

**Universidade Estadual Paulista**

**“Júlio de Mesquita Filho”**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Análise de compostos voláteis em carne bovina  
proveniente de animais cruzados terminados a  
pasto ou confinamento**

**Vanessa Cristina Francisco**

Araraquara

2016

**Vanessa Cristina Francisco**

**Análise de compostos voláteis em carne bovina  
proveniente de animais cruzados terminados a  
pasto ou confinamento**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciência dos Alimentos

Orientadora: Dra. Renata Tieko Nassu

Coorientador: Dr. João Oiano Neto

Araraquara

2016

**Ficha Catalográfica**

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

**F821a** Francisco, Vanessa Cristina  
Análise de compostos voláteis em carne bovina proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento / Vanessa Cristina Francisco. – Araraquara, 2016  
89 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciências dos Alimentos.

Orientador: Renata Tieko Nassu

Coorientador: João Oiano Neto

1. Carne bovina. 2. Compostos voláteis. 3. Aroma. 4. MEFS. 5. CG-EM.  
I. Nassu, Renata Tieko, orient. II. Oiano Neto, João, coorient. III. Título.

**CAPES: 50700006**

VANESSA CRISTINA FRANCISCO

**Análise de compostos voláteis em carne bovina proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

BANCA EXAMINADORA:

---

Dra. Renata Tiekko Nassu

---

Dr. Stanislau Bogusz Junior

---

Dra. Kátia Sivieri

## **Agradecimentos**

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

*Agradeço à minha orientadora Dra. Renata Tieko Nassu por me conceder a oportunidade de ser sua aluna, me orientando no desenvolvimento deste projeto.*

*Ao Dr. João Oiano Neto, meu coorientador, pesquisador na Embrapa Pecuária Sudeste.*

*Ao Dr. Stanislau Bogusz Junior, professor no Instituto de Química da USP- São Carlos.*

*À Dra. Kátia Sivieri, professora da Pós- graduação em Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP*

*À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP.*

*Ao programa de Pós- graduação em Alimentos e Nutrição.*

*Ao CNPq e a Embrapa Pecuária Sudeste pelo auxílio financeiro.*

*À Secretaria de Pós - graduação por todo o suporte.*

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

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

*Aos amigos do Laboratório de Carnes e Laboratório de Cromatografia.*

## RESUMO

O aroma, além da textura, é um dos atributos sensoriais mais importantes para a aceitação da carne bovina pelo consumidor. O aroma da carne é influenciado por fatores como dieta, sistema de produção (pasto ou confinamento), raça, sexo, idade ao abate, maturação, corte e método de cocção. Entre os principais compostos responsáveis pelo aroma em carnes estão os aldeídos, cetonas e compostos sulfurados, provenientes de reações químicas tais como reação de Maillard, reações de oxidação de lipídios e degradação da tiamina. Várias técnicas de extração têm sido utilizadas para a análise de compostos voláteis em carnes, dentre elas, a extração-destilação simultânea (*Simultaneous Distillation/ Extraction - SDE*), *headspace* dinâmico e a MEFS (microextração em fase sólida). Atualmente esta última é a mais utilizada, por ser uma técnica rápida, fácil e não necessitar do uso de solventes. Tendo em vista que há poucos trabalhos no Brasil sobre compostos voláteis em carne bovina, este trabalho objetivou otimizar as condições de extração por MEFS para a caracterização de compostos voláteis em carne bovina bem como determinar o perfil qualitativo destes compostos em carne proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento. No primeiro experimento deste estudo, foram testados seis diferentes tipos de materiais de recobrimento de MEFS quanto a sua eficiência na extração de compostos voláteis em carne bovina: 75 µm CAR/PDMS (Carboxen/ Polidimetilsiloxano), 65 µm PDMS/DVB (Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno), 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxen/ Polidimetilsiloxano), 100 µm PDMS (Polidimetilsiloxano), 70 µm CAR (Carboxen) e 85 µm PA (Poliacrilato), bem como foram otimizadas as condições de extração utilizando a metodologia de superfície de resposta. As análises foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (CG-DIC) e cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), sendo aplicado um planejamento experimental do tipo delineamento composto central rotacional (DCCR), baseado num planejamento fatorial 2<sup>2</sup>. As fibras de fase mista foram as que apresentaram melhores resultados, sendo que a fibra CAR/PDMS foi a que extraiu o maior número de compostos, nas condições de extração otimizada de 65 minutos a 60 °C. No segundo experimento, para caracterização do perfil químico dos compostos voláteis em carne de animais cruzados, foi utilizada a carne de animais de quatro grupos genéticos, machos não castrados e fêmeas, filhos de vacas cruzadas ½ Angus x ½ Nelore (TA) ou ½ Simental x ½ Nelore (TS) com Touros Angus ou Limousin terminados a pasto ou confinamento. Foram encontrados 94 compostos das seguintes classes químicas: alcanos (29), aldeídos (18), compostos sulfurados (10), compostos aromáticos (9), cetonas (9), alcoóis (7), ácidos carboxílicos (7), éteres (4), compostos nitrogenados (3) e lactona (1). Os principais efeitos foram observados no sistema de produção (confinamento ou pasto) e raça do touro (Angus ou Limousin), sendo encontrados 4 compostos e 12 compostos com diferenças significativas (p<0,05) respectivamente. Os compostos provenientes da oxidação de lipídios como hexanal, heptanal, 3-hidroxi-2-butanona, 1-octen-3-ol, 1-hexanol e 2,3-octanodiona foram os que mais se destacaram e são importantes marcadores que contribuem para a formação do aroma de carne bovina assada.

**Palavras-chave:** Compostos voláteis. Carne bovina. Aroma. MEFS. CG-EM.

## ABSTRACT

The aroma, beyond texture, is one of the most important sensory attributes for beef consumers' acceptance. The beef aroma is affected by diet, production system (pasture or feedlot), breed, sex, slaughter age, aging, type of cut and cooking method. Among the main chemical compounds responsible for the beef aroma, there are aldehydes, ketones and sulphur compounds, which comes from chemical reactions such as Maillard reaction, lipid oxidation and thiamine degradation. Several extraction techniques have been used to volatile compounds analysis in beef, as simultaneous distillation/extraction (SDE), dynamic headspace and solid phase micro extraction (SPME). Currently, SPME is the most used, as it is fast, easy and does not need solvents. There is a lack of studies about volatile compounds in beef in Brazil, so this study aimed to optimize the extraction conditions by SPME for volatile compounds characterization in beef and also analyze the qualitative profile of these compounds in beef from crossbred animals finished on pasture or feedlot. In the first experiment, six different SPME fiber coating materials were tested regarding their extraction efficiency of volatile compounds on beef: 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS (carboxen/polydimethylsiloxane), 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB (polydimethylsiloxane/divinylbenzene), 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/ carboxen/ polydimethylsiloxane), 100  $\mu\text{m}$  PDMS (polydimethylsiloxane), 70  $\mu\text{m}$  CAR (carboxen) e 85  $\mu\text{m}$  PA (polyacrylate) and the extraction conditions were optimized using the surface response methodology. The analyses were performed in Gas Chromatography equipment coupled to a Flame Ionization Detector (GC-FID) and other coupled to a Mass Spectrometer (GC-MS). A central composite rotational design (CCRD) in a  $2^2$  factorial experimental design was used. Mixed phase fiber coatings showed the best results and CAR/PDMS extracted the larger number of compounds in the optimized extraction conditions of 65 minutes and  $60^\circ\text{C}$ . In the second experiment, for characterization of chemical profile of volatile compounds in the meat of crossbred animals, beef from animals of four genetic groups, bulls and heifers, the offspring of Angus or Limousin bulls and  $\frac{1}{2}$  Angus +  $\frac{1}{2}$  Nellore or  $\frac{1}{2}$  Simmental +  $\frac{1}{2}$  Nellore cows, finished on feedlot or pasture were analyzed. Ninety-four compounds were found, from the following chemical classes: alkanes (29), aldehydes (18), sulphur compounds (10), aromatic compounds (9), ketones (9) alcohols (7), carboxylic acids (7), ethers (4), nitrogen compounds (3) and lactone (1). The main effects were observed in the production system (pasture or feedlot) and bull breed (Angus or Limousin), where 4 and 12 compounds with significant differences ( $p < 0.05$ ) were found respectively. The lipid oxidation compounds as hexanal, heptanal, 3-hidroxy-2- butanone, 1-octen-3-ol, 1-hexanol and 2.3-octanodione were relevant and are considered important markers which are responsible for aroma formation in cooked beef.

**Key-words:** Volatile compounds. Beef. Flavor. SPME. GC-MS.

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne  
ACP – Análise de componentes principais  
ATP - Adenosina trifosfato  
CAR – Carboxen  
CG - Cromatografia em fase gasosa  
CG-DIC - Cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama  
CG-EM – Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas  
CONF - Confinamento  
DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional  
DVB - Divinilbenzeno  
F- Fêmea  
HS - *headspace*  
IMP - Inosina monofosfato  
LTPRI -Linear Temperature Programmed Retention Indexes  
M- Macho  
MEFS - Microextração em fase sólida  
PA - Poliacrilato  
PDMS - Polidimetilsiloxano  
RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal  
SDE - Simultaneous Distillation Extraction  
SPME - solid phase micro-extraction  
TA – Vacas cruzadas ½ Angus x ½ Nelore  
TS – Vacas cruzadas ½ Simental x ½ Nelore

## Sumário

Introdução Geral.....	9
Objetivos .....	11
<b>Capítulo 1. Perfil de compostos voláteis: importância e fatores que influenciam no desenvolvimento do sabor e aroma da carne assada</b>	
Introdução .....	13
Fatores que influenciam na formação do aroma na carne .....	14
Formação de compostos voláteis em carne assada .....	19
Análise de compostos voláteis .....	23
Considerações finais .....	26
Referências .....	27
<b>Capítulo 2. Otimização das condições de extração por microextração em fase sólida dos compostos presentes no aroma da carne bovina assada</b>	
Introdução .....	33
Material e métodos.....	34
Resultados e discussão .....	38
Conclusões.....	47
Referências .....	48
<b>Capítulo 3. Análise qualitativa de compostos voláteis em carne bovina assada proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento</b>	
Introdução .....	52
Material e métodos.....	54
Resultados e discussão .....	59
Conclusões.....	68
Referências .....	69
Anexos .....	72

## INTRODUÇÃO

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. O Brasil, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e com vendas em mais de 180 países. O país possui o segundo maior rebanho bovino efetivo do mundo, com aproximadamente 209 milhões de cabeças de gado (1).

Tendo vista as recentes transformações dos mercados consumidores mundiais e a sinalização de tendências globais no consumo de alimentos, algumas perspectivas para os produtos de origem animal podem ser traçadas. Uma das principais refere-se à questão da “qualidade de alimentos”, cuja importância é crescente. O comportamento do consumidor determina o padrão de consumo de produtos agro alimentares. A “qualidade percebida” é fator essencial no ato da compra, sendo um condicionante do consumo. Os produtos de qualidade devem possuir características sensoriais (cor, aroma, sabor e textura) adequadas, aspectos gerais e de forma (embalagem, acondicionamento), higiene, facilidade de manuseio e de utilização, preço e aspectos nutricionais desejáveis. O mercado consumidor externo exige carne de qualidade, tanto em relação às características sensoriais e físicas (frescor, firmeza, sabor, suculência, cor e maciez) quanto à segurança (aspectos higiênico-sanitários, com ausência de agentes patogênicos e livre de contaminantes químicos), exigência esta que vem sendo também verificada no mercado interno.

O controle de qualidade da carne bovina, mais particularmente suas características sensoriais (maciez, sabor, aroma, suculência e cor) é importante para os produtores e comerciantes para satisfazer as preferências do

consumidor. Múltiplos fatores estão envolvidos no controle da qualidade sensorial da carne bovina. Estudos têm mostrado que a qualidade sensorial da carne depende não só de fatores de produção tais como raça, idade, alimentação, peso ao abate, mas também de fatores tecnológicos, tais como condições de abate, tempo de maturação e processo de cozimento (2).

Durante muito tempo a maciez teve papel importante na aceitabilidade da carne pelo consumidor, porém o aroma também necessita ser estudado, por se tratar de um fator que afeta a aceitação da carne bovina (3-4). Em um estudo conduzido nos Estados Unidos, em várias cidades, o aroma foi considerado pelos consumidores como o fator mais importante na intenção de compra da carne e preferência, quando a maciez foi mantida como constante (5).

A qualidade físico-química e sensorial da carne tem sido extensivamente estudada por pesquisadores em vários países, inclusive no Brasil. Por outro lado, em relação ao aroma, há vários estudos no exterior, porém poucos envolvem carne bovina brasileira. Alterações no sabor da carne podem ser atribuídas ao gado em confinamento, a dieta dos animais, bem como ao processo de maturação da carne. Tais fatores vêm sendo discutidos, tendo em vista que a formação de sabores indesejáveis pode prejudicar as vendas da carne bovina brasileira a médio e longo prazo. Além disso, os compostos voláteis da carne, que podem estar relacionados a grupo genético e principalmente à dieta, têm sido investigados para atuar como marcadores de rastreabilidade do sistema de produção, por exemplo, pasto ou confinamento, podendo futuramente ser utilizados como ferramentas para rastreabilidade da

origem do produto. Deste modo é importante iniciar estudos para caracterização de compostos voláteis presentes na carne bovina brasileira.

## **OBJETIVOS**

O objetivo principal deste trabalho foi estudar os efeitos de sistema de produção, raça do touro, grupo genético da vaca e sexo no perfil químico qualitativo dos principais compostos voláteis presentes na carne bovina.

### **Objetivos específicos**

- Adequação da metodologia de preparo das amostras
- Teste com diferentes tipos de fibras de MEFS (Microextração em fase sólida) para extração dos voláteis
- Otimização das condições de tempo e temperatura de extração
- Análise dos compostos por meio da cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas (CG-EM)

# **Capítulo 1.**

## **Revisão Bibliográfica**

**Perfil de compostos voláteis: importância e fatores que influenciam no desenvolvimento do sabor e aroma da carne assada**

## RESUMO

Os compostos voláteis na carne bovina têm sido amplamente estudados por seus efeitos favoráveis ou indesejáveis no aroma e sabor da carne. O sabor é a combinação do gosto e odor. Esta revisão teve como objetivo ressaltar a importância e os fatores que influenciam na formação dos principais compostos responsáveis pelo aroma da carne. Os compostos voláteis podem ser influenciados por diversos fatores, tais como: raça, sistema de produção e dieta do animal, idade ao abate, sexo, maturação, corte e o método de cocção. A cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) é o método mais utilizado para a análise qualitativa.

**Palavras-chave:** CG-EM; carne bovina; aroma

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo o artigo 17 do RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal) entende-se por carne, as massas musculares e demais tecidos que as acompanham, incluindo ou não a base óssea correspondente, procedentes de animais abatidos sob inspeção veterinária(6).

O tecido muscular é composto por água (65 a 80 %), proteína (12 a 22 %), lipídios (3 a 13 %), substâncias nitrogenadas não proteicas 1,5 % (aminoácidos livres, peptídeos, nucleotídeos, creatina) além de vitaminas e minerais (1 %) e essa composição pode variar conforme a idade, sexo e sistema de produção (6-7). Proteínas, lipídios e carboidratos têm papel importante no desenvolvimento do aroma da carne assada, pois incluem inúmeros compostos que se transformam em importantes precursores de aroma e sabor quando aquecidos (9).

Quando um alimento é consumido, a interação entre gosto, odor e textura fornece uma sensação global que em inglês é definida como “*flavor*”. Entretanto em algumas línguas não há uma expressão adequada para um termo tão abrangente, referido muitas vezes apenas como sabor (10). O sabor é o resultado da combinação de gostos básicos (doce, amargo, ácido, salgado e umami) derivados a partir de compostos solúveis em água e o odor derivado de uma gama de substâncias voláteis presentes no alimento, provenientes de uma série de reações (10-11).

O odor da carne *in natura* é suave e lembra odor de ácido láctico, o gosto é fraco, levemente salgado, parecido com soro de sangue (12). Compostos

responsáveis pelo gosto geralmente são não voláteis à temperatura ambiente (10). O aroma associado à carne bovina é geralmente aquele que se desenvolve durante o aquecimento (11).

Os compostos voláteis na carne bovina têm sido amplamente estudados por seus efeitos favoráveis ou indesejáveis no sabor da carne ou pelo seu potencial para utilizar na detecção do sistema de terminação animal (13). Entretanto, no Brasil estes estudos são escassos. Este trabalho de revisão teve o objetivo de ressaltar a importância e fatores que influenciam na formação dos principais compostos responsáveis pelo aroma da carne.

## **1.1. Fatores que influenciam na formação do aroma na carne**

### **1.1.1. Raça**

A raça do gado influencia no aroma da carne, precursores de aroma como aminoácidos livres, compostos nitrogenados, compostos sulfurados, álcoois, aldeídos e cetonas podem diferir entre as raças de gado (15-16).

A deposição de gordura intramuscular, também chamada de marmoreio apresenta diferenças entre as raças. Raças de origem britânica apresentam alta capacidade de deposição de gordura intramuscular enquanto que raças zebuínas e continentais apresentam baixa capacidade de deposição de gordura intramuscular (16). A composição de ácidos graxos da carne é influenciada por fatores genéticos, sendo que esta diferença na deposição de gordura implica em uma composição de ácidos graxos diferenciada, podendo influenciar na composição dos compostos voláteis que são produtos de oxidação lipídica (17).

### **1.1.2. Sistema de produção e dieta**

O tipo de terminação e a dieta fornecida aos animais é um dos principais fatores que influenciam no perfil dos compostos voláteis em carne bovina (18-19). Várias classes de compostos são afetadas pela dieta. Dietas de alto teor de energia produzem aromas mais intensos em carnes vermelhas do que dietas de baixa energia contendo forragem ou pasto (19). Mais de 40 % da variação no aroma da carne é proveniente do tipo de terminação, a pasto ou confinamento (20). A carne de animais terminados a pasto apresenta maior

teor de ácido linolênico e menor de ácidos oleico e linoleico, quando comparados com animais terminados em confinamento (21).

Dietas a base de grãos induzem ao acúmulo de ácidos graxos de cadeia ramificada, fosfolipídios, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, aldeídos e lactonas, enquanto a carne de animais de pasto contém altos níveis de fenóis, terpenos, indóis e compostos de enxofre (12-14). Os terpenos são sintetizados quase exclusivamente no reino vegetal e a sua presença na carne de ruminantes ou em produtos lácteos pode ser considerada como um indicador de dietas a base de forragens, assim como o composto 2,3- octanodiona também relacionado com dietas a base de forrageiras (13).

Maiores alterações na proporção de gordura intramuscular, também conhecida como marmoreio, correspondem ao sistema de produção ou tipo de terminação, sendo que animais terminados com dietas ricas em grãos apresentam maior porcentagem de marmoreio que animais terminados com dietas a base de forragens (16). Essa diferença na deposição de gordura pode afetar as concentrações dos compostos voláteis, tendo em vista que são provenientes de compostos de oxidação de lipídios.

Descalzo et al. (22) encontraram mais aldeídos na carne de animais que foram alimentados com concentrado em relação àqueles alimentados a pasto. Compostos fenólicos são metabólitos secundários na carne de animais terminados em confinamento se comparados com aqueles terminados a pasto (13). Koutsidis et al. (23) em um estudo da influência da dieta e grupo genético na concentração de compostos hidrossolúveis, concluiu que a dieta teve um efeito significativo na concentração de aminoácidos livres, sendo que animais alimentados com silagem tiveram maior concentração destes compostos em comparação com animais alimentados com mais concentrado.

Dietas contendo subprodutos de pescado, soja crua ou óleo/torta de canola são apontadas como causadores de sabores estranhos (*off-flavors*) na carne bovina, devido ao aumento de ácidos graxos insaturados que conduzem à oxidação durante o armazenamento, produzindo alcanos e álcoois (19). Estudos desenvolvidos em outros países relatam a formação de sabores estranhos para carne bovina de animais terminados a pasto, tais como “sabor de capim”, “amargo” e “odor a vaca” (24).

### 1.1.3. Sexo

O sexo é um dos fatores que mais afetam a composição dos ácidos graxos e a deposição de gordura intramuscular e subcutânea (26-27). Machos não castrados tendem a apresentar maior taxa de crescimento, com maior proporção de proteína e menor de gordura quando comparados às fêmeas e animais castrados (25). Essa diferença na composição da carne e da gordura influencia também os precursores de compostos voláteis principalmente nos compostos produtos de oxidação de lipídios.

Zembayashi et al.(27), em estudo com novilhas e novilhos de diferentes raças, observaram diferença na composição de alguns ácidos graxos e fosfolipídios entre os machos e fêmeas. Lorenzo et. al, (28), observaram efeito no perfil de ácidos graxos no músculo *longissimus dorsi*, entre machos e fêmeas, e os valores mais elevados foram observados no grupo dos machos em comparação com grupo das fêmeas. Em outro trabalho em que a carne novilhas e novilhos foi comparada, foi observado que a carne dos novilhos apresentou forte odor de fígado que foi relacionado a um maior teor de 2-propanona, enquanto que a carne de novilhas apresentou sabor característico forte (29).

### 1.1.4. Idade ao abate

Animais jovens apresentam carnes com aroma e sabor menos intenso quando comparada com a carne de animais mais velhos. Uma das razões pode estar associada com a menor concentração de mioglobina e níveis de ATP (adenosina trifosfato) nas fibras musculares (12). O ATP é precursor de inosina monofosfato (IMP) que é posteriormente degradada a hipoxantina. A IMP é conhecida como um potenciador de aroma e está associada com a sensação de gosto umami (30) e a hipoxantina possui gosto amargo, sendo que em peixes ela é um indicador bioquímico de tempo de pós-morte do músculo (31).

Com a idade, ocorre o aparecimento das ligações cruzadas intra e intermoleculares do colágeno, que se tornam estáveis de difícil desnaturação, conseqüentemente dificultando ações enzimáticas ou tratamentos térmicos (32).

### 1.1.5. Maturação

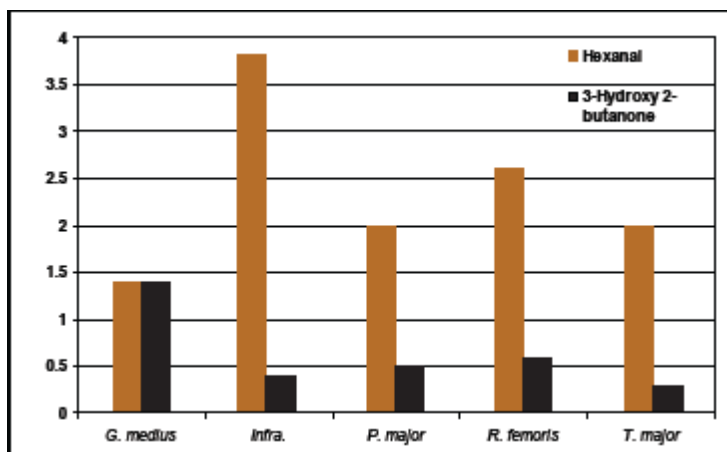
O processo de maturação tem o objetivo de amaciar a carne, por meio da ação de diversas enzimas das quais se destacam as catepsinas e calpaínas. A atividade proteolítica destas enzimas provoca a hidrólise das proteínas miofibrilares e os peptídeos produtos desta reação (7), amaciando a carne. Com a maturação, os compostos precursores de aroma e sabor são qualitativamente e quantitativamente alterados (11). Depois da maturação observa-se alteração significativa nos níveis de açúcares, ácidos orgânicos, peptídeos, aminoácidos livres, e metabólitos de ATP (8). A maturação aumenta derivados da oxidação de lipídios, compostos com carbonila, que podem contribuir com aromas indesejáveis (*off-flavors*) como o ácido butanoico que está associado com ranço e o 1-octen-3-ol associado com aroma de cogumelos (11).

Em compostos voláteis de aroma e sabor na carne de novilhos e novilhas das raças Pirenaica e Friesian, com sete dias de maturação, foram observados na carne de animais Friesian um forte gosto de gordura e sabor residual. Neste mesmo estudo odor e sabor de fígado e sangue na carne de animais machos foram relacionados com um teor maior de 2-propanona. A maturação da carne aumentou o sabor característico e o sabor residual, sendo que o composto etanal apresentou correlação positiva com sabor característico e uma correlação negativa com o odor característico (29).

### 1.1.6. Corte

Uma característica dos músculos esqueléticos é a sua diversidade, que consiste em diferentes tipos de fibras musculares que têm diferentes propriedades estruturais e funcionais (33). As fibras musculares podem variar conforme a necessidade energética de cada músculo, como por exemplo, músculos envolvidos com o movimento ou com termo regulação (34).

Sexten et al, (35) observaram efeito do tipo de fibra muscular na composição de ácidos graxos e no marmoreio em animais das raças Angus e Charolês. Stetzer et al., (36) analisaram cinco músculos de carne bovina, para os compostos voláteis hexanal e 3-hidroxi-2-butanona, sendo encontrado que a concentração destes compostos foi diferente para cada músculo analisado (Figura 1).



**Figura 1.** Voláteis (Hexanal e 3-Hidroxi 2-butanona) em carne bovina nos músculos: *Gluteus medius*, *Infraspinatus*, *Psoas major*, *Rectus femoris* e *Teres major*  
Fonte: Stetzer et al.(36)

### 1.1.7. Método de cocção

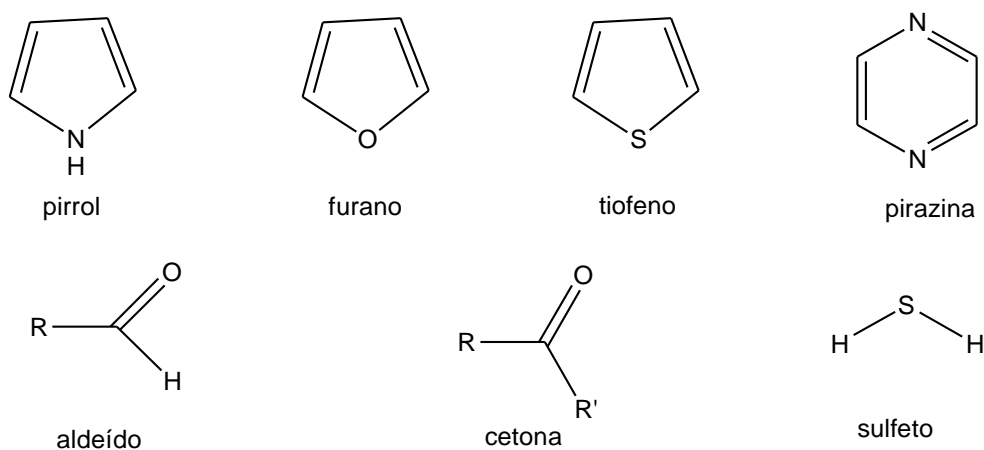
O aroma e sabor característico de carne são obtidos como resultado de reações de precursores não-voláteis que são induzidos termicamente. A reação de Maillard, oxidação lipídica e degradação da tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), são responsáveis pela formação dos compostos voláteis. Essas reações ocorrem durante o processo de cocção e são responsáveis pelo aroma, sabor e cor característica de carne assada (9).

Em geral, quanto maior o grau de aquecimento, maior é a concentração de aldeídos alifáticos, benzenóides, polissulfetos, compostos heterocíclicos e os voláteis derivados de lipídios cetonas, alcoóis (de origem não-lipídica) e de compostos de enxofre. O método de cocção e a temperatura afetam o perfil dos compostos como, por exemplo, reações com temperatura abaixo de 165 °C em comparação com temperaturas mais elevadas (> 180 °C) resultam em diferenças nas concentrações de uma série compostos de como 2,4-dimetil-3-oxazolina, 2,4,5-trimetil-3-oxazolina, 2,4-dimetil-5-etil-3-oxazolina, 2,5-dimetil-4-etil-3-oxazolina, 2,4-dimetil-3-tiazolina, 2,4,5-trimetil-3-tiazolina (11).

Dominguez et.al (37) estudaram os efeitos de quatro tipos de métodos de cocção na oxidação lipídica e formação de compostos voláteis. Os métodos de grelhar e fritar afetou em menor grau a oxidação lipídica, quando comparados com assar e cozinhar em micro-ondas. Amostras assadas apresentaram maior quantidade de compostos, o que indica que o aumento da temperatura contribui com a formação de compostos voláteis.

## 2. Formação de compostos voláteis em carne assada

Mais de mil compostos voláteis já foram identificados entre as carnes de origem bovina, suína, ovina e aves. São compostos representativos da maioria das classes de compostos orgânicos, entre elas: alcanos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, lactonas, éteres, furanos, piridinas, pirazinas, pirroles, oxazoles, tiazoles, oxazolinas, tiazolininas, tiofenos e compostos sulfurados. A Figura 2 apresenta alguns destes compostos. Acredita-se que compostos sulfurados e voláteis contendo grupo carbonila são os que mais contribuem para o aroma predominante em carne (38).



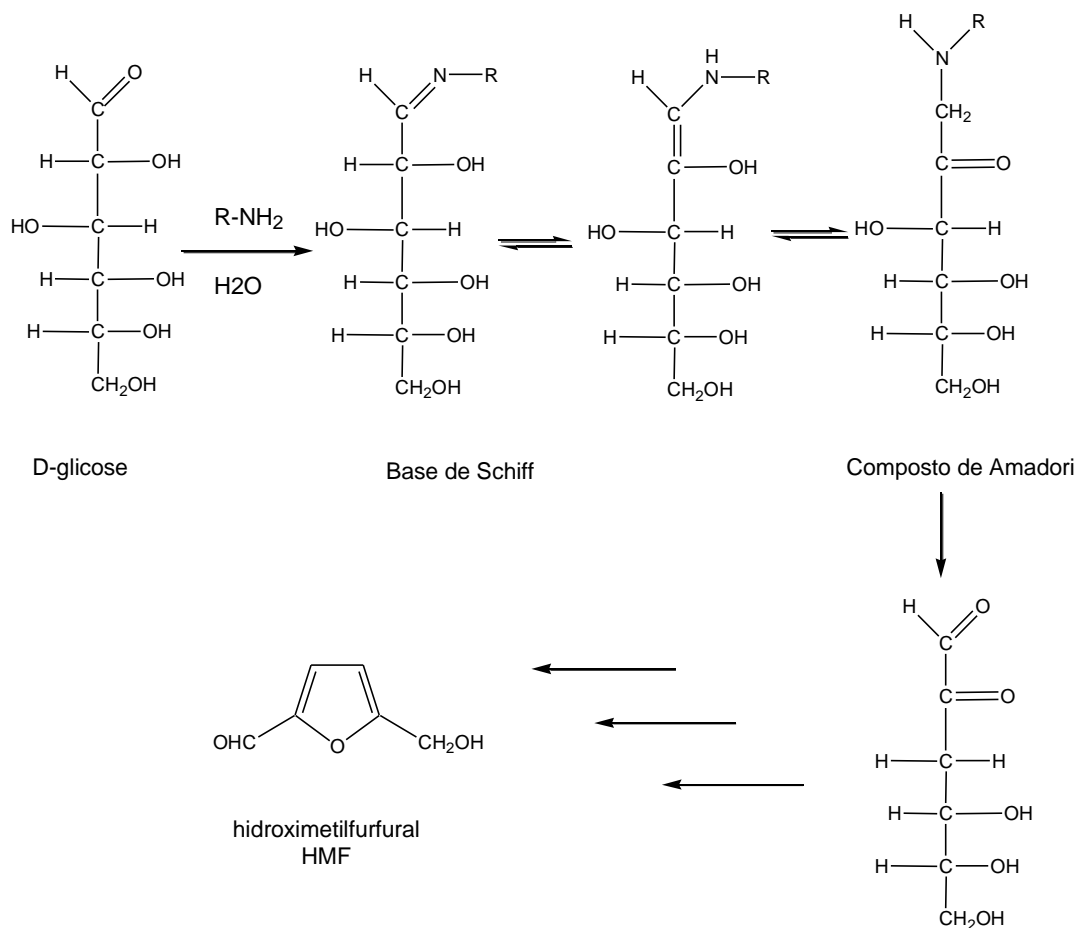
**Figura 2.** Compostos com importância de aroma para carne

Os compostos voláteis do aroma estão presentes em baixas concentrações e causam uma variedade de diferentes sensações de odor (7). Os principais precursores de aroma em carne incluem tanto compostos não voláteis (peptídeos, aminoácidos, alguns ácidos orgânicos, açúcares, tiamina e lipídeos), como voláteis. As principais reações durante o cozimento, que resultam em compostos voláteis do aroma, são a reação de Maillard (entre aminoácidos e açúcares redutores), degradação térmica da tiamina e a oxidação de lipídios (9).

### 2.2. Reação de Maillard

A reação de Maillard é responsável pela formação de grande parte dos compostos de aroma característicos de carne (39). Quando aldoses ou cetoses

são aquecidas com aminas, ocorrem diversas reações, produzindo numerosos compostos, os quais são responsáveis pelos aromas, sabores e compostos poliméricos escuros (31). O mecanismo da reação de Maillard é apresentado na Figura 3.



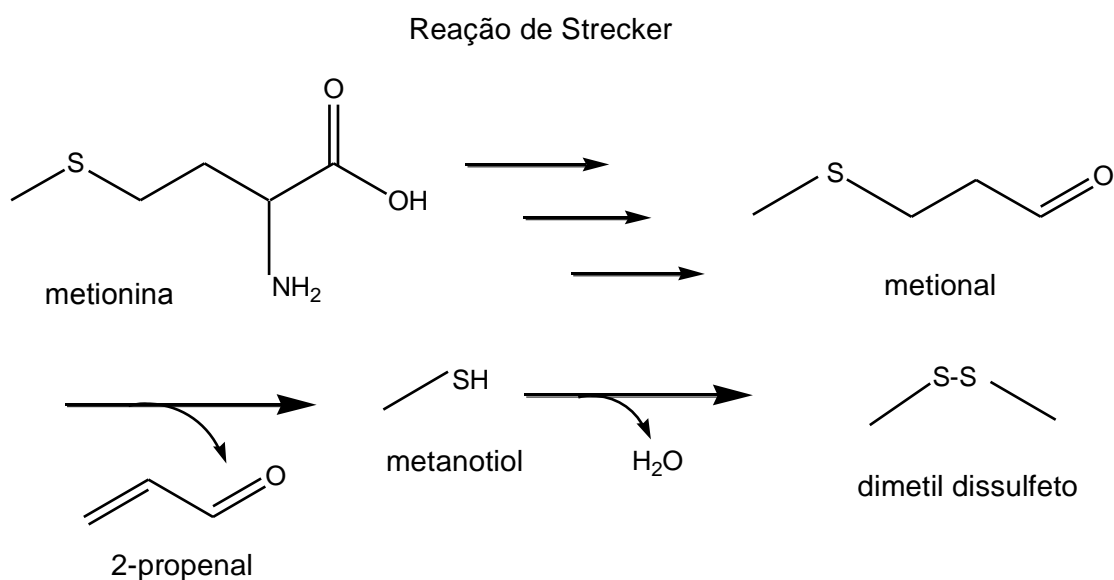
**Figura 3.** Reação de Maillard

Fonte: adaptado de Resconi et al. (41) e Zhang & Zhang (40).

Um açúcar redutor reage de modo reversível com o grupo amina de um aminoácido formando a base de Schiff, que por sua vez é submetida a uma reação chamada de rearranjo de Amadori. Os compostos de Amadori são os primeiros intermediários (31). Em seguida, os produtos de Amadori são degradados, ocorrendo reações de desidratação e desaminação, onde são obtidos compostos com carbonila, como as osonas, desoxiosonas e desoxiredutonas (41). A reação continua principalmente em condição favorável em pH 5 ou mais baixo, originando um intermediário que desidrata. Eventualmente forma-se furano, que se origina de uma hexose é o 5-

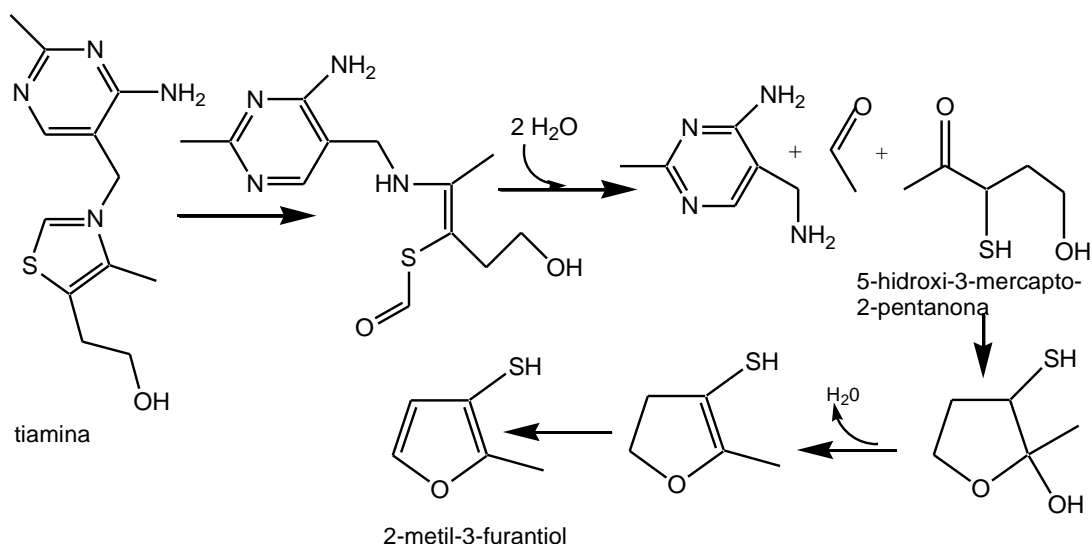
hidrometil-2-furaldeído (HMF- hidroximetilfurfural; aquele formado a partir de uma pentose é o furfural (furaldeído) (31).

A degradação de Strecker é uma reação muito importante de produtos de degradação de açúcares com aminoácidos. Basicamente envolve a desaminação e descarboxilação dos aminoácidos na presença de um composto  $\alpha$ -dicarbonilo. A degradação de Strecker resulta na quebra de aminoácidos a aldeídos, amônia e dióxido de carbono. Cada aminoácido produz um aldeído específico (41). O metional é um dos produtos desta reação, liberando metanotiol que se oxida facilmente a dimetil dissulfeto (notas de repolho e sulfuroso) (Figura 4) e dimetil trissulfeto (aroma sulfuroso) (10).



**Figura 4.** Degradação do aminoácido metionina para metional, metanotiol e dimetil dissulfeto. Fonte: Adaptado de Belitz, et. al (10), Resconi et. al. (41).

A degradação térmica da tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) produz uma grande quantidade de compostos que contém enxofre, tióis, sulfetos e dissulfetos que são produzidos a partir de reações de fragmentação e reorganização do anel tiazol (31), por exemplo, o 2-metil-3-furantiol é um importante composto, que é associado com aroma característico de carne (11) (Figura 5).



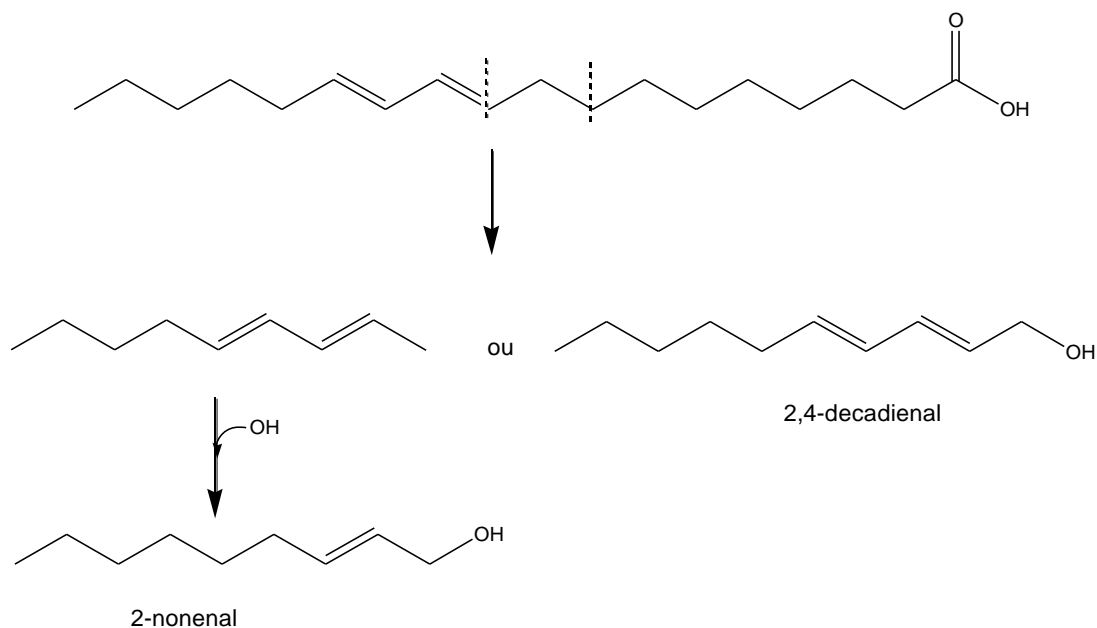
**Figura 5.** Formação do composto 2-metil-3-furantiol, a partir da degradação da tiamina. Fonte: adaptado de Cerny & Dubini (2008), disponível em Resconi et. al (41).

### 2.3. Oxidação de lipídios

A oxidação de lipídios origina um grande número de compostos voláteis (42). Aldeídos e cetonas são os principais produtos derivados dos lipídios, além de hidrocarbonetos e alcoóis, outros compostos derivados da oxidação lipídica são as lactonas, ácidos, benzenóides e benzaldeídos (41-42).

A oxidação lipídica junto da reação de Maillard contribui significativamente para a formação do aroma desejável característico de carne. No entanto, a oxidação de lípidios é também responsável pelo desenvolvimento de sabores e aromas desagradáveis, como os odores rançosos na carne que tenha sido armazenada, *in natura* ou depois de cozida (41).

Aldeídos que surgem da clivagem da cadeia de carbonos em ambos os lados do radical alcóxi- é a origem do odor característico de gordura rançosa. Por exemplo, o hidroperóxido-9 do ácido linoleico produz o 2-nonenal ou o 2,4 decadienal, Figura 6. (43).



**Figura 6.** Formação de aldeídos insaturados a partir do ácido linoleico. Fonte: adaptado de Coultate et al, 2004 (43).

Os lipídios são uma fonte de compostos relacionados ao aroma e gosto tanto diretamente (inalterados) como indiretamente (produtos de reação). Os lipídios presentes na carne (gordura subcutânea, intramuscular intermuscular, lipídios intramiocelular e fosfolipídios estruturais) são compostos por triacilgliceróis saturados, insaturados. A oxidação de ácidos graxos insaturados normalmente produz uma variedade de compostos voláteis, alguns dos quais dão a característica odor para tipos específicos de carne como ácido octanoico e hexanal (11).

### 3. Análise de compostos voláteis

A cromatografia em fase gasosa (CG) é a mais importante técnica analítica disponível para a determinação de compostos relacionados com aromas de alimentos. Uma identificação confiável requer que as substâncias emergentes na coluna sejam separadas e posteriormente identificadas por técnicas como espectroscopia infravermelha, ressonância magnética nuclear e espectroscopia de massas. Caso o objetivo seja apenas quantificar determinados compostos, pode-se optar por um detector de ionização em chama (DIC) (43). A caracterização dos compostos voláteis envolve

basicamente o isolamento destes da matriz, por meio de uma técnica de extração, seguido de análise qualitativa ou quantitativa (44).

A realização da análise por cromatografia em fase gasosa (CG) depende de um método adequado de preparo da amostra. Várias técnicas de extração têm sido aplicadas para a análise de compostos voláteis em carnes, sendo as mais utilizadas a extração destilação simultânea (*Simultaneous Distillation/Extraction - SDE*), *headspace* dinâmico em Tenax TA e a MEFS (microextração em fase sólida) (45).

A extração-destilação simultânea tem sido amplamente utilizada para a análise de voláteis em carne. É uma técnica que permite a captura eficiente dos compostos voláteis no alimento, possibilitando várias análises com um único extrato, porém há perda de compostos de baixo ponto de ebulição, podendo haver formação de artefatos e é necessário o uso de solventes. O *headspace* dinâmico de adsorção em Tenax é também um método muito empregado para a análise de compostos voláteis em alimentos, possuindo alta sensibilidade, pois seu coletor pode ser injetado diretamente na coluna de cromatografia gasosa, sendo adequado para compostos de baixo ponto de ebulição (46).

A microextração em fase sólida – MEFS (*solid phase micro-extraction – SPME*) é uma técnica desenvolvida para abordar a necessidade de reduzir o uso de solventes e redução do tamanho das amostras, ao mesmo tempo em que é rápida e de fácil preparação (47). Na análise de MEFS por *headspace*, duas etapas de equilíbrio são importantes, a primeira entre a matriz e o *headspace* e a segunda entre o *headspace* e o revestimento da fibra e, ambas são dependentes dos tempos de equilíbrio e extração (48). Entre as principais vantagens da MEFS, destacam-se: mínima formação de artefatos, moderada sensibilidade, menor volume de material adsorvente em comparação com a armadilha de Tenax TA, uma gama relativamente ampla de compostos voláteis (dependendo do tipo de fibras) pode ser analisada, a técnica é relativamente sensível a compostos aromáticos polares, é simples de usar e o custo é relativamente baixo. A principal desvantagem é que e a partir de cada extração só é possível uma única análise no CG (46).

Madruga et. al (45) em um estudo com carne caprina comparou as três técnicas de extração, sendo que o perfil de compostos identificados variou

conforme a técnica. O *headspace* em Tenax e a MEFS proporcionou melhor extração para voláteis com massas de baixo peso molecular, enquanto a *SDE* extraiu compostos voláteis com ponto de ebulição mais elevado. Compostos fenólicos foram extraídos somente por *SDE*. A MEFS foi considerada um método fácil, barato e recomendado quando o objetivo for comparar amostras.

### 3.1. Identificação dos compostos

Na análise qualitativa, o objetivo é determinar a natureza química das espécies separadas, sendo que deste modo é necessário recorrer a métodos analíticos para obter uma identificação positiva (49).

A cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas é o método mais adequado para a análise qualitativa, pois permite a identificação de grande parte dos compostos presentes na amostra. Após a obtenção do cromatograma, primeiramente é feita a comparação dos espectros de massas dos voláteis com o banco de dados da própria biblioteca do CG-EM (50). Para confirmar a identidade de cada composto é calculado o índice de retenção com programação linear de temperatura (*Linear Temperature Programmed Retention Indexes*, LTPRI) de cada composto utilizando o tempo de retenção de uma série homologa de alcanos e comparando o LTPRI de compostos presentes na literatura, analisados sob as mesmas condições (45).

O índice de retenção de um composto é um número, obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do composto em estudo com o tempo de retenção de dois padrões, podendo ser uma série de alcanos, eluídos antes e após o pico de interesse (51). O LTPRI de cada composto é calculado conforme a Equação 1.

$$LTPRI = 100 * \left( \frac{t_c - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n \right) \quad (1)$$

Onde: LTPRI: índice de retenção com programação linear de temperatura;  $t_c$ : tempo de retenção do composto de interesse;  $t_{n+1}$ : tempo de retenção do hidrocarboneto posterior;  $n$ : nº de carbonos do hidrocarboneto anterior.

Entre os índices de retenção mais citados na literatura, encontra-se o índice de Kováts e o índice de retenção com programação linear de temperatura. O índice de Kováts é sempre calculado sob condições isotérmicas de temperatura. Quando se utiliza gradiente de temperatura, um valor similar

pode ser calculado utilizando os números extraídos de seus algoritmos, sendo este valor o índice de retenção linear (LTPRI) (52). A Tabela 1 apresenta alguns dos principais compostos com importância odorífera em carne bovina com seus respectivos índices de retenção linear em quatro tipos de coluna cromatográfica.

**Tabela 1.** LTPRI- Índice de retenção em quatro tipos de coluna, para compostos com importância odorífera em carne bovina.

*OV101	*DB5	*OV17	*C20M	Composto	Aroma/odor
483	500	591	696	Metanotiol	Enxofre, alho
489	506	597	571	Propanal	Pungente
519	536	627	1037	Propanol	Pungente
527	505	596	716	Dimetil sulfeto	Repolho, enxofre
603	620	711	968	Metilbutenol	Herbal
641	650	728	910	Metilbutanal	Malte
681	820	1000	1619	Ácido butírico	Ranço, queijo, azedo
791	732	767	935	Pentanal	Amêndoa, malte
826	843	934	1191	1-(metiltio)etanotiol	Tiamina
839	856	947	1204	2-hexenal	Gordura, ranço
844	868	924	1307	Metilfurantol	Carne
883	900	991	1248	Mercaptopentanona	Carne assada
885	903	985	1174	Heptanal	Gordura, cítrico, ranço
889	913	991	1308	Dimetil pirazina	Carne bovina assada, cacau
890	1019	1186	1829	Ácido capróico	Azedo
919	936	1027	1284	Metildihidrofurantiol	Carne
933	950	861	1118	2-pentanol	Verde
951	968	1022	1279	Dimetilfurantiol	Carne
82	1006	1096	1280	Octanal	Gordura, adstringente, verde
1079	1104	1195	1385	Nonanal	Gordura, cítrico, verde
772	801	881	1084	Hexanal	Gramma, sebo, gordura
864	909	1041	1458	Metional	Batata cozida

Fonte: Flavornet. \*Colunas cromatográficas: OV 101 (100% dimetilpolisiloxano); DB 5 (5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano); OV 17 (50 % difenil 50 % dimetilpolisiloxano) C20M (PEG: polietileno glicol)

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão de literatura apresentou a importância do atributo aroma para carne bovina e fatores que o influenciam, que são: raça, sistema de produção, sexo, idade ao abate, maturação, corte e método de cocção. As principais rotas para a formação dos compostos responsáveis por este atributo e como analisá-los (técnicas de extração e meios para identificação) também foram apresentados.

## REFERENCIAS

1. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [Internet]. Exportações. 2016 [cited 2016 Jul 6]. p. Exportações. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>
2. Priolo A, Micol D, Agabriel J. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Anim Res*. 2001;50(3):185–200.
3. Huffman KL, Miller MF, Hoover LC, Wu CK, Brittin HC, Ramsey CB. Effect of beef tenderness on consumer satisfaction with steaks consumed in the home and restaurant. *J Anim Sci*. 1996;74(1):91–7.
4. Platter WJ, Tatum JD, Belk KE, Chapman PL, Scanga JA, Smith GC. Relationships of consumer sensory ratings, marbling score, and shear force value to consumer acceptance of beef strip loin steaks. *J Anim Sci. American Society of Animal Science*; 2003;81(11):2741–50.
5. Reicks AL, Brooks JC, Garmyn AJ, Thompson LD, Lyford CL, Miller MF. Demographics and beef preferences affect consumer motivation for purchasing fresh beef steaks and roasts. *Meat Sci*. 2011;
6. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa) [Internet]. [cited 2016 Oct 5]. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno/requisitos-sanitarios>
7. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
8. Pardi MC. Ciência higiene e tecnologia da carne. CEGRAF-UFG/Niteroi:EDUFF; 1993.
9. Donald S. M. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem*. 1998;62(4):415–24.
10. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Food Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg; 2009.
11. Brewer S. The Chemistry of Beef Flavor - Executive Summary. *Natl Cattlemen's Beef Assoc*. 2007;16.
12. Gomide, L. A. M.; Ramos, E. M. ; Fontes PR. *Ciência e qualidade da carne*. Viçosa: UFV; 2013. 599 p.
13. Vasta V, Priolo A. Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review.

- Meat Sci. 2006;73(2):218–28.
14. Sato M, Nakamura T, Numata M, Kuwahara K, Homma S, Sato A, et al. Study on factors related to beef quality: On the flavor and umami taste of Japanese black cattle branded beef. *Anim Sci Technol*. 1995;
  15. Insausti K, Goni V, Petri E, Gorraiz C, Beriain MJ. Effect of weight at slaughter on the volatile compounds of cooked beef from Spanish cattle breeds. *Meat Sci. Elsevier*; 2005;70(1):83–90.
  16. Heather Burrow. Breed and crossbreeding effects on marbling. *Marbling Symp [Internet]*. 2001; Available from: <http://livestocklibrary.com.au/handle/1234/20165>
  17. De Smet S, Raes K, Demeyer D. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Anim Res. EDP sciences*; 2004;53(2):81–98.
  18. Elmore JS, Cooper SL, Enser M, Mottram DS, Sinclair LA, Wilkinson RG, et al. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Sci*. 2005;69(2):233–42.
  19. Melton SL. Effects of feeds on flavor of red meat: a review. *J Anim Sci*. Madison, WI; 1990;68:4421–35.
  20. Bruce HL, Beilken SL, Leppard P. Variation in flavor and textural descriptions of cooked steaks from Bovine m. longissimus thoracis et lumborum from different production and aging regimes. *J Food Sci. Wiley Online Library*; 2005;70(4):S309–16.
  21. Elmore JS, Warren HE, Mottram DS, Scollan ND, Enser M, Richardson RI, et al. A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Sci*. 2004;68(1):27–33.
  22. Descalzo AM, Insani EM, Biolatto A, Sancho AM, García PT, Pense NA, et al. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci*. 2005;70(1):35–44.
  23. Koutsidis G, Elmore JS, Oruna-Concha MJ, Campo MM, Wood JD, Mottram D. Water soluble precursor of beef flavor: I. Effect of diet and breed. *Meat Sci*. 2008;79:124–30.

24. Hedrick HB, Bailey ME, Krouse NJ, Dupuy HP, Legendre MG. Relationship between volatile compounds in fat from forage and grain-fed beef and sensory characteristics of steaks and roasts. 1980;
25. PURCHAS RW. Effect of sex and castration on growth and composition. In: Growth regulation in farm animals – advances in meat research. 1.ed. London; 1991. p. . p.203-p.254.
26. Yoshimura T, Namikawa K, Science A, July R. Influence Location position of Breed , Sex and Fatty Anatomical Acid Fat on Lipid and of Bovine Visceral. 1985;56(2):137–43.
27. Zembayashi M, Nishimura K, Lunt DK, Smith SB. Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers. J Anim Sci. 1995;73(11):3325–32.
28. Lorenzo JM, Sarries M V, Franco D. Sex effect on meat quality and carcass traits of foals slaughtered at 15 months of age. Animal. England; 2013 Jul;7(7):1199–207.
29. Gorraiz C, Beriain MJ, Chasco J, Insausti K. Effect of Aging Time on Volatile Compounds, Odor, and Flavor of Cooked Beef from Pirenaica and Friesian Bulls and Heifers. J Food Sci. Blackwell Publishing Ltd; 2002;67(3):916–22.
30. Mottram DS, Koutsidis G, Ntova M, Elmore JS. Precursors in Meat. 2004;
31. Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema O. Quimica de Alimentos de Fennema. Artmed Editora; 2010.
32. Bailey AJ, Sims TJ. Meat tenderness: distribution of molecular species of collagen in bovine muscle. J Sci Food Agric. Wiley Online Library; 1977;28(6):565–70.
33. Pette D, Staron RS. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. In: Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 116. Springer; 1990. p. 1–76.
34. Hocquette J., Ortigues-Marty I, Pethick D, Herpin P, Fernandez X. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. Livest Prod Sci. 1998;56 (2):115–43.
35. Sexten AK, Krehbiel CR, Dillwith JW, Madden RD, McMurphy CP, Lalman DL, et al. Effect of muscle type, sire breed, and time of weaning on fatty acid composition of finishing steers<sup>1</sup>. J Anim Sci. Madison, WI: American

- Society of Animal Science; 2012;90:616–25.
36. Stetzer AJ, Tucker E, McKeith FK, Brewer MS. Quality changes in beef gluteus medius, infraspinatus, psoas major, rectus femoris, and teres major enhanced prior to aging. *J Food Sci. United States*; 2007 May;72(4):S242-6.
  37. Dominguez R, Gomez M, Fonseca S, Lorenzo JM. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Sci. England*; 2014 Jun;97(2):223–30.
  38. Shahidi F. Flavor of meat and meat products---an overview. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 1–3
  39. Bailey ME. Maillard reactions and meat flavour development. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products*. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 153–73.
  40. Zhang Y, Zhang Y. Formation and Reduction of Acrylamide in Maillard Reaction: A Review Based on the Current State of Knowledge. *Crit Rev Food Sci Nutr. Taylor & Francis*; 2007 Jun 28;47(5):521–42.
  41. Resconi VC, Escudero A, Campo MM. The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*. 2013;18(6):6748–81.
  42. Macleod G. The flavour of beef. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products*. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 4–37.
  43. Coultate TP, Soares LH de B, Medina LF, Heck JX. Alimentos: a química de seus componentes. In: *Alimentos: a química de seus componentes*. Artmed; 2004.
  44. Donadel JZ, Nörnberg JL, Kessler JD, da Silveira Osório JC, Osório MTM, Wagner R. Análise qualitativa de compostos voláteis do headspace de carne cozida de ovinos e caprinos. *Ciência Rural. Universidade Federal de Santa Maria*; 2013;43(11):2085–92.
  45. Madruga MS, Stephen Elmore J, Dodson AT, Mottram DS. Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chem*. 2009;115(3):1081–7.
  46. Elmore JS, Mottram DS, Dodson AT. Meat aroma analysis: problems and solutions. *Handb flavor Charact*. 2004;295–310.
  47. Pawliszyn J. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Elsevier Science;

- 2011.
48. Zhang Z, Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. *Anal Chem.* American Chemical Society; 1993 Jul 1;65(14):1843–52.
  49. Lanças FM. *Cromatografia em fase gasosa.* São Carlos: ACTA; 1993. 254 p.
  50. Machiels D, Istasse L. Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibres for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat. *Talanta.* 2003;61(4):529–37.
  51. Viegas MC, Bassoli DG. Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando GC-MS e coluna HP-innowax. *Quim Nova.* 2007;30(8):2031–4.
  52. ZINI C, MÜHLEN C VON. Índices De Retenção Em Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente. *Sci Chromatogr.* 2009;1(3):21–9.

## Capítulo 2.

**Otimização das condições de extração por microextração em fase sólida dos compostos presentes no aroma da carne bovina assada**

Artigo enviado para publicação em setembro de 2016 para a revista **PAB: Pesquisa Agropecuária Brasileira**. ISSN:0100-204X *versão impressa*  
ISSN 1678-3921 *versão online*

**RESUMO:** Para o consumidor o aroma é um dos atributos sensoriais mais importantes para a aceitação da carne bovina assada. Na análise dos compostos voláteis relacionados a este atributo, a primeira etapa consiste na extração. Neste trabalho foram testadas seis diferentes tipos de fibras de microextração em fase sólida (MEFS) quanto a sua eficiência na extração de compostos voláteis de carne bovina assada, bem como foram otimizadas as condições de extração utilizando a metodologia de superfície de resposta. As análises foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (CG-DIC) e cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Os valores ótimos de temperatura de extração e tempo de extração por MEFS foram de 60 °C e 65 minutos. Considerando o número de compostos identificados, as fibras de fase mista foram as que apresentaram melhores resultados, sendo que a fibra CAR/PDMS (Carboxen/polidimetilsiloxano) foi a que extraiu o maior número de compostos, predominantemente aldeídos.

**Palavras-chave:** carne bovina, compostos voláteis, aroma, CG-EM, MEFS.

**ABSTRACT:** Aroma is one of the most important sensory attribute for beef consumer's acceptance. The first step for analyzing volatile compounds associated with this attribute is their extraction from the food matrix. This study aimed to test six different Solid Phase Micro Extraction (SPME) fiber coating materials regarding its efficiency for volatile compounds extraction using surface response methodology. Gas chromatography coupled with flame detection (GC-FID) and mass spectrometry (GC-MS) were used. Optimum time/temperature for SPME extraction was 60°C/65 minutes. Considering the number of identified compounds, mixed phase fiber coatings showed the best results and CAR/PDMS fiber extracted the largest number of compounds, mainly aldehydes in the optimum extraction condition established in this experiment.

**Key-words:** beef, volatiles compounds, flavor, GC-MS, SPME

## 1. INTRODUÇÃO

O aroma é um dos atributos sensoriais mais importantes para a aceitação global da carne bovina assada (1). A carne crua apresenta aroma pouco acentuado e sabor característico de soro, levemente salino, parecido com sangue (2). Durante a cocção ocorre uma série de reações químicas complexas, como a reação de Maillard, a beta oxidação de ácidos graxos e a degradação da tiamina (3). Essas reações acontecem entre precursores não voláteis, tais como os aminoácidos, peptídeos, açúcares redutores, vitaminas, nucleotídeos e ácidos graxos da carne, sendo que os compostos voláteis produzidos a partir destas reações contribuem para o aroma característico de carne assada (4). O método de microextração em fase sólida - MEFS (SPME – *solid phase micro extraction*) por *headspace* (HS) vem sendo muito utilizado

para a determinação dos compostos voláteis em carnes (5). A MEFS é uma técnica simples e rápida, que combina extração e concentração dos analitos, sem uso de solventes e com alta sensibilidade, podendo ser aplicada a compostos polares e apolares (6). A escolha do tipo de revestimento (fase estacionária) da fibra de MEFS é um fator chave para obter uma extração representativa dos voláteis presentes no alimento. Essa seleção deve ser realizada cuidadosamente, uma vez que o número e o tipo dos compostos voláteis extraídos dependem das características físico-químicas do material de recobrimento da fibra (7).

Entre os tipos de fibras comerciais, podem ser encontradas fibras com composição química apolar como a polidimetilsiloxano (PDMS), indicada para analitos apolares, fibras polares como o poliacrilato (PA), indicada para extração de compostos com alta polaridade e fibras de polaridade mista como a divinilbenzeno/ polidimetilsiloxano (DVB/PDMS) e a carboxen/ polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), indicada para compostos de baixa a alta polaridade (8). Entre as fibras mais utilizadas para análise de voláteis em carnes e produtos cárneos estão as fibras mistas CAR/PDMS (9-10) e divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) (11-12).

Há várias pesquisas na literatura sobre a análise do perfil de compostos voláteis em carnes (13-14-11-15), mas poucos trabalhos relatam a otimização das condições de extração por MEFS para caracterização de compostos voláteis presentes na carne assada utilizando diferentes recobrimentos de fibras. Machiels e Istasse (16) testaram diferentes tempos de extração com as fibras CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS; MA et al. (17) utilizaram a fibra DVB/CAR/PDMS para otimização das condições de tempo e temperatura de extração.

Neste trabalho foram testados seis diferentes tipos de materiais de recobrimento da fibra de MEFS quanto a sua eficiência na extração de compostos voláteis da carne bovina, bem como a otimização das condições de extração utilizando a metodologia de superfície de resposta.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2. 1. Preparo das amostras**

Para a realização dos experimentos, foi utilizada uma peça do músculo *longissimus thoracis*, correspondente ao contrafilé, adquirida em frigorífico comercial. A peça de carne foi fracionada em bifes de 2,5 cm com aproximadamente 50 g cada, embaladas a vácuo e mantidas congeladas à -18 °C até o momento das análises. Para as análises as amostras foram descongeladas sob refrigeração (6 °C) por 24 horas. Após o descongelamento foi realizada limpeza da carne com a retirada de gorduras aparentes. Em seguida, a carne foi submetida à cocção em forno elétrico NKS, modelo Ford 9 Litros, pré-aquecido a 180 °C por cerca de 15 minutos, até atingir a temperatura interna de 75 °C medida com um termômetro tipo espeto próprio para alimentos. Após a cocção, a amostra foi triturada em um béquer de 600 mL com auxílio de um processador de alimentos Walita modelo Viva RI1364/06. Alíquotas de 10 g de carne assada foram pesadas em frascos de 60 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/silicone. O preparo das amostras foi o mesmo para todas as etapas do experimento.

## **2.2. Otimização das condições de extração por MEFS**

### **2.2.1. Escolha da fibra**

Para a seleção da fibra de MEFS, foram testados seis tipos de recobrimentos (fase estacionária): 75 µm CAR/PDMS (Carboxen/polidimetilsiloxano), 65 µm PDMS/DVB (polidimetilsiloxano/divinilbenzeno), 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/carboxen/ polidimetilsiloxano), 100 µm PDMS (Polidimetilsiloxano), 70 µm CAR (Carboxen) e 85 µm PA (poliacrilato). Todas as fibras foram adquiridas da Supelco (Bellefonte, PA, USA). Antes do uso as fibras foram devidamente condicionadas seguindo as recomendações do fabricante.

Para verificar qual fibra possuía melhor capacidade de extração dos voláteis da amostra, por meio de testes preliminares e dados da literatura (18), foram estabelecidas as seguintes condições de extração: temperatura de extração 60 °C; tempo de equilíbrio 10 minutos e o tempo de extração de 30 minutos. Após a extração, a fibra era imediatamente inserida no injetor do CG-DIC. Todas as seis fibras foram testadas em triplicata e a fibra que forneceu a

maior área total do cromatograma foi escolhida para as etapas posteriores de otimização das condições de extração.

### 2.2.2. Otimização das condições de extração

Após a escolha da fibra, a otimização das condições de extração dos voláteis de carne assada foi realizada por meio de um delineamento composto central rotacional (DCCR), baseado num planejamento fatorial  $2^2$ , com quatro pontos axiais ( $\alpha = 1,4142$ ) e três repetições no ponto central (19). As variáveis otimizadas foram tempo de extração (min) e temperatura de extração ( $^{\circ}\text{C}$ ) por serem as que mais afetam o processo de extração dos voláteis em carne por MEFS (16-17). Os níveis de cada variável investigada estão descritos na Tabela 1. No total, onze experimentos foram realizados de forma aleatória.

**Tabela 1.** Fatores e níveis aplicados na otimização das condições de extração dos voláteis da carne assada por HS-MEFS

Variáveis	Variáveis codificadas				
	$-\alpha^a$	-1	0	1	$\alpha^a$
Temperatura (T, $^{\circ}\text{C}$ )	20	26	40	54	60
Tempo (t, min)	10	26	65	104	120

$\alpha = 1,4142$

### 2.2.3. Cromatografia Gasosa acoplada a detector de ionização em chama (CG-DIC)

Para as etapas de escolha da fibra e a otimização das condições de extração, as análises foram realizadas por CG-DIC conforme descrito a seguir. Após a extração, a fibra de MEFS foi inserida diretamente no injetor de um cromatógrafo a gás GC-17A (Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado a um detector de ionização em chama (DIC). A dessorção térmica dos voláteis da fibra de MEFS foi realizada a  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ , modo *splitless* por 1,0 min. A fibra permaneceu no injetor por 15 minutos para eliminar o efeito memória. Um branco de fibra era realizado entre cada procedimento de extração e injeção para confirmar que o efeito memória era inexistente. Na separação cromatográfica utilizou-se uma coluna capilar DB-5 MS (5 % fenil, 95 % dimetilpolisiloxano) de 60 m x 0,25 mm de diâmetro interno e 1  $\mu\text{m}$  de espessura de fase estacionária (J&W Scientific, Santa Clara, CA, USA). O gradiente de temperatura utilizado foi:  $T_{\text{in}} = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com incremento de  $2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $108\text{ }^{\circ}\text{C}$ , após,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  e

finalmente 60 °C/min até 300 °C, permanecendo nesta temperatura por cinco minutos. A temperatura do DIC era de 300 °C, o gás de arraste empregado foi nitrogênio na vazão constante de 1,16 mL/min.

### **2.3. Separação e identificação de compostos voláteis por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) na condição otimizada**

Com as condições de tempo e temperatura otimizadas, foi realizada a identificação dos compostos voláteis, utilizando os seis tipos de recobrimento de fibra de MEFS, com a finalidade de comparar a eficiência de extração de cada uma das fibras. Estas análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas modelo QP-2010 ULTRA (Shimadzu, Kyoto, Japão) sob as mesmas condições cromatográficas descritas para o CG-DIC. Como gás de arraste foi utilizado hélio na vazão constante de 1,0mL/min., energia de ionização +70 eV, monitorando a faixa de razão massa/carga ( $m/z$ ) de 35 a 350. Uma solução de *n*-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi injetada no CG-EM sob as mesmas condições da amostra, a fim de se calcular os índices de retenção de temperatura programada (LTPRI – *linear temperature programmed retention index*) dos voláteis. A identificação dos analitos foi realizada comparando-se os valores de LTPRI e os espectros de massa obtidos para a amostra com os espectros de massas e valores de LTPRI descritos na literatura (20), com similaridade mínima de 85 % para os espectros de massas e variação máxima de ±10 para os valores de LTPRI.

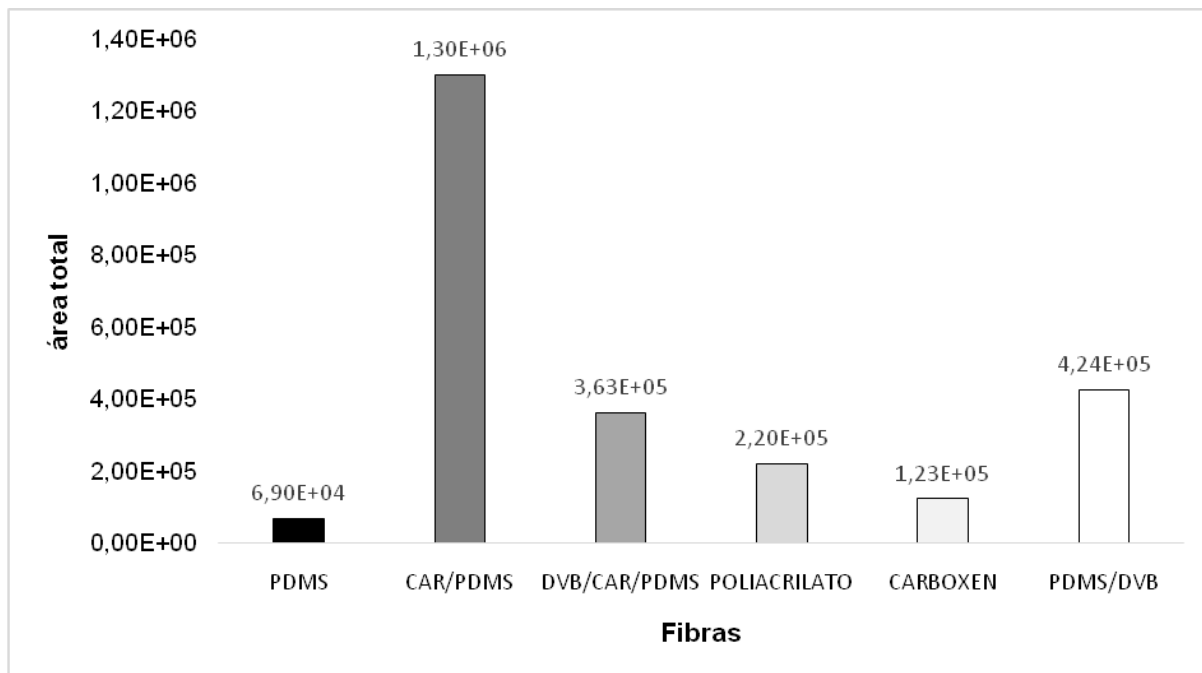
### **2.4. Análise estatística**

Os dados de área obtidos para as seis fibras avaliadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5 % de significância. Os dados do delineamento composto central rotacional (DCCR) foram realizados empregando o software Statistica v.7 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Os experimentos foram também realizados no ponto central (n=3) com o objetivo de estimar o erro puro (1,11E+11) e detectar qualquer eventual falta de ajuste do modelo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Escolha da fibra

Os resultados de área total obtidos no CG-DIC para cada uma das seis fibras testadas por meio da *HS-MEFS* podem ser observados na Figura 1. Embora as condições de extração fossem as mesmas, cada fibra possui um tipo diferente de revestimento e, conseqüentemente, de polaridade. Deste modo, foram obtidas diferentes áreas totais de picos nos cromatogramas.



**Figura 1.** Área total de picos para cada fibra MEFS na extração dos compostos voláteis de carne bovina assada - PDMS (polidimetilsiloxano), CAR/PDMS (carboxen/polidimetilsiloxano), DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano), PA (poliacrilato), CAR (carboxen) e PDMS/DVB (polidimetilsiloxano/divinilbenzeno). Resultado expresso como média das triplicatas de análise. Condições de extração: temperatura de extração 60 °C; tempo de equilíbrio 10 minutos e o tempo de extração de 30 minutos.

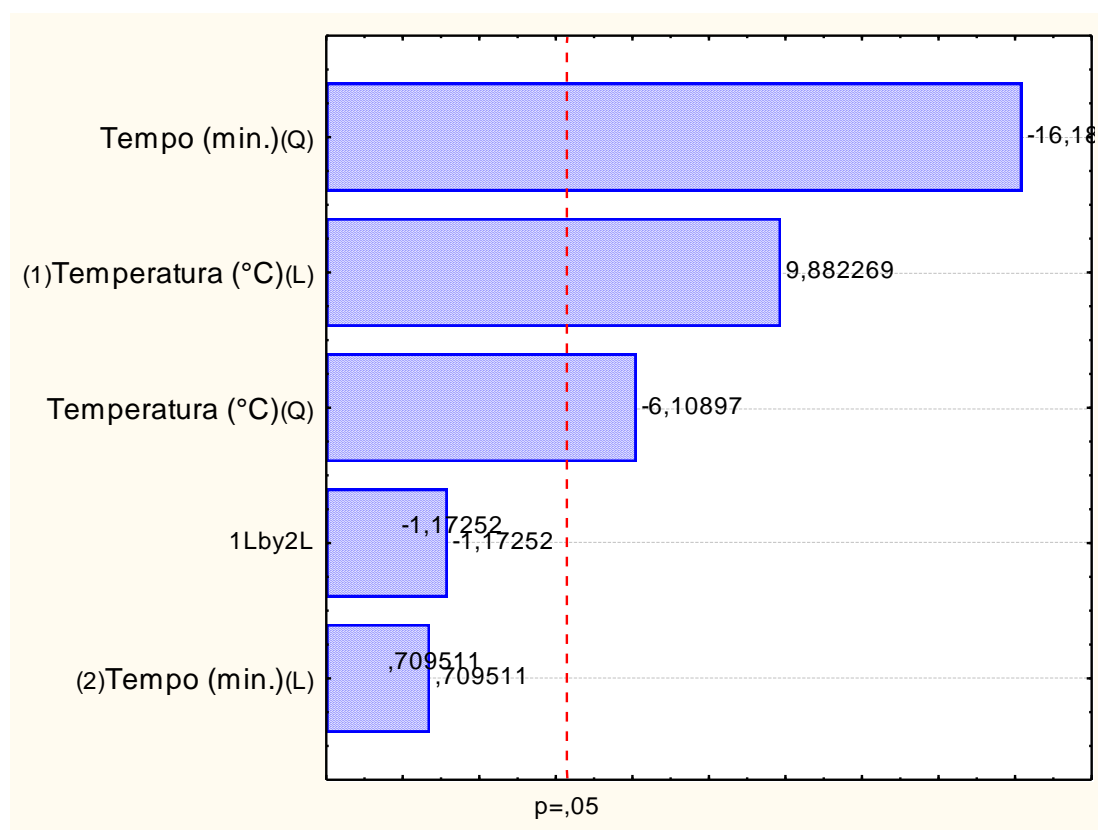
A seleção do revestimento das fibras de MEFS é baseada no princípio “semelhante dissolve semelhante”, isto é, compostos apolares apresentam alta afinidade pela fase apolar PDMS (polidimetilsiloxano), compostos polares apresentam maior afinidade pela fase polar Carboxen, enquanto que fibras mistas como a CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS são indicadas principalmente para compostos voláteis polares e apolares (21- 22).

A fibra de fase mista CAR/PDMS apresentou área significativamente ( $p < 0,05$ ) maior que as demais fibras, sendo escolhida para as etapas seguintes do experimento. Resultados semelhantes foram encontrados por Machiels e Istasse (16) que observaram que a área total dos picos dos compostos

presentes na carne bovina assada foi maior quando extraídos com a fibra CAR/PDMS. Lorenzo (7) em um estudo sobre os voláteis presentes em carne seca de cavalos, também relatou maior capacidade de extração com a fibra CAR/PDMS.

### 3.2. Otimização das condições de extração

A Figura 2 mostra o diagrama de Pareto que resume os resultados obtidos utilizando o delineamento experimental com a fibra CAR/PDMS. Pode-se observar que os parâmetros tempo quadrático (Q), temperatura quadrática (Q) e temperatura linear (L) foram significativos em um intervalo de confiança de 95 %. Todos os parâmetros foram utilizados para o delineamento experimental, de modo a obter as melhores condições para a temperatura e tempo de extração.



**Figura 2.** Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis estudadas. Resposta: área total, 2 fatores, 1 bloco, 11 experimentos, erro puro 1,11E+11.

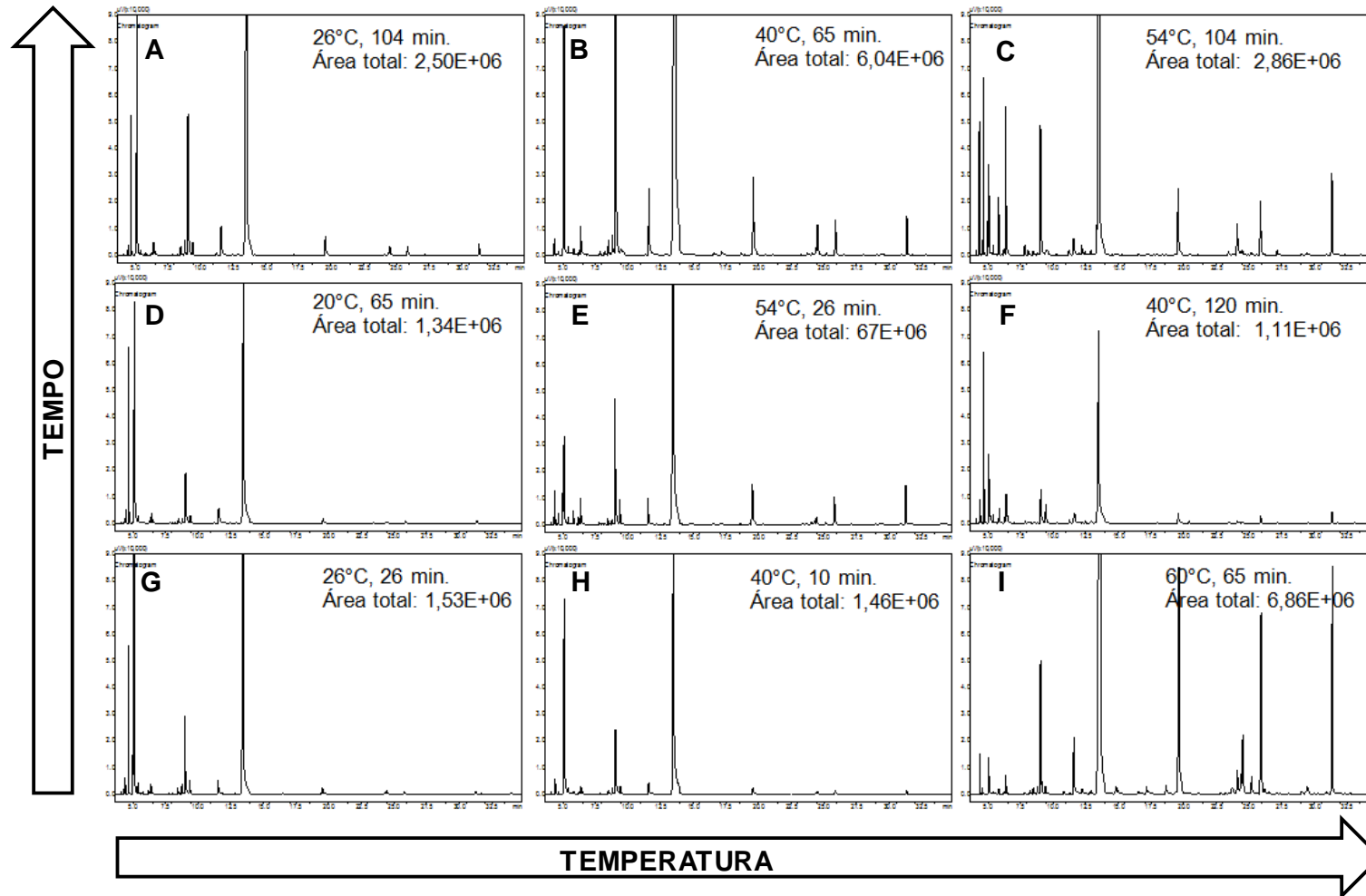
A Tabela 2 apresenta as respostas de área total dos cromatogramas obtidos a partir da combinação das variáveis do planejamento experimental.

**Tabela 2.** Condições experimentais e valores da resposta (área total) obtidas no delineamento composto central rotacional, na etapa de otimização das condições de extração *HS-MEFS* dos compostos voláteis da carne bovina assada.

Ensaio	Temperatura (°C)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Tempo (min)	Resposta (área total*)
1	-1	26	-1	26	1,53E+06
2	1	54	-1	26	2,67E+06
3	-1	26	1	104	2,50E+06
4	1	54	1	104	2,86E+06
5	-1,41	20	0	65	1,34E+06
6	1,41	60	0	65	6,86E+06
7	0	40	-1,41	10	1,46E+06
8	0	40	1,41	120	1,11E+06
9	0	40	0	65	5,41E+06
10	0	40	0	65	5,54E+06
11	0	40	0	65	6,04E+06

\*Área total expressa em unidade arbitrária

Na Figura 3 podem ser observados os perfis cromatográficos obtidos para as variáveis testadas no DCCR. A distribuição dos cromatogramas nesta figura obedece ao planejamento, com os pontos de mínimo e máximo de cada parâmetro nas extremidades e, entre eles, os pontos axiais. O cromatograma B representa uma das repetições do ponto central, e o cromatograma I é referente ao experimento de número 6. Observou-se um aumento das áreas dos picos na condição de extração a 60 °C com 65 minutos de tempo de extração.



**Figura 3.** Cromatogramas obtidos com os experimentos do delineamento composto central rotacional para otimização da extração dos voláteis da carne bovina com a fibra de MEFS CAR/PDMS. As setas indicam o sentido do aumento do tempo e da temperatura de extração.

A técnica de *HS-MEFS* é baseada no equilíbrio entre as três fases do sistema: a matriz, o *headspace* e o material de recobrimento da fibra (22). O aumento da temperatura pode ampliar a extração, pois o aquecimento, em geral, aumenta a pressão de vapor dos analitos presentes na matriz, facilitando sua liberação no *headspace* (21,24).

Na Tabela 3, encontram-se os resultados de ANOVA, onde se verificou que a significância estatística da regressão dada pela razão entre a média dos quadrados da regressão pela média quadrática dos resíduos ( $MQ_R/MQ_r$ ) ou  $F_{\text{calculado}}$ , é de 7,04. Quando comparada ao nível de significância de 95 % com o valor de  $F_{\text{tabulado}}$  (5,05), verifica-se que  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabulado}}$  cerca de 1,39 vezes, indicando a existência de uma adequada correlação entre as variáveis estudadas. No entanto, ao se analisar a significância estatística da falta de ajuste do modelo, dada pela razão entre a média quadrática da falta de ajuste pela média quadrática do erro puro ( $MQ_{\text{faj}}/MQ_{\text{ep}}$ ), que apresentar um valor de  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabulado}}$  para um bom ajuste do modelo, verificou-se que o modelo obtido não apresenta falta de ajuste aos resultados experimentais.

Estes resultados permitem aplicar o modelo obtido em previsões sobre a resposta (valores de área total) para outras temperaturas e outros tempos de extração. Destaca-se que o desvio padrão relativo (CV%) para os valores de área total obtidos no ponto central do DCCR foi de 5,87 %, demonstrando a repetibilidade do método desenvolvido nesta condição.

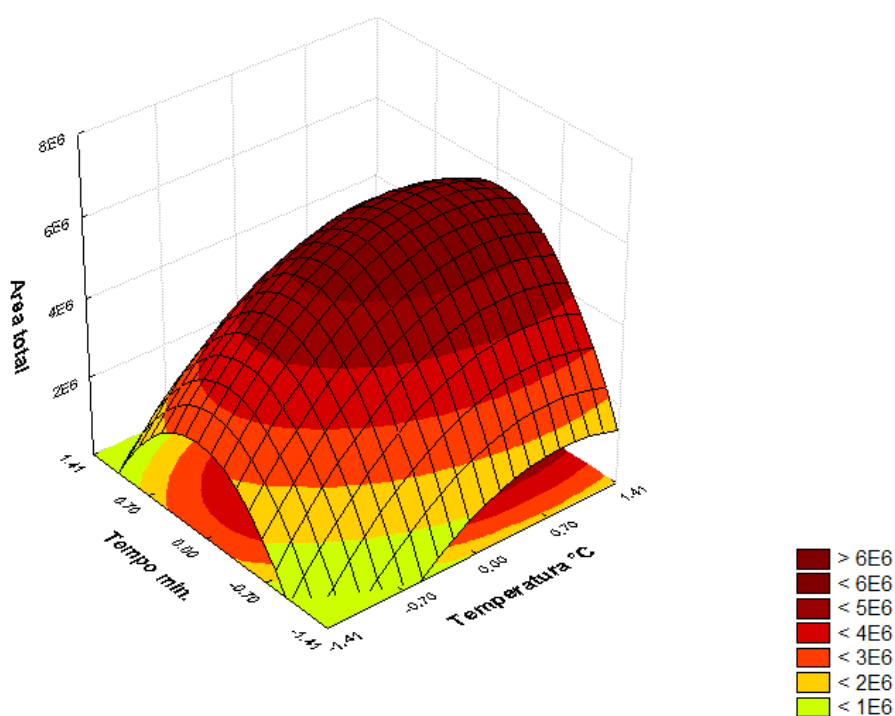
**Tabela 3.** Análise da variância (ANOVA) pelo método dos mínimos quadrados para os parâmetros temperatura e tempo de extração dos compostos voláteis por *HS-MEFS* da carne bovina assada.

Fontes de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	$F_{\text{cal.}}$	$F_{\text{tab.}}$	$F_{\text{cal.}}/F_{\text{tab.}}$
Regressão	4,02E+13	5	8,05E+12	7,04	5,05	1,39
Resíduos	5,72E+12	5	1,14E+12			
Falta de ajuste	5,50E+12	3	1,83E+12	16,56	19,16	0,86
Erro puro	2,21E+11	2	1,11E+11			
Total	4,59E+13	10				
$R^2$	0,87					

Percentual de variância explicada: 87,55% e Percentual máximo de variância explicada: 7,98%

A superfície de resposta obtida no DCCR pode ser observada na Figura 4. Os valores ótimos de temperatura de extração e tempo de extração foram de 60 °C e 65 minutos. Embora a condição ótima de tempo de extração possa ser

considerada longa em comparação a outros trabalhos de extração de voláteis de carne assada por MEFS descritos na literatura, o tempo de 65 minutos é razoável se o compararmos ao tempo de extração de outros métodos de extração como é o caso da técnica de Destilação e Extração Simultâneas ou *headspace* dinâmico empregando armadilha de Tenax ou Porapack Q.



**Figura 4.** Superfície de resposta obtida pelo modelo quadrático ( $y = 5,66E+06 + 1,16E+06*T - 8,59E+05*T^2 + 8,36E+04*t - 2,27E+06*t^2 - 1,95E+05*T*t$ ) para a otimização das condições de temperatura de extração (T, °C) e tempo de extração (t, min) dos voláteis por HS-MEFS da carne bovina assada.

### 3.3 Identificação dos compostos voláteis por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

A Tabela 4 apresenta os compostos voláteis identificados por CG-EM com o uso de cada uma das fibras de MEFS testadas empregando-se as condições ótimas de tempo e temperatura de extração obtidas no delineamento experimental, para a análise de compostos voláteis presentes na carne bovina assada.

**Tabela 4.** Compostos voláteis identificados em carne bovina assada com uso de HS-MEFS e CG-EM

Compostos	LTPRI (lit)	LTPRI (cal)	$\Delta$	Fibras de MEFS					
				CAR PDMS	DVB PDMS	DVB CARP DMS	PDMS	PA	CA
<b>ácidos carboxílicos</b>									
ácido capróico	1019	1014	5	x					
ác. 4-hidroxibutanóico	933	942	-9	x					
<b>alcanos</b>									
2,5-dimetil-hexano	758	766	-8	x					
2,2,5-trimetil-hexano	789	799	-10	x					
3-metil-nonano	976	969	7			x			
decano	1000	1000	0	x	x	x			
dodecano	1200	1200	0		x	x			
tridecano	1300	1300	0			x			
tetradecano	1400	1400	0		x				
nonano	900	900	0			x			
<b>álcoois</b>									
1-pentanol	779	780	-1	x	x	x	x	x	x
3-metil-2-buten-1ol	785	784	1			x			
2,3- butanediol	819	816	3						x
1-hexanol	869	870	-1	x	x	x	x	x	
1-heptanol	984	989	-5	x	x	x	x	x	
1-octen-3-ol	978	980	-2	x	x	x	x	x	
2-etil-1-hexanol	1045	1047	-2	x	x				
2-octen-1-ol	1064	1070	-6	x	x				
1-octanol	1074	1074	0	x	x	x	x	x	x
1-nonanol	1172	1174	-2			x			
<b>aldeídos</b>									
3-metil-butanal	736	736	0	x	x	x			
2-metil-butanal	739	739	0	x	x	x			
hexanal	801	802	-1	x	x	x	x	x	x
heptanal	902	903	-1	x	x	x	x	x	x
octanal	1004	1003	1	x	x	x	x	x	x
2-octenal	1064	1074	-10	x	x	x			
nonanal	1108	1105	3	x	x	x	x	x	x
2-nonenal	1162	1160	2		x	x			
decanal	1207	1206	1	x	x	x	x	x	x
undecanal	1311	1317	-6		x	x			x
2-undecanal	1376	1377	-1		x				
dodecanal	1409	1406	3		x				
<b>cetonas</b>									
3-hidroxi-2-butanona	743	746	-3	x	x	x			x
ciclopentanona	797	796	1					x	
2-heptanona	905	908	-3	x					
<b>compostos sulfurados</b>									
dimetil dissulfeto	776	776	0	x	x	x	x		
2-etil-tiofeno	880	879	1	x		x			

metional	908	908	0		x					
trimetil trissulfeto	981	981	0	x			x			
2-butil-tiofeno	1072	1073	-1	x						
5-metil-2-tiofenocarboxaldeído	1135	1133	2	x						
<b>compostos aromáticos</b>										
tolueno	784	789	-5	x	x	x				
benzaldeído	970	973	-3	x	x	x	x	x	x	
2-pentil-furano	996	991	5	x	x	x	x	x	x	
benzenoacetaldéido	1043	1042	1		x					
1-etenil-4-etil-benzeno	1073	1083	-10						x	
4-etil-benzaldeído	1168	1160	8						x	
<b>ésteres</b>										
n-hexilmetanoato	947	943	4	x						
octilmetanoato	1128	1131	-3		x					
<b>Total de compostos identificados</b>					31	29	28	14	13	14

LTPRI Calc. = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano LTPRI Lit. = Índice de retenção obtido na literatura, com a coluna capilar 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano.  $\Delta$  = diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura:  $LTPRI_{Lit.} - LTPRI_{Calc.}$  CAR/PDMS (Carboxen/polidimetilsiloxano), PDMS/DVB (polidimetilsiloxano/ divinilbenzeno), DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/ carboxen/ polidimetilsiloxano) PDMS (polidimetilsiloxano), PA (poliacrilato) e CAR (Carboxen).

A fibra que extraiu maior número de compostos foi a CAR/PDMS, seguida da DVB/PDMS e DVB/CAR/PDMS. O perfil químico dos voláteis foi constituído de oito classes químicas totalizando 49 compostos. Foram encontrados aldeídos (24,49 %), álcoois (20,4 %), alcanos (16,33 %), compostos sulfurados (12,25 %), compostos aromáticos (12,25 %), cetonas (6,12 %), ácidos carboxílicos (4,08 %) e ésteres (4,08 %).

Em relação à origem dos compostos voláteis encontrados, aldeídos e cetonas são provenientes da reação de Maillard e degradação de Strecker entre carboidratos e aminoácidos (24), bem como da oxidação de lipídios (26-27).

Aldeídos insaturados e saturados com cadeias carbônicas de 6 a 10 átomos são encontrados no aroma de toda carne bovina, sendo os principais produtos da degradação lipídica (4). Aldeídos como hexanal, octanal e nonanal foram extraídos com os seis tipos de fibra. Aldeídos são especialmente importantes para o aroma de alimentos em função dos seus baixos limiares de percepção de odor, em especial na carne assada, na qual contribuem com notas de gorduroso, gramíneo ou gordura. O hexanal é um produto da

oxidação do ácido linoleico, ao passo que octanal e nonanal são oriundos da oxidação do ácido oleico (27).

Outros aldeídos, que contribuem para o aroma de carne assada, são formados durante a reação de Maillard, são conhecidos como aldeídos de Strecker, podendo-se citar o 3-metil-butanal (aroma de tostado), obtido a partir do aminoácido leucina, e o 2-metil-butanal (notas de amêndoas) derivado do aminoácido isoleucina (25).

Durante o processamento da carne, parte dos aldeídos é reduzida formando o álcool correspondente (24). Foram encontrados álcoois de cadeia linear de 5 a 9 átomos de carbono: o 1-pentanol (aroma pungente) foi extraído com as seis fibras, o 1-octen-3-ol (notas de cogumelo) e o 1-hexanol (aromas de resinoso e tostado) foram extraídos apenas com a fibra Carboxen. Estes álcoois são formados a partir da degradação do ácido linolênico (28).

Foram encontrados dois ésteres, o n-hexilmetanoato (notas frutadas e adocicadas de banana e maçã) e o octilmetanoato (de aroma frutado), os quais podem ser formados a partir de esterificação de ácidos carboxílicos com álcoois (25).

As cetonas podem ser obtidas por meio da reação de Maillard e também por meio da oxidação lipídica (1-4). A 3-hidroxi-2-butanona (aroma amanteigado)(29) foi extraída com as três fibras de fase mista e a ciclopentanona (notas de menta) (29) foi identificada apenas na mistura de voláteis extraída com a fibra de poliacrilato.

A oxidação de lipídios também origina hidrocarbonetos e álcoois, lactonas, ácidos, benzenóides e benzaldeídos (26-27). Nas amostras foram identificados compostos como benzaldeído (aroma de amêndoas e açúcar queimado), benzeno acetaldeído (notas de gorduroso, adocicado e gramíneo) e 4-etil-benzaldeído (amêndoas amargas e anis doce)

Compostos sulfurados como o dimetil dissulfeto (aroma de cebola e repolho), 2-etil-tiofeno (gramíneo, estireno) e o metional (batata cozida) podem ser formados durante a reação de Maillard como produto intermediário obtido na degradação de Strecker, durante a degradação da cisteína e da metionina.

Mesmo ocorrendo em baixas concentrações, a contribuição dos compostos sulfurados para a formação do aroma da carne bovina é muito importante, pois estão relacionados com o aroma de carne grelhada (4). A

degradação térmica da tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) produz uma grande quantidade de compostos que contém enxofre, que são produzidos partir de reações de fragmentação e reorganização do anel tiazol (30). O metional é um dos produtos desta reação, liberando metanotiol que se oxida facilmente a dimetil dissulfeto (notas de repolho e sulfuroso) e dimetil trissulfeto (aroma sulfuroso) (24).

#### **4. CONCLUSÕES**

Com base no delineamento experimental utilizado, a metodologia de microextração em fase sólida por *headspace* apresentou boa eficiência e repetibilidade para extrair os voláteis da carne bovina assada.

Em termos de perfil químico qualitativo e número de compostos identificados, as fibras de fase estacionária mista (apolar e polar) foram as que apresentaram os melhores resultados, sendo que a fibra CAR/PDMS foi a que se mostrou a mais eficiente para extrair um maior número de compostos voláteis da carne bovina.

## 5. REFERÊNCIAS

1. Shahidi F. Flavor of meat and meat products-an overview. In: Shahidi F, editor. Flavor of Meat and Meat Products. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 1–3.
2. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Artmed; 2005. v. 2,280 p.
3. Elmore JS, Mottram DS, Dodson AT. Meat aroma analysis: problems and solutions. *Handb flavor Charact.* 2004; p.295–310.
4. Donald S. M. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.* 1998;62(4):415–24.
5. Watanabe A, Ueda Y, Higuchi M, Shiba N. Analysis of volatile compounds in beef fat by dynamic-headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *J Food Sci.* 2008;73(5):420–5.
6. Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J Chromatogr A. Netherlands;* 2000 Jun;880(1–2):35–62.
7. Lorenzo JM. Influence of the type of fiber coating and extraction time on foal dry-cured loin volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). Vol. 96, *Meat Science.* 2014.
8. Pires Valente AL, Augusto F. Microextração por fase sólida. *Quim Nova.* 2000;23(4):523–30.
9. Saraiva C, Oliveira I, Silva JA, Martins C, Ventanas J, Garc??a C. Implementation of multivariate techniques for the selection of volatile compounds as indicators of sensory quality of raw beef. *J Food Sci Technol.* 2014;52(6):3887–98.
10. Legako JF, Brooks JC, O’Quinn TG, Hagan TDJ, Polkinghorne R, Farmer LJ, et al. Consumer palatability scores and volatile beef flavor compounds of five USDA quality grades and four muscles. *Meat Sci.* 2015;100:291–300.
11. Vasta V, Luciano G, Dimauro C, R??hrle F, Priolo A, Monahan FJ, et al. The volatile profile of longissimus dorsi muscle of heifers fed pasture, pasture silage or cereal concentrate: Implication for dietary discrimination.

- Meat Sci. 2011;87(3):282–9.
12. Dominguez R, Gomez M, Fonseca S, Lorenzo JM. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Sci. England*; 2014 Jun;97(2):223–30.
  13. Elmore JS, Mottram DS, Hierro E. Two-fibre solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork. *J Chromatogr A*. 2001;905(1–2):233–40.
  14. Wettasinghe M, Vasanthan T, Temelli F, Swallow K. Volatile flavour composition of cooked by-product blends of chicken, beef and pork: A quantitative GC-MS investigation. *Food Res Int*. 2001;34(2–3):149–58.
  15. Watanabe A, Kamada G, Imanari M, Shiba N, Yonai M, Muramoto T. Effect of aging on volatile compounds in cooked beef. *Meat Sci*. 2015;107:12–9.
  16. Machiels D, Istasse L. Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibres for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat. *Talanta*. 2003;61(4):529–37.
  17. Ma QL, Hamid N, Bekhit AED, Robertson J, Law TF. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. *Microchem J*. 2013 Jul [cited 2016 Mar 3];111:16–24.
  18. Madruga MS, Stephen Elmore J, Dodson AT, Mottram DS. Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chem*. 2009;115(3):1081–7.
  19. Ferreira SLC, Bruns RE, da Silva EGP, dos Santos WNL, Quintella CM, David JM, et al. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *J Chromatogr A*. 2007;1158(1):2–14.
  20. Base de dados de Referência padrão do NIST número 69 [Internet]. 2016 [cited 2016 Jan 16]. p. NIST Livro de Química na Web. Available from: <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
  21. Parreira FV, De Lourdes Cardeal Z. Amostragem de compostos orgânicos voláteis no AR utilizando a técnica de microextração em fase

- sólida. *Quim Nova*. 2005;28(4):646–54.
22. Steffen A, Pawliszyn J. Analysis of Flavor Volatiles Using Headspace Solid-Phase Microextraction. *J Agric Food Chem*. American Chemical Society; 1996 Jan 1;44(8):2187–93.
  23. Zhang Z, Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. *Anal Chem*. American Chemical Society; 1993 Jul 1;65(14):1843–52.
  24. Aroma Compounds. In: *Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. p. 340–402.
  25. Macleod G. The flavour of beef. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products*. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 4–37.
  26. Resconi VC, Escudero A, Campo MM. The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*. 2013;18(6):6748–81.
  27. Ordonez JA, Hierro EM, Bruna JM, de la Hoz L. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Crit Rev Food Sci Nutr*. United States; 1999 Jul;39(4):329–67.
  28. Elmore JS, Warren HE, Mottram DS, Scollan ND, Enser M, Richardson RI, et al. A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Sci*. 2004;68(1):27–33.
  29. Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. *Meat Sci*. 2007;77(1 SPEC. ISS.):63–80.
  30. Damodaran, S.; Parkin, K.; Fennema O. *Química de Alimentos de Fennema*. Artmed Editora; 2010.

## **Capítulo 3.**

**Análise qualitativa de compostos voláteis em carne bovina assada  
proveniente de animais cruzados terminados a pasto ou confinamento**

## RESUMO

O sabor é um dos atributos sensorial mais importante para a carne assada e exerce grande influencia na aceitação do consumidor. Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos de sistema de produção, raça do touro, grupo genético da vaca e sexo no perfil químico dos principais compostos voláteis presentes na carne bovina. Foi analisada a carne de animais de quatro grupos genéticos, machos não castrados e fêmeas, filhos de vacas cruzadas  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TA) ou  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TS) com Touros Angus ou Limousin, terminados a pasto ou confinamento. Foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida (MEFS) para extração dos compostos voláteis, que foram analisados por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM). Foram identificados 94 compostos, sendo que a raça do touro foi o efeito que apresentou maior número de compostos com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Todos os efeitos estudados influenciaram o perfil qualitativo dos compostos voláteis presentes na carne bovina, com destaque para sistema de produção (confinamento ou pasto) e raça do touro (Angus ou Limousin).

**Palavras-chave:** voláteis, sistema de produção, CG-EM, MEFS (Microextração em Fase Sólida)

## ABSTRACT

The flavor is one the most important sensory attributes for roast beef and influence consumers' acceptance. This study aimed to study the effects of production system, sire breed, cow genetic group and sex in the chemical profile of the main volatile compounds in beef. Beef from animals of four genetic groups, bulls and heifers, the offspring of Angus or Limousin bulls and  $\frac{1}{2}$  Angus +  $\frac{1}{2}$  Nellore or  $\frac{1}{2}$  Simmental +  $\frac{1}{2}$  Nellore cows, finished on feedlot or pasture were analyzed. Solid Phase Micro Extraction technique was used for volatile compounds extraction, which were analyzed by Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). Ninety-four were detected and sire breed was the effect that present the higher number of volatile compounds with significant difference ( $p < 0,05$ ) between the treatments. All studied effects affected the qualitative profile of volatile compounds on beef, being the main the production system (feedlot or pasture) and sire breed (Angus or Limousin).

**Key words:** volatiles, production system, GC-MS, SPME

## 1. INTRODUÇÃO

A cada ano, a participação brasileira no comércio internacional vem crescendo, com destaque para a produção de carne bovina. Segundo o Ministério da Agricultura, até 2020 a expectativa é de que a produção nacional de carnes suprirá 44,5 % do mercado mundial. Essas estimativas indicam que o Brasil pode manter posição de primeiro exportador mundial de carnes (1).

O clima tropical e a extensão territorial do Brasil contribuem para esse resultado, uma vez que permitem a criação da maioria do gado em pastagens (2). Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC), em 2014 o país contava com um rebanho com cerca de 209 milhões de cabeças e que apenas 20,11 % destes eram terminados em sistemas intensivos de confinamento (3).

A qualidade da carne de ruminantes é influenciada por diversos fatores: relacionados ao animal tais como raça, idade e sexo e fatores externos como sistema de produção, dieta e idade ao abate. Estes fatores influenciam a composição da carne, a deposição de gordura e os precursores não voláteis (4-5). Maciez e aroma são as características sensoriais que exerce maior influência na aceitação do consumidor (6). Entre os fatores principais que influenciam a maciez da carne, destaca-se a genética, a raça, a idade ao abate, o sexo e a alimentação (7). Como a maciez, sabor e aroma da carne também dependem de múltiplos fatores, tais como, sistema de produção, corte da carne e no preparo da carne, que inclui a forma de aquecimento, tempo e intensidade de cocção (5).

Os sistemas de produção: a pasto e confinamento e o tempo em que os animais permanecem dentro de cada sistema afetam o nível de energia consumido, a taxa de crescimento, deposição de gordura, composição de gordura, peso de carcaça, idade ao abate e conseqüentemente influenciam no sabor e aroma da carne (8). Produtos de oxidação lipídica como aldeídos, cetonas e furanos são diferentes dependendo do sistema, pois seus precursores como os ácidos oleico e linoleico apresentam maior e menor teor dependendo do sistema de produção. Por exemplo, animais terminados a pasto apresentam carne com maior teor de ácido linolênico e menor de ácidos oleico e linoleico (9).

O aroma da carne assada é formado por um complexo conjunto de compostos voláteis formados a partir de reações térmicas, como a reação de Maillard e a oxidação de lipídios (10). Entre os compostos formados, os principais são os aldeídos, álcoois, cetonas, hidrocarbonetos, pirazinas, furanos, pirróis, thiazóis e compostos sulfurados (11). Compostos como o hexanal e heptanal estão relacionados com aroma de pasto e gordura, a 2,3

octanodiona com aroma de requeijado e oxidado e 2-metil-3-furantiol ao aroma de carne assada (12).

Vários trabalhos relatam os compostos voláteis de carne bovina em relação à raça (9), dieta (13) e sistemas de produção tais como pasto ou confinamento (14-15), porém há escassez de trabalhos relatando a análise qualitativa de compostos voláteis de carne bovina de animais cruzados em condições de sistemas de produção no Brasil. Tendo em vista a importância do aroma para a qualidade da carne bovina brasileira o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos de sistema de produção, raça do touro, grupo genético da vaca e sexo no perfil químico qualitativo dos principais compostos voláteis presentes na carne bovina.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Animais e coleta de amostras**

Este estudo foi realizado nas instalações da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos - SP. Foi utilizada a carne de 48 animais de quatro grupos genéticos, machos (não castrados) e fêmeas, filhos de vacas cruzadas  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TA) ou  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TS) com Touros Angus ou Limousin terminados a pasto ou confinamento, totalizando 16 tratamentos, cujas combinações são apresentadas na Tabela 1.

Após a desmama, em média aos 250 dias de idade, os animais foram classificados segundo o sexo, grupo genético e peso, em seguida, aleatorizados em dois grupos. Um grupo foi mantido em confinamento e o outro grupo mantido a pasto, em piquetes de capim Mombaça (*Panicum maximum* Jacq) com suplementação (Tabela 2).

Os animais terminados em confinamento foram mantidos em duplas, por grupo genético e por sexo e colocados em baias descobertas com pelo menos um metro linear de cocho e área de 24,5 m<sup>2</sup> por animal. Receberam um tipo de ração até as fêmeas atingirem 330 kg e os machos 380 kg de peso vivo (ração 1) e outra até o abate (ração 2) (Tabela 2). A dieta foi fornecida duas vezes ao dia e a quantidade ajustada em função das sobras observadas, procurando-se garantir consumo *ad libitum*.

**Tabela 1.** Combinações de grupos genéticos de touros, vacas, sexo e sistema de produção.

<b>Raça do touro</b>	<b>Grupo genético da vaca</b>	<b>Sexo</b>	<b>Sistema de produção</b>
<b>Angus</b>	$\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Nelore	Macho	Pasto
		Macho	Confinamento
		Fêmea	Pasto
		Fêmea	Confinamento
	$\frac{1}{2}$ Simental x $\frac{1}{2}$ Nelore	Macho	Pasto
		Macho	Confinamento
		Fêmea	Pasto
		Fêmea	Confinamento
<b>Limousin</b>	$\frac{1}{2}$ Angus x $\frac{1}{2}$ Nelore	Macho	Pasto
		Macho	Confinamento
		Fêmea	Pasto
		Fêmea	Confinamento
	$\frac{1}{2}$ Simental x $\frac{1}{2}$ Nelore	Macho	Pasto
		Macho	Confinamento
		Fêmea	Pasto
		Fêmea	Confinamento

Os animais mantidos a pasto também foram classificados em lotes por sexo e por grupo genético e foram suplementados com 5 kg de silagem de milho e 1 kg de concentrado por animal/dia, durante o período das secas e 3 kg de concentrado por animal/dia, no período das águas (Tabela 2). A área de pastagem foi subdividida com cerca elétrica em 48 piquetes de 1.667 m<sup>2</sup> e irrigada por meio de pivô central. O pastejo foi rotacionado mantendo-se altura média do resíduo de 0,4 m (com média de cinco dias de pastejo e 30 dias de descanso) e os piquetes foram adubados com 250 kg/ha/ano de nitrogênio, parcelados em quatro vezes durante as águas.

**Tabela 2.** Composição da ração e níveis de proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) das rações utilizadas no confinamento (ração 1 e 2) e dos suplementos fornecidos a pasto

Ingredientes	Ração 1 <sup>1</sup>	Ração 2 <sup>1</sup>	Supl. águas	Supl. seca
	% MS			
Silagem de milho	68,0	50,0	-	-
Milho em grão moído	12,0	32,8	65,0	48,0
Farelo de trigo	3,5	8,0	-	20,0
Farelo de soja	15,0	7,0	13,0	20,0
Calcário calcítico	0,5	0,7	-	4,0
Mistura mineral	1,0	1,0	2,0	5,0
Uréia	-	0,5	-	3,0
Glúten de milho	-	-	10,0	-
Gordura protegida	-	-	10,0	-
	% Nutrientes			
PB	14,0	13,0	19,5	26,5
NDT	69,7	73,4	95,0	73,0

<sup>1</sup> A dieta foi acrescida cerca de 3,0 g de monensina sódica por animal/dia

Cinco animais de cada tratamento foram abatidos ao atingirem o mesmo grau de acabamento de 5 mm de gordura determinado por ultrassonografia com sonda específica, levando-se em conta também a avaliação visual da terminação das carcaças. O abate foi realizado em frigorífico comercial de acordo com o processo do Sistema de Inspeção do Estado de São Paulo (SISP). A média de idade ao abate foi de 367 dias para os animais confinados e de 530 dias para os terminados em pastagem. A média do peso vivo ao abate para os animais terminados em confinamento foi de 472 kg para os machos e 420 kg para as fêmeas, e para os animais terminados a pasto foi de 459 kg para os machos e 392 kg para as fêmeas. Após as etapas de insensibilização, sangria, esfolagem e evisceração, as carcaças foram mantidas à temperatura ambiente durante uma hora, logo após sendo armazenadas em câmara frigorífica a 2°C por cerca de 24 horas.

Do músculo *longissimus thoracis*, entre a décima segunda e a décima terceira costelas da meia carcaça esquerda, foi retirado um bife com cerca de 2,5 cm para a análise de compostos voláteis. Estas amostras foram transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Análises de Carne da Embrapa Pecuária Sudeste, onde foram congeladas e mantidas a uma temperatura de - 18 °C, até a realização das análises.

## 2.2. Preparo da amostra e extração

Foram escolhidas aleatoriamente três amostras dentre as cinco disponíveis de cada tratamento. As amostras foram analisadas por meio de um *pool* de amostras de cada tratamento. Foi realizado um experimento preliminar, que comparou o modo de preparo de amostras para a extração de compostos voláteis por MEFS em carne bovina de um mesmo tratamento, separadas ou em mistura homogênea (*pool* de amostras). A extração e análise de compostos voláteis em carne bovina por meio de *pool* de amostras foram tão eficientes quanto em amostras isoladas, portanto o *pool* de amostras foi utilizado, tornando a análise mais rápida.

As amostras foram descongeladas à temperatura de refrigeração (6 °C) por 24 horas. Após o descongelamento, foi realizada limpeza da carne com a retirada de gorduras aparentes. Em seguida, a carne foi submetida à cocção em forno elétrico NKS, modelo Ford 9 Litros, pré-aquecido a 180 °C por aproximadamente 15 minutos, até atingir a temperatura interna de 75 °C medida com um termopar. As três amostras de carne referentes a cada tratamento foram assadas ao mesmo tempo. Após a cocção, as amostras foram trituradas por aproximadamente 30 segundos em um béquer de 600 mL com auxílio de um processador de alimentos Walita, modelo Viva RI1364/06. Alíquotas de 10 g de carne assada foram pesadas em frascos de 60 mL com tampa de rosca e septo de PTFE/silicone.

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

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

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

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

Foi utilizado o hélio (He) como gás de arraste, com vazão constante de 1mL/min<sup>-1</sup>. O detector de massas quadrupolo foi operado nas seguintes condições: energia de ionização 70 eV, temperatura da interface de 300 °C, fonte de íons 200 °C, modo de varredura, monitorando a faixa de razão massa/carga (m/z) de 35 a 350. Os compostos foram identificados por meio de seus espectros de massas, comparados com os espectros do banco de dados da biblioteca do CG/EM (NIST, 2002). Para confirmar a identificação, uma solução de n-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi injetada no CG-EM sob as mesmas condições da amostra, com a finalidade de obter os cálculos dos índices de retenção de temperatura programada (LTPRI – *linear temperature programmed retention indexes*) dos compostos voláteis. A identificação tentativa dos analitos foi realizada comparando-se os LTPRI e os espectros de massa obtidos para a amostra com os espectros de massa e LTPRI da literatura (16), com similaridade de, no mínimo, de 85 % para os espectros de massa, e variação máxima nos LTPRI de ±10.

#### **2.4. Análise estatística**

Para análise de variância (ANOVA) foram selecionados íons específicos de cada composto e sua área transformada em log 10, para estudar os efeitos fixos da dieta, raça do touro, grupo genético da vaca e sexo (14). Foi aplicado o teste de Tukey a 5% de significância para comparação de médias. Uma análise

exploratória dos dados por meio da análise de componentes principais (ACP), com o objetivo de visualizar os agrupamentos entre os efeitos foi realizada com os dados de área total de composto. Foi utilizado o programa estatístico XLSTAT(17).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados e identificados em média 48 compostos voláteis em cada tratamento, 94 compostos no total, dos quais 37 foram selecionados como compostos voláteis associados com o aroma característico de carne bovina.

Tendo em vista que a microextração em fase sólida (MEFS) é uma técnica de extração e concentração (18) e a separação e o equilíbrio entre a matriz, o *headspace* e a fibra para cada composto segue seu próprio coeficiente de partição, para tentar quantificar ou semi-quantificar os componentes presentes na amostra seria necessário considerar o equilíbrio individual de cada um dos componentes químicos, visto que seus coeficientes de partição variam de composto para composto (19). Dada à complexidade da matriz e como a quantificação não fazia parte do objetivo deste trabalho, os resultados apresentados como valores da área dos picos obtidos por CG-EM não representam a real quantidade dos voláteis na amostra, sendo apenas um parâmetro para comparação das variações dos compostos voláteis nas amostras.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise de variância (ANOVA) das áreas dos íons para os compostos selecionados. Foram observados efeitos de sistema de produção (confinamento e pasto) em quatro compostos, raça do touro (RT) em doze compostos, grupo genético da vaca (GGV) um composto e do sexo em cinco compostos.

Os compostos selecionados nos efeitos estudados, os valores expressos correspondem à média da área do íon específico de cada composto em log 10 são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 3.** Análise de variância para compostos voláteis com importância odorífera em carne bovina assada

Composto	Aroma/sabor	Ref.	LTPRI <sub>Lit</sub>	LTPRI <sub>cal</sub>	SISTEMA	RT	GGV	SEXO
Soma dos Quadrados								
pentanal	Pungente/forte/malte	(12-8)	699	700	0,049	0,000	0,001	0,000
3-hidroxi-2-butanona	Amanteigado	(12)	709	710	1,79***	0,754**	0,012	0,131
pirrol	Noz/doce	(22)	751	750	1,425	1,458	13,569	1,451
dimetil dissulfeto	Couve	(23)	747	751	0,002	0,001	0,048	0,083
2-pentenal	Frutado/adstringente	(23)	757	756	1,750	1,980	2,246	15,257
1-pentanol	Intenso/verde/frutado	(23)	766	765	0,001	0,040	0,001	0,004
hexanal	Pasto/gordura	(12)	802	803	0,009	0,003	0,012	0,031
2-metil-2-piridina	Adstringente, avelã, pipoca	(23)	821	821	1,449	1,563	1,449	1,449
1,3-octadieno			826	827	0,013	0,180	0,057	0,311*
2-hexenal	Herbal/frutado/noz	(23)	855	856	1,370	1,441	1,810	1,194
ác. pentanoico	Carne, lácteo, queijo	(23)	867	861	3,045	2,125	2,502	1,260
1-hexanol	Amadeirado/grama cortada	(8)	867	867	0,071	0,064	0,000	0,114
etilbenzeno	Éter/floral/doce	(23)	871	871	2,204	2,314	1,718	16,712
2-etil-tiofeno			871	876	0,042	0,016	0,278	26,510
2-heptanona	Frutado/picante/canela	(8)	889	889	0,013	0,168*	0,001	0,213**
2-n-butil furano	Leve, frutado, doce, picante	(23)	894	894	7,176	32,177**	7,240	9,168
4-heptenal	Pasto	(24)	900	901	2,372	2,865	18,988*	18,988*
heptanal	Pasto/gordura/ranço	(12)	902	903	0,000	0,129	0,018	0,149
butirolactona	Doce/caramelo	(23)	915	917	1,347	2,765	1,990	1,743
ác. hexanoico	Doce	(12)	959	961	11,171	10,944	11,178	0,004
6-metil-2-heptanona	Cravo/mentol	(8)	956	955	0,037	0,005	0,112	0,384
1-heptanol	Madeira/óleo/verde/vinho	(8)	970	969	54,275**	2,543	0,891	15,240
benzaldeído	Amêndoa amarga/queimado	(8)	970	977	0,001	0,125*	0,002	0,047
1-octen-3-ol	Cogumelos	(12)	979	980	0,073	0,474**	0,079	0,943***
2,3-octanodiona	Requentado gordura	(12)	983	982	0,014	0,213	0,074	0,364*

3-octanona			985	982	8,692	56,247**	7,918	9,679
6-metil-5-hepten-2-ona	Cogumelo/terra/fruta cozida	(23)	988	985	12,936	1,909	1,821	1,620
dimetil trissulfeto	Couve	(23)	993	991	0,000	0,075	0,043	0,201
2-pentil-furano	Amanteigado, feijão verde	(23)	993	994	0,068	0,628***	0,004	0,098
octanal	Áspero/cítrico/verde	(8)	1004	1005	0,138*	0,238**	0,011	0,122
ác. heptanoico	Azedo/ranço/gordura	(23)	1051	1055	1,655	0,980	1,963	15,683
2-octenal	Pasto/noz/gordura	(8)	1057	1063	0,143	3,999	0,206	0,240
1-octanol	Queimado/noz/graxo	(8)	1004	1006	28,476	11,012	0,000	8,837
nonanal	Ensaboado	(12)	1102	1108	0,220**	0,366**	0,001	0,068
ác. octanóico	Queijo/musgo/fresco	(23)	1160	1154	6,733	25,724*	0,008	6,093
2-nonenal	Gorduroso	(12)	1162	1167	0,006	23,681*	0,025	5,582
ác. nonanóico	Verde/gordura/lácteo	(23)	1264	1261	0,113	54,191**	0,002	0,002

\* p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001. RT (raça do touro); GGV (grupo genético da vaca); LTPRI<sub>Lit.</sub> = Índice de retenção obtida na literatura usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano. LTPRI<sub>cal.</sub> = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano. Ref. = Referência bibliográfica

**Tabela 4.** Médias obtidas da área dos íons para análise de compostos voláteis em carne analisadas por MEFS e CG-EM.

Composto	Sistema		RT		GGV		SEXO		Valor p			
	CON	PAS	ANG	LIM	TA	TS	M	F	Sistema	RT	GGV	Sexo
pentanal	6,89	7,00	6,94	6,94	6,95	6,93	6,94	6,94	0,205	0,918	0,831	0,988
3-hidroxi-2-butanona	<b>7,19<sup>a</sup></b>	<b>6,53<sup>b</sup></b>	<b>7,08<sup>a</sup></b>	<b>6,64<sup>b</sup></b>	6,83	6,89	6,77	6,95	<b>0,001</b>	<b>0,010</b>	0,702	0,225
pirrol	1,87	2,47	2,47	1,87	1,25	3,09	1,87	2,47	0,665	0,662	0,197	0,662
dimetil dissulfeto	5,11	5,13	5,11	5,13	5,18	5,07	5,05	5,19	0,909	0,938	0,594	0,486
2-pentenal	1,93	2,59	1,91	2,61	2,64	1,89	1,28	3,24	0,642	0,621	0,599	0,186
1-pentanol	6,75	6,74	6,80	6,70	6,75	6,74	6,73	6,76	0,911	0,464	0,924	0,816
hexanal	7,30	7,34	7,31	7,33	7,35	7,29	7,27	7,36	0,536	0,719	0,478	0,259
2-metil-2-piridina	1,25	0,65	0,63	1,26	0,65	1,25	1,25	0,65	0,605	0,592	0,605	0,605
1,3-octadieno	5,87	5,82	5,74	5,95	5,90	5,78	<b>5,70<sup>b</sup></b>	<b>5,98<sup>a</sup></b>	0,622	0,081	0,305	<b>0,028</b>
2-hexenal	4,93	5,51	4,92	5,52	5,56	4,88	5,49	4,95	0,448	0,437	0,385	0,478
ác. pentanoico	4,32	5,19	5,12	4,39	4,36	5,15	4,48	5,04	0,519	0,589	0,558	0,676

1-hexanol	6,12	5,99	5,99	6,12	6,06	6,05	5,97	6,14	0,203	0,227	0,918	0,116
etilbenzeno	2,85	2,11	2,86	2,10	2,81	2,15	1,46	3,50	0,639	0,630	0,678	0,210
2-etil-tiofeno	2,79	2,68	2,70	2,77	2,87	2,60	4,02	1,45	0,946	0,966	0,861	0,109
2-heptanona	6,11	6,05	<b>5,98<sup>b</sup></b>	<b>6,18<sup>a</sup></b>	6,09	6,07	<b>5,96<sup>b</sup></b>	<b>6,19<sup>a</sup></b>	0,493	<b>0,026</b>	0,852	<b>0,015</b>
2-n-butil furano	3,45	4,79	<b>2,70<sup>b</sup></b>	<b>5,53<sup>a</sup></b>	4,79	3,44	3,36	4,87	0,161	<b>0,009</b>	0,159	0,118
4-heptenal	0,70	1,47	0,67	1,51	<b>2,18<sup>a</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>0,00<sup>b</sup></b>	<b>2,18<sup>a</sup></b>	0,435	0,392	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>
heptanal	6,64	6,63	6,55	6,72	6,67	6,60	6,54	6,73	0,951	0,132	0,553	0,108
butirolactona	5,01	4,43	5,14	4,31	4,37	5,07	4,39	5,05	0,362	0,201	0,273	0,303
ác. hexanoico	6,78	5,11	5,12	6,77	6,78	5,11	5,96	5,93	0,138	0,142	0,138	0,977
6-metil-2-heptanona	5,03	4,94	4,97	5,00	5,07	4,90	4,83	5,14	0,935	0,976	0,888	0,794
1-heptanol	<b>4,98<sup>a</sup></b>	<b>1,30<sup>b</sup></b>	2,74	3,54	2,90	3,38	4,12	2,16	<b>0,006</b>	0,472	0,668	0,096
benzaldeído	6,87	6,85	<b>6,78<sup>a</sup></b>	<b>6,95<sup>b</sup></b>	6,85	6,88	6,81	6,92	0,797	<b>0,025</b>	0,752	0,140
1-octen-3-ol	6,45	6,31	<b>6,21<sup>b</sup></b>	<b>6,55<sup>a</sup></b>	6,45	6,31	<b>6,14<sup>b</sup></b>	<b>6,62<sup>a</sup></b>	0,238	<b>0,009</b>	0,222	<b>0,001</b>
2,3-octanodiona	6,93	6,87	6,78	7,01	6,97	6,83	<b>6,75<sup>b</sup></b>	<b>7,05<sup>a</sup></b>	0,622	0,080	0,272	<b>0,027</b>
3-octanonona	3,43	1,96	<b>0,82<sup>b</sup></b>	<b>4,57<sup>a</sup></b>	1,99	3,40	1,92	3,47	0,128	<b>0,002</b>	0,145	0,111
6-metil-5-hepten-2-ona	3,59	1,79	2,35	3,04	3,03	2,35	2,37	3,01	0,188	0,600	0,609	0,629
dimetil trissulfeto	5,72	5,72	5,65	5,79	5,77	5,67	5,61	5,83	0,985	0,452	0,565	0,228
2-pentil-furano	6,52	6,65	<b>6,39<sup>b</sup></b>	<b>6,79<sup>a</sup></b>	6,60	6,57	6,51	6,67	0,168	<b>0,001</b>	0,740	0,104
octanal	<b>6,51<sup>a</sup></b>	<b>6,33<sup>b</sup></b>	<b>6,30<sup>b</sup></b>	<b>6,54<sup>a</sup></b>	6,44	6,39	6,33	6,51	<b>0,049</b>	<b>0,015</b>	0,546	0,062
ác. heptanoico	4,68	4,03	4,60	4,11	4,01	4,71	3,37	5,35	0,560	0,653	0,526	0,091
2-octenal	4,32	4,51	4,91	3,91	4,53	4,30	4,29	4,54	0,848	0,322	0,818	0,804
1-octanol	4,05	1,38	1,88	3,54	2,71	2,71	1,97	3,45	0,058	0,216	0,996	0,264
nonanal	<b>6,12<sup>a</sup></b>	<b>5,89<sup>b</sup></b>	<b>5,85<sup>b</sup></b>	<b>6,16<sup>a</sup></b>	6,01	6,00	5,94	6,07	<b>0,014</b>	<b>0,003</b>	0,855	0,136
ác. octanoico	2,52	1,22	<b>0,60<sup>b</sup></b>	<b>3,14<sup>a</sup></b>	1,89	1,85	2,49	1,25	0,269	<b>0,044</b>	0,968	0,292
2-nonenal	2,78	2,82	<b>1,59<sup>b</sup></b>	<b>4,02<sup>a</sup></b>	2,84	2,76	2,21	3,39	0,971	<b>0,038</b>	0,940	0,276
ác. nonanoico	2,51	2,34	<b>0,58<sup>b</sup></b>	<b>4,26<sup>a</sup></b>	2,44	2,41	2,41	2,43	0,863	<b>0,003</b>	0,980	0,981

<sup>ab</sup> Médias com letras distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ). CONF (confinamento); RT (raça do touro); GGV (grupo genético da vaca); ANG (Angus); LIM (Limousin); M (macho); F (fêmea).

Quatro compostos sofreram efeito do sistema de produção, sendo dois aldeídos (octanal e nonanal), um álcool (1-heptanol) e uma cetona (3-hidroxi-2-butanona). As áreas do octanal e nonanal foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores na carne dos animais terminados em confinamento. Estes dois compostos são produtos da oxidação do ácido oleico (20), que é encontrado em altas concentrações em animais alimentados com grãos (8). Álcoois também são produtos da oxidação lipídica (10-24), sendo que a área do 1-heptanol foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior nos animais terminados em confinamento. O 1-heptanol apresenta aroma agradável, lenhoso e oleoso (8). A cetona 3-hidroxi-2-butanona apresentou área significativamente maior ( $p < 0,05$ ) na carne dos animais terminados em confinamento. Vasta et al. (14) encontrou diferença em alguns produtos de oxidação lipídica como aldeídos, cetonas e furanos entre animais a pasto e animais de confinamento com dieta de grãos.

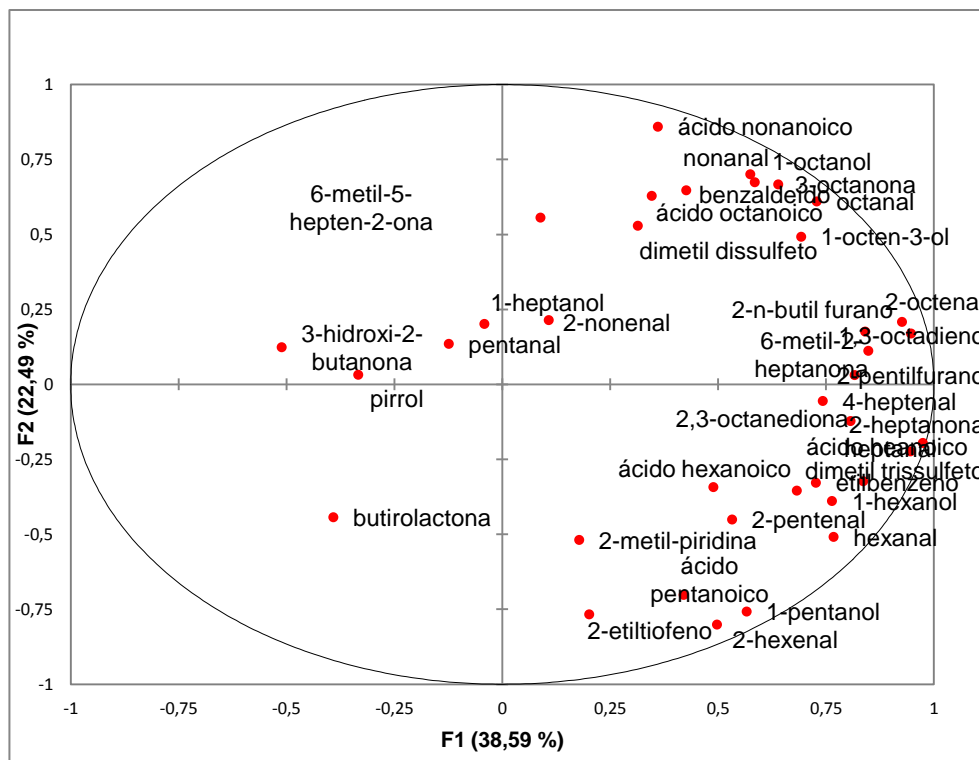
A raça do touro foi o efeito que apresentou maior número de compostos com diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sendo doze no total, entre eles aldeídos: octanal, nonanal, 2-nonenal; cetonas: 3-hidroxi-2-butanona, 2-heptanona, 3-octanona; éteres: 2-n-butil-furano, 2-pentil-furano; ácidos carboxílicos: ácidos octanoico e nonanoico; álcoois: 1-octen-3-ol e compostos aromáticos: benzaldeído. Compostos com o grupo furano, como 2-n-butil-furano e 2-pentil-furano são produtos da degradação de carboidratos, as furanonas contribuem com o aroma de caramelo (21). Os demais compostos são produtos de oxidação lipídica. A influência da raça do touro pode ser explicada pela deposição de gordura intramuscular que pode ser apresentada de acordo com a origem da raça. A raça Angus é de origem britânica e, é precoce e apresenta alta capacidade de deposição de gordura intramuscular enquanto que a raça Limousin, de origem continental, apresenta baixa capacidade de deposição de gordura (25). Esta diferença na deposição de gordura implica em uma composição de ácidos graxos diferenciada, podendo influenciar na diferença entre os compostos voláteis originados em grupos genéticos compostos por uma ou outra raça (26).

Para o efeito grupo genético da vaca, foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o aldeído 4-heptenal, que é um produto da oxidação do ácido linoleico (23), apenas os animais filhos de vacas cruzadas  $\frac{1}{2}$  Angus x

½ Nelore apresentaram este composto. Os cruzamentos entre raças influenciam na composição e características sensoriais da carne, estas diferenças podem estar relacionadas com a composição dos ácidos graxos (26). Este mesmo composto também foi afetado pelo sexo, sendo observado apenas na carne de animais fêmeas.

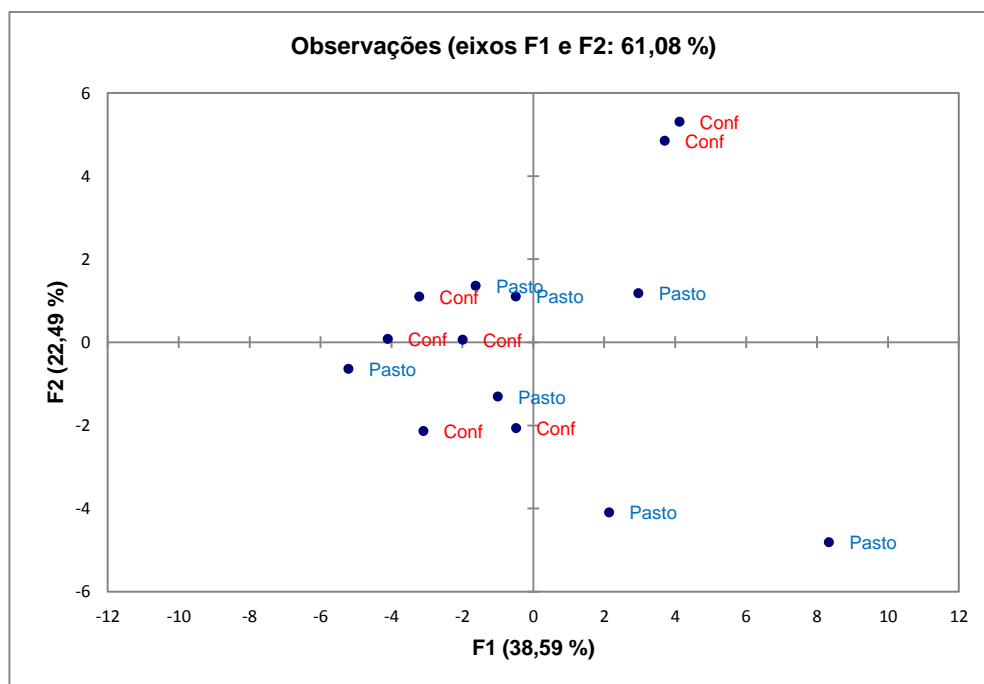
Cinco compostos foram afetados pelo efeito do sexo: as cetonas 2-heptanona e 2,3 octanodiona, o aldeído 4-heptenal, o álcool 1-octen-3-ol e o hidrocarboneto 1,3 octadieno. As áreas dos cinco compostos foram significativamente maiores nas fêmeas. Estes compostos são obtidos da oxidação de lipídios, como o 1-octen-3-ol formado a partir da degradação do ácido linolênico (AGI) (9). Machos não castrados tendem a apresentar maior taxa de crescimento, com maior proporção de proteína e menor de gordura quando comparados às fêmeas e animais castrados (27). Essa diferença na composição da carne e da gordura influencia também os precursores de compostos voláteis principalmente nos compostos produtos de oxidação de lipídeos. Zembayashi et al. (28) em estudo com bovinos, observaram diferença na composição de alguns ácidos graxos e fosfolipídios entre os machos e fêmeas.

Os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) são apresentados a seguir. A Figura 1 representa o gráfico das variáveis que correspondem aos compostos voláteis, que é comum a todos os efeitos estudados.



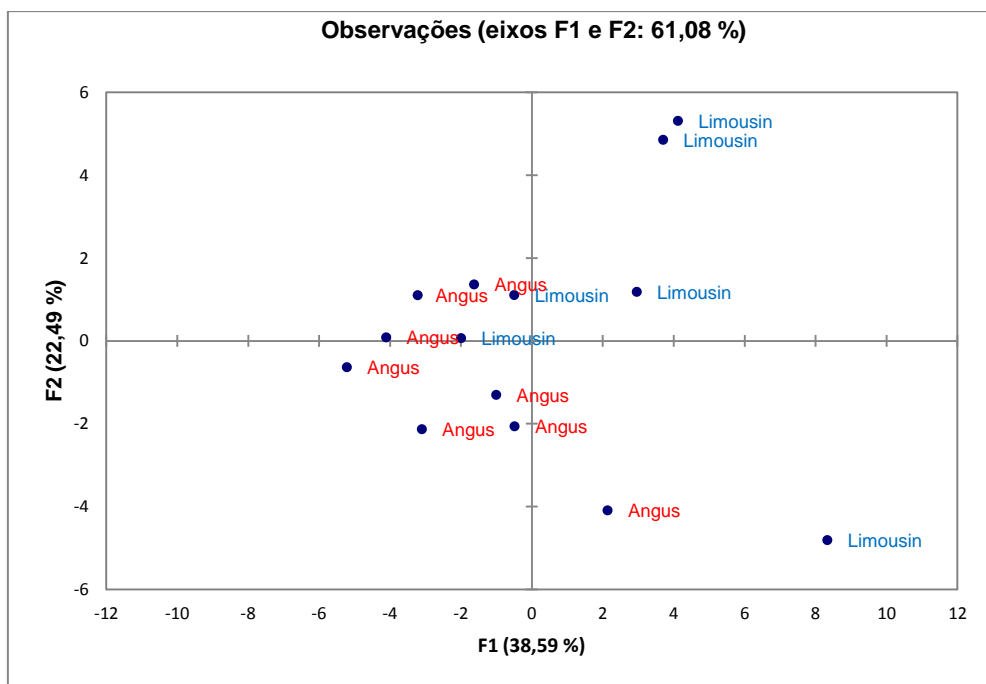
**Figura 1.** Gráfico das variáveis (compostos voláteis)

Os dois primeiros componentes principais somaram 61,08% (PCI e PCII) da variância dos dados em todos os efeitos (Figuras 2, 3, 4 e 5).



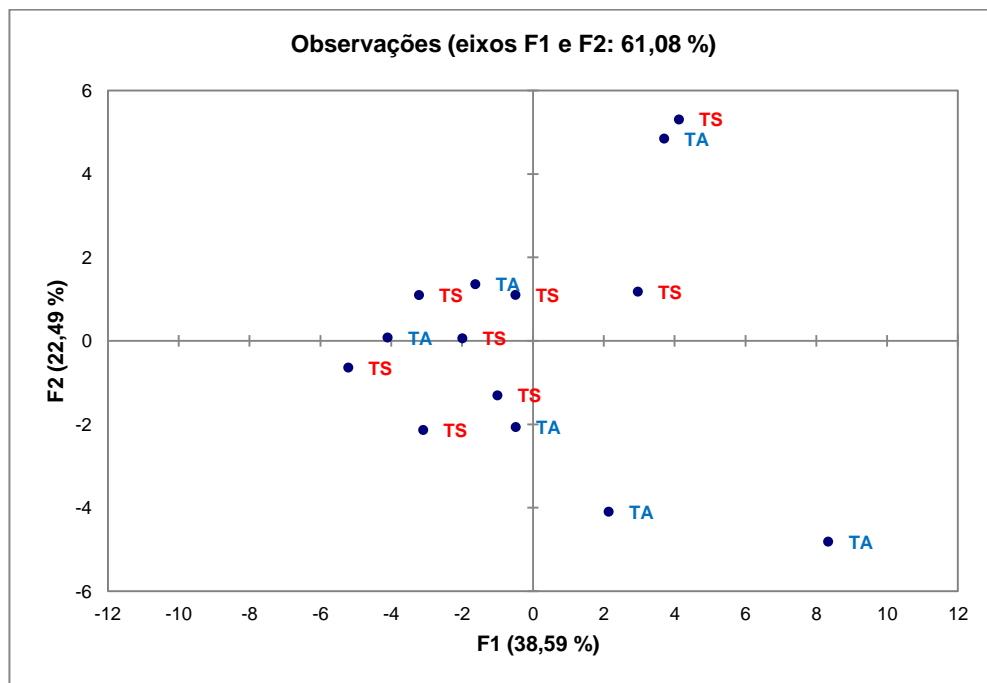
**Figura 2.** Efeito sistema de produção (confinamento e pasto) ACP amostras de carne bovina.

As amostras de animais terminados em confinamento foram caracterizadas para os compostos voláteis produtos de oxidação lipídica, como nonanal, octanal, ácido octanoico, ácido nonanoico, 3-hidroxi-2-butanona e 1-octen-3-ol. As amostras de animais terminados a pasto foram caracterizadas pelos compostos 4- heptanal, 1-pentanol, 2-metil-piridina, 2-etil-tiofeno e ácido pentanoico. Não houve uma clara separação entre os animais terminados a pasto e confinamento (Figura 2). Este fato pode ser explicado pelo fato dos dois grupos de animais tiveram como diferença apenas o tempo médio de confinamento de 90 dias, relativamente curto. Além disso, a ração fornecida aos animais em confinamento continha 50 % de volumoso que é composto por silagem de milho, o que pode não ocasionar muita diferença. Em estudos que relatam grandes diferenças entre sistemas de produção os animais foram confinados por um período maior, por aproximadamente um ano e a ração fornecida aos animais em confinamento era constituída apenas por grãos, tornando mais visível a diferença entre os tratamentos (14).

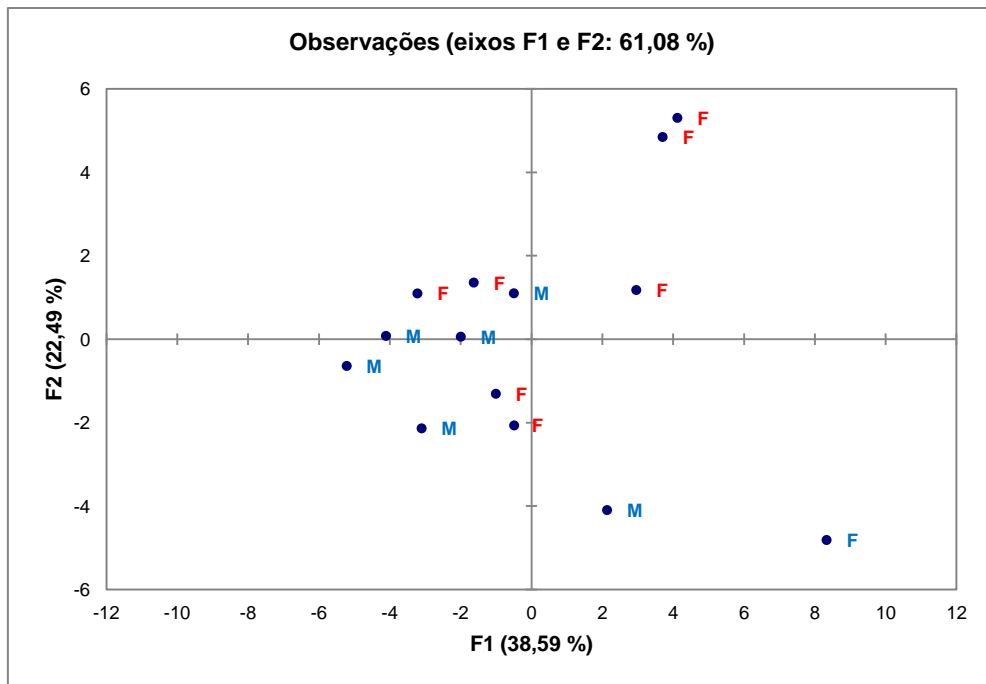


**Figura 3.** Efeito raça do touro (Angus e Limousin) ACP amostras de carne bovina.

Em relação à raça do touro foi observada uma separação entre as raças Angus e Limousin (Figura 3). Animais filhos de touro da raça Angus apresentaram maior afinidade para compostos como a 3-hidroxi-2-butanona, benzaldeído, enquanto os animais filhos de touro da raça Limousin foram caracterizados pelos compostos octanal, nonanal, ácido nonanoico, 2-nonenal e furan-2-pentil. Como citado anteriormente, há uma diferença na deposição de gordura entre as raças, o que implica uma diferença na composição de ácidos graxos, animais de origem britânica, como o Angus são precoces e apresentam alta capacidade de deposição de gordura intramuscular enquanto que a raça Limousin, de origem continental, apresenta baixa capacidade de deposição de gordura (25).



**Figura 4.** Efeito grupo genético da vaca (TA -  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, TS -  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore) ACP amostras de carne bovina



**Figura 5.** Efeito do sexo dos animais (M macho, F fêmea) ACP amostras de carne bovina.

Quanto aos efeitos grupo genético da vaca (GGV) (Figura 4) e sexo (Figura 5) na análise de componentes principais (ACP), observa-se que não houve uma separação distinta entre os animais filhos de vacas cruzadas  $\frac{1}{2}$ Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TA) e  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore (TS) nem entre machos e fêmeas, o que significa que estes fatores não são tão importantes quanto os anteriores.

#### 4. CONCLUSÕES

Os compostos voláteis presentes na carne bovina foram influenciados pelos efeitos estudados de sistema de produção, raça do touro, grupo genético da vaca e sexo. Os principais efeitos foram observados nos efeitos de sistema de produção (confinamento ou pasto) e raça do touro (Angus ou Limousin). Os compostos provenientes da oxidação de lipídios como hexanal, heptanal, 3-hidroxi-2-butanona, 1-octen-3-ol 1-hexanol e 2,3-octanodiona foram os que mais se destacaram e são importantes marcadores que contribuem para a formação do aroma de carne bovina assada.

## 5. REFERÊNCIAS

1. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [Internet]. Exportações. 2016 [cited 2016 Jul 6]. p. Exportações. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>
2. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [Internet]. Bovinos e Bubalinos. 2016 [cited 2016 Mar 13]. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>
3. ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. [Internet]. Estatísticas - Balanço da pecuária. 2016 [cited 2016 Jan 10]. p.. Available from: <http://www.abiec.com.br/texto.asp?id=8>
4. Priolo A, Micol D, Agabriel J. Effects of grass feeding systems\on ruminant meat colour and flavour. A review. *Anim Res*. 2001;50(3):185–200.
5. Ordóñez JA. Livro - Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal - Volume 2. Artmed; 2005. 280 p.
6. Reicks AL, Brooks JC, Garmyn AJ, Thompson LD, Lyford CL, Miller MF. Demographics and beef preferences affect consumer motivation for purchasing fresh beef steaks and roasts. *Meat Sci*. 2011.
7. Alves DD, Mancio AB. Maciez da carne bovina - Uma revisão. *Rev da Fac Zootec Veterinária e Agron*. 2007;14:193–216.
8. Calkins CR, Hodgen JM. A fresh look at meat flavor. *Meat Sci*. 2007;77(1 SPEC. ISS.):63–80.
9. Elmore JS, Warren HE, Mottram DS, Scollan ND, Enser M, Richardson RI, et al. A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Sci*. 2004;68(1):27–33.
10. Donald S. M. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem*. 1998;62(4):415–24.
11. Macleod G. The flavour of beef. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products*. Boston, MA: Springer US; 1994. p. 4–37.
12. Brewer S. The Chemistry of Beef Flavor - Executive Summary. *Natl Cattlemen's Beef Assoc*. 2007;16.
13. Elmore JS, Cooper SL, Enser M, Mottram DS, Sinclair LA, Wilkinson RG,

- et al. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Sci.* 2005;69(2):233–42.
14. Vasta V, Luciano G, Dimauro C, R??hrle F, Priolo A, Monahan FJ, et al. The volatile profile of longissimus dorsi muscle of heifers fed pasture, pasture silage or cereal concentrate: Implication for dietary discrimination. *Meat Sci.* 2011;87(3):282–9.
  15. Larick DK, Hedrick HB, Bailey ME, William JE, Hancock DL, Garner GB, et al. Flavor constituents as influenced by forage- and grain feeding. *J Food Sci.* 1987;52(2):245–51.
  16. Base de dados de Referência padrão do NIST número 69 [Internet]. 2016 [cited 2016 Jan 16]. p. NIST Livro de Química na Web. Available from: <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
  17. ADDINSOFT (2012). XLStat data analysis and statistics add-in for MS Excel. Paris, France.;
  18. Zhang Z, Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. *Anal Chem* [Internet]. American Chemical Society; 1993 Jul 1;65(14):1843–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/ac00062a008>
  19. Nongonierma A, Voilley A, Cayot P, Le Quéré J-L, Springett M. Mechanisms of Extraction of Aroma Compounds from Foods, Using Adsorbents. Effect of Various Parameters. *Food Rev Int.* Taylor & Francis; 2006 Jan 1;22(1):51–94.
  20. Ordonez JA, Hierro EM, Bruna JM, de la Hoz L. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Crit Rev Food Sci Nutr.* UNITED STATES; 1999 Jul;39(4):329–67.
  21. Shahidi F. Flavor of meat and meat products---an overview. In: Shahidi F, editor. *Flavor of Meat and Meat Products.* Boston, MA: Springer US; 1994. p. 1–3.
  22. The Pherobase [Internet]. 2016 [cited 2016 Oct 1]. Available from: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats>
  23. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Food Chemistry.* Springer Berlin Heidelberg; 2009.
  24. Elmore JS, Mottram DS, Dodson AT. Meat aroma analysis: problems and solutions. *Handb flavor Charact.* 2004;295–310.

25. Heather Burrow. Breed and crossbreeding effects on marbling. Marbling Symp [Internet]. 2001; Available from:  
<http://livestocklibrary.com.au/handle/1234/20165>
26. De Smet S, Raes K, Demeyer D. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. Anim Res. EDP sciences; 2004;53(2):81–98.
27. PURCHAS RW. Effect of sex and castration on growth and composition. In: Growth regulation in farm animals – advances in meat research. 1.ed. London; 1991. p. . p.203-p.254.
28. Zembayashi M, Nishimura K, Lunt DK, Smith SB. Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers. J Anim Sci. 1995;73(11):3325–32.

# ANEXOS





nonano	900	900	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3,7-dimetil-2-octeno	970	969	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3-metil-nonano	972	972	0	1,47E+06	2,39E+05	1,26E+06	1,66E+06	1,33E+06	2,24E+06	1,43E+06	1,39E+06	
decano	1000	1000	0	1,19E+06	4,96E+05	9,69E+05	9,20E+05	1,96E+06	2,55E+06	1,52E+06	8,85E+05	
3-etil-2-metil-1,3-hexadieno	1041	1046	-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3-metil-undecano	1171	1172	-1	.	.	.	.	.	5,24E+05	.	.	.
dodecano	1200	1200	0	.	.	.	.	.	1,51E+06	.	.	.
2-metil-dodecano	1267	1272	-5	.	.	.	.	.	.	2,25E+05	.	.
tridecano	1300	1300	0	2,56E+05	5,75E+05	8,03E+05	5,04E+05	3,54E+06	2,48E+06	1,94E+06	8,60E+05	
tetradecano	1400	1400	0	1,50E+06	4,67E+05	1,15E+06	7,65E+05	4,16E+06	5,82E+05	4,38E+05	4,34E+05	
pentadecano	1500	1500	0	.	3,19E+05	7,63E+05	3,09E+05	1,56E+06	1,07E+06	1,38E+06	1,45E+06	
3-metil-1-butanol	730	733	-3	.	.	.	4,69E+05	.	.	.	.	.
3-metil-3-buten-1-ol	730	731	-1	.	1,46E+05	1,32E+05	.	.	1,78E+05	.	.	.
1-pentanol	766	765	1	3,78E+07	3,35E+07	1,99E+07	3,53E+07	2,02E+07	1,70E+07	2,25E+07	2,40E+07	
1-hexanol	867	867	0	6,18E+06	7,22E+06	3,69E+06	4,48E+06	5,82E+06	4,92E+06	7,02E+06	3,87E+06	
1-heptanol	970	969	1	6,11E+06	3,26E+06	1,76E+06	4,27E+06	6,38E+06	4,62E+06	6,49E+06	4,42E+06	
1-octen-3-ol	979	980	-1	6,47E+06	5,66E+06	8,60E+06	2,39E+06	1,83E+07	1,40E+07	1,37E+07	6,09E+06	
1-octanol	1004	1006	-2	.	1,76E+06	2,96E+06	2,25E+06	1,50E+07	7,55E+06	2,06E+07	.	
tolueno	771	774	-3	1,95E+07	8,59E+06	9,45E+06	1,38E+07	1,42E+07	1,43E+07	1,90E+07	1,80E+07	
etilbenzeno	871	871	0	1,24E+06	.	.	1,10E+06	1,23E+06	.	1,50E+06	.	
fenol	981	974	7	.	.	.	.	2,67E+06	.	.	.	
benzaldeído	970	977	-7	3,74E+07	1,63E+07	3,70E+07	1,88E+07	4,81E+07	5,85E+07	6,91E+07	4,63E+07	
1,4-diclorobenzeno	1025	1035	-10	.	.	6,11E+05	.	.	.	.	.	
1,3-diclorobenzeno	1045	1035	10	7,56E+05	2,97E+05	.	.	.	.	.	.	
4-etilbezaldeído	1175	1184	-9	.	.	.	.	.	9,15E+05	.	.	
ácido pentanoico	867	861	6	1,44E+06	7,18E+05	.	2,65E+06	1,64E+06	.	7,85E+05	2,07E+06	
ácido hexanoico	959	961	-2	1,21E+07	3,69E+06	3,84E+06	.	1,35E+07	1,04E+07	1,27E+07	1,09E+07	

4-hidroxi-ácido butanoico	933	917	16	.	1,86E+05	.	.	.	.	.	.
ácido heptanoico	1051	1055	-4	1,95E+06	5,91E+05	7,68E+05	1,54E+06	1,52E+06	.	1,62E+06	1,26E+06
Ácido octanoico	1160	1154	6	.	.	2,73E+05	.	1,53E+06	1,70E+06	1,49E+06	1,03E+06
Ácido nonanoico	1264	1261	3	.	.	2,69E+05	.	9,53E+05	6,34E+05	1,37E+06	2,77E+05
Ácido hexanoico pentilester	1287	1289	-2	5,99E+05	1,10E+05	.	4,28E+05	7,87E+05	.	6,96E+05	4,82E+05
dimetil dissulfeto	747	751	-4	7,01E+06	3,26E+05	2,68E+06	2,80E+06	4,17E+06	3,60E+06	4,16E+14	4,58E+06
2-metiltiofeno	780	780	0	.	.	.	2,67E+06	.	.	.	.
2-metil tiazol	808	811	-3	.	.	.	.	.	.	.	1,60E+06
2-etiltiofeno	871	876	-5	1,34E+06	.	.	1,91E+06	.	5,04E+05	.	8,32E+05
1-metil-tio-pentano	918	924	-6	4,96E+05	.	.	1,66E+07	.	.	.	4,40E+05
dimetil trissulfeto	993	991	2	4,38E+06	6,28E+05	2,83E+06	1,61E+06	4,78E+06	5,11E+06	5,21E+06	3,53E+06
2-tiofenocarboxialdeído	1012	1017	-5	.	.	.	.	.	.	.	.
2-butiltiofeno	1072	1075	-3	1,11E+06	.	.	9,70E+05	.	.	1,14E+06	7,06E+05
5-metil-tiofenocarboxialdeído	1135	1140	-5	6,19E+05	.	.	7,86E+05	.	.	.	.
Dimetil tetrassulfeto	1260	1265	-5	.	.	.	.	.	.	8,23E+05	.
pirrol	751	750	1	.	.	3,84E+05	.	.	3,97E+05	.	8,72E+05
2-metil-piridina	821	821	0	4,41E+05	.	.	4,30E+05	.	.	.	5,12E+05
2,5-dimetil-pirazina	915	919	-4	5,57E+05	.	.	.	.	.	.	.
butirolactona	915	917	-2	1,93E+06	5,19E+05	2,09E+06	2,22E+06	1,02E+06	6,67E+05	5,63E+05	8,70E+05

LTPRI Calc. = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano. LTPRI Lit. = Índice de retenção obtido na literatura com coluna capilar 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano.  $\Delta$ = diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura:  $LTPRI_{Lit.} - LTPRI_{Calc.}$ . ANTAF: fêmeas filhas de touro Angus com vaca ½ Angus x ½ Nelore. ANAM: machos filhos de touro Angus com vaca ½ Angus x ½ Nelore. ANTSF: fêmeas filhas de touro Angus com vaca ½ Simental x ½ Nelore. ANSM: machos filhos de touro Angus com vaca ½ Simental x ½ Nelore. LITAF: fêmeas filhas de touro Limousin com vaca ½ Angus x ½ Nelore. LITAM: machos filhos de touro Limousin com vaca ½ Angus x ½ Nelore. LITSF: fêmeas filhas de touro Limousin com vaca ½ Simental x ½ Nelore. LITSM: machos filhos de touro Limousin com vaca ½ Simental x ½ Nelore.

**Tabela 2.** Compostos voláteis identificados por meio de MEFS e CG-EM em carne bovina, proveniente de animais cruzados terminados a pasto.

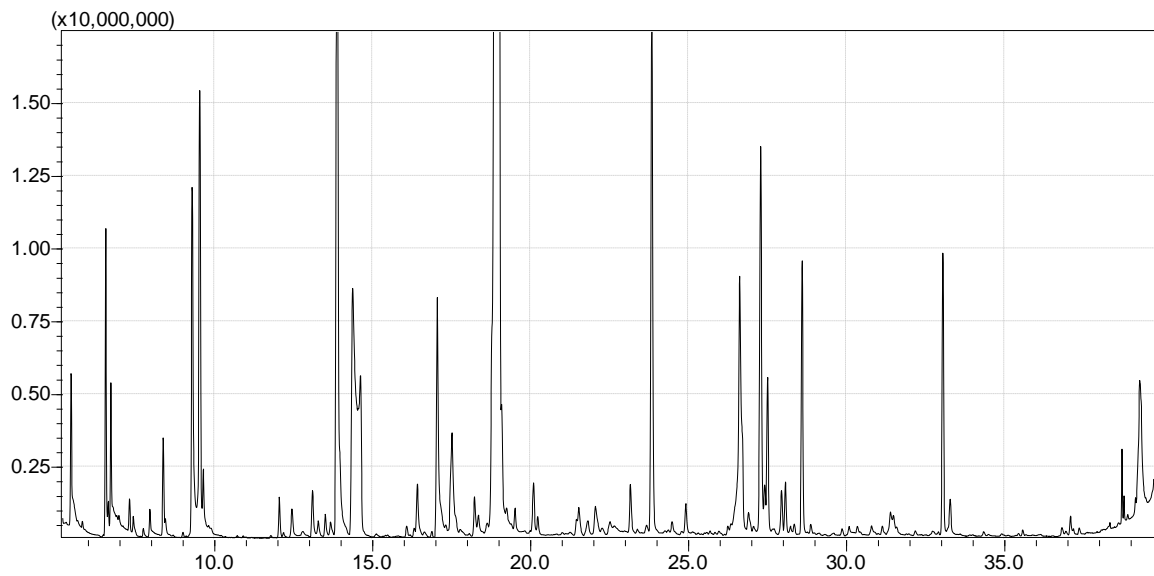
Compostos	LTPRI			Pasto							
	LIT	CAL	Δ	ANTAF	ANTAM	ANTSF	ANTSM	LITAF	LITAM	LITSF	LITSM
pentanal	699	700	-1	9,19E+14	1,27E+08	1,28E+08	1,02E+08	1,86E+08	6,64E+07	1,15E+08	1,12E+08
2-metil-2-butenal	749	745	4	6,56E+05	9,32E+05	8,18E+05	2,39E+05	1,10E+06	2,26E+05	6,49E+05	6,95E+05
2-pentenal	757	756	1	.	8,42E+05	9,47E+05	.	1,05E+06	.	5,88E+05	.
3-metil-2-butenal	783	785	-2	.	.	.	.	.	.	.	.
hexanal	802	803	-1	6,01E+08	6,79E+08	6,75E+08	4,86E+08	1,14E+09	3,56E+08	7,47E+08	6,45E+08
2-hexenal	855	856	-1	3,22E+06	8,77E+06	4,98E+06	3,42E+06	1,25E+07	1,07E+06	4,14E+06	4,55E+06
4-heptenal	900	901	-1	2,47E+06	.	.	.	7,73E+06	.	4,07E+06	.
heptanal	902	903	-1	6,33E+07	1,06E+08	6,77E+07	3,13E+07	2,00E+08	2,17E+07	9,73E+07	5,17E+07
2-heptenal	963	962	1	.	.	.	.	1,67E+07	.	1,62E+07	.
octanal	1004	1005	-1	3,04E+07	3,56E+07	2,16E+07	1,59E+07	4,74E+07	1,23E+07	4,71E+07	3,68E+07
2-etil-2-hexenal	1011	1012	-1	.	1,92E+06	2,32E+06	.	3,02E+06	.	3,50E+06	4,35E+06
2-octenal	1057	1063	-6	1,67E+06	1,34E+06	1,22E+06	3,83E+05	2,75E+06	.	2,57E+06	1,21E+06
nonanal	1102	1108	-6	3,60E+07	2,89E+07	2,12E+07	1,19E+07	3,63E+07	2,03E+07	5,65E+07	5,44E+07
2-nonenal	1162	1167	-5	5,01E+05	4,46E+05	3,39E+05	.	1,19E+06	.	5,39E+05	1,44E+07
decanal	1207	1216	-9	7,51E+05	7,79E+05	6,13E+05	7,90E+06	1,21E+06	3,20E+05	1,42E+06	1,33E+06
2-decenal	1267	1276	-9	.	.	.	.	4,61E+05	.	.	.
2-butil-2-octenal	1378	1381	-3	.	.	.	.	.	.	.	.
dodecanal	1412	1417	-5	.	3,63E+05	.	3,31E+04	.	2,98E+05	3,87E+05	2,24E+06
2-etilfurano	702	702	0	3,80E+05	3,23E+05	.	.	1,62E+06	.	6,61E+06	.
1-metoxi-pentano	722	725	-3	.	.	4,69E+05	.	.	.	4,35E+05	3,28E+05
2-n-butil-furano	894	894	0	7,01E+05	9,50E+05	5,27E+05	.	1,58E+06	1,51E+05	1,11E+06	7,64E+05
pentiloxirano	902	907	-5	6,09E+05	.	.	.	.	.	.	.
2-pentilfurano	993	994	-1	9,81E+06	1,80E+07	9,10E+06	6,60E+06	2,41E+07	6,95E+06	2,98E+07	1,67E+07



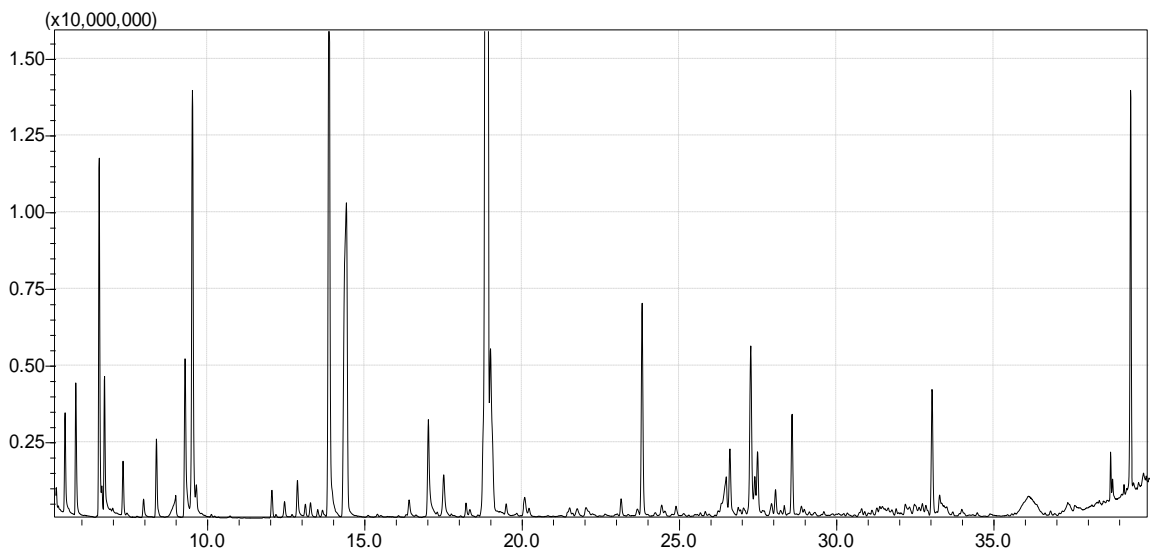
3,7-dimetil-2-octeno	970	969	1	1,88E+06	.	.	.	.	.	.	.	.
3-metil-nonano	972	972	0	1,47E+06	.	2,10E+06	8,46E+05	.	2,88E+06	1,26E+06	.	.
decano	1000	1000	0	1,37E+06	2,27E+06	1,67E+06	7,37E+05	8,82E+05	3,11E+06	1,78E+06	9,21E+05	.
3-etil-2-metil-1,3-hexadieno	1041	1046	-5	.	.	.	.	.	.	1,97E+06	.	.
3-metil-undecano	1171	1172	-1	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dodecano	1200	1200	0	.	.	.	.	.	8,53E+05	1,33E+06	.	.
2-metil-dodecano	1267	1272	-5	.	.	.	.	.	.	.	.	.
tridecano	1300	1300	0	1,11E+06	1,69E+05	7,76E+05	1,22E+06	6,25E+05	9,40E+05	2,30E+06	1,04E+06	.
tetradecano	1400	1400	0	1,30E+06	9,46E+05	1,01E+06	1,60E+06	1,60E+06	9,69E+05	2,16E+06	6,14E+05	.
pentadecano	1500	1500	0	1,44E+06	1,22E+06	1,38E+06	5,41E+05	2,63E+06	8,52E+05	1,74E+06	7,56E+05	.
3-metil-1-butanol	730	733	-3	.	.	.	5,80E+05	.	.	.	.	.
3-metil-3-buten-1-ol	730	731	-1	2,26E+05	.	.	.	.	.	.	.	.
1-pentanol	766	765	1	2,30E+07	4,85E+07	2,87E+07	1,78E+07	7,41E+07	9,99E+06	2,57E+07	2,41E+07	.
1-hexanol	867	867	0	3,54E+06	6,63E+06	5,12E+06	1,85E+06	1,58E+07	2,15E+06	5,02E+06	4,35E+06	.
1-heptanol	970	969	1	.	.	.	1,53E+06	.	.	.	5,27E+07	.
1-octen-3-ol	979	980	-1	1,23E+07	5,29E+06	6,03E+06	1,74E+06	1,32E+07	2,97E+06	2,02E+07	5,24E+06	.
1-octanol	1004	1006	-2	.	.	.	.	5,66E+06	.	6,37E+06	.	.
tolueno	771	774	-3	7,81E+06	1,20E+07	1,39E+07	1,03E+07	1,26E+07	1,65E+07	9,95E+06	1,19E+07	.
etilbenzeno	871	871	0	.	1,58E+06	9,18E+05	.	2,30E+06	.	.	.	.
fenol	981	974	7	.	.	.	.	.	.	.	.	.
benzaldeído	970	977	-7	3,79E+07	2,95E+07	4,40E+07	2,73E+07	3,17E+07	4,11E+07	3,65E+07	4,09E+07	.
1,4-diclorobenzeno	1025	1035	-10	.	.	.	.	.	.	.	.	.
1,3-diclorobenzeno	1045	1035	10	.	4,73E+05	.	.	.	.	.	.	.
4-etilbezaldeído	1175	1184	-9	.	.	.	.	.	.	.	.	.
ácido pentanoico	867	861	6	1,29E+06	6,04E+06	2,65E+06	2,68E+06	4,87E+06	.	2,17E+06	2,77E+06	.
ácido hexanoico	959	961	-2	1,79E+07	4,76E+07	.	.	2,32E+07	1,19E+07	8,17E+05	.	.
ácido heptanoico	1051	1055	-4	4,80E+05	2,53E+06	2,15E+06	.	2,70E+06	.	1,68E+06	2,55E+06	.

ácido octanoico	1160	1154	6	.	6,94E+05	.	.	.	.	.	8,54E+05
ácido nonanoico	1264	1261	3	6,08E+05	.	.	.	.	3,90E+05	2,65E+05	2,09E+05
ácido hexanoico pentilester	1287	1289	-2	.	1,39E+06	2,99E+05	3,31E+05	8,11E+05	.	.	.
dimetil dissulfeto	747	751	-4	2,10E+06	1,54E+07	6,56E+06	1,45E+06	2,14E+06	3,56E+06	1,33E+06	8,93E+05
2-metiltiofeno	780	780	0	.	2,42E+06	.	1,53E+06	3,01E+06	.	.	1,01E+05
2-metil tiazol	808	811	-3	.	.	.	.	.	.	.	9,88E+04
2-etiltiofeno	871	876	-5	.	3,70E+06	9,79E+05	3,32E+05	1,68E+06	.	.	7,62E+05
1-metil-tio-pentano	918	924	-6	.	3,89E+05	6,98E+05	4,08E+05	5,96E+05	.	.	.
dimetil trissulfeto	993	991	2	2,73E+06	6,86E+06	4,80E+06	1,39E+06	9,03E+06	4,15E+06	2,76E+06	2,09E+06
2-tiofenocarboxialdeído	1012	1017	-5	.	1,61E+06	.	.	.	.	.	.
2-butiltiofeno	1072	1075	-3	.	1,23E+06	7,69E+05	.	1,32E+06	.	.	.
5-metil-tiofenocarboxialdeído	1135	1140	-5	.	1,40E+06	.	.	9,01E+05	.	.	.
dimetil tetrassulfeto	1260	1265	-5	.	1,78E+06	.	.	.	.	.	.
pirrol	751	750	1	2,35E+05	.	4,85E+05	2,27E+05	.	4,02E+05	2,54E+05	.
2-metil-piridina	821	821	0	.	.	.	.	5,47E+05	.	.	.
2,5-dimetil-pirazina	915	919	-4	.	.	.	.	.	.	.	.
butirolactona	915	917	-2	1,19E+06	1,22E+06	2,14E+06	2,47E+06	1,46E+06	.	9,65E+05	1,30E+06

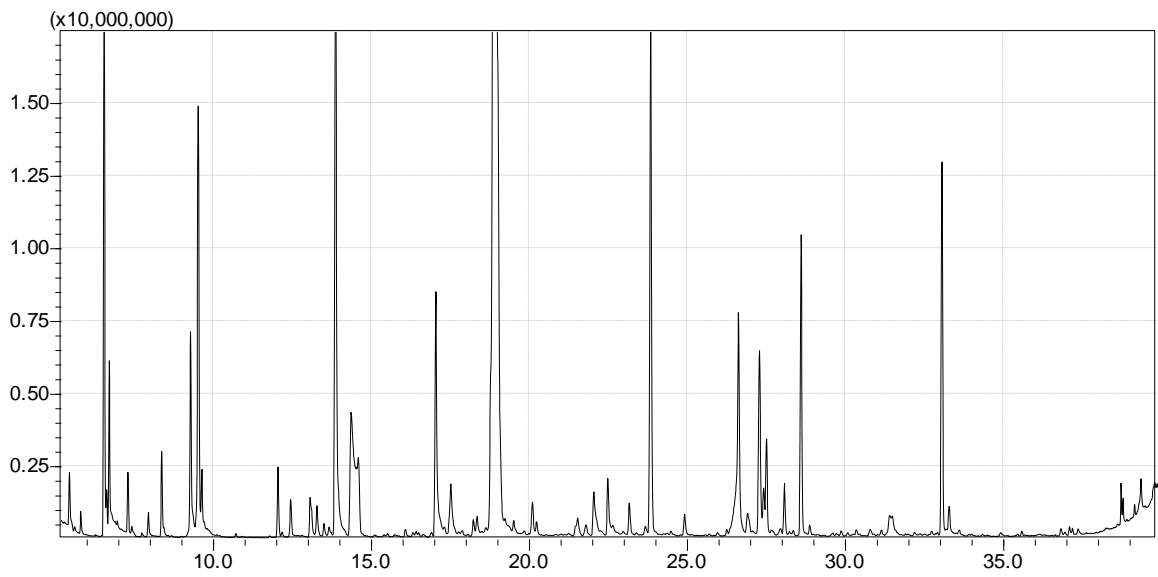
LTPRI Calc. = Índice de retenção obtido usando coluna capilar 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano. LTPRI Lit. = Índice de retenção obtido na literatura com coluna capilar 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano.  $\Delta$ = diferença entre LTPRI calculado e LTPRI encontrados na literatura:  $LTPRI_{Lit.} - LTPRI_{Calc.}$ . ANTAF: fêmeas filhas de touro Angus com vaca ½ Angus x ½ Nelore. ANTAM: machos filhos de touro Angus com vaca ½ Angus x ½ Nelore. ANTSM: machos filhos de touro Angus com vaca ½ Simental x ½ Nelore. LITAF: fêmeas filhas de touro Limousin com vaca ½ Angus x ½ Nelore. LITAM: machos filhos de touro Limousin com vaca ½ Angus x ½ Nelore. LITSM: machos filhos de touro Limousin com vaca ½ Simental x ½ Nelore.



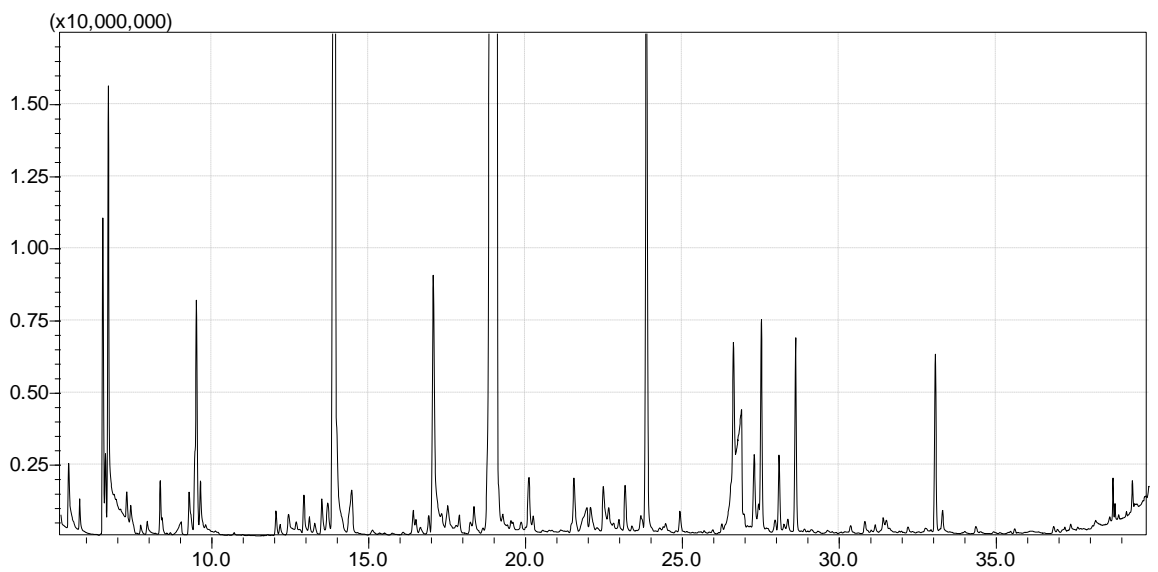
**Figura 1.** Tratamento 1: ANTAFConf. - Animais fêmeas, filhas de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas em confinamento.



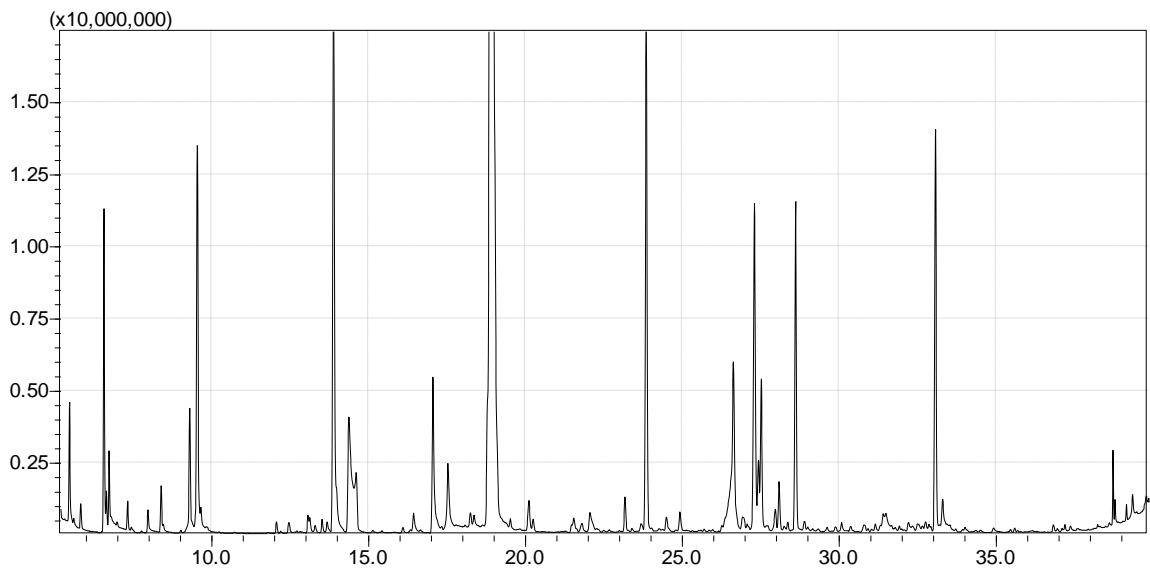
**Figura 2.** Tratamento 2: ANTAFPasto- Animais fêmeas, filhas de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas a pasto.



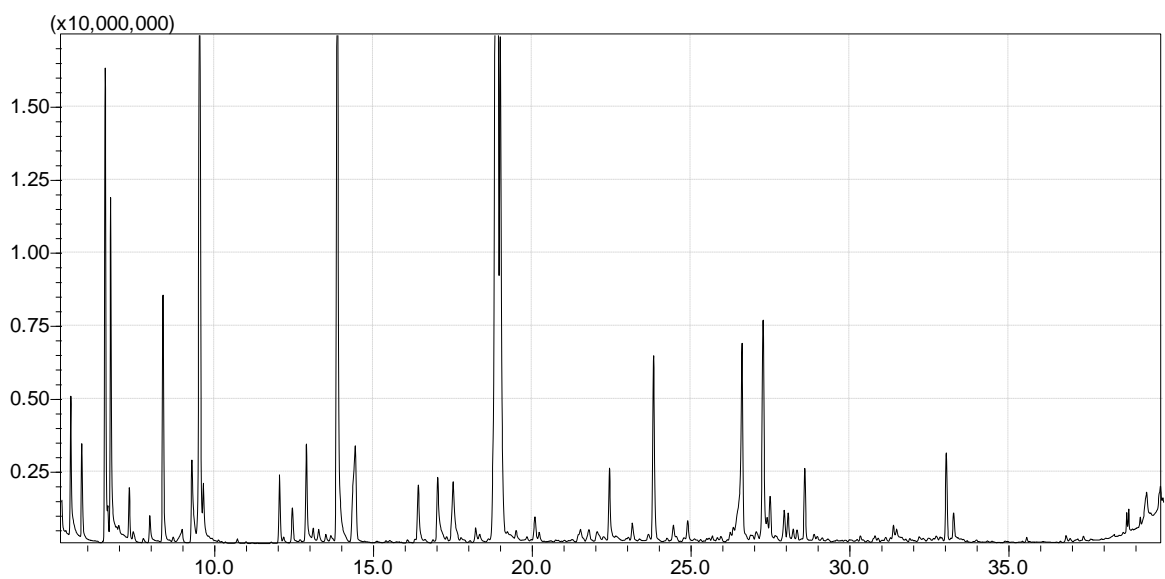
**Figura 3.** Tratamento 3: ANTAMConf.- Animais machos, filhos de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados em confinamento.



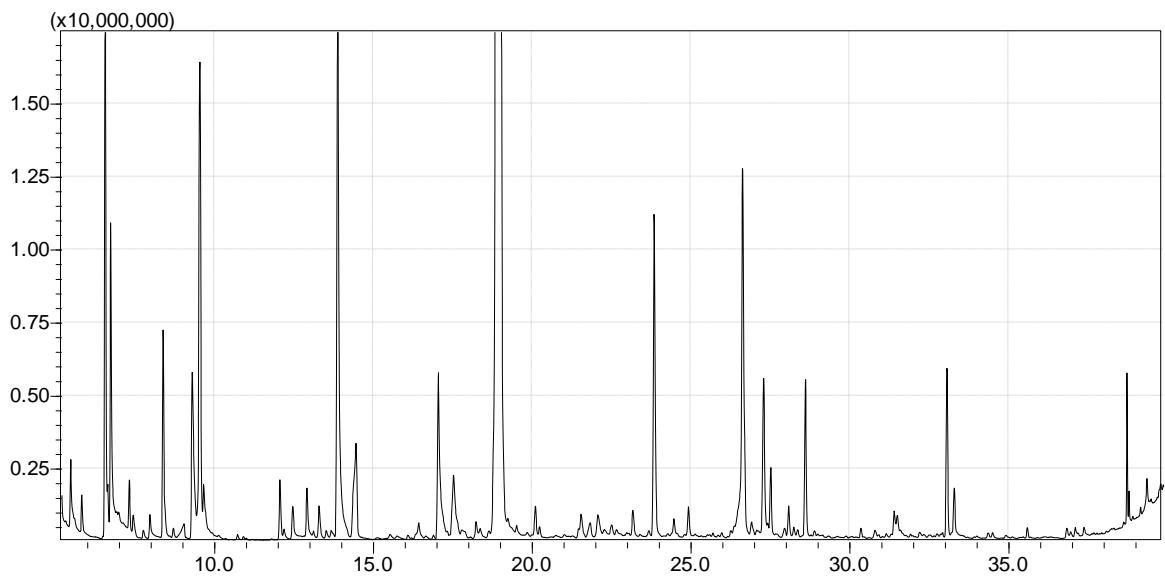
**Figura 4.** Tratamento 4: ANTAMPasto- Animais machos, filhos de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados a pasto.



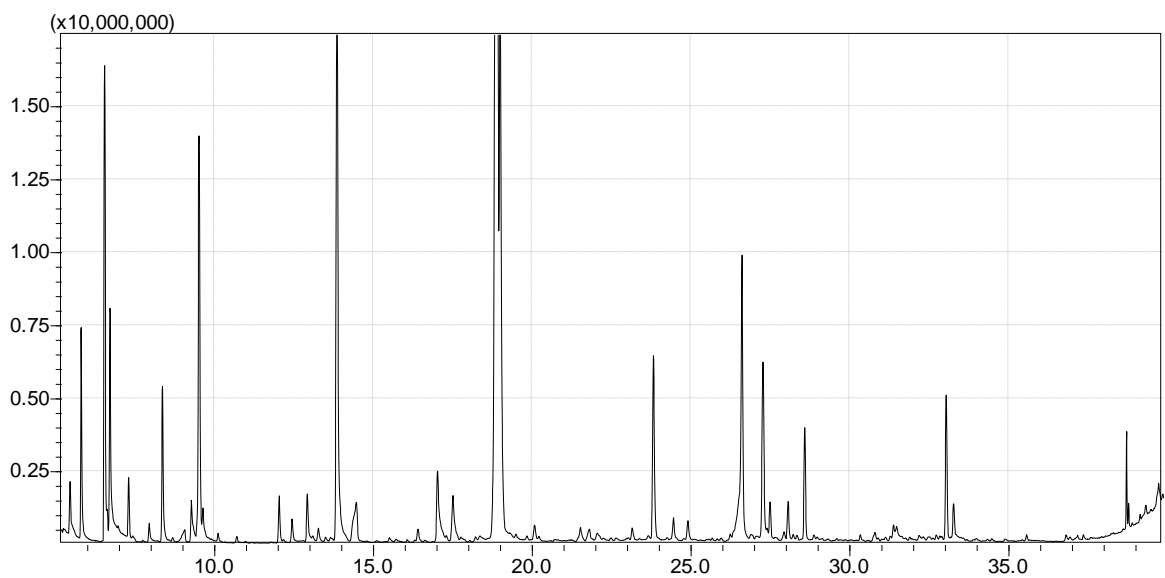
**Figura 5.** Tratamento 5: ANTSFConf. - Animais fêmeas, filhas de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas em confinamento.



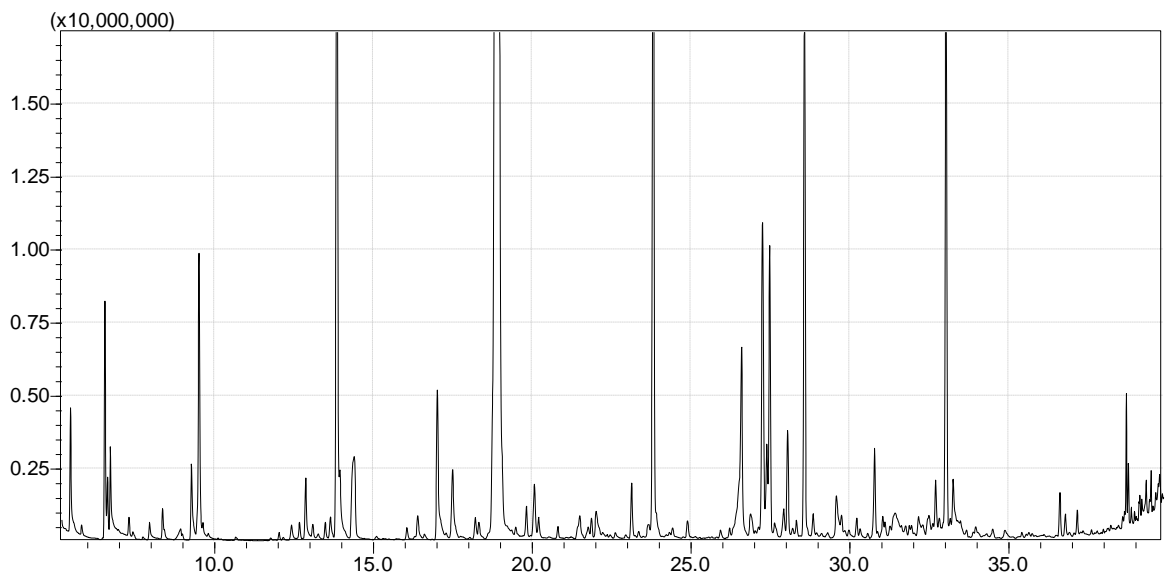
**Figura 6.** Tratamento 6: ANTSFPasto - Animais fêmeas, filhas de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas a pasto.



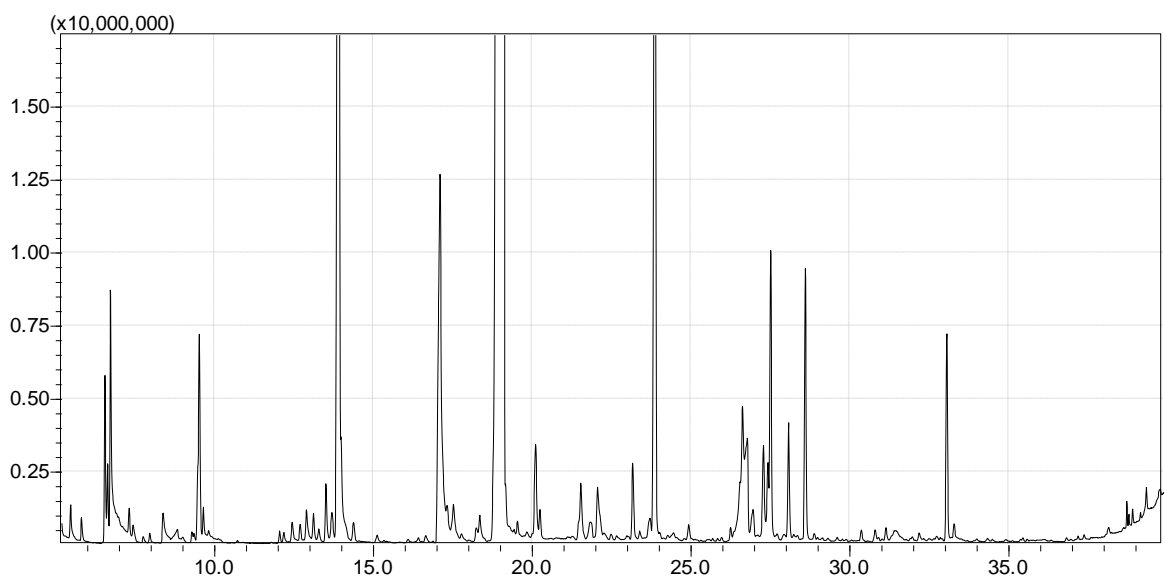
**Figura 7.** Tratamento 7: ANTSMConf. - Animais machos, filhos de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados em confinamento.



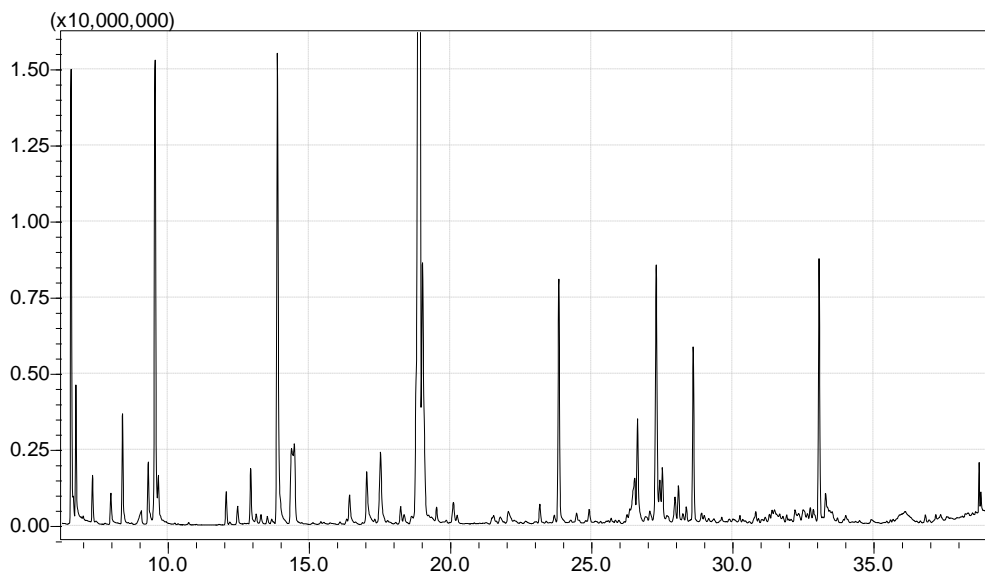
**Figura 8.** Tratamento 8: ANTSMPasto - Animais machos, filhos de touro Angus com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados a pasto.



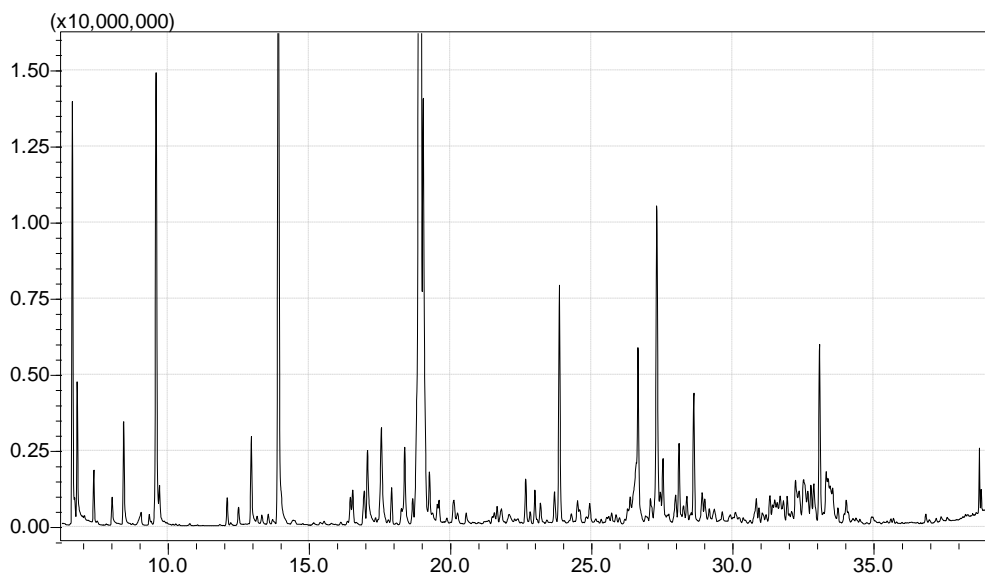
**Figura 9.** Tratamento 9: LITAFConf. - Animais fêmeas, filhas de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas em confinamento.



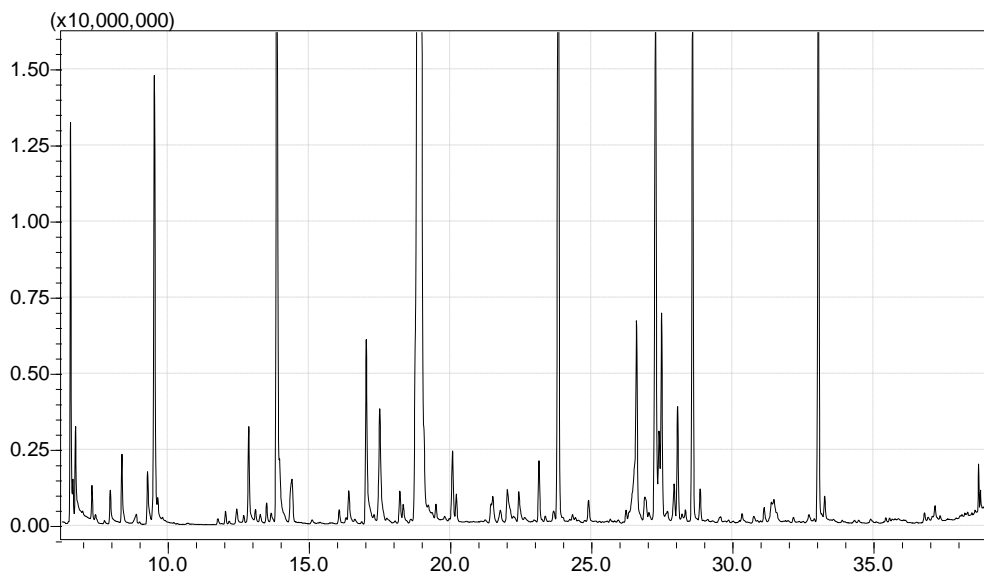
**Figura 10.** Tratamento 10: LITAFPasto- Animais fêmeas, filhas de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas a pasto.



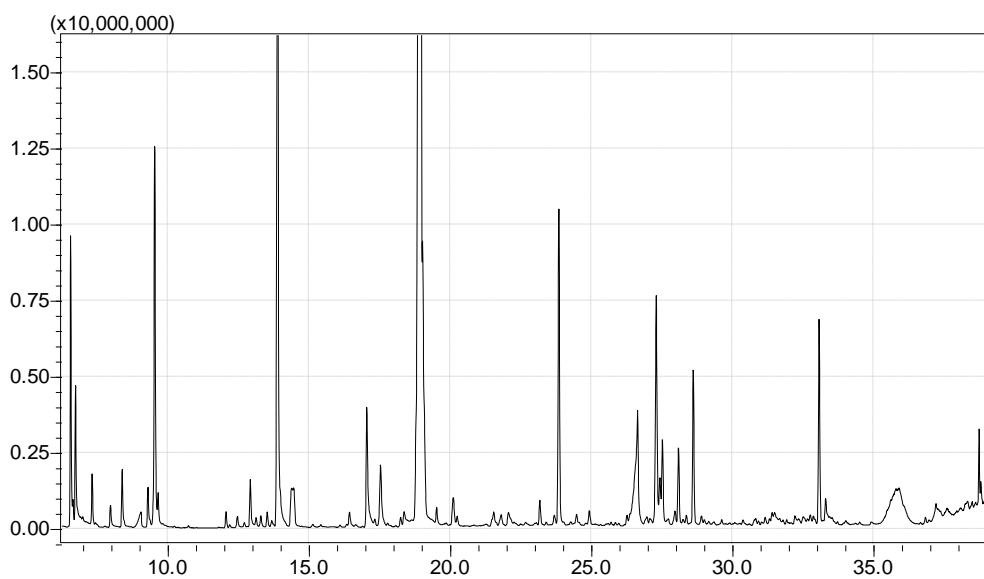
**Figura 11.** Tratamento 11: LITAMConf.- Animais machos, filhos de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados em confinamento.



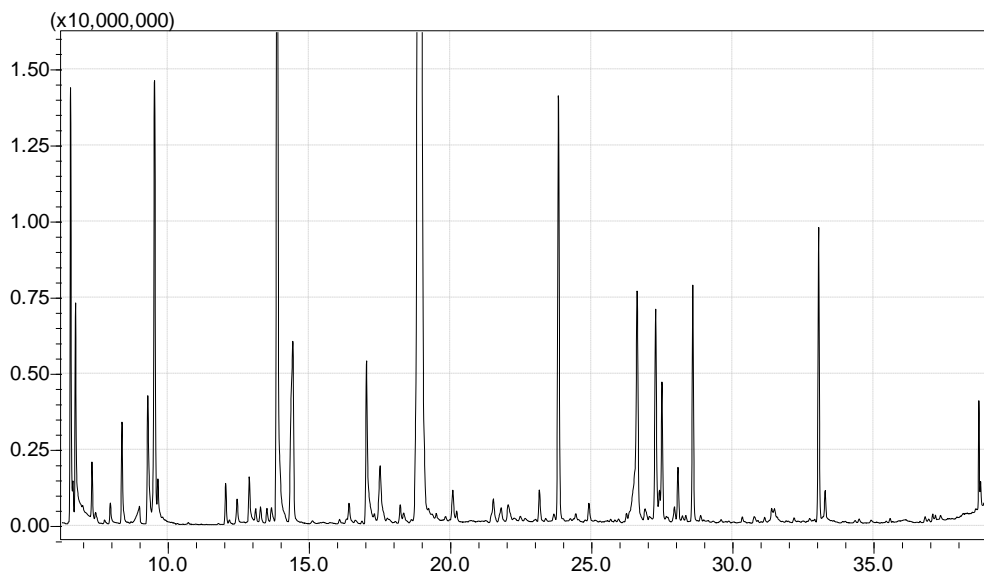
**Figura 12.** Tratamento 12: LITAMPasto- Animais machos, filhos de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Angus x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados a pasto.



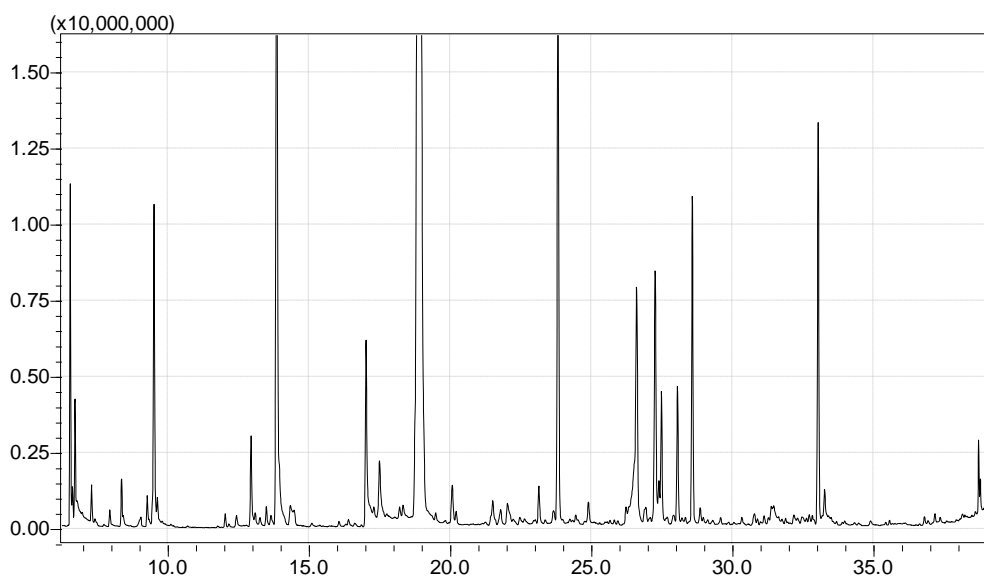
**Figura 13.** Tratamento 13: LITSFConf. - Animais fêmeas, filhas de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas em confinamento.



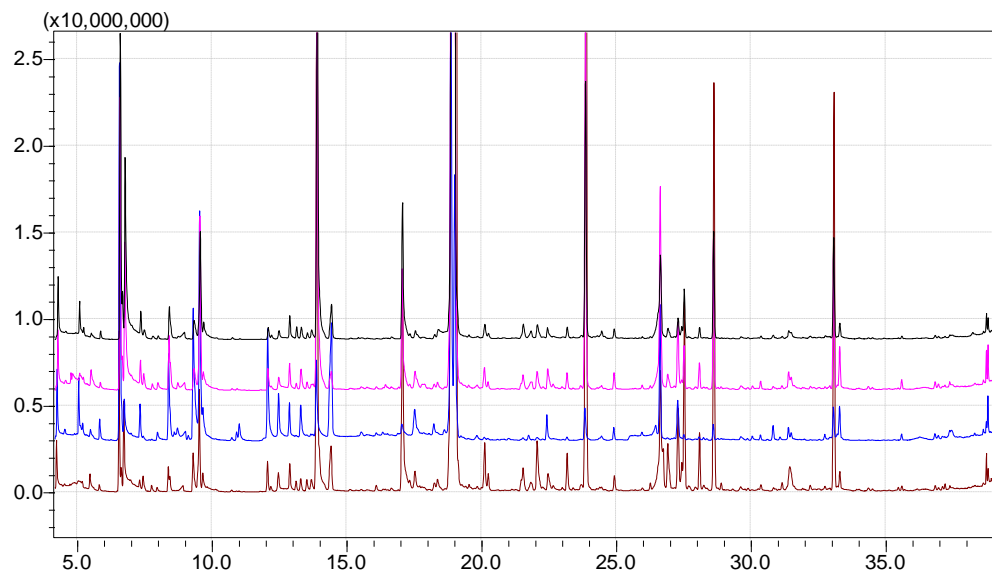
**Figura 14.** Tratamento 14: LITSFPasto - Animais fêmeas, filhas de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminadas a pasto.



**Figura 15.** Tratamento 15: LITSMConf.- Animais machos, filhos de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados em confinamento.



**Figura 16.** Tratamento 16: LITSMPasto- Animais machos, filhos de touro Limousin com vaca cruzada  $\frac{1}{2}$  Simental x  $\frac{1}{2}$  Nelore, terminados a pasto.



**Figura 17.** Sobreposição de Cromatogramas referente ao *pool* de amostra. Três primeiros (preto, rosa e azul) correspondem às amostras individuais e quarto cromatograma (marrom) corresponde ao *pool*.