, gliconeogênese e ciclo glicose-alanina, associadas a maiores concentrações de D-glucose, ácido glutâmico e L-alanina. A maturação *Dry* promoveu maior degradação lipídica e proteica, refletida pela ativação de vias como o metabolismo de triptofano e a oxidação de glicerolipídios, o que está diretamente associado ao sabor mais rico e ao perfil aromático complexo da carne maturada a seco. Compostos como hexanal, 2-nonenal e 2-heptanona, derivados da oxidação lipídica e reações de Maillard, sugerem maior formação de compostos associados a notas aromáticas de gordura oxidada. Por outro lado, o método *Wet*, caracterizado por um ambiente anaeróbico, favoreceu a produção de álcoois e ácidos orgânicos, como 2,3-butanodiol, resultantes do metabolismo de bactérias lácticas. Esse processo pode contribuir para obtenção de maior suculência, porém com menor intensidade de sabor em comparação ao *Dry*. Conclui-se que a maturação *Dry* promoveu alterações metabólicas e físico-químicas distintas, com potencial impacto na qualidade sensorial da carne, enquanto o *Wet* apresenta vantagens na redução da oxidação lipídica e na manutenção da suculência. As diferenças observadas não se devem apenas à desidratação, mas também a processos metabólicos específicos em cada método.

Palavras-chave: *Bos indicus*, maturação da carne, metabolômica, oxidação lipídica, proteólise.

DRY AGED IMPROVES MEAT QUALITY OF NELLORE CATTLE (*BOS INDICUS*): A METABOLOMIC OVERVIEW

Abstract

This study aimed to compare the effects of wet aging (Wet) and dry aging (Dry) on beef quality using physicochemical and molecular approaches. Samples of *Longissimus thoracis et lumborum* were collected (between the 12th and 13th ribs) during deboning (24 h post-mortem) from 10 Nelore bulls finished in a commercial feedlot, with an average age of 30 months and a slaughter weight of 590 ± 57 kg. After aging (Wet vs. Dry; $n = 10$ each) for 21 days, the following parameters were determined: shear force (WBSF), meat color (L^* , a^* , b^* , Chroma, and Hue), final pH, cooking losses (drip, evaporation, and total), water-holding capacity (WHC), lipid oxidation (TBARS), and myofibrillar fragmentation index (MFI). Additionally, metabolomic analyses were performed using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and nuclear magnetic resonance (^1H NMR) to identify volatile and non-volatile metabolites. The Dry method resulted in a reduction in a^* , b^* , and L^* values ($P < 0.01$). Chroma was also lower in Dry ($P < 0.01$), while pH was lower in the Wet method ($P < 0.01$). Wet aging showed higher values for EL and CL ($P < 0.01$), whereas Dry aging exhibited higher WHC ($P < 0.01$). Regarding lipid oxidation, the Wet method had lower TBARS levels ($P = 0.02$). In the analysis of volatile organic compounds (VOCs), the Dry method stood out for its higher concentration of compounds related to aldehydes, ketones, furanoids, and aromatics, while Wet aging showed greater abundance of alcohols, aldehydes, ketones, and esters. ^1H NMR analysis revealed that Dry aging increased the concentration of metabolites such as glutamate, choline, acetate, and alanine, while Wet aging primarily influenced alanine, carnitine, and glycine. Metabolic enrichment analysis identified 25 main pathways, with emphasis on carbohydrate, lipid, and amino acid metabolism. The Dry method showed higher activity in pathways such as glycolysis, gluconeogenesis, and the glucose-alanine cycle, associated with higher concentrations of D-glucose, glutamic acid, and L-alanine. Dry aging promoted greater lipid and protein degradation, reflected by the activation of pathways such as tryptophan metabolism and glycerolipid oxidation, which are directly associated with the richer flavor and complex aromatic profile of dry-aged meat. Compounds such as hexanal, 2-nonenal, and 2-heptanone, derived from lipid oxidation and Maillard reactions, suggest the formation of compounds associated with oxidized fat aromas. On the other hand, the Wet method, characterized by an anaerobic environment, favored the production of alcohols and organic acids, such as 2,3-butanediol, resulting from lactic acid bacteria metabolism. This process contributed to a distinct sensory profile, with greater juiciness and less flavor intensity compared to Dry aging. In conclusion, Dry aging promotes distinct metabolic and physicochemical changes, with potential impacts on the sensory quality of meat, while Wet aging offers advantages in reducing lipid oxidation and maintaining juiciness. The observed differences are not solely due to dehydration but also to specific metabolic processes that generate unique sensory profiles in each method.

Keywords: *Bos indicus*, meat aging, metabolomics, lipid oxidation, proteolysis.

1. INTRODUÇÃO

A maturação a seco, também conhecida como “*Dry aging*”, é uma técnica que tem atraído a atenção de consumidores e pesquisadores devido aos seus efeitos positivos na qualidade sensorial da carne (Álvarez et al., 2021). Este método, que envolve a exposição controlada da carne a condições ambientais específicas, promove a desidratação e a concentração de compostos de sabor, além de favorecer processos enzimáticos que melhoram a textura da carne (Dashdorj et al., 2016). Já a maturação úmida, também conhecida como *Wet aging*, é um processo em que as carnes são embaladas a vácuo e armazenados em um ambiente refrigerado por certo período. Este método é amplamente utilizado na indústria de carnes por suas vantagens, como a significativa redução na perda de peso, menos perda de aparas, menor espaço de armazenamento e prolongamento da vida útil sem comprometer a palatabilidade (Kim et al., 2018).

Animais *Bos indicus* ou zebuínos, são amplamente produzidos no Brasil e em outros países tropicais (Nunes et al., 2024; Silva et al., 2016). No entanto, a carne desses bovinos é considerada de qualidade inferior em comparação às raças *Bos taurus*, principalmente devido à menor maciez e ao reduzido teor de gordura intramuscular, fatores que impactam diretamente na percepção de qualidade pelo consumidor (Ramos et al., 2024). Nesse contexto, os métodos de maturação surgem como estratégia para permitir que os cortes se tornem mais macios e saborosos ao longo do tempo.

Embora a maturação a seco seja amplamente reconhecida por suas vantagens sensoriais, como a melhoria do sabor e da maciez (Berger et al., 2018; Setyabrata et al., 2021), o conhecimento sobre seus efeitos na carne de Nelore ainda é limitado, especialmente no tocante as alterações bioquímicas e moleculares. A maioria dos estudos existentes (Liu et al., 2025; Zhang et al., 2025) está focado em raças taurinas. Os mecanismos moleculares influenciados pela maturação a seco na carne de zebuínos, particularmente a raça Nelore, ainda carecem de investigações detalhadas. Nesse contexto, o uso de abordagens avançadas, como a metabolômica (Muroya et al., 2020; Ramanathan et al., 2023) surge como uma ferramenta promissora para preencher essas lacunas e

aprofundar o entendimento sobre as transformações que ocorrem na carne durante a maturação a seco.

A metabolômica envolve a análise de perfis de metabólitos para entender as alterações bioquímicas, sendo uma ferramenta valiosa para identificar os compostos que contribuem para as mudanças no sabor, textura e aroma durante o processo de maturação (Ramanathan et al., 2023). Na literatura, dois estudos recentes avaliaram compostos voláteis e não voláteis na carne bovina, descrevendo seus impactos sobre características como o perfil aromático e maciez. Li et al. (2021) identificaram que a maturação a seco promove a formação de compostos como aldeídos e cetonas, que estão associados a notas aromáticas de nozes e manteiga. Já Muroya et al. (2020) destacaram o papel de metabólitos como glutamato e lactato na intensificação do sabor umami e na melhoria da textura da carne maturada.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi comparar as diferenças na qualidade da carne de bovinos Nelore após aplicação da maturação úmida versus maturação a seco, avaliando-se características físico-químicas e metabólicas da carne.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Campus de Botucatu (protocolo nº 0094/2020; data de aprovação: 12 de agosto de 2020).

2.1. Animais e coleta de amostras de carne

Foram utilizados 10 bovinos Nelores, machos não castrados, produzidos em sistema extensivo e terminados em confinamento, com idade média de 30 meses e peso de abate de 590 ± 57 kg. O peso de abate foi determinado com base no protocolo comercial do frigorífico, seguindo os padrões de seus produtos cárneos. Todos os animais foram manejados de maneira uniforme e submetidos às mesmas condições nutricionais durante o confinamento, recebendo uma dieta composta por 15% de volumoso (bagaço de cana) e 85% de concentrado (milho grão seco moído, farelo de soja, ureia e uma mistura mineral). Os animais foram

abatidos em frigorífico comercial localizado em Boituva, São Paulo, Brasil e o peso médio da carcaça quente foi de $372,26 \pm 11,45$ kg.

Após o resfriamento (48h post-mortem), amostras do músculo *Longissimus thoracis et. lumborum* (LTL) foram coletadas da meia carcaça de cada animal (entre a 12ª e 13ª costela) e, posteriormente, utilizadas nos processos de maturação, análises laboratoriais de qualidade de carne e ensaios de biologia molecular. Do abate até o início das maturações as carnes permaneceram 5 dias *post-mortem* sob resfriamento ($1 - 2$ °C) para o total estabelecimento do *rigor mortis*, quando então coletou-se um bife de cada meia carcaça para caracterização inicial.

As alíquotas utilizadas para a análise metabolômica foram obtidas a partir de amostras coletadas e depois transformadas em pool, com a coleta ocorrendo após a desossa. As amostras denominadas controle (sem aplicação de maturação) foram preservadas imediatamente em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em ultrafreezer a -80 °C, a fim de preservar a integridade metabólica. Cada amostra foi coletada e armazenada em tubos Falcon, com aproximadamente 5 g por alíquota. Essas amostras de carne não passaram por maturação seca (*Dry*) nem úmida (*Wet*), sendo utilizadas para comparação com as amostras que passaram por diferentes tipos de maturação.

2.2. Preparação das amostras e maturação

Para aplicação dos métodos de maturação foi utilizado um período de 28 dias: maturação úmida (wet-aged - *Wet*) e a seco (dry-aged - *Dry*). Para cada tipo de maturação foi utilizada uma amostra da meia-carcaça de cada animal, distribuída aleatoriamente entre os tratamentos. As alíquotas utilizadas nas análises de biologia molecular foram coletadas após o período de maturação, sendo preservadas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento das análises. Para a maturação úmida, foram retirados dois bifes do LTL com espessura de 2,54 cm, os quais foram embalados a vácuo e maturados por 28 dias em uma câmara BOD (TE-371, TECNAL, Piracicaba, São Paulo, Brasil), mantendo-se a temperatura entre 0 e 2 °C e assim denominada maturação *Wet*. Para a maturação úmida, foram utilizados sacos plásticos especiais, projetados para alto vácuo e baixa permeabilidade ao oxigênio. Para a maturação a seco um bife com espessura

de 12 cm foi colocado em uma câmara dryager (Eletrofrio, Dry Aged 1.20M, Londrina, Brasil) com temperatura de 0 a 2 °C, ventilação acima de 0,5 m/s e umidade média de 50%, conforme descrito pela literatura (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016) e assim denominando-se tratamento *Dry*. A temperatura, umidade e ventilação foram aferidas a cada dois dias, a fim de garantir o cumprimento das normas sanitárias e dos parâmetros exigidos para a maturação a seco. Ao final do processo de maturação úmida, as amostras foram congeladas imediatamente. As amostras submetidas à maturação a seco passaram por um processo de limpeza (*trimming*), seguido pela retirada do osso (*toilette*) e foram congeladas imediatamente.

2.3. Análises de qualidade de carne

As amostras de carne bovina dos dois tipos de maturação (*Dry* e *Wet*) foram descongeladas e, subsequentemente, utilizadas para análise de cor da carne, pH, força de cisalhamento (WBSF), perda por cozimento (CL), capacidade de retenção de água (WHC), oxidação lipídica (TBARS) e índice de fragmentação miofibrilar (MFI).

O pH das amostras foi analisado utilizando um pHmetro digital equipado com sonda de penetração (Modelo AK86, AKSO Instruments, Rio Grande do Sul, Brasil) calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0 à temperatura ambiente de 25 °C. A coloração da carne, avaliada pelos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (coloração vermelha) e b^* (coloração amarela), foi mensurada de acordo com o sistema CIELAB, utilizando um colorímetro KONICA MINOLTA - CR 400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), sob luz padrão D65, ângulo de observação de 10°, abertura de 5,0 cm e um display com reflectância Y variando de 0,01 a 160%. O índice colorimétrico *Chroma* (Chr), que representa a quantidade de cor ou saturação, foi calculado pela equação $[(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0,5}$ e o ângulo de tonalidade (*Hue*) a partir da fórmula $[\tan^{-1} (b^*/a^*)]$ (Hernández Salueña et al., 2019; Lopes et al., 2020).

Um bife de cada tratamento foi utilizado para determinar as perdas por cocção e a força de cisalhamento. As perdas por cocção (PC), perda por evaporação (EL) e perda por gotejamento (DL) foram determinadas como descrito por pesquisadores (Oliveira et al., 2024). Para determinar as perdas por cocção e a força

de cisalhamento (WBSF), as amostras e suas bandejas foram pesadas, identificadas e assadas em um forno industrial elétrico (Feri90 Venâncio Aires, Rio Grande do Sul, Brasil). Um termômetro digital (Modelo 612, ATP Instrumentation, Ashby-de-la-Zouch, Inglaterra) foi acoplado no centro geométrico das amostras para monitorar a temperatura interna. As amostras foram viradas quando atingiram 40 °C, sendo mantidas no forno até atingirem uma temperatura interna de 71 °C.

Após o cozimento, as amostras foram resfriadas em temperatura ambiente por 15 minutos e pesadas. Posteriormente, foram reembaladas e mantidas a 5 °C durante 12 horas (overnight). Após o resfriamento foram retirados oito cilindros de ½ polegada em sentido longitudinal às fibras musculares (Wheeler et al., 1994) para a determinação da força de cisalhamento (WBSF), cujos resultados foram expressos em quilogramas (kg). A WBSF foi obtida por meio de analisador de textura Brookfield CT-3 (AMETEK Brookfield, Middleborough, Massachusetts, Estados Unidos), equipado com lâmina Warner-Bratzler de aço inoxidável, com 3,07 mm de espessura e aresta de corte em formato de V (ângulo de 60°), aplicando-se uma velocidade de 20 cm/min.

A capacidade de retenção de água (WHC) foi determinada pela porcentagem de perda de água por pressão (Barbut, 1996). Para medir os produtos de oxidação lipídica, foi utilizado o método de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito na literatura (Pikul; Leszczynski; Kummerow, 1989). O índice de fragmentação miofibrilar (MFI) foi obtido segundo o método descrito na literatura (Culler et al., 1978). Brevemente, a concentração de proteína total foi estimada pelo método do biureto (Gornall; Bardawill; David, 1949) e leitura de absorbância em espectrofotômetro (Thermo Fisher, modelo Spectrum 2000UV, Massachusetts, Estados Unidos) a 540 nm.

2.4. Perfil de metabólitos

A escolha de metodologias distintas para a identificação de metabólitos voláteis e não voláteis se justifica pela necessidade de caracterizar de forma abrangente o perfil químico da carne, considerando que compostos voláteis estão diretamente relacionados ao aroma e sabor, enquanto os não voláteis fornecem informações sobre os processos bioquímicos associados à proteólise. A

comparação entre as amostras maturadas e o grupo controle foi realizada para elucidar as transformações bioquímicas promovidas pelos diferentes métodos de maturação.

2.4.1. Cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS)

A extração dos compostos voláteis foi realizada em 3 pools de amostras conforme descrito pela literatura (Xu et al., 2016). Após cada ponto de amostragem, as amostras destinadas à análise de cromatografia gasosa (CG) foram imediatamente armazenadas a -80 °C para prevenir a perda de analitos. As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo Agilent 7890A acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo Agilent 7000 (Agilent Technologies, Palo Alto, Califórnia, Estados Unidos). O gás hélio foi utilizado com uma vazão de 1 mL/min. Os dados foram adquiridos por meio da análise qualitativa e quantitativa utilizando o software Agilent MassHunter Workstation para espectrômetro de massas triple quadrupole (QQQ) (Agilent Technologies Inc. Santa Clara, Califórnia, Estados Unidos), juntamente com a biblioteca espectral de massa do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (versão 2.0, 2011, Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos) para consulta sobre fragmentação iônica.

Todas as análises foram conduzidas no modo splitless, utilizando um liner apropriado para análise por SPME (Extração em Fase Sólida). Foi empregada uma coluna capilar HP-5ms com dimensões de 30 m × 0,25 mm ID × 1,0 µm de película (Agilent Technologies, Palo Alto, Califórnia, Estados Unidos). Os parâmetros de temperatura do injetor e do forno foram otimizados de acordo com a literatura (Xu et al., 2016). Após a extração, a dessorção foi realizada imediatamente no injetor do cromatógrafo gasoso a 250 °C. A rampa de temperatura da coluna foi configurada da seguinte forma: 40 °C por 1 minuto, seguido de um aumento para 100 °C a uma taxa de 4 °C/min, e, em seguida, elevado para 230 °C a uma taxa de 6 °C/min, mantendo essa temperatura final por 1 minuto. Os espectros de massa foram adquiridos utilizando fragmentação por ionização eletrônica (70 eV). Os gases nitrogênio e hélio foram utilizados como gás de colisão, com a aquisição de dados em modo de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM). Antes da análise de MRM, foi realizada uma varredura completa sob as seguintes condições: velocidade de varredura de 10.000 amu/s e faixa de massa

de 30 a 400 m/z, a fim de investigar íons de produto e todas as transições de massa relevantes.

2.4.2. Ressonância magnética nuclear

Para a análise de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^1H -NMR), foram utilizados 3 pools de amostras que foram imediatamente armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após o congelamento e antes da análise, as amostras foram liofilizadas. Os procedimentos de análise de ^1H -NMR foram realizados conforme descrito na literatura (De Carvalho Baptista, 2018). Os experimentos de ^1H -NMR foram conduzidos em um espectrômetro Agilent de 600 MHz (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, Califórnia, Estados Unidos), equipado com um detector inverso One Probe™ de 5 mm ($^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -31P) com gradiente Z ativamente protegido. Os espectros de ^1H -NMR foram adquiridos em triplicata sob condições quantitativas, utilizando a sequência de pulso PRESAT para supressão da água em δ 4,86, com um pulso calibrado para 90° (comprimento de pulso de $9,62\text{ }\mu\text{s}$ a 58 dB de potência). Foram realizadas 32 varreduras, gerando 64 mil pontos no domínio do tempo com uma janela espectral de 20,0 ppm, um tempo de aquisição de 5,0 s e um atraso de relaxação de 25,0 s. Um valor pré-definido de 36 para o ganho do receptor foi utilizado em todas as aquisições, e a temperatura foi controlada a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os espectros foram processados aplicando multiplicação exponencial dos sinais de domínio do tempo (FID) por um fator de 0,3 Hz, seguido da transformação de Fourier com 64 mil pontos. A correção de fase foi realizada manualmente, e a correção da linha de base foi aplicada em toda a faixa espectral (Alves Filho et al., 2017). A identificação dos compostos presentes nas amostras foi realizada por meio de experimentos de ressonância magnética nuclear 2D (NMR 2D), incluindo COSY (espectroscopia de correlação), HSQC (coerência quântica única heteronuclear) e HMBC (correlação de ligações múltiplas heteronucleares), utilizando comparação com um banco de dados de acesso aberto (www.hmdb.ca). Os compostos que apresentaram grandes variações na quimiometria e que não exibiram ressonâncias sobrepostas foram quantificados utilizando o método de referência externa fornecido pelo programa VnmJ™ (versão 4.2, Agilent, Santa Clara, Califórnia, Estados Unidos).

2.5. Análise estatística

A análise estatística foi conduzida por meio de um Modelo Linear Misto (LMM), utilizando o pacote *lme4* no R *version* 4.4.2 (2024-10-31 ucrt). Para as variáveis MFI e TBARS, foi realizada uma transformação de Box-Cox para normalizar a distribuição dos dados, conforme necessário. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar o efeito dos tratamentos wet e dry, considerando um nível de significância de 5%.

As características de interesse foram analisadas considerando o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + A_j + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} representa a observação para a característica de interesse, μ é a média geral, F_i é o efeito do fator i (método de maturação: *Dry*, *Wet*), A_j é o efeito do animal j (aleatório) e e_{ijk} é o erro aleatório.

A análise estatística multivariada foi aplicada para avaliar a influência de diferentes métodos de maturação (*Dry* e *Wet*) no perfil de metabólitos da carne. Para a variabilidade dos compostos orgânicos voláteis (COVs), foi construída uma matriz numérica considerando os resultados semiquantitativos (área de sinais nos cromatogramas de GC-MS); e para a variabilidade dos metabólitos primários polares por $^1\text{H-NMR}$, os resultados quantitativos absolutos (concentrações em μM) foram utilizados para construção da matriz numérica. Cada matriz numérica foi importada separadamente pelo software PLS-Toolbox™ (versão 8.6.2, Eigenvector Research Incorporated, Manson, Washington, Estados Unidos) para avaliação classificatória por Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA), considerando cada maturação (*Dry* e *Wet*) e controle como classe de amostras.

Os conjuntos de dados GC-MS e $^1\text{H NMR}$ foram escalonados automaticamente (centrados na média com escalonamento de variância subsequente) e o algoritmo SVD (*Singular Value Decomposition*) foi aplicado para decompor as matrizes em pontuações, pesos e modelagem resíduos. O método *Venetian Blinds* (10 divisões e espessura da cortina igual a 1) foi utilizado para validação cruzada (CV) sob o nível de confiança de 95%; e o número de Variáveis Latentes (LV) foi escolhido com base nos seguintes parâmetros estatísticos: variância total capturada; distorção do modelo na calibração (bias) e na validação cruzada (CV bias); RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*); RMSECV (*Root Mean*

Square Error of Cross-validation); e índice de similaridade (RMSEC/RMSECV) (Ballabio; Consonni, 2013; Freitas et al., 2018). Devido à complexidade dos conjuntos de dados, pelo elevado número de compostos orgânicos (144 VOC identificados por GC-MS e 52 metabólitos identificados por ^1H NMR) e pela variabilidade experimental proposta (Controle, *Wet* e *Dry*), foi aplicada análise estatística multivariada supervisionada (PLS-DA) para classificar as amostras com base na variabilidade de sua composição em relação à condição de maturação: Controle, *Wet* e *Dry*.

A análise de VIP foi realizada utilizando os dados obtidos por GC-MS e ^1H NMR para avaliar a importância das variáveis (metabólitos) nas projeções do modelo de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA). A partir do modelo PLS-DA, foram calculados os escores de importância de variáveis (VIP) para identificar os metabólitos mais relevantes que contribuiriam para a diferenciação entre os grupos experimentais. Os valores de VIP superiores a 1,0 foram considerados como significativos para a discriminação entre os tratamentos, sendo esses metabólitos selecionados para a interpretação das diferenças bioquímicas observadas nas amostras.

A análise de enriquecimento de vias metabólicas foi conduzida utilizando-se a plataforma online MetaboAnalyst 5.0. Para tal, a lista dos metabólitos identificados pela análise de RMN ^1H que apresentaram VIP maior que 1 entre os tratamentos *Wet* e *Dry* foi submetida ao módulo de Análise de Enriquecimento de Vias. O banco de dados de referência selecionado para a análise foi o *Homo sapiens* (KEGG), padrão para estudos de tecido muscular. O algoritmo de sobre-representação foi baseado no teste hipergeométrico, e a topologia das vias foi analisada utilizando a medida de centralidade "Betweenness Centrality". As vias metabólicas foram consideradas significativamente enriquecidas com base em um p-value ajustado (FDR) inferior a 0,05, sendo subsequentemente rankeadas e visualizadas de acordo com o seu grau de enriquecimento.

3. RESULTADOS

3.1. Qualidade de carne

Os efeitos das maturações *Wet* e *Dry* sobre as variáveis de qualidade da carne foram descritos na Tabela 1. Os parâmetros DL, WBSF, *Hue* e MFI não apresentaram diferenças significativas entre os métodos de maturação.

Tabela 1. Efeitos dos métodos de maturação *Dry aging* e *Wet aging* sob as variáveis de qualidade de carne de bovinos Nelore (*Bos indicus*).

Variáveis	Maturação				P-valor
	Wet		Dry		
	Média	SE	Média	SE	
<i>a</i> *	13,8	0,57	8,46	0,79	< 0,01
<i>b</i> *	6,19	0,17	4,21	0,3	< 0,01
<i>L</i> *	33,95	1,21	27,76	0,92	< 0,01
<i>Hue</i>	24,33	0,78	27,07	1,43	0,09
<i>Chr</i>	15,14	0,56	9,48	0,81	< 0,01
pH	5,66	0,01	5,76	0,02	< 0,01
DL, %	4,86	0,34	4,00	0,61	0,22
EL, %	22,72	0,80	17,45	0,78	< 0,01
CL, %	27,58	1,00	21,44	0,88	< 0,01
WHC, %	59,1	1,10	69,69	1,53	< 0,01
WBSF, kg	3,11	0,12	3,05	0,10	0,48
TBARS, mg MDA/ kg carne	0,41	0,06	0,55	0,05	0,02
MFI	22,9	2,16	36,07	5,83	0,11

Wet= maturação úmida; Dry= maturação seca; SE= erro padrão; Intensidade de vermelho (*a**); Intensidade de amarelo (*b**); Luminosidade (*L**); Matiz (*Hue*); Croma (*Chr*); Perda por gotejamento (DL); Perda por evaporação (EL); Perdas por cocção (CL); Capacidade de retenção de água (WHC); Força de cisalhamento (WBSF); Oxidação lipídica (TBARS); Índice de fragmentação miofibrilar (MFI).

O método de maturação influenciou os parâmetros de cor da carne. Os valores de *a**, *b**, *L** e *Chr* foram significativamente maiores no grupo *Wet* em comparação ao *Dry* ($P < 0,01$). O pH foi mais alto no grupo *Dry* em comparação com o grupo *Wet* ($P < 0,01$). Em relação às perdas, EL e CL foram menores na carne maturada pelo método *Dry* em comparação ao *Wet* ($P < 0,01$). A carne do grupo *Dry* também apresentou maior WHC em relação ao grupo *Wet* ($P < 0,01$). A oxidação lipídica, avaliada por TBARS, foi maior no grupo *Dry* em relação ao grupo *Wet* ($P = 0,02$).

3.2. Perfil de metabólitos

Os gráficos de scores (LV1 × LV2) da avaliação dos conjuntos de dados de GC-MS e ¹H NMR foram descritos na Figura 1. Devido ao elevado número de

variáveis (144 VOC para GC-MS [Fig.1A] e 52 metabolitos para ^1H NMR [Fig. 1B]), os *loadings* de LV1 e LV2, assim como os resultados de VIP, foram apresentados na Tabela S1 (GC-MS) e na Tabela S2 (^1H -NMR).

De acordo com os resultados estatísticos multivariados dos VOC (conjunto de dados de GC-MS na Figura 1A), o LV1 foi o principal eixo relacionado à discriminação das carnes com base na duração da maturação, com as carnes controle apresentando escores positivos, e as carnes maturadas (independentemente da condição *Wet* ou *Dry*) com escores negativos. Além disso, o eixo LV2 está principalmente relacionado à discriminação entre as condições de maturação *Wet* e *Dry*, com as carnes maturadas em condição *Wet* apresentando escores positivos, e as carnes maturadas em condição *Dry* com escores negativos.

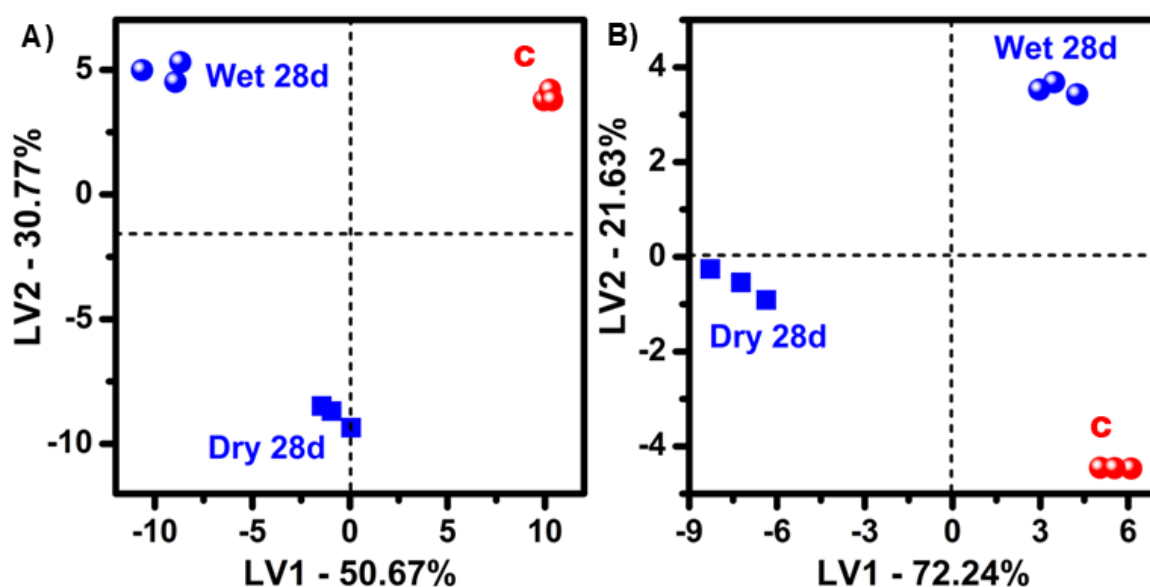


Figura 1 – Scores (LV1 $\times$ LV2) dos conjuntos de dados de GC-MS (a) e ^1H NMR (b) das carnes de Nelore, comparando a condição controle (círculos vermelhos) e *Wet* (círculos azuis), e *Dry* (quadrados azuis).

A análise multivariada dos metabolitos (conjunto de dados de ^1H -NMR na Figura 1B), revelou que o eixo LV1 foi relacionado à discriminação entre as condições *Wet* e *Dry*: carnes maturadas em condição úmida com escores positivos; e as carnes maturadas em condição *Dry* com escores negativos. Além disso, o eixo LV2 está relacionado à diferenciação das carnes com base na duração da maturação, principalmente em relação à condição *Wet* apresentando escores positivos, e as carnes controle com escores negativos. As carnes maturadas em condição *Dry* apresentaram escores intermediários no eixo LV2.

A análise por VIP identificou as variáveis mais relevantes para a identificação dessas amostras (valores das variáveis acima do limiar de 1), reduzindo a complexidade dos *loadings* de 144 para 87 variáveis para VOC, apresentados na tabela 2, e de 52 para 34 metabolitos. Os resultados dos *loadings* de LV1 da análise estatística multivariada dos VOC (conjunto de dados de GC-MS) revelaram grandes quantidades da maioria dos compostos identificados por GC-MS, destacados pela análise VIP em carnes maturadas, representadas pela cor azul, exceto os 7 VOC seguintes: heptano, 4,4-dimetil-; pentano, 3-etil-; glicerol; ciclobutanol; octano, 4-metil-; sulfeto de dimetila; e 2,4-dimetil-1-hepteno.

Tabela 2 – *Loadings* de LV1 e LV2 das avaliações de PLS-DA apresentadas na Figura 1a (conjunto de dados de GC-MS), com as variáveis destacadas pela análise de VIP e com as respectivas cores para o eixo LV1: controle (círculos vermelhos), Wet 28 dias (círculos azuis) e Dry 28 dias (quadrados azuis). Legendas para o eixo LV2: *Wet; e **Dry.

Variáveis	LV1 - 50.67%	LV2 - 30.77%	VIP
Álcoois			
1-Octen-3-ol		0.02*	1.24
1-Hexanol		-0.04**	1.22
1-Propanol		-0.05**	1.21
1-Tetradecanol		0.07*	1.17
1-Undecanol		0.06*	1.15
1-Propanol, 2-methyl-		0.08*	1.14
2,3-Butanediol		0.09*	1.13
2,3-Butanediol, [R-(R*,R*)]-		0.09*	1.13
Glycidol		-0.07**	1.11
Cyclobutanol		-0.07**	1.11
1-Pentanol		-0.09**	1.09
1-Butanol, 3-methyl-		0.10*	1.06
1-Butanol, 2-methyl-		0.11*	1.05
Hidrocarbonetos			

D-Limonene	-0.01**	1.2 2
Octane, 2-methyl-	0.01*	1.2 2
Cyclooctane, 1,2-dimethyl-	0.00	1.2 0
Nonane, 5-methylene-	0.02*	1.2 0
Dodecane	0.06*	1.1 9
Cyclooctane, 1,4-dimethyl-, trans-	0.06*	1.1 9
Cyclodecane	0.03*	1.1 9
Decane, 5-methyl-6-methylene-	0.07*	1.1 9
Undecane, 5-methyl-	0.07*	1.1 7
Cyclopentane, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	0.02*	1.1 7
Tetradecane	0.05*	1.1 6
Octane, 4-ethyl-	0.00	1.1 5
Cyclotridecane	0.07*	1.1 5
Tridecane, 5-methyl-	0.07*	1.1 5
Undecane, 4,4-dimethyl-	0.07*	1.1 5
Nonane, 5-methyl-	0.01*	1.1 5
Heptane, 4,4-dimethyl-	-0.03**	1.1 4
Cyclooctane, methyl-	0.06*	1.1 4
Undecane, 2,6-dimethyl-	-0.05**	1.1 2
Pentane, 3-ethyl-	-0.05**	1.1 2
Heptane, 2,2,4-trimethyl-	0.09*	1.1 2
Decane	0.03*	1.1 0
Octane, 4-methyl-	-0.02**	1.1 0
Cyclopentane, 1-ethyl-1-methyl-	0.02*	1.0 9

2-n-Butyl furan	-0.10**	1.0 7
Pyridine	0.01*	1.0 5
Cyclopropane, pentyl-	0.10*	1.0 4
Pentane, 3,3-diethyl-	0.02*	1.0 4
Octane, 3,3-dimethyl-	-0.02**	1.0 4
Heptane, 4-propyl-	-0.02**	1.0 2
Octane, 3,6-dimethyl-	0.05*	1.0 1
Aldeídos		
Benzene, 1,3-dimethyl-	0.00	1.2 3
Benzaldehyde	0.02*	1.2 1
5-Ethylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	-0.06**	1.1 7
Hexanal	-0.08**	1.1 5
Butanal, 3-methyl-	-0.02**	1.1 3
2-n-Butylacrolein	-0.09**	1.1 1
Propanal, 2-methyl-	-0.04**	1.1 0
2-Hexenal, (E)-	-0.09**	1.0 8
2-Nonenal, (E)-	0.04*	1.0 7
Octanal	-0.08**	1.0 6
Butanal, 2-methyl-	-0.08**	1.0 2
Cetonas		
2,3-Pentanedione	0.01*	1.2 5
3,5-Octadien-2-one	-0.02**	1.2 4
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	0.00	1.2 4
Acetyl valeryl	-0.07**	1.1 4
2-Nonanone	-0.09**	1.1 1

Cyclobutanone, 2,2,3-trimethyl-	-0.09**	1.1 0
3-Octen-2-one	-0.09**	1.1 0
2-Octanone	-0.10**	1.0 9
3-Penten-2-one	0.09*	1.0 9
2-Heptanone	-0.10**	1.0 8
2-Hexanone	-0.12**	1.0 0
Furanoides		
2(3H)-Furanone, 5-ethyldihydro-	-0.01**	1.2 2
Furan, 2-pentyl-	-0.09**	1.1 0
Alquenos		
3,5-Octadien-2-one, (E,E)-	-0.02**	1.2 4
4-Decene	0.00	1.2 0
2-Undecene, 3-methyl-, (Z)-	0.07*	1.1 7
2-Butenal, 2-methyl-	-0.07**	1.1 6
1-Tridecene	0.07*	1.1 5
5-Decene	0.06*	1.1 4
2,4-Dimethyl-1-heptene	-0.05**	1.0 1
Ciclanos		
Cyclopropane, 1-(2-methylbutyl)-1-(1-methylpropyl)-	0.07*	1.1 9
Ácidos		
Formic acid, octyl ester	-0.03**	1.1 5
Pirazinas		
Pyrazine, methyl-	-0.06**	1.1 5
Esteres		
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0.08*	1.1 4
Ethyl Acetate	0.10*	1.0 6
Dimethyl ether	0.11*	1.0 3

3-Methylcyclopentyl acetate	-0.09**	1.0 2
Aminas		
Methylamine, N,N-dimethyl-	0.02*	1.1 5
Ethylenimine	0.08*	1.1 4
Pyrolo[3,2-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione	0.06*	1.0 8
2-Propen-1-amine	0.11*	1.0 5
Sulfetos		
Dimethyl sulfide	0.08*	1.0 7

Os *loadings* de LV2 da avaliação do conjunto de dados de GC-MS evidenciaram diferenças nos VOCs influenciados pelos métodos de maturação *Wet* e *Dry*. Na maturação *Wet*, foram observadas maiores quantidades de compostos associados a álcoois, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos e ésteres (simbolizados por um asterisco na Tabela 2), independentemente do tempo de maturação. Por outro lado, a maturação *Dry* resultou em maiores concentrações de VOCs relacionados a aldeídos, cetonas, furanoides e compostos aromáticos (simbolizados por dois asteriscos na Tabela S1).

Os resultados dos *loadings* de LV1 da análise multivariada ($^1\text{H-NMR}$) indicaram que a condição de maturação *Dry* (Tabela 3) foi associada ao aumento de metabolitos como glutamato, colina, acetato, alanina, carnitina, malonato, betaína e sn-glicero-3-fosfocolina, todos com $\text{VIP} > 1,15$. Já os *loadings* de LV2 revelaram que o método *Wet* influenciou principalmente os metabolitos alanina, carnitina, sn-glicero-3-fosfocolina, glicina e glicose-1-fosfato, enquanto o controle apresentou maior influência sobre colina, acetato, betaína, succinato e glicose.

Tabela 3 – *Loadings* de LV1 e LV2 das avaliações de PLS-DA apresentadas na Figura 1a (conjunto de dados de $^1\text{H NMR}$), com as variáveis destacadas pela análise de VIP. Legendas para o eixo LV1: *para a condição de maturação *Dry* (quadrados); **para a condição controle e maturação *Wet* (círculos). Legendas para o eixo LV2 relacionadas à condição controle e *Wet* em azul.

Variables	LV1 - 72.24%	LV2 - 21.63%	VIP
Glutamate	-0.16*	0.00	1.17
Choline	-0.16*		1.16
Acetate	-0.16*		1.16
Alanine	-0.16*		1.16
Carnitine	-0.16*		1.15

Malonate	-0.16*		1.15
Betaine	-0.16*		1.15
sn-Glycero-3-phosphocholine	-0.16*		1.15
Glycine	-0.16*		1.15
Glucose-1-phosphate	0.15**		1.14
Aspartate	-0.16*	0.00	1.14
Succinate	-0.16*		1.14
Creatinine	-0.16*		1.13
Glycerol	-0.15*		1.13
Lactate	-0.15*		1.12
Taurine	-0.16*		1.12
Tyrosine	-0.16*		1.12
Carnosine	-0.16*		1.11
Hypoxanthine	-0.16*		1.11
Uridine	-0.15*		1.11
Nicotinurate	-0.15*		1.10
π -Methylhistidine	-0.16*		1.10
Isoleucine	-0.15*		1.08
Leucine	-0.15*		1.08
Threonine	-0.15*		1.07
Serine	-0.15*		1.07
Inosine	-0.14*		1.07
Glucose	-0.14*		1.05
Creatine	-0.15*		1.05
Methionine	-0.15*		1.04
Tryptophan	-0.14*		1.03
Pyroglutamate	-0.15*		1.01
Methanol	-0.13*		1.00
Proline	-0.13*		1.00

A análise de enriquecimento dos métodos de maturação *Wet* e *Dry* revelou importantes diferenças nas vias metabólicas. Foram identificadas 25 vias principais enriquecidas, associadas a diversos metabólitos detectados em ambas as condições. Entre essas, destacam-se vias relacionadas ao metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos, as quais tem potencial para influenciar a qualidade sensorial da carne.

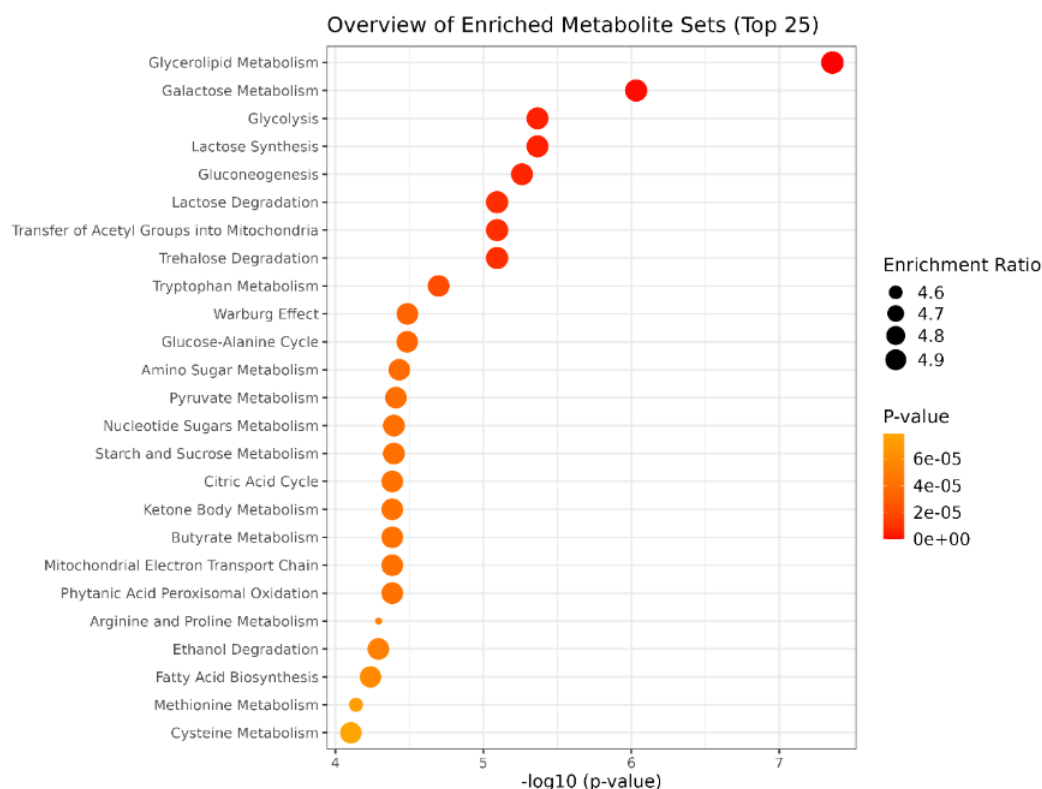


Figura 2. Principais vias metabólicas enriquecidas em *Bos indicus* (Nelore) relacionadas aos métodos de maturação (*Wet* e *Dry*) com base em análise metabolômica por $^1\text{H-NMR}$

O enriquecimento metabólico revelou diferenças marcantes entre os tipos de maturação, destacando alterações em várias vias metabólicas. O metabolismo de glicerolípídeos foi mais expressivo no *Dry*, devido à maior concentração de glicerol. O metabolismo da galactose também se destacou nesse tratamento, impulsionado pelos elevados níveis de D-glucose e glicerol. A glicólise foi mais expressa no *Dry*, refletindo os maiores níveis de D-glucose, assim como a síntese de lactose e sua degradação, ambas mais ativas nesse mesmo tipo de maturação.

A gliconeogênese mostrou-se mais intensa no *Dry*, devido às maiores concentrações de D-glucose e ácido láctico. A transferência de grupos acetil para a mitocôndria também foi mais expressiva nesse tratamento, em função dos níveis elevados de D-glucose. A degradação da trealose foi favorecida pelo tratamento *Dry*, também devido à maior concentração de D-glucose. O metabolismo do triptofano apresentou sua maior expressão no *Dry*, com destaque para os metabólitos ácido glutâmico, L-alanina e L-triptofano.

O efeito Warburg foi mais pronunciado no *Dry*, associado aos níveis elevados de D-glucose, ácido glutâmico e ácido succínico. Por fim, o ciclo glicose-alanina demonstrou-se mais ativo no *Dry*, devido às maiores concentrações de D-glucose, ácido glutâmico e L-alanina.

4. DISCUSSÃO

Para a análise de metabolômica (CG-MS e RMN ^1H), optou-se pela criação de *pools* a partir das amostras biológicas individuais. Esta estratégia é comumente empregada em estudos metabolômicos visando à homogeneização do material e à redução da variabilidade biológica individual, permitindo a obtenção de um perfil metabólico médio e mais representativo do grupo de tratamento (*Wet* ou *Dry*). Dessa forma, é possível focar a análise nas alterações metabólicas robustas e consistentes induzidas pelo processo de maturação, minimizando interferências de variações naturais entre os animais.

Embora a maturação *Wet* tenha resultado em menor WHC, a CL e EL foram maiores, possivelmente devido à maior quantidade de umidade ainda presente na carne, que foi liberada durante o aquecimento. No *Dry*, a perda gradual de água ao longo da maturação reduziu a perda adicional por cocção. Esses achados estão alinhados com pesquisadores (Cônsole et al., 2024), que demonstraram, por relaxometria TD-NMR, que a maior desidratação da carne *Dry* reduziu as perdas térmicas, enquanto a carne *Wet*, com mais umidade inicial, apresentou maior liberação de água ao ser cozida.

Embora os efeitos dos métodos de maturação em bovinos taurinos sejam bem documentados, as alterações metabólicas específicas em carne Nelore (*Bos indicus*), principalmente a maturação a seco permaneciam pouco exploradas.

4.1. Maturação e qualidade objetiva da carne

Os resultados indicam que a maturação *Dry* diminui a intensidade de a^* em comparação com a maturação *Wet* devido a maior evaporação da umidade,

resultando em menor teor de água e uma superfície mais escura nas amostras maturadas a seco (Shi; Zhang; Zhou, 2020), enquanto a maior luminosidade no grupo *Wet* pode ser atribuída ao maior teor de água retido. O menor valor do *Chr* no grupo *Dry* pode estar relacionado à maior perda de água nas camadas externas, alterando a tonalidade da carne, conforme descrito na literatura (Zhang et al., 2025). O maior pH no grupo *Dry* sugere maior proteólise durante a maturação seca (Aksu; Kaya; Ockerman, 2005; Obuz et al., 2014). Os resultados das perdas correlacionam-se com estudos anteriores (Hanagasaki; Asato, 2018; Kim et al., 2022) que demonstraram diferenças entre a maturação a seco e a úmida em relação as perdas durante o cozimento e a WHC. A carne maturada a seco apresenta maior perda de água ao longo do processo de maturação, porém menor perda durante o cozimento. Por outro lado, a carne submetida à maturação úmida retém mais água durante a maturação, mas apresenta perdas mais acentuadas no momento do cozimento (Kim et al., 2017). A perda significativa de peso ocorre principalmente no estágio inicial da maturação a seco (Zhang et al., 2022).

A carne maturada a seco está mais propensa à oxidação lipídica (VOSSEN et al., 2022; ZHANG et al., 2022). Utama et al. (2020) observaram que períodos de maturação de até 40 dias aumentam a quantidade de malonaldeído, um dos indicadores de oxidação lipídica. A extensão da oxidação lipídica é influenciada por vários fatores-chave, incluindo o teor de gordura, o grau de insaturação de ácidos graxos na carne, métodos de maturação a seco e condições de processamento, incluindo temperatura, umidade relativa, velocidade do ar e tempo (Zhang et al., 2025). Na maturação *Dry*, a oxidação lipídica é aumentada e leva à formação de certos compostos de sabor (por exemplo, aldeídos e cetonas) ou precursores de sabor (subprodutos oxidativos) que contribuem para o sabor único da carne envelhecida a seco (Leighton et al., 2023).

4.2. Metabolômica

A maturação *Dry* promoveu maior degradação lipídica e proteica, conforme evidenciado pelo perfil de metabólitos característicos dessas vias metabólicas. Os resultados demonstraram ativação significativa da gliconeogênese, metabolismo de triptofano e oxidação de glicerolipídios, com acúmulo de seus metabólitos finais. Uma vez que os valores de TBARS apresentaram diferença

significativa, a maior concentração de aldeídos voláteis derivados da oxidação lipídica (hexanal, 2-nonenal) e de aminoácidos livres (glutamato, alanina) corrobora a intensificação desses processos enzimáticos (Fu et al., 2022; Setyabrata et al., 2021).

4.2.1. Compostos orgânicos voláteis

Ambos os tipos de maturação promoveram a formação de compostos voláteis. No *Dry*, a exposição ao oxigênio favoreceu a oxidação lipídica, produzindo aldeídos e cetonas, como hexanal e 2-nonenal, indicativos desse processo (Ross; Smith, 2006). Esses compostos conferem ao método notas aromáticas complexas, descritas como gordura oxidada, nozes e manteiga (Lee et al., 2021), o que pode proporcionar o sabor sofisticado da carne maturada a seco quando comparada a maturação *Wet*.

As cetonas foram os compostos de maior distinção entre os tratamentos, concordando com autores (Li et al., 2021). Lee et al. (2021) sugeriram que as cetonas estão associadas a oxidação lipídica e baixos limiares de odor. Compostos como 2-heptanona e 3-penten-2-ona, derivados da beta-oxidação de ácidos graxos e, possivelmente, de reações iniciais de Maillard, foram mais abundantes no *Dry*. Em estudo anterior, a 2-heptanona foi correlacionada com aromas cremosos e frutados (Lee et al., 2021), já os furanos, como furan e 2-pentil-, adicionam notas tostadas e caramelizadas (Vilar et al., 2022), reforçando o perfil aromático complexo do *Dry*, frequentemente associado a uma melhora sensorial desse produto.

Compostos voláteis como os aldeídos, álcoois e dissulfeto de carbono também variaram significativamente na maturação a seco, podendo influenciar a intensidade do sabor da carne, conforme observado por outros pesquisadores (Setyabrata et al., 2022). A maturação a seco aumentou a concentração de aminoácidos livres, como aqueles associados a amargor e doçura, que atuam como precursores de compostos aromáticos (Lee et al., 2017).

No tratamento *Wet*, a ausência de oxigênio limitou a oxidação e, possivelmente, favoreceu o metabolismo anaeróbico, especialmente de bactérias lácticas, que produzem álcoois e ácidos orgânicos (Campbell et al., 2001). Esse ambiente promove concentrações mais elevadas de álcoois, como 2,3-butanodiol, um

marcador de processos fermentativos típicos do *Wet*, conforme relatado em carnes embaladas a vácuo (Li et al., 2021). Essa atividade bacteriana confere ao *Wet* um perfil sensorial diferente do *Dry*. Dessa forma, o método de maturação influencia o metabolismo post-mortem e a formação de metabólitos, que por sua vez podem proporcionar distintos sabores e aroma.

4.2.2. Metabólitos não voláteis

A maturação *Dry* é amplamente reconhecida por sua influência distintiva no sabor da carne, criando perfis sensoriais únicos, como notas de “carne assada” e “castanha” (De Felício; Pflanzner, 2018; Setyabrata et al., 2021). Esse método intensifica a proteólise, gerando níveis elevados de aminoácidos como glutamato, alanina e taurina (Kim; Kemp; Samuelsson, 2016). No presente estudo, a maturação *Dry* levou a um aumento expressivo na concentração de glutamato quando comparado a maturação *Wet*. O glutamato, intensificador de sabor responsável pelo umami, é produzido por enzimas como glutaminase e glutamato desidrogenase, que convertem intermediários como glutamina e α -cetoglutarato (Lee et al., 2011). Além do glutamato, observou-se aumentos significativos nos níveis de alanina, taurina e betaina, o que reforça a hipótese de que a maturação *Dry* concentrou metabólitos relacionados ao sabor. A redução da umidade neste método favorece a retenção e intensificação desses compostos, enriquecendo o perfil sensorial da carne (Dashdorj et al., 2016). Este processo também está relacionado ao enriquecimento do metabolismo do triptofano, com metabólitos como triptofano e indol-3-acetaldeído, e ao *efeito Warburg*, evidenciado pelo aumento de glicose, piruvato e lactato, além do ciclo glicose-alanina, que foi associado a glicose, piruvato e alanina.

Na maturação *Wet*, a presença de aminoácidos como carnitina e taurina reflete uma quebra proteica moderada, cujos metabólitos podem ser categorizados em produtos glicolíticos, gerados pela degradação de ATP (Muroya et al., 2023). Esses compostos têm menos impacto na intensificação do sabor, mas contribuem para a retenção de umidade e suculência, importantes para a palatabilidade e aceitação geral (Kim et al., 2020b). Adicionalmente, o aumento de lactato e piruvato na maturação *Dry* pode refletir um fenômeno semelhante ao efeito Warburg, originalmente descrito como uma intensificação da glicólise mesmo em

condições aeróbicas (Vander Heiden; Cantley; Thompson, 2009). No contexto da maturação da carne, esse processo pode ser uma resposta ao ambiente oxidativo e desidratado, resultando na produção de lactato e alterações no pH, que contribuem para uma melhor textura e palatabilidade da carne (Huff-Lonergan; Lonergan, 2005; Kerth et al., 2023).

A presença de açúcares redutores, como ribose e glicose, é outro fator marcante no método *Dry*, pois favorece reações de *Maillard*, formando compostos que conferem notas tostadas e caramelizadas (Setyabrata et al., 2022). No contexto das vias metabólicas, a maturação *Dry* promoveu maior enriquecimento no metabolismo de glicerolípídios e glicólise. O metabolismo de glicerolípídios, impulsionado pela presença de glicerol e glicerol-3-fosfato, está associado à degradação lipídica, à liberação de compostos aromáticos e à desidratação gradual da carne, intensificando os compostos voláteis (Wojtasik-Kalinowska et al., 2023).

De maneira semelhante, o metabolismo de galactose, impulsionado pela glicose, glicose 1-fosfato, galactose e UDP-galactose, reflete a maior atividade glicolítica, associada à manutenção da energia celular e relevante para o método *Dry*, que promove maior oxidação (Kim et al., 2020a). Além disso, a via da gliconeogênese, com metabólitos como glicose, piruvato e lactato, sugere uma demanda energética elevada devido à rápida oxidação, resultando no acúmulo de subprodutos que contribuem para um perfil de sabor robusto (Xu et al., 2023). A síntese de lactose, enriquecida por galactose e UDP-galactose, e a degradação da lactose, associada ao metabólito galactose, destacam o papel dessas vias no metabolismo de açúcares.

5. CONCLUSÃO

A maturação *Dry* melhorou a capacidade de retenção de água (WHC) e pode ter potencializado o perfil sensorial da carne, com a formação de compostos como aldeídos (hexanal, 2-nonenal) e cetonas (2-heptanona), que sugerem notas aromáticas de gordura oxidada, nozes e manteiga. Além disso, o aumento de metabólitos como glutamato e alanina pode estar associado a um sabor mais intenso e umami. No entanto, o *Dry* apresentou tendência ao aumento da oxidação lipídica (TBARS) e reduziu a luminosidade (L^*) e a intensidade de

vermelho (a^*), possivelmente devido à desidratação e à maior atividade proteolítica. Já a maturação *Wet* manteve maior luminosidade e suculência, mas apresentou maiores perdas por cozimento e menor WHC. O perfil metabólico do *Wet*, com predominância de álcoois (2,3-butanodiol) e ácidos orgânicos, pode indicar um perfil aromático menos complexo, resultante do metabolismo anaeróbico.

Contribuições dos autores

Conceitualização, MAT, LALC, WAB; metodologia, MAT, RCR, ASO; investigação, MAT; recursos LALC; curadoria de dados, MAT, ASO, EGAF; redação — preparação do rascunho original, MAT; redação — revisão e edição, MAT, NRBC, WAB, LALC; visualização, MAT e LALC; supervisão, LALC; administração do projeto, LALC; aquisição de financiamento, LALC Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001; Frigorífico CowPig em especial ao Sr. Renato Sebastiani.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, Muhammet İrfan; KAYA, Mükerrrem; OCKERMAN, Herbert W. Effect of Modified Atmosphere Packaging and Temperature on the Shelf Life of Sliced Pastirma Produced from Frozen/Thawed Meat. **Journal of Muscle Foods**, v. 16, n. 3, p. 192–206, 2005.

ÁLVAREZ, Sara *et al.* Chapter Three - Dry-aging of beef as a tool to improve meat quality. Impact of processing conditions on the technical and organoleptic meat properties. *In*: TOLDRÁ, Fidel (Org.). **Advances in Food and Nutrition Research**. [S.l.]: Academic Press, 2021. v. 95 p. 97–130.

ALVES FILHO, Elenilson G. *et al.* 1H NMR spectra dataset and solid-state NMR data of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Data in Brief**, v. 11, p. 136–146, 1 abr. 2017.

BALLABIO, Davide; CONSONNI, Viviana. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. **Analytical Methods**, v. 5, n. 16, p. 3790–3798, 26 jul. 2013.

BARBUT, Shai. Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, n. 3, p. 455–457, set. 1996.

BERGER, Jordy *et al.* Dry-aging improves meat quality attributes of grass-fed beef loins. **Meat Science**, v. 145, p. 285–291, nov. 2018.

CAMPBELL, R. e. *et al.* Dry-Aging Effects on Palatability of Beef Longissimus Muscle. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 2, p. 196–199, 2001.

CÔNSOLO, Nara R. B. *et al.* Assessment of water relaxometry of meat under different ageing processes using time domain nuclear magnetic resonance relaxometry. **Food Research International**, v. 190, p. 114566, 1 ago. 2024.

CULLER, R. D. *et al.* Relationship of Myofibril Fragmentation Index to Certain Chemical, Physical and Sensory Characteristics of Bovine Longissimus Muscle. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 4, p. 1177–1180, 1978.

DASHDORJ, Dashmaa *et al.* Dry aging of beef; Review. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 20, 19 maio 2016.

DE CARVALHO BAPTISTA, Rafaela. **Pacu, patinga e tambacu: percepção de segurança, estudo do comportamento microbiológico por modelagem preditiva e metagenômica e desenvolvimento de uma mistura de antimicrobianos naturais para sua preservação**. Doutora em Ciência de Alimentos—Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 7 maio 2018.

DE FELÍCIO, Pedro; PFLANZER, Sérgio. Maturação da Carne Bovina. v. 12, p. 42, 8 out. 2018.

FREITAS, João Vito B. *et al.* Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. **Talanta**, v. 180, p. 329–336, 1 abr. 2018.

FU, Yinghua *et al.* Flavor formation based on lipid in meat and meat products: A review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. e14439, 2022.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 177, n. 2, p. 751–766, fev. 1949.

HANAGASAKI, Takashi; ASATO, Naokazu. Changes in free amino acids and hardness in round of Okinawan delivered cow beef during dry- and wet-aging processes. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 23, 25 set. 2018.

HERNÁNDEZ SALUEÑA, Begoña *et al.* CIELAB color paths during meat shelf life. **Meat Science**, v. 157, p. 107889, 1 nov. 2019.

HUFF-LONERGAN, Elisabeth; LONERGAN, Steven M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, 51st International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST). v. 71, n. 1, p. 194–204, 1 set. 2005.

KERTH, Chris R. *et al.* Using untargeted metabolomics and volatile aroma compounds to predict expert sensory descriptors and consumer liking of beef loin steaks varying in quality grade, aging time, and degree of doneness. **Meat Science**, v. 204, p. 109255, 1 out. 2023.

KIM, Hyun Cheol *et al.* Characteristic Metabolic Changes of the Crust from Dry-Aged Beef Using 2D NMR Spectroscopy. **Molecules**, v. 25, n. 13, p. 3087, jan. 2020a.

- KIM, Ji-Han *et al.* Comparative effects of dry-aging and wet-aging on physicochemical properties and digestibility of Hanwoo beef. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 3, p. 501–505, mar. 2020b.
- KIM, SoJi *et al.* Effects of Aging Methods and Periods on Quality Characteristics of Beef. **Food Science of Animal Resources**, v. 42, n. 6, p. 953–967, nov. 2022.
- KIM, Yuan H. Brad *et al.* Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. **Meat Science**, v. 123, p. 57–63, jan. 2017.
- KIM, Yuan H. Brad *et al.* Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. **Meat Science**, Quality and Integrity for Global Consumers. The 64th International Congress of Meat Science and Technology, Melbourne, Australia. v. 144, p. 74–90, 1 out. 2018.
- KIM, Yuan H. Brad; KEMP, Robert; SAMUELSSON, Linda M. Effects of dry-aging on meat quality attributes and metabolite profiles of beef loins. **Meat Science**, v. 111, p. 168–176, jan. 2016.
- LEE, Dongheon *et al.* Effect of Different Aging Methods on the Formation of Aroma Volatiles in Beef Strip Loins. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 146, jan. 2021.
- LEE, Hyun Jung *et al.* Analysis of low-marbled Hanwoo cow meat aged with different dry-aging methods. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 12, p. 1733–1738, 26 jun. 2017.
- LEE, Sang Mi *et al.* Metabolomic approach for determination of key volatile compounds related to beef flavor in glutathione-Maillard reaction products. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 2, p. 204–211, 10 out. 2011.
- LEIGHTON, P. L. A. *et al.* Effects of in-the-bag dry-ageing on meat quality, palatability and volatile compounds of low-value beef cuts. **Meat Science**, v. 202, p. 109219, 1 ago. 2023.
- LI, Zhenzhao *et al.* Volatile Profile of Dry and Wet Aged Beef Loin and Its Relationship with Consumer Flavour Liking. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3113, dez. 2021.
- LIU, Qianqian *et al.* Comprehensive analyses of meat quality and metabolome alterations with aging under different aging methods in beef. **Food Chemistry**, v. 472, p. 142936, 30 abr. 2025.
- LOPES, Lucas S. F. *et al.* Application of the principal component analysis, cluster analysis, and partial least square regression on crossbreed Angus-Nellore bulls feedlot finished. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, n. 6, p. 3655–3664, nov. 2020.
- MUROYA, Susumu *et al.* MEATabolomics: Muscle and Meat Metabolomics in Domestic Animals. **Metabolites**, v. 10, n. 5, p. 188, maio 2020.
- MUROYA, Susumu *et al.* Metabolomic profiling of postmortem aged muscle in Japanese Brown beef cattle revealed an interbreed difference from Japanese Black beef. **Animal Bioscience**, v. 36, n. 3, p. 506–520, mar. 2023.
- NUNES, Cris Luana de Castro *et al.* Beef production and carcass evaluation in Brazil. **Animal Frontiers**, v. 14, n. 2, p. 15–20, 15 abr. 2024.

OBUZ, Ersel *et al.* Effects of blade tenderization, aging method and aging time on meat quality characteristics of *Longissimus lumborum* steaks from cull Holstein cows. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1227–1232, 1 mar. 2014.

OLIVEIRA, Camila P. *et al.* Medium Voltage Electrical Stimulation and Aging Enhance Meat Quality in Crossbred Bulls. **Food and Bioprocess Technology**, 28 dez. 2024.

PIKUL, Jan; LESZCZYNSKI, Dennis E.; KUMMEROW, Fred A. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1309–1313, set. 1989.

RAMANATHAN, Ranjith *et al.* The potential of metabolomics in meat science: Current applications, trends, and challenges. **Journal of Proteomics**, v. 283–284, p. 104926, 15 jul. 2023.

RAMOS, Patricia M. *et al.* Desafios e oportunidades do uso do gado *Bos indicus* para atender à demanda dos consumidores por carne bovina de qualidade. **Meat Science**, v. 207, p. 109375, 1 jan. 2024.

ROSS, Carolyn F.; SMITH, Denise M. Use of Volatiles as Indicators of Lipid Oxidation in Muscle Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 18–25, 2006.

SETYABRATA, Derico *et al.* Elucidating mechanisms involved in flavor generation of dry-aged beef loins using metabolomics approach. **Food Research International**, v. 139, p. 109969, jan. 2021.

SETYABRATA, Derico *et al.* Characterizing the Flavor Precursors and Liberation Mechanisms of Various Dry-Aging Methods in Cull Beef Loins Using Metabolomics and Microbiome Approaches. **Metabolites**, v. 12, n. 6, p. 472, jun. 2022.

SHI, Yingwu; ZHANG, Wangang; ZHOU, Guanghong. Effects of Different Moisture-Permeable Packaging on the Quality of Aging Beef Compared with Wet Aging and Dry Aging. **Food**, v. 9, n. 5, p. 649, maio 2020.

SILVA, Vinicius Henrique da *et al.* Genome-Wide Detection of CNVs and Their Association with Meat Tenderness in Nelore Cattle. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0157711, 27 jun. 2016.

UTAMA, Dicky Tri *et al.* Comparison of meat quality, fatty acid composition and aroma volatiles of dry-aged beef from Hanwoo cows slaughtered at 60 or 80 months old. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 157–165, jan. 2020.

VANDER HEIDEN, Matthew G.; CANTLEY, Lewis C.; THOMPSON, Craig B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. **Science**, v. 324, n. 5930, p. 1029–1033, 22 maio 2009.

VILAR, Elena Garicano *et al.* Volatile organic compounds in beef and pork by gas chromatography-mass spectrometry: A review. **SEPARATION SCIENCE PLUS**, v. 5, n. 9, p. 482–512, 2022.

WHEELER, T. L. *et al.* Effects of cooking and shearing methodology on variation in Warner-Bratzler shear force values in beef². **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 9, p. 2325–2330, 1 set. 1994.

WOJTASIK-KALINOWSKA, Iwona *et al.* Effect of Processing on Volatile Organic Compounds Formation of Meat—Review. **Applied Sciences**, v. 13, n. 2, p. 705, jan. 2023.

XU, Lin *et al.* The effect of aging on beef taste, aroma and texture, and the role of microorganisms: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 14, p. 2129–2140, 30 maio 2023.

XU, Yongxia *et al.* Physicochemical Responses and Quality Changes of Turbot (*Psetta maxima*) During Refrigerated Storage. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 1, p. 196–209, 2 jan. 2016.

ZHANG, Renyu *et al.* Mechanisms and strategies to tailor dry-aged meat flavour. **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 400–411, 1 jan. 2022.

ZHANG, Renyu *et al.* Dry-ageing impacts on meat quality, oxidative stability, and release of free amino acids in striploins from dairy crossbred yearling and 2-year-old steers. **Meat Science**, v. 219, p. 109674, 1 jan. 2025.