

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



## **Óleo de soja e vitamina E: efeitos nos parâmetros produtivos e na qualidade da carne de vitelos de raça Holstein-Frísia**

Rui Pedro Fortunato Da Silva

Orientadores: Professor Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos  
Professor Doutor Vicente Jimeno Vinatea

Tese especialmente elaborada para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias na especialidade Produção Animal.

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



## **Óleo de soja e vitamina E: efeitos nos parâmetros produtivos e na qualidade da carne de vitelos de raça Holstein-Frísia**

Rui Pedro Fortunato Da Silva

Orientadores: Professor Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

Professor Doutor Vicente Jimeno Vinatea

Tese especialmente elaborada para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias na especialidade Produção Animal.

Júri

Presidente: Professor Doutor Luís Lopes da Costa

Vogais:

- Professora Doutora María Teresa Castro Madrigal
- Professor Doutor José Manuel Bento dos Santos Silva
- Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa
- Professor Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE

Nome: Rui Pedro Fortunato Da Silva

Título da Tese ou  
Dissertação: Óleo de soja e vitamina E: efeitos nos parâmetros  
produtivos e na qualidade da carne de vitelos de raça  
Holstein-Frisia

Ano de conclusão (2021):

Designação do curso  
de Mestrado ou de  
Doutoramento: Ciências Veterinárias

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de X 6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;
- Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):
  - É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
  - É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 25 de Fevereiro de 2021

Assinatura: \_\_\_\_\_

## Dedicatória

para a Margarida, a Catarina e o Vasco.



## **Agradecimentos:**

Ao professor José Pedro Cardoso de Lemos, pelo desafio, pelo incentivo e pelo querer saber sempre mais. Por todo o conhecimento que me proporcionou.

Ao professor Vicente Jimeno Vinatea, pela forma como ensina e partilha conhecimento. Pela oportunidade de aprendizagem e pela confiança que sempre me deu. Uma ferramenta para toda a vida.

À Dra. Almudena Cabezas e Dra. Cristina Monteiro, pela enorme ajuda que me prestaram na elaboração deste trabalho.

Ao Sr. Manuel Rito e ao Dr. Álvaro Lopes, da exploração M Rito e Fragaleite, pela amizade e possibilidade de utilizar as suas instalações e animais. À associação de produtores Montes da Raia, Eng.º Arlindo Cardoso, e ao matadouro de Alcains, Oviger, Eng.º Victor por todas as condições e ajuda na elaboração deste trabalho.

À Rações Zêzere, por sempre me ter apoiado e disponibilizado tempo para a conclusão deste importante ciclo de estudos.

À Sorgal SA, pela oportunidade concedida de realizar este trabalho em contexto laboral.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, a minha escola, pela oportunidade de atingir este objetivo.

A toda a minha família, mãe, pai e irmãos pelos valores transmitidos e apoio.

À Inês, Margarida, Catarina e Vasco, por me fazerem sonhar e correr atrás dos sonhos.

A todos obrigado.

**Financiamento:**

SORGAL, S. A.

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

## Resumo

Neste trabalho testamos o efeito da suplementação do alimento para vitelos em acabamento com óleo de soja e vitamina E sobre parâmetros produtivos e qualidade da carne. Utilizamos 54 vitelos de raça Holstein-Frísia, machos castrados com 6 meses de idade, distribuídos aleatoriamente por três tratamentos (um parque por tratamento com três réplicas), alimentados com alimento composto e palha *ad libitum*, durante 60 dias antes do abate. O alimento composto incluiu 4,7 % de óleo de palma saponificado, 4% de óleo de soja e 4% óleo de soja + 50mg/kg de Vit. E. Os alimentos foram formulados para serem isoenergéticos e isoproteicos.

Os tratamentos óleo de Soja e óleo de Soja + Vit E apresentaram um ganho médio diário mais elevado (1,49 e 1,53 kg/dia frente a 1,35 para óleo de palma saponificado).

A carne dos animais do tratamento óleo de Soja + Vit E apresentou maior percentagem de ácidos gordos 18:1 *trans* (4,62 vs. 3,58 e 3,25 mg/100g carne, para óleo de palma saponificado e óleo soja), de 18:3 (0,24 frente a 0,19 e 0,22 para óleo de palma saponificado e óleo de soja). Nenhum dos tratamentos influenciou a força de corte. O painel de provadores não detetou off-flavours.

O óleo de soja + Vit E é uma alternativa viável na alimentação vitelos em período de acabamento contribuindo para um maior GMD frente ao alimento OPS. A associação de óleo de soja e vitamina E influencia positivamente a cor da carne, contribuindo para uma carne mais clara e brilhante. A maturação é o fator determinante para diminuir a força de corte da carne.

Num segundo ensaio também com 54 vitelos testou-se o efeito de concentrações crescentes de Vit E. Suplementação com 4% de óleo de soja + 50mg/kg de Vit. E, 4% de óleo de soja + 100mg/kg de Vit. E e 4% de óleo de soja + 200mg/kg de Vit. E. Os resultados não mostraram qualquer efeito nos parâmetros produtivos ou na qualidade de carne.

Palavras-chave: vitelos Holstein-Frísio; óleo de palma saponificado; óleo de soja; vitamina E

## Abstract

In this work we tested the effect of feed supplementation with soybean oil and vitamin E for finishing calves on production parameters and meat quality. We used 54 Holstein-Friesian calves, castrated males with 6 months of age, randomly distributed into three treatments (one pen per treatment with three replicates), fed with compound feed and straw *ad libitum*, for 60 days before slaughter. The compound feed included 4,7 % saponified palm oil, 4% soy oil and soy oil + 50mg / kg of Vit. E. Feeds had been formulated to be isoenergetic and isoproteic.

The soy oil and soy oil + Vit. E treatments showed a higher average daily gain (1.49 and 1.53 kg/day compared to 1.35 for saponified palm oil).

The meat of the animals in the soy oil + Vit. E treatment showed a higher percentage of 18:1 *trans* fatty acids (4.62 vs 3.58 and 3.25 mg/100g meat for saponified palm oil and soy oil), of 18:3 (0.24 compared to 0.19 and 0, 22 for saponified palm oil and soy oil). None of the treatments influenced the Shear force. The taster's panel did not detect off-flavours.

Soy oil + vit E is a viable alternative for feeding calves in the finishing period, contributing to a greater GMD vs control feed. The association of soy oil and vitamin E positively influences the colour of the meat, contributing to a lighter and brighter meat. Ageing is the determining factor to decrease the meat's shear force.

In a second trial also with 54 calves, the effect of increasing concentrations of Vit E was tested. Supplementation with 4% soy oil + 50 mg/kg of Vit. E, 4% soy oil + 100 mg/kg of Vit. E and 4% soy oil + 200 mg/kg of Vit. E. The results showed no effect on production parameters or meat quality.

Key words:

Holstein-Friesian calves; saponified palm oil; soy oil; vitamin E

<b>Índice:</b>	<b>Pag.</b>
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2 Objetivos</b>	<b>5</b>
<b>3 Revisão bibliográfica</b>	<b>6</b>
<b>3.1. Produção e consumo de carne de bovino no mundo e em Portugal</b>	<b>6</b>
<b>3.2. Classificação de carcaças</b>	<b>7</b>
<b>3.3. Lípidos na alimentação de ruminantes</b>	<b>8</b>
3.3.1. Classificação, estrutura e nomenclatura dos lípidos	8
3.3.2. Metabolismo lípico no rúmen	11
3.3.3. Utilização de lípidos nas dietas para vitelos	15
3.3.3.1. Tipos de lípidos utilizados nas dietas para vitelos	16
3.3.3.2. Efeitos da ingestão de lípidos na ingestão voluntária	18
3.3.3.3. Efeitos da ingestão de lípidos nos índices produtivos	19
<b>3.4. Qualidade da carne</b>	<b>20</b>
3.4.1. Aparência da carne	21
3.4.1.1. Cor do músculo	21
3.4.1.2. Cor e quantidade de gordura	30
3.4.2. Textura da carne	32
3.4.3. Suculência e flavour	34
3.4.4. Os lípidos e a qualidade da carne de bovino	37
3.4.4.1. Regulação da deposição dos lípidos intramusculares	38
3.4.4.2. Perfil dos ácidos gordos da carne de bovino	40
3.4.4.2.1. Perfil dos ácidos gordos e a qualidade organoléptica	41
3.4.4.2.2. Perfil dos ácidos gordos e a saúde humana	48
3.4.4.3. Estratégias para alterar o perfil de AG da carne de bovino	51
<b>3.5. Maturação</b>	<b>54</b>

<b>3.6. Vitamina E</b>	58
3.6.1. Estrutura e funções da vitamina E	58
3.6.2. Necessidades nutricionais de vitamina E dos bovinos	61
3.6.3. Efeitos da suplementação com vitamina E nas performances e na qualidade da carne de bovinos	63
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	65
<b>4.1. ENSAIO I: Efeito da substituição do óleo de palma saponificado por óleo de soja e da suplementação com vitamina E em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade de carne.</b>	65
4.1.1. Animais, parâmetros produtivos.	65
4.1.2. Dietas	67
4.1.3. Avaliação da qualidade da carne	72
4.1.3.1. Determinação do pH e da cor da carne	73
4.1.3.2. Determinação da força de corte e das perdas por cozedura	74
4.1.3.3. Painel de provadores	76
4.1.3.4. Perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular	77
4.1.4. Vitamina E, colesterol e gordura intramuscular da carne	77
4.1.5. Análise estatística	78
<b>4.2. ENSAIO II: Efeito da suplementação de dietas de acabamento para vitelos com diferentes níveis de vitamina E: desempenho produtivo e qualidade da carne</b>	81
4.2.1. Animais, parâmetros produtivos	81
4.2.2. Dietas	82
4.2.3. Avaliação da qualidade da carne	85
4.2.3.1. Determinação do pH e da cor da carne	86
4.2.3.2. Determinação da força de corte e das perdas por cozedura	86
4.2.3.3. Análise de ácido tiobarbitúrico	86
4.2.4. Análise estatística	87

<b>5. RESULTADOS</b>	<b>89</b>
<b>5.1. Ensaio I: Efeito da substituição do óleo de palma saponificado por óleo de soja e da suplementação com vitamina E em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade de carne.</b>	<b>89</b>
5.1.1. Animais e parâmetros produtivos	89
5.1.2 Avaliação da qualidade da carne	91
5.1.2.1. pH e cor da carne	91
5.1.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado	92
5.1.2.3. Características organoléticas da carne	93
5.1.2.4. Perfil de ácidos gordos da carne	94
5.1.3. Vitamina E, colesterol e % de gordura intramuscular da carne	96
5.1.4. Qualidade de carne a diversos tempos de maturação	96
<b>5.2. Ensaio II: Efeito do óleo de soja e da suplementação com vitamina E, a três níveis em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade de carne.</b>	<b>92</b>
5.2.1. Animais e parâmetros produtivos	92
5.2.2. Avaliação da qualidade da carne	93
5.2.2.1. pH e cor da carne	93
5.2.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado	95
5.2.2.3. Gordura intramuscular e oxidação lipídica da carne	95
5.2.3. Qualidade de carne a diversos tempos de maturação.	96
<b>6. Discussão</b>	<b>105</b>
<b>6.1. Ensaio I: parâmetros produtivos e qualidade de carne</b>	<b>105</b>
6.1.1. Parâmetros produtivos	105
6.1.2. Avaliação da qualidade de carne	108
6.1.2.1. pH e cor da carne	108
6.1.2.2. Força de corte e perdas por cozinhado	110

6.1.2.3. Painel de provadores	111
6.1.2.4. Gordura intramuscular e perfil de ácidos gordos da carne	112
6.1.3. Vitamina E	116
6.1.4. Qualidade da carne a diversos tempos de maturação	117
<b>6.2. Ensaio II: parâmetros produtivos e qualidade de carne</b>	<b>118</b>
6.2.1. Parâmetros produtivos	118
6.2.2. Avaliação da qualidade de carne	119
6.2.2.1. pH e cor da carne	119
6.2.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado	120
6.2.2.3. Gordura intramuscular e oxidação lipídica da carne	120
6.2.3. Qualidade de carne a diversos tempos de maturação	122
<b>6.3. Discussão conjunta dos dois ensaios</b>	<b>123</b>
<b>7. Conclusão</b>	<b>125</b>
<b>8. Bibliografia</b>	<b>126</b>

<b>Lista de Figuras:</b>	<b>Pag.</b>
<b>Figura 1.</b> Vias de biohidrogenação ruminal propostas. Principais e alternativas do ácido linoleico (18:2n-6) e do ácido linolénico (18:3n-3). Setas grossas representam as principais vias conhecidas (Harfoot & Hazlewood, 1997); setas tracejadas representam outras vias potenciais propostas por Griinari e Bauman (1999). A negrito os ácidos gordos intermediários da biohidrogenação identificados, a sublinhado ácidos gordos ainda não identificados como intermediários da biohidrogenação. Adaptado de (Alves and Bessa 2014).	13
<b>Figura 2.</b> Parques da exploração Fragaleite utilizados no ensaio.	66
<b>Figura 3.</b> Tolva de alimentação e palheira do parque.	66
<b>Figura 4.</b> Balança utilizada para a pesagem individual de cada animal.	67
<b>Figura 5.</b> Aspeto das carcaças 24h após o abate, antes e depois da recolha das amostras.	71
<b>Figura 6.</b> Amostra de carne recolhida, antes da desossa e amostras já embaladas e identificadas, prontas a congelar até à realização do painel de provadores.	73
<b>Figuras 7.</b> Vista geral das amostras, enquanto aguardam o tempo necessário para oxigenar e realizar o teste de cor.	74
<b>Figuras 8.</b> Amostras pesadas, prontas a cozinhar; amostras a cozinhar.	75

**Figura 9.** Amostras de carne, recortada no sentido das fibras do músculo, preparada para avaliação de força de corte. 75

**Figuras 10.** Impresso para classificação pelo painel de provadores e vista geral da preparação da bancada individual para painel de provadores. 77

<b>Lista de Tabelas:</b>	<b>Pag.</b>
<b>Tabela 1.</b> Composição dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca).	68
<b>Tabela 2.</b> Composição química e valor nutritivo dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca) (Fedna 2008).	69
<b>Tabela 3.</b> Resultados das análises químicas dos alimentos compostos experimentais (% da matéria fresca) realizadas no Laboratório próprio da Sorgal.	70
<b>Tabela 4.</b> Composição dos ácidos gordos (% do total dos ácidos gordos identificados) das gorduras incluídas nos alimentos compostos experimentais.	71
<b>Tabela 5.</b> Composição dos alimentos compostos experimentais (em % matéria fresca).	83
<b>Tabela 6.</b> Composição química e valor nutritivo dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca) (FEDNA 2008).	84
<b>Tabela 7.</b> Resultados das análises químicas dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca) realizadas no Laboratório próprio da Sorgal.	85
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros produtivos e características da carcaça de vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)).	90
<b>Tabela 9.</b> Valores de pH e dos parâmetros da cor da carne ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , Tom e Saturação) observados em amostras de <i>longissimus dorsi</i> dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.	92

**Tabela 10.** Valores de força de corte e das perdas por cozedura observados em amostras de longissimus dorsi dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação. 92

**Tabela 11.** Resultados da avaliação das características organolépticas, por painel de provadores, das amostras de *longissimus dorsi* dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação. 93

**Tabela 12.** Perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular (g/100g de músculo) de carne vitelos Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação. 94

**Tabela 13.** Teores de gordura intramuscular, de vitamina E e de colesterol do músculo Longissimus dorsi dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação. 96

**Tabela 14.** Efeito da inclusão de diferentes fontes de gordura, (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), diferentes dias de maturação e a interação entre estes dois fatores (alimentos x dias de maturação) sobre o pH, e o valor das coordenadas L\*, a\*, b\*, Tom e Saturação do músculo *Longissimus dorsi*. 98

**Tabela 15.** Efeito da inclusão de diferentes fontes de gordura, (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), diferentes dias de maturação e a interação entre estes dois fatores (alimentos x dias de maturação) sobre parâmetros de textura e perdas por cozinhado no músculo *Longissimus dorsi*. 99

**Tabela 16.** Rendimentos produtivos e características de carcaça de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com 4% de óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)). 101

**Tabela 17.** Valor de pH, L\*, a\*, b\*, Saturação e Tom do *Longissimus dorsi* de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), depois de 5 dias de maturação. 102

**Tabela 18.** Força de corte e perdas por cozinhado do longissimus dorsi de vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)) depois de 7 dias de maturação. 102

**Tabela 19.** Gordura intramuscular (%) e malondialdeído (mg/kg carne) do *Longissimus dorsi* de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), após 42 dias de maturação. 103

**Tabela 20.** Efeito da inclusão de óleo de soja com diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), distintos dias de maturação e a interação entre ambos (dietas x dias de maturação) sobre o pH e o valor das coordenadas L\*, a\*, b\*, Tom e Saturação do músculo *Longissimus dorsi*. 104

## **Lista de abreviaturas:**

µg: micrograma

µm: micrómetro

a\*: índice de vermelhos

AG: ácidos gordos

AGM: ácidos gordos monoinsaturados

AGP: ácidos gordos polinsaturados

AGS: ácidos gordos saturados

AL: ácido linoleico

ALC: ácido linoleico conjugado

ALN: ácido linolénico

ATP: adenosina trifosfato

b\*: índice de amarelo

C\*: saturação

cm: centímetro

cm<sup>2</sup>: centímetro quadrado

CRA: capacidade de retenção de água

DER: densidade energética do alimento

DFD: carne escura, firme e seca

DHA: ácido docosaheptaenoico

EPA: ácido eicosaenoico

EFSA: Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

FC: força de corte

g: grama

GIM: gordura intramuscular

GMD: ganho médio diário

h\*: tom

HCl: ácido clorídrico

HDL: lipoproteína de alto peso molecular

IBR: rinotraqueite bovina viral

IC: índice de conversão

kg: quilograma  
L\*. luminosidade  
Ld: *longissimus dorsi*  
LDL: lipoproteína de baixo peso molecular  
m: metro  
MAP: embalagem em atmosfera protetora  
Mb: mioglobina  
MetMb: metamioglobina  
MF: matéria fresca  
mg: miligrama  
min: minuto  
ml: mililitro  
mm: milímetros  
MS: matéria seca  
n-3: ácidos gordos polinsaturados de série ómega 3.  
n-6/n-3: Relação entre ácidos gordos polinsaturados ómega 6 e ácidos gordos ómega 3.  
n-6: ácidos gordos polinsaturados de série ómega 6  
NIR: análise por espectrofotometria próxima do infravermelho  
nm: nanómetros  
OxiMb: oximioglobina  
OPS: alimento composto complementar com 4% óleo de palma saponificado  
OS: alimento composto complementar com 4% óleo de soja  
OSVTE: alimento composto complementar com 4% óleo de soja + Vit E  
P/S: rácio ácidos gordos polinsaturados/saturados  
PB: proteína bruta  
PCF: peso de carcaça fria  
PSE: carne pálida, macia e exsudativa  
PV: peso vivo  
RCF: rendimento de carcaça fria  
Ton: tonelada

TBA: ácido tiobarbiturico

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico

UFC: unidade forrageira de carne

UI: unidades internacionais

UV: ultravioleta

Vit E: vitamina E

Zn: zinco

°C: grau centígrado

$\alpha$ : alfa

>: maior que

<: menor que

=: igual

%: percentagem

## 1. Introdução

Com o começo do século XXI, parece ter havido uma mudança no padrão de consumo de carne (principalmente da carne vermelha) entre a população mundial, com o aumento de consumo nos países em desenvolvimento e uma diminuição de consumo nos países desenvolvidos (Bodirsky et al. 2015).

O valor nutricional é um contributo importante para a valorização da qualidade da carne. O consumidor está cada vez mais consciente da relação entre dieta, saúde e bem-estar, resultando na escolha de alimentos mais saudáveis e nutritivos (Verbeke, et al. 2010; Hocquette, Botreau, et al. 2012;).

O aumento das preocupações com o bem-estar animal, a necessidade de uma perfeita rastreabilidade, do prado ao prato, juntamente com a legislação ambiental, vieram criar uma pressão acrescida sobre o sector de produção de carne. O produtor primário foi o mais afetado, com uma redução de margem de negócios e, conseqüentemente, menores rendimentos. A competitividade em mercados desenvolvidos está ligada à capacidade de desenvolver novos produtos, diferenciados, afastando-se dos produtos comercializados competindo apenas pelo preço. Isto é comumente aceite para produtos que requerem inovação, mas também aumenta em produtos frescos, incluindo a carne (Grunnert et al. 2004).

Esta tendência está também a acontecer no mercado de carne, como reflete a procura por carne de alta qualidade e diferenciada por marcas, origens geográficas, características sensoriais ou de produção (ex. carne maturada). A definição de qualidade torna-se cada vez mais complexa, uma vez que já passamos a fase das características físicas (ex. tenrura), sendo hoje em dia valorizadas características intrínsecas como a cor, o flavor e a suculência, assim como qualidades extrínsecas, como a marca, a origem, o sistema de produção ou atributos funcionais (Steenkamp, 1997).

Os consumidores estão mais alerta para a relação entre dieta e saúde, particularmente em relação ao cancro, arteriosclerose, obesidade e diabetes. O conhecimento desta relação aumentou o interesse do

consumidor pela qualidade nutricional dos alimentos e pela procura de alimentos mais saudáveis.

A carne é considerada um alimento altamente nutritivo e é valorizada por isso. A carne é uma importante fonte de proteína de alto valor biológico e micronutrientes, entre os quais vitaminas A, B6, B12, D, E, ferro, zinco e selênio (Biesalski et al. 2005; Wyness 2013). No entanto, nos últimos 15 a 20 anos, estas características positivas têm sido ofuscadas devido à importância dada a certas características negativas como a percepção de um perfil de ácidos gordos ricos em ácidos gordos saturados. A redução de ingestão de ácidos gordos saturados, que são bem conhecidos por promoverem o aumento de colesterol total e de lipoproteínas de baixa densidade, a par do aumento do consumo de ácidos gordos polinsaturados da série ómega 3 são particularmente aconselhados. Associações entre carne vermelha e cancro e as preocupações com a possível transmissão de doenças, como a encefalite bovina espongiforme, também afetaram o consumo.

O sistema de engorda de vitelos mais utilizado em Portugal baseia-se na utilização de dietas à base de concentrados ricos em cereais e palha de cereais *ad libitum* como forragem (Jimeno et al. 2008). Como consequência, a carne apresenta uma relação ácidos gordos polinsaturados /ácidos gordos saturados desfavorável para o consumidor relativamente a animais que consomem quantidades importantes de forragens.

A substituição parcial de ácidos gordos saturados por ácidos gordos insaturados *cis* na carne é um desafio, com o objetivo de atingir os requisitos em matéria de ácidos gordos para os seres humanos, como proposto pela FAO (2010). No entanto, é obvio que a carne de ruminantes nunca irá contribuir de forma significativa para atingir as necessidades da dieta humana em ácidos gordos polinsaturados da série ómega 3. É menos conhecido que os produtos de ruminantes são os únicos produtos alimentares naturais a apresentar ácido linoleico conjugado e ácido linolénico conjugado, com a exceção da carne de porco caso os suínos sejam alimentados com suplementos de ácido linoleico conjugado (Doreau et al. 2016).

Apesar da intensa biohidrogenação que os ácidos gordos insaturados sofrem no rúmen, estudos recentes indicam que é possível obter carne com um maior conteúdo nestes compostos administrando precursores na alimentação, como o óleo de girassol, o óleo de soja ou o óleo de linhaça (Cabezas 2017).

Existem diversos estudos em engorda de vitelos em que se utilizam vários óleos vegetais com o objetivo de modificar o perfil de ácidos gordos da carne, mas são muito poucos os trabalhos realizados em engordas intensivas à base de alimento concentrado e palha e não temos conhecimento de nenhum trabalho feito em animais machos de raça Holstein-Frísia abatidos antes dos 8 meses de idade, sendo que grande parte dos estudos foram realizados em engordas de borregos (Bessa 2015). Há que ter em conta que a engorda de vitelos com alimento concentrado e palha se realiza em poucos países, sendo de realçar Portugal, Espanha e Itália.

Quanto aos óleos vegetais não processados, o mais utilizado é o de soja pela sua maior disponibilidade no mercado de matérias-primas e, em menor medida, os de girassol e de linhaça. A suplementação de alimentos utilizados em engorda de vitelos com óleo de soja poderia aumentar o conteúdo em ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados, dando lugar a uma carne mais saudável do ponto de vista da saúde humana (Scollan et al. 2006).

As relações entre o perfil de ácidos gordos da carne e outros componentes químicos incluindo aminoácidos, carboidratos, cor, outras propriedades sensoriais e período de validade da carne estão bem estabelecidas. Aumentando o conteúdo em ácidos gordos polinsaturados da série ómega 3 reduzimos a durabilidade do produto e pode resultar no aparecimento de características sensoriais não desejadas, como aroma a peixe. A utilização de antioxidantes e da vitamina E em particular, que é naturalmente elevada em carne de pastagem, ajuda a mitigar os efeitos negativos dos ácidos gordos polinsaturados na qualidade de carne. No entanto, em animais alimentados a concentrado a sua suplementação é necessária para melhorar a estabilidade da cor na carne. Este campo tem sido bastante estudado nos últimos dez anos e mais conhecimento é

necessário para permitir à indústria estabelecer uma estratégia tendo em vista a melhoria das propriedades da carne (Scollan, et al. 2014).

## **2. Objetivos**

Neste contexto, definiram-se como objetivos do presente trabalho:

1- Estudar o efeito da substituição do óleo de palma saponificado por óleo de soja e da suplementação com vitamina E em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade da carne.

2- Estudar o efeito da suplementação de dietas de acabamento para vitelos com diferentes níveis de vitamina E: desempenho produtivo e qualidade da carne.

3- Estudar o efeito da maturação de 5, 21 e 42 dias na qualidade de carne de carcaças de vitelos alimentados com dietas com incorporação de óleo de soja e suplementadas com vitamina E.

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1 – Produção e consumo de carne de bovino no mundo e em Portugal**

Estima-se que a população mundial atinja em 2050 um valor de 9.300 milhões de pessoas, aumentando de forma considerável a procura por carne e outros produtos alimentares (Nações Unidas 2011). É estimado que o consumo de carne vermelha (de ovinos e de bovinos) irá aumentar aproximadamente 200% até 2050, enquanto a carne de suíno irá aumentar 158% (FAO 2011). Neste cenário, a produção de carne em sistemas eficientes e com valor nutricional diferenciado representa uma oportunidade de mercado (Ponnampalam et al. 2019).

A produção total de carne mundial em 2018 foi de 338,4 milhões de toneladas, das quais 35,7% foram de carne de suíno, 33,7% de carne de aves e 21% de carne de bovino. Na EU-28 produziram-se 51,2 milhões de toneladas de carne (15,1% da produção mundial), 46% de suíno, 27% de frango e 16% de bovino (FAO 2020).

A produção mundial de carne bovina aumentou para 71,1 milhões de toneladas em 2018, 2,1% a mais do que em 2017, 2,9% a mais do que a produzida em 2016, 69,1 milhões de toneladas, originada principalmente em cinco países: Brasil, Estados Unidos da América, Argentina, União Europeia e Austrália. As importações de carne bovina pela China foram de 2,0 milhões de toneladas, o equivalente a um quinto do total das exportações mundiais, principalmente devido ao aumento da procura pelo consumidor (FAO 2018).

Na última década o número de bovinos adultos em Portugal aumentou de 1,44 milhões até 1,67 milhões de cabeças, o que corresponde a um aumento de 15,8%. Por sua vez, o número de vacas leiteiras diminuiu de 306 mil em 2007 para 239 mil em 2017 (INE), uma diminuição de 22%. Em Portugal, em 2018 produziram-se um total de 891.465 toneladas de carne (1,7% da produção da UE-28), sendo 45% de suíno, 36% de frango e 11%

de bovino, isto é, 94.026 toneladas de carne de bovino (FAO 2020). Neste ano de 2018, abateram-se em Portugal 384.000 bovinos, dos quais 35,4% foram animais com uma idade ao abate entre 12-24 meses e 12,2% animais com menos de 12 meses de idade (EMMO-CE 2020).

Portugal tem vindo a aumentar as suas exportações, sobretudo de bovinos vivos, com um aumento importante de 18.280 toneladas exportadas em 2012 para 32.750 toneladas exportadas em 2017, com o principal país recetor a ser Israel, com 60,6% do valor total. Exportou 11.365 toneladas de carne de bovino principalmente para Espanha, correspondendo este valor a 48,9% do valor total.

O consumo anual *per capita* em Portugal em 2019 foi de 44,3 kg de carne de suíno, de 44,4 kg de aves de capoeira e de 20,8 kg de carne de bovino, enquanto que os valores médios na Europa (28 países) foram de 44,7 kg de suíno, 29,4 kg de carne de aves e 16,7 kg de carne de bovino (INE 2020). O consumo *per capita* de carne de bovino em Portugal tem aumentado nos últimos anos, desde 18,2 kg em 2016 até 20,8 kg em 2019 (INE 2020).

### **3.2. Classificação de carcaças**

A carcaça é definida pelo Regulamento (CE) 1183/2006 como “o corpo inteiro do animal abatido tal como se apresenta após as operações de sangria, de evisceração e de esfolia, apresentado: — sem a cabeça e sem os pés; a cabeça é separada da carcaça ao nível da articulação atloide-occipital, os pés, seccionados ao nível das articulações carpo-metacárpicas ou tarsometatársicas, — sem os órgãos contidos nas cavidades, torácica e abdominal com ou sem os rins, a gordura dos rins, bem como a gordura da bacia, — sem os órgãos genitais e os músculos contíguos, sem tetas e sem a gordura mamária”.

As carcaças de bovinos são classificadas em sete categorias segundo a idade ao sacrifício (Regulamento (CE) 700/2007; Regulamento (EU) 1308/2013), cinco para idades adultas, duas para idades iguais ou

inferiores a 12 meses. Para as duas categorias mais jovens, até um ano de idade, a classificação foi estabelecida pelo Regulamento (CE) 700/2007. Desta forma os bovinos com menos de oito meses ou menos ao sacrifício são classificados como categoria V, correspondente a Vitelos, enquanto os bovinos com mais de oito meses até igual ao inferior a 12 meses, Vitelões, são classificados como categoria Z.

O Regulamento (CE) 1308/2013 define também as seguintes categorias para adultos:

A: Carcaças de machos, não castrados, de 12 meses a menos de 24

B: Carcaças de outros machos não castrados, de 24 meses ou mais

C: Carcaças de machos castrados de 12 meses ou mais

D: Carcaças de fêmeas que já tenham parido;

A: Carcaças de outras fêmeas de 12 meses ou mais

Como tal as carcaças A correspondem a novilhos, as carcaças B a touros, as carcaças C a castrados, as carcaças D a vacas, e as carcaças E correspondem a novilhas.

Classificação segundo a quantidade de gordura. Esta classificação tem por objetivo identificar o estado de gordura subcutânea e na cavidade torácica. A par com a classificação SEUROP só é utilizada em carcaças adultas. Também foi definida pelo Regulamento (CE) 1183/2006.

## **2.3 – Lípidos na alimentação de ruminantes**

### **3.3.1 Classificação, estrutura e nomenclatura dos lípidos.**

Os lípidos são um grupo heterogéneo de compostos que têm a propriedade comum de serem relativamente insolúveis em água e solúveis em solventes não polares (Murray et al. 2001). Em geral, o termo lípidos utiliza-se tanto para gorduras como óleos, e tanto um como o outro são constituintes das

plantas e dos animais, com a missão principal de aportar energia. Os óleos são normalmente líquidos à temperatura ambiente, enquanto as gorduras têm consistência sólida ou semissólida.

Os triglicéridos são sintetizados pela união de três ácidos gordos a uma molécula de glicerol, formando um éster. Os mono e diglicerídeos, com um ou dois grupos álcool esterificados respectivamente, também se encontram naturalmente, mas em menores quantidades. O tipo de ácidos gordos, e a posição em que se esterifica com o glicerol, determina as características do triglicérido (Murray et al. 2001).

Os fosfolípidos são constituídos por uma molécula de glicerol, dois ácidos gordos, um grupo fosfato e um grupo hidrófilo, enquanto os glicolípidos contêm açúcares. Ambos formam parte das membranas celulares e modulam a sua atividade. Os esteres de colesterol também são componentes das membranas, sendo formados por colesterol e um ácido gordo. O colesterol é um precursor de hormonas esteroides, ácidos biliares e vitamina D. As forragens contêm maioritariamente glicolípidos (70-80%) e fosfolípidos (20-30%), enquanto que os cereais contêm fundamentalmente triglicéridos.

Os ácidos gordos (AG) são moléculas formadas por uma cadeia de carbonos, com um dos extremos da cadeia acabado num grupo carboxilo (-COOH). De maneira geral, podem classificar-se de acordo com o número de carbonos, a sua origem ou o estado de saturação. A classificação segundo o comprimento da cadeia de carbonos foi sugerida por Bloor (1943) em três categorias:

Ácidos gordos de cadeia curta: de 4 a 6 carbonos

Ácidos gordos de cadeia média: de 8 a 14 carbonos

Ácidos gordos de cadeia longa: de 16 a 24 carbonos

Segundo o grau de saturação classificam-se como ácidos gordos saturados (AGS) se não têm nenhuma ligação dupla, monoinsaturados (AGM) se contêm uma dupla ligação, ou ácidos gordos polinsaturados (AGP) se contêm duas ou mais ligações duplas. Os ácidos gordos saturados abundam no óleo de palma e coco, os ácidos gordos monoinsaturados

predominam no azeite e óleo de colza, os ácidos gordos polinsaturados nos animais marinhos e nos óleos de girassol, de soja e de linho.

Quando existe uma ligação dupla na cadeia de carbonos, podem apresentar-se duas formas em função da disposição espacial dos átomos de hidrogénio ligados aos átomos de carbono de ligação dupla. Fala-se de configuração *cis*, quando os átomos de hidrogénio se encontram do mesmo lado da ligação dupla, e de *trans* quando se encontram um de cada lado.

A maioria dos ácidos gordos insaturados apresentam configuração *cis*. Os isómeros *trans* encontram-se de forma natural na gordura da carne e leite dos ruminantes já que se formam durante a biohidrogenação ruminal e dos ácidos gordos insaturados (AGI). Também se podem originar por transformação química dos ácidos naturais em determinados processos tecnológicos. A maioria dos ácidos gordos de configuração *trans* consideram-se prejudiciais para a saúde humana, salvo algumas exceções como o *trans*-11 18:1, o ácido vacénico (Chilliard et al. 2001).

Os ácidos gordos polinsaturados, por sua vez, podem ser classificados em função da localização da primeira ligação dupla na cadeia, contando do lado do grupo metilo, e dividem-se em três séries principais: ómega 3 (*n*-3), ómega 6 (*n*-6) e ómega 9 (*n*-9). Os ácidos gordos da série *n*-9 não são considerados essenciais, já que o corpo humano pode promover a insaturação de um ácido gordo saturado na posição do carbono 9 e produzi-los a partir de ácidos gordos saturados. O mesmo não pode acontecer com os *n*-3 e *n*-6, pois o nosso organismo não consegue insaturar ácidos gordos nessas posições. Deste modo, considera-se o ácido linoleico (AL) e ácido linolénico (ALN) ácidos gordos essenciais, e devem fazer parte da dieta de cada indivíduo, já que a sua carência pode produzir alterações metabólicas sérias (Sanders 2000). Os ácidos gordos distinguem-se pela posição da ligação dupla, o que determina o tipo de eicosanoides que o organismo pode produzir. Para algumas funções metabólicas e estruturais são necessários ácidos gordos polinsaturados de maior número de carbonos, como o ácido araquidónico (AA), o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA). Estes ácidos gordos ou são ingeridos ou formam-se no organismo a partir de ácidos gordos essenciais, ácido linoleico e ácido linolénico, que são submetidos a processos de

alongamento e dessaturação. O ácido linoleico metaboliza-se a ácido araquidónico (20:4n-6) e o ácido linolénico dá lugar a ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) e a ácido docosahexaenoico (20:6 n-3) (Nakamura e Nara 2003).

### **3.3.2 Metabolismo lipídico no rúmen**

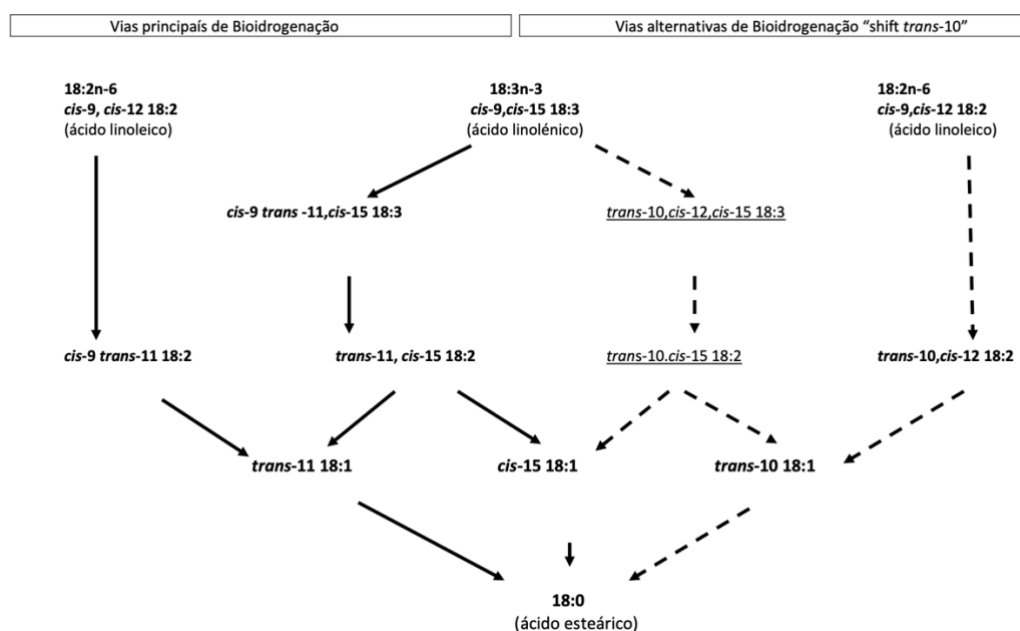
Nos ruminantes os ácidos gordos da dieta são extensamente metabolizados no rúmen antes da sua absorção no intestino delgado, logo o perfil de ácidos gordos da carne e do leite será diferente do perfil dos ácidos gordos de origem alimentar (Doreau and Chilliard 1997; Scollan et al. 2017; Dugan et al. 2018). Este fenómeno é, em grande parte, devido à extensa biohidrogenação no rúmen (Lee & Jenkins 2011). Ao entrar no rúmen, os lípidos presentes nas forragens, nos cereais e nas oleaginosas são hidrolisados pela lipases, libertando glicerol e ácidos gordos livres (Buccioni et al. 2012); subsequentemente, os ácidos gordos livres ficam disponíveis para a biohidrogenação, um processo que envolve isomerização sequencial e saturação maioritariamente produzida pelos microrganismos do rúmen para diminuir os efeitos tóxicos dos ácidos gordos insaturados no crescimento dos microrganismos (Jenkins et al. 2008; Dugan et al. 2011; Toral et al. 2018). Do processo resulta uma grande quantidade de intermediários da biohidrogenação (Chilliard et al. 2007). Em geral, cerca de 80% do ácido linoleico e 92% do ácido linolénico são biohidrogenados no rúmen (Doreau and Chilliard 1997). A biodegradação de ácidos gordos insaturados suplementares pode ser tão baixa quanto 30 a 40 por cento se os ácidos gordos forem alimentados como sais de cálcio (Klusmeyer and Clark 1991).

O primeiro passo no metabolismo dos lípidos no rúmen é a lipólise, que converte ácidos gordos esterificados em ácidos gordos livres, sendo a *Anaerovibrio lipolytica* uma das responsáveis por este processo, pela ação das lipases (Lourenço et al. 2010). Dado que o processo de biohidrogenação é muito eficiente, tipicamente apenas pequenas quantidades de

intermediários da biohidrogenação atingem o duodeno para serem absorvidos e diretamente incorporados nos lípidos corporais (Dugan et al. 2018; Toral et al. 2018). Alguns ácidos gordos são utilizados pelos microrganismos para sintetizar os seus próprios lípidos da membrana celular (Lourenço et al. 2010). Duas vias principais de isomerização e hidrogenação estão descritas para o ácido linolénico e para o ácido linoleico (Harfoot and Hazlewood 1997). O ácido linolénico é primeiramente isomerizado a vários isómeros conjugados *trans*-18:3, alguns ainda desconhecidos, chamados de ácido linolénico conjugado e representados principalmente pelo *c9t11c15*-18:3. Estes são hidrogenados a *trans*-18:2, principalmente *t11c15*-18:2, depois a *trans*-18:1, principalmente *t11*-18:1 (ácido vacénico), o que por sua vez pode ser hidrogenado a 18:0 (ácido esteárico). O percurso dominante de biohidrogenação do ácido linoleico é via a sua isomerização para ácido linoleico conjugado (CLA), principalmente ácido ruménico (*c9, t11*-18:2), o qual é de seguida hidrogenado para ácido vacénico, e por último a esteárico.

Em certas condições, (como seja um elevado conteúdo em ácidos gordos polinsaturados da dieta e condições de baixo pH no rúmen, juntamente com uma alteração na população microbiana), uma via alternativa pode ser estabelecida produzindo outro isómero de ácido linoleico conjugado, *t10c12*-18:1, o que pode fazer prevalecer o *t10*-18:1. Zened et al. 2011) sugere que este último isómero, *t10*-18:1, não pode ser produzido a partir do ácido linolénico. Enquanto os microrganismos responsáveis pela produção de *t10*-18:1 ainda não estão claramente definidos, sabe-se que o *t11*-18:1 é produzido por bactérias fibrolíticas do grupo *Butyrivibrio*, entre eles o *Butyrivibrio proteoclasticus* e o *Butyrivibrio hungatei* já demonstraram capacidade para formar ácido esteárico em culturas puras (Paillard et al. 2007). A biohidrogenação é inibida quando a quantidade de protozoários no rúmen diminui (Boeckert et al. 2007). No entanto, os protozoários não atuam diretamente sobre os ácidos gordos, mas através das bactérias que ingeriram (Jenkins et al. 2008). De facto, podem existir outras vias muito mais complexas (Enjalbert and Troegeler-meynadier 2009), implicando que inúmeros outros isómeros 18:1, 18:2 e 18:3 sejam formados no rúmen e passem através do duodeno antes da absorção intestinal, existindo outras

vias de biohidrogenação ainda não conhecidas. Um diagrama de possíveis vias de biohidrogenação é apresentado por (Alves e Bessa 2014).



**Fig.1- Vias de biohidrogenação ruminal propostas. Principais e alternativas do ácido linoleico (18:2n-6) e do ácido linolénico (18:3n-3). Setas grossas representam as principais vias conhecidas (Harfoot & Hazlewood, 1997); setas tracejadas representam outras vias potenciais propostas por Griinari e Bauman (1999). A negrito os ácidos gordos intermediários da biohidrogenação identificados, a sublinhado ácidos gordos ainda não identificados como intermediários da biohidrogenação. Adaptado de (Alves and Bessa 2014)**

É conhecido de há muito tempo (Keeney 1970) que o rúmen contém uma grande variedade de isómeros *cis*- e *trans*-18:1, e vários isómeros de ácido linoleico conjugado. A proporção relativa de cada isómero 18:1 é altamente variável, e depende da composição do alimento em ácidos gordos polinsaturados, entre outros. Os ácidos gordos com 18 carbonos que chegam ao duodeno são compostos em média por: 70% de 18:0, 9% *cis*-18:1, 11% *trans*-18:1, 7% 18:2 (25% dos quais 18:2n-6), e 2% 18:3n-3 (Glasser et al. 2008). Dietas contendo óleo de peixe dividem a percentagem de 18:0 por 2, em benefício de *trans*-18:1. Claro que alterações de dieta alteram as proporções de ácidos gordos em redor destas médias. Quando a atividade ruminal e a sua microbiota são alteradas (dietas à base de concentrados induzindo um pH ruminal baixo ou o elevado teor de ácidos gordos polinsaturados), o último passo da biohidrogenação (*trans*-18:1 para 18:0) é normalmente o mais afetado, levando a um aumento de produção

de *trans*-18:1 no rúmen e fluxo para o intestino, à custa de 18:0. O perfil de *trans*-18:1 também pode ser modificado, com uma mudança de *t*11-18:1 (o principal isómero em condições normais) para *t*10-18:1.

O tipo de isómeros *trans*-18:1 produzidos no rúmen depende muito do tipo de dieta basal fornecida aos ruminantes. Na carne de ruminantes alimentados com forragem ou pastagens, o *t*11-18:1 geralmente representa cerca de 55-60% do total de *trans*-18:1 (Alfaia et al. 2009), e este valor pode subir para 70% em animais alimentados a forragens suplementadas com óleos vegetais (Bessa et al. 2007). No entanto, com as dietas à base de concentrados, geralmente utilizadas no período de acabamento dos ruminantes, o *trans*10-18:1 passa a ser o principal isómero (Aldai et al. 2013). Esta substituição de *t*11-18:1 por *t*10-18:1 reflete uma mudança de via na biohidrogenação ruminal e é conhecida por “shift-*t*10” (Bessa et al. 2015).

Tornou-se claro que o “shift-*t*10” ocorre na maioria dos ruminantes acabados de forma intensiva (Aldai et al. 2011), embora seja claramente amplificado quando se utilizam concentrados suplementados com ácidos gordos polinsaturados (Bessa et al. 2005). A via de biohidrogenação utilizada pode ser avaliada pelo rácio *t*10/*t*11-18:1 na carne ou, de forma mais conveniente, no conteúdo ruminal. Na prática, o rácio *t*10/*t*11-18:1 varia desde valores muito baixos, desde 0,1 até 20 (Aldai et al. 2013). Este rácio está habitualmente abaixo de 0,3 para animais alimentados a forragens, até para aqueles que as consomem com suplemento de óleos (Aldai et al. 2011), e aumenta quando as forragens são substituídas por concentrados à base de cereais. Não está estabelecido o valor a partir do qual se considera que a mudança está instituída, mas 1 pode ser considerado um valor umbral (Bessa et al. 2015).

A presença de *t*10-18:1 no rúmen pode ser explicada pelo menos por três vias: 1) Griinari e Bauman (1999) propuseram uma via, alteração para *t*10-18:1. A via de biohidrogenação do 18:2n-6 é suportada pela ocorrência de *t*10, *c*12-CLA no rúmen quando o *t*10-18:1 é o isómero *trans*-18:1 predominante (Alves et al. 2013); 2) Kishino (2009) propõe a via *Lactobacillus*. Envolve a formação de intermediários de biohidrogenação hidratados e pode explicar a produção de *t*10, *c*15-18:2, *t*10, *c*12-CLA, e

*t*10-18:1. A hidratação de ácidos gordos está disseminada entre bactérias e também foi relatada no rúmen (Hudson et al. 2000); Jenkins e o seu grupo (Mosley et al. 2002; Proell et al. 2002) propõem a isomerização aleatória. Outros produtos da biohidrogenação (isómeros de 18:2 e 18:3) também aumentam após a suplementação lipídica. O ácido linoleico conjugado está presente em quantidades muito pequenas nos conteúdos duodenais. Esta concentração baixa é devido à sua rápida biohidrogenação a isómeros de 18:1. O ácido ruménico (*c*9*t*11-18:2) pode representar menos de metade do total de ácido linoleico conjugado e apenas 2-3% do total dos 18:2 (Doreau et al. 2016).

No músculo, os intermediários da biohidrogenação podem também sofrer transformações pelas enzimas envolvidas na produção de ácidos gordos de *novo* (elongases e desaturases), por exemplo pela ação da enzima  $\Delta$ 9-desaturase os ácidos gordos *trans* 18:1 (com a exceção dos *t*9-18:1 e *t*10-18:1) podem ser transformados a *cis/trans* 18:2 e acumulados (Vahmani et al. 2020).

### 3.3.3 Utilização de lípidos nas dietas para vitelos

Todos alimentos para vitelos contêm gorduras, sejam triglicéridos, ou os fosfolípidos localizados nas membranas celulares ou os glicolípidos característicos das forragens, galactolipídios, sejam lípidos adicionados no fabrico de alimentos compostos. As forragens e outros alimentos para ruminantes como os cereais, geralmente contêm menos de 4% de gordura, sendo o principal ácido gordo da pastagem ou da silagem de erva o ácido linolénico, podendo representar cerca de 50% do total de ácidos gordos da erva. O principal ácido gordo presente nos cereais e na silagem de milho é o ácido linoleico, representando cerca de 50% dos ácidos gordos destas matérias-primas. Os alimentos compostos para ruminantes podem ainda ser suplementados com óleos vegetais ou óleos de peixe, sendo os óleos de peixe mais ricos em ácidos gordos polinsaturados como o ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico (Doreau et al. 2016).

### 3.3.3.1. Tipos de lípidos utilizados nas dietas para vitelos

A principal origem de lípidos utilizados na nutrição animal são os óleos vegetais (Castro et al. 2016). Também se utilizam o óleo de peixe e de algas (Woods and Fearon 2009). De entre as gorduras de origem animal, as de origem marinha são polinsaturadas, as provenientes de aves são gorduras insaturadas e as provenientes dos bovinos são saturadas. Das gorduras vegetais, os óleos de girassol, milho, soja e linho contêm ácidos gordos com uma, duas e três ligações duplas, sendo mais insaturados do que os óleos de palma e de coco. Um terceiro grupo de lípidos é formado por subprodutos de diversas indústrias cuja matéria prima original é a gordura, como as oleínas, subprodutos industriais (da azeitona) e destilados provenientes da indústria do glicerol e outras (Fedna 2015).

Uma vez que o nível de gorduras no alimento deve ser restringido a 6% da matéria seca ingerida, aproximadamente, de modo a evitar um deficiente funcionamento do rúmen, a possibilidade de manipular o perfil de ácidos gordos através da utilização de gorduras não protegidas é limitado (NRC 2000). Apesar da bioidrogenação ruminal, uma proporção de ácidos gordos polinsaturados passa pelo rúmen intacta e é absorvida e depositada no animal (Shingfield et al. 2013). Em geral, a suplementação com óleo de linho (rico em ácido linolénico) pode aumentar a concentração de ácido linolénico no músculo, com uma diminuição associada desejada da relação  $n-6/n-3$ , da mesma forma que o óleo de girassol (rico em ácido linoleico) pode aumentar a concentração deste ácido gordo no músculo. A suplementação com ácido linolénico geralmente aumenta a concentração de EPA e a concentração de DHA no músculo, em alguns trabalhos (Herdmann et al. 2010), mas não em todos (Juárez et al. 2011). A suplementação com ácidos gordos polinsaturados geralmente causa uma pequena diminuição nos ácidos gordos saturados, em particular no palmítico (Moloney 2011).

A utilização de óleo de peixe no alimento, rico em ácidos gordos polinsaturados ómega 3 principalmente EPA e DHA, pode aumentar a concentração de EPA e DHA no músculo e o seu aumento será dependente

do nível de inclusão (Noci et al. 2007). No entanto, a utilização do óleo de peixe pode ter repercussões negativas sobre a digestão ruminal (Kitessa et al. 2001) e pode transmitir sabores desagradáveis à carne, pelo que não é um produto indicado como fonte suplementar de gordura para animais produtores de carne. Ainda assim, a concentração de ácidos gordos polinsaturados da série ómega 3 no músculo não é suficiente para ser etiquetada como “fonte de” ou “rico em” ácidos gordos polinsaturados ómega 3”. Segundo o Regulamento Europeu (CE) 116/2010 são necessários 0,6 gramas de ácido linolénico por 100g e 100kcal de carne ou (80 mg de EPA e DHA por 100 gramas e 100 kcal de carne) para que um produto cárnico seja etiquetado como “fonte de” ou “rico em” ácidos gordos ómega-3. Enquanto as suplementações com óleos descritas anteriormente são suficientes para alterar o rácio n-6/n-3, geralmente não aumentam o rácio Polinsaturados/Saturados na carne acima de 0,1-0,15 normalmente observado (Scollan et al. 2014).

O óleo de soja tem sido utilizado como uma fonte de ácido linoleico nos alimentos compostos de acabamento para ruminantes, com o intuito de promover uma acumulação de ácido linoleico conjugado na carne, mas os resultados não são claros (Engle et al. 2000; Beaulieu et al. 2002), verificando-se que quando aumenta a acumulação de ácido linoleico conjugado no músculo diminui a velocidade de crescimento dos animais (Engle et al. 2000; Griswold et al. 2003).

Para se ultrapassar os problemas causados pelo biohidrogenação ruminal na composição dos lípidos dos produtos animais, foi estudada a utilização alternativa de “gorduras protegidas” à ação dos microrganismos ruminais. Vários têm sido os métodos de proteção de gordura que têm sido testados, de forma a proteger os lípidos da biohidrogenação ruminal e, assim, tentar aumentar a capacidade de o músculo depositar ácido gordos polinsaturados, ómega 3. Uma variedade de procedimentos tem sido explorada, incluindo a utilização de sementes de oleaginosas inteiras, o tratamento químico (com formaldeído) e o tratamento pelo calor, o tratamento químico para a formação de gorduras sólidas (sabões), assim como a emulsificação e a encapsulação dos óleos (Gulati et al. 2005).

Entre os tratamentos térmicos, a extrusão (Madron et al. 2002) leva a uma maior acessibilidade dos ácidos gordos pela microbiota ruminal (Doreau et al. 2016), o que não se pretende quando se tenta proteger a gordura da atuação dos microrganismos do rúmen. Os métodos de tratamento físico não influenciam muito a perda nos processos de biohidrogenação dos ácidos gordos polinsaturados da dieta, mas podem aumentar a quantidade total de ácidos gordos polinsaturados que escapa ao rúmen (Jenkins and Bridges 2007). Scollan (2014), utilizando a encapsulação de óleos, demonstrou que a encapsulação de um suplemento de óleo vegetal com uma relação de ácidos gordos polinsaturados n-6/n-3 de 1/1 diminuiu a relação de ácidos gordos polinsaturados n-6/n-3 no músculo (de 3,59 para 1,88), mantendo a alta relação AGP/AGS.

Atualmente, a encapsulação de óleos parece ser a melhor estratégia para a proteção de gorduras, mas não tem sido utilizada comercialmente e a sua produção utiliza formaldeído, o que pode não ser permitido por lei em alguns países (Scollan et al. 2014).

### **3.3.3.2. Efeitos da ingestão de lípidos na ingestão voluntária**

A gordura é usualmente utilizada para aumentar a densidade energética da dieta, mas a suplementação de gordura tem outros benefícios potenciais, como aumento da absorção de nutrientes solúveis em lípidos e a redução de finos no alimento composto. A inclusão de gorduras nos alimentos compostos pode resultar numa diminuição de ingestão de matéria seca, quer por um efeito da quantidade de gordura incorporada, mas também como consequência do tipo de gordura utilizada (Allen et al. 2000). De acordo com o NRC (2001), não se deve exceder 2-3% da matéria seca de inclusão de gordura animal (banha ou sebo) ou de sementes de oleaginosas.

A diminuição da ingestão como consequência da suplementação inadequada de gordura deve-se, em parte, a que as gorduras aumentam a concentração energética na dieta, no entanto não aportam energia a nível

ruminal. Logo quando se utilizam gorduras, corre-se o risco de diminuir o crescimento microbiano ruminal, o que pode resultar numa diminuição da digestibilidade da matéria orgânica e conseqüente diminuição na ingestão de matéria seca (NRC 2001). Outra causa de diminuição de ingestão de matéria seca pode ser o estado de conservação das matérias-primas utilizadas no alimento. As gorduras de origem vegetal são bastante suscetíveis à oxidação em contacto com o oxigénio ou em exposição a temperaturas elevada. A oxidação diminui a palatibilidade das gorduras e aumenta o seu grau de toxicidade para o animal e para os microrganismos ruminais (Jenkins 1993).

A utilização de gorduras permite formular dietas mais energéticas que promovem uma produção mais eficiente aumentando a quantidade de energia ingerida pelos animais (Palmquist 1994).

Por outro lado, a utilização de sabões cálcicos de óleo de palma também resulta numa diminuição de ingestão devido à sua baixa palatibilidade e ao seu odor intenso (Chouinard et al. 1997). Allen (2000) conclui que por cada unidade percentual de inclusão de sabão cálcico no alimento, a ingestão de matéria seca diminui 2,5%.

### **3.3.3.3 Efeitos da ingestão de lípidos nos índices produtivos**

Atualmente, a utilização de gorduras vegetais na alimentação de ruminantes tem um grande interesse, porque além de aumentar a densidade energética da dieta sem necessidade de utilizar gorduras de origem animal, ajudam a prevenir a acidose ruminal, facilitam a absorção de nutrientes lipossolúveis (Schafer et al. 2005) e permitem modificar a composição da gordura da carne para obter produtos que se adaptam à procura do consumidor (Scollan et al. 2006)

Os resultados dos estudos realizados sobre a incorporação de gorduras nos alimentos compostos para bovinos de engorda não são todos coerentes. Enquanto que alguns estudos referem melhorias nos ganhos médios diários e menor consumo de alimento, o que se traduz numa

melhoria de 5 a 10% no índice de conversão (Zinn 1996), outros trabalhos, realizados com níveis de inclusão de gordura superiores a 5%, observaram uma diminuição nos rendimentos produtivos (Razminowicz et al. 2008). No entanto, a maioria dos trabalhos com níveis de inclusão inferiores a 5% não demonstram qualquer efeito negativo da inclusão de gordura sobre os rendimentos produtivos dos animais (Castro et al. 2016).

### **3.4 Qualidade de carne**

Existem dois pontos críticos na relação entre o consumidor e a qualidade da carne: o momento de compra e o momento de consumo. A percepção da qualidade da carne é multifatorial, sendo as principais dimensões a qualidade sensorial, a salubridade, a comodidade de utilização e, para alguns consumidores, o bem-estar animal e a produção ecológica (Grunert 2006). Ainda de acordo com este autor, o consumidor, no momento da compra, avalia a qualidade da carne com bases nos sinais intrínsecos e extrínsecos do produto. Como exemplos de sinais intrínsecos podem referir-se a cor da carne, a quantidade de gordura ou a peça de talho; dado que a carne se vende muitas vezes sem marca, os sinais extrínsecos poderão ser o preço, o lugar de compra (talho, supermercado) e a origem da carne (país ou região).

No momento da compra, para o consumidor Português, a cor da carne e da gordura e a quantidade de líquido exsudado são os atributos mais importantes de qualidade, enquanto os fatores que mais influem no momento do consumo são a tenrura e o flavour (Monteiro 2012).

### **3.4.1 Aparência da Carne**

#### **3.4.1.1 Cor do músculo**

A preferência do consumidor e as características da carne disponível em cada país ou mercado determinam o nível de consumo da carne. A cor da carne é uma característica intrínseca importante, que influencia a intenção de compra do consumidor (Lynch et al. 1986; Glitsch 1997; Monteiro 2012), que relaciona a cor com a frescura e a qualidade sensorial da carne (Suman et al. 2014). De um modo geral, os consumidores preferem uma carne de bovino vermelha ou vermelho vivo (Font-i-furnols and Guerrero 2014). No entanto, nos países da Europa mediterrânea, os consumidores mostram preferência por carne bovina de cor rosa ou vermelho-claro, enquanto que no Reino Unido ou na Alemanha os consumidores gostam de carne mais vermelha (Corcoran et al. 2001). No entanto, a cor da carne fresca não está claramente correlacionada com a sua qualidade alimentar ou valor nutricional (Taylor 1996; Troy e Kerry 2010).

Vários fatores, tais como o pH, a capacidade de retenção de água, a quantidade de gordura intramuscular, o tecido conjuntivo, a dimensão das fibras musculares e o grau de desnaturação das proteínas afetam as propriedades óticas da carne, podendo ter influência significativa na sua apresentação, nomeadamente na sua cor (MacDougall 1982).

Avaliar a cor é uma tarefa complexa porque a avaliação da carne é uma avaliação subjetiva. A cor da carne é afetada por vários fatores, incluindo raça e pH (Ripoll et al. 2012). A relação entre a cor da carne e o pH é amplamente aceite, principalmente o efeito em  $b^*$  e na tonalidade da carne bovina (Mancini e Hunt 2005).

No mercado europeu, as carcaças de bovinos são avaliadas com base na categoria dos animais (novilho, vitela, vaca), peso da carcaça e avaliação da classificação europeia de carcaça que se baseia na conformação e cobertura de gordura, Regulamento (CE) 1308/2013. No entanto, essa avaliação não tem relação com a qualidade alimentar da carne bovina (Bonny et al. 2016). Novos indicadores foram propostos para melhorar a classificação SEUROP, como a cor da carne (Monteils et al. 2017).

A tenrura e o flavor são os elementos mais importantes da qualidade sensorial, porém, no ponto de compra é a cor o parâmetro mais avaliado. (Glitsch 1997).

O sistema de representação de cor da carne mais adequado é o CIELAB (CIE 1986), pela sua uniformidade na zona de vermelhos (Hernandez 1994). O sistema obtém os valores CIE em base do espectro visível definindo três cores primárias: vermelho (X), verde (Y) e azul (Z). A partir destes calculam-se matematicamente as coordenadas tricromáticas de cor  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (vermelho-verde),  $b^*$  (amarelo-azul),  $H^*$  (Tom) e  $C^*$  (Saturação) para o espectro de cor CIELAB (Giese 1995). Este método apresenta grande similitude com a uniformidade visual humana, onde as distâncias equitativas no sistema representam aproximadamente as distâncias equitativas visuais.

A coordenada  $L^*$  é a mais relacionada com a variação visual do consumidor (Murray 1989). A Luminosidade da carne depende de vários fatores como o pH, a capacidade de retenção de água, a integridade da estrutura muscular e em menor medida do grau de oxidação dos hemopigmentos (Sayas 1997). A coordenada  $L^*$  é a principal causa de variação na cor da carne entre raças (Ripoll et al. 2018) e explicando até 47,2% dessa variação. As raças (Aberdeen Angus, Limousine e Charolês) têm uma cor de carne mais clara e pálida comparativamente a outras raças (Holstein e Jersey) (Ripoll et al. 2018) devido às diferenças entre raças em gordura intramuscular e no tipo de fibra muscular (Cuvelier et al. 2006). Dois fatores dependentes do desenvolvimento muscular (Bernard et al. 2009; Hocquette et al. 2012). Em geral, quanto maior o desenvolvimento muscular, mais clara a carne e menor conteúdo em gordura intramuscular tende a apresentar (Ripoll et al. 2018). Isto deve-se, em parte à expressão de genes associados ao desenvolvimento de massa muscular e à deposição de gordura intramuscular na carcaça (Bernard et al. 2009). A estrutura do músculo a as fibras que o constituem foram caracterizadas pelas suas propriedades metabólicas e contracteis por Hocquette et al. (2007). Esta avaliação revelou diferenças significativas entre raças. Geralmente raças leiteiras tem um maior metabolismo oxidativo.

A coordenada  $a^*$  é o valor da coordenada vermelha (valores positivos) a verde (valores negativos) e está relacionada com o conteúdo em mioglobina (Pérez-Alvárez et al. 1998). Khliji et al. (2010) e Holman et al. (2017) referem que a coordenada  $a^*$  forneceu a previsão mais simples e robusta da aceitabilidade da cor da carne bovina pelos consumidores, verificando-se que a cor da carne teve 95% de aceitação quando os valores  $a^*$  foram iguais ou superiores a 14,5. Os efeitos demográficos neste valor foram insignificantes, mas a nacionalidade e o género do consumidor contribuem para a variação na importância relativa da cor para o valor da carne bovina. Um modelo que integre  $a^*$ , com H e Saturação melhoraria a precisão, mas em níveis insuficientes para superar as dificuldades impostas sobre os aspetos práticos que sustentam a adoção deste limite colorimétrico. Como  $a^*$  é uma medida de vermelho relativa (CIE 1978), esta recomendação é consistente com pesquisas anteriores que descobriram que os consumidores preferem carne magra vermelha ou vermelho vivo (Font-i-furnols and Guerrero 2014).

A coordenada  $b^*$  é o valor de amarelo (valores positivos) a azul (valores negativos) (Pérez-Alvárez et al. 1996).

Este mesmo estudo também identificou  $L^*$  como um importante preditor para a preferência de cor da carne de borrego, um resultado refletido por pesquisas preliminares de avaliação de carne bovina que concluíram que  $L^*$  era um potencial candidato, adequado para ser utilizado como um valor limite (Holman et al. 2016).

O Tom (*Hue*, na designação anglo-saxónica) corresponde ao que usualmente denominamos de cor, sendo função do comprimento de onda refletida, enquanto que a saturação (*Chroma*, na designação anglo-saxónica) indica como a cor é pura, isto é, o grau de desvio para cinzento (Sahin and Sumnu 2006). O Tom depende principalmente do conteúdo e estado químico dos pigmentos, enquanto que a saturação indica a intensidade da cor e depende principalmente da estrutura miofibrilar do músculo e do seu pH (Renner 2000).

A cor e a sua estabilidade são pontos críticos para a indústria da carne, definindo a comercialização da carne fresca no ponto de venda. A cor da carne é determinada principalmente pela quantidade e estado químico da

mioglobina, apesar de outras proteínas como a hemoglobina (que se encontra na carne em valores residuais) e os citocromos também contribuirão de algum modo (Mancini e Hunt 2005; Faustman et al. 2010; AMSA 2012).

Vários fatores endógenos e exógenos podem interferir na quantidade e no potencial redox da mioglobina após o abate do animal e, assim, condicionar a sua oxidação (Renerre et al. 1996). Estes fatores podem dividir-se em fatores pré-abate (raça, idade, músculo, dieta/sistema de produção, manejo animal) e pós-abate (temperatura, pH, embalagem, maturação, presença de ferro, presença de antioxidantes) (Gotoh and Shikama 1974; Allen and Conforth 2006; Fautman et al. 2010; AMSA 2012). O conhecimento e domínio destes fatores permitem definir estratégias para melhorar a cor e a sua estabilidade na carne fresca, estratégias que poderão ser específicas para cada tipo de animal, músculo, sistema de produção ou tipo de embalagem (Suman et al. 2014).

São quatro formas químicas principais de mioglobina responsáveis pela cor da carne (Mancini and Hunt 2005). A desoximioglobina ocorre quando nenhum ligando está presente no sexto local de ligação e o átomo de ferro está na forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ). Isso resulta na cor vermelho-púrpura normalmente associada ao produto embalado a vácuo e ao músculo imediatamente após o corte. No entanto, quando exposto ao oxigénio, a oxigenação ocorre com o desenvolvimento de uma cor vermelho-cereja brilhante. Nenhuma mudança na valência do ferro ocorre durante a oxigenação, embora o sexto local de ligação esteja agora ocupado por uma molécula de oxigénio. Além disso, a histidina distal interage com o oxigénio ligado, alterando a estrutura e a estabilidade da mioglobina. A profundidade de penetração do oxigénio e, conseqüentemente, a espessura da massa muscular onde se forma a oximioglobina dependem da temperatura da carne, da pressão parcial do oxigénio, do pH e da competição por oxigénio por outros processos respiratórios (Mancini and Hunt 2005).

A oxidação do átomo de ferro central dentro do grupo heme é responsável por alterações na cor da carne, geralmente designadas por descoloração da carne, em que ocorre uma mudança da cor vermelho-cereja brilhante para uma cor acastanhada, característica da metamioglobina. Neste caso,

o grupo heme ferroso oxida-se para a sua forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ), o oxigénio é libertado e substituído por uma molécula de água (Faustman et al. 2010). A formação de metamioglobina depende de vários fatores, incluindo pressão parcial de oxigénio, temperatura, pH, atividade redutora da carne e em alguns casos, crescimento microbiano (Mancini and Hunt 2005). A redução da metamioglobina é crucial para a estabilidade da cor da carne e depende muito da capacidade das enzimas para absorver oxigénio no músculo, sistemas enzimáticos redutores e do pool de NADH, que é limitado no músculo post-mortem (Faustman et al. 2010). Tanto a atividade enzimática quanto o pool de NADH são continuamente consumidos com o decorrer do tempo pós-morte. Deste modo, a oximioglobina não é convertida diretamente em desoximioglobina. Em primeiro lugar, segue através do estado redox férrico em baixas pressões parciais de oxigénio, quando ocorre a remoção do átomo de oxigénio via consumo de oxigénio, o que provavelmente resulta na oxidação da oxi a metamioglobina. Do ponto de vista prático, o próximo passo é frequentemente problemático, porque a formação subsequente de desoximioglobina dependerá da capacidade de redução do músculo e da redução adicional da tensão de oxigénio (Mancini and Hunt 2005).

Durante o processo de comercialização, a manutenção da carne a temperaturas baixas ajuda a manter a estabilidade da cor, verificando-se que uma temperatura próxima de 2-4 °C faz com que a carne se mantenha vermelha e que a oxidação lipídica seja reduzida (Jakobsen and Bertelsen 2000).

No entanto, o fator com maior influência na cor da carne, tal como é percebida pelo consumidor, é o valor do pH final muscular (Shorthose and Harris 1991), determinado principalmente pela quantidade de reservas de glicogénio muscular no momento do abate.

O pH é um parâmetro de qualidade de carne muito importante para perceber o processo de maturação e valorização da carne. O pH do tecido do animal vivo é praticamente neutro, entre 7,08-7,30 (Cabezas 2017).

Quando o animal morre e termina a circulação sanguíneo, deixa de existir aporte de oxigénio ao músculo e a glicólise, que ocorre normalmente em meio aeróbio, passa a decorrer por via anaeróbia, consumindo o glicogénio

do músculo e produzindo ácido láctico (Monin 1998), que se acumula por falta de remoção, originando a descida progressiva do pH muscular. Posteriormente, a par da descida do pH ocorre também a descida da temperatura, promovendo a falência dos mecanismos de controlo do cálcio, que se liberta do retículo sarcoplasmático para o espaço miofibrilar, o que origina contração muscular. Desta forma instaura-se o *rigor mortis*, etapa em que começa a transformação do músculo em carne. Nesta fase, a dureza da carne aumenta dramaticamente em consequência do estado de permanente contração muscular. À medida que o pH desce, aproxima-se do ponto isoelétrico das proteínas, ocorrendo alguma desnaturação e libertação da água, diminuindo assim a capacidade de retenção de água e aumentando a quantidade de sucos que se libertam do músculo (Beriaín et al. 1997; Santos-Silva et al. 2020).

A duração desta etapa é de cerca de 24 horas após o abate, momento em que o pH tende a atingir o seu valor final e a estabilizar em valores que oscilam entre os 5,4 e 5,7 (Wheeler and Kohmaraie 1994). O valor de pH final às 24 horas após o abate tem uma grande importância nas características organolépticas da carne em bovinos (Purchas et al. 1990).

As possíveis variações de pH final muscular podem prejudicar as características da carne, sendo geralmente nos bovinos, causadas por todos os fatores capazes de induzir *stress* prolongado no animal. O transporte, e todo o manuseio associado de embarque e desembarque dos animais, constitui um ponto crítico antes do abate, assim como odores estranhos, movimentos bruscos, tempos prolongados de espera, reagrupamento de animais de origens diferentes, são exemplos de fatores causadores de *stress* (Mach et al. 2009).

Os animais que sofrem *stress* prolongado chegam ao momento de abate cansados e com as reservas musculares depauperadas devido ao elevado consumo de energia, tendo como consequência uma descida reduzida do pH, isto é, o pH final é elevado (Sañudo 1992), provocando as chamadas carnes DFD (*dark, firm and dried*), escuras, firmes e com elevada capacidade de retenção de água. Carne com pH final superior 6,0 às 24h após o abate representa um problema de qualidade devido à cor escura, fortemente rejeitada pelo consumidor (Pipek et al. 2003). Os principais

problemas de carne com pH final superior a 6 são a cor escura (Dubroeuq et al. 2006), maior variação na tenrura (Silva et al. 1999), um aumento da capacidade de retenção de água (Apple et al. 2005), menor palatibilidade (Wulf et al. 2002) e crescimento microbiano a níveis inaceitáveis com o desenvolvimento de off-flavours (Gardner et al. 2001), o que pode causar perdas económicas importantes à indústria. A título de exemplo, refere-se que a indústria de carne em Espanha penaliza as carcaças que apresentem um pH final acima de 5,8 com uma diminuição do preço de 30 a 60% (Mach et al. 2009). Nos bovinos, este fenómeno é mais frequente nos machos inteiros dada a sua agressividade mais elevada do que nas fêmeas ou machos castrados (Mach et al. 2009).

Se pelo contrário o animal sofre *stress* forte no momento prévio ao abate, a temperatura corporal aumenta, as reservas de glicogénio consomem-se rapidamente e a descida de pH é maior e muito rápida, dando lugar a carnes PSE (*palid, soft and exsudative*), claras, exsudativas e com pouca capacidade de retenção de água, fenómeno muito pouco frequente nos bovinos, mas muito frequente em suínos (Brazal and Boccard 1977).

Fatores como a raça, a idade ou a alimentação têm uma influência pequena, ou mesmo nula, no pH final muscular (Sanchez et al. 1997).

A estrutura da carne está estreitamente relacionada com o pH (Renner1988).

A infiltração de gordura intramuscular influi na cor da carne, valores superiores a 2,5% de gordura intramuscular aumentam a reflexão da luz e proporcionam um aspeto mais claro à carne (Barton-Gade 1981).

Numerosos estudos descrevem os efeitos do sistema de produção na aceitação da carne pelo consumidor na Europa (Realini et al. 2004). Insani et al. (2008) estudaram o impacto de diversos sistemas alimentares na cor de carne fresca na Argentina. Após sete dias de refrigeração num expositor de retalho em atmosfera aeróbica, os bifes de animais alimentados a erva, apresentaram valores de  $a^*$  superiores aos bifes de animais alimentados com base em concentrados. Os autores atribuíram esta diferença aos valores mais elevados de antioxidantes (alfa-tocoferol e betacaroteno) presente na carne de animais alimentados em pastagens. Realini et al. (2004) e Priolo et al. (2001) analisaram o efeito de alimentar novilhos com

pastagens ou com alimentos concentrados, observando valores de L\* mais baixos (carne mais escura) para os animais acabados com pastagens. Este fenómeno poderá relacionado com um pH mais baixo no músculo destes animais em consequência de menores reservas de glicogénio nos animais alimentados exclusivamente com forragens (Lemos 1997). Ainda assim, Priolo et al. (2001) afirmam que o efeito direto sobre a cor, o pH final da carne, a idade do animal, o peso de carcaça e o conteúdo em gordura da carcaça apresentam um efeito mais claro do que a dieta.

O processo de maturação da carne também parece ter efeito sobre a cor da carne. Oliete et al. (2005) estudaram o efeito de 7 a 21 dias de maturação húmida em bifes embalados a vácuo de animais da raça Rúbia Galega abatidos com 12-17 meses de idade, verificando que a maturação aumentou o índice de vermelhos, Tom e a saturação da carne, comparativamente a amostras não maturadas. Mais tarde, os mesmos autores (Oliete et al. 2006) confirmaram a mesma tendência em bifes de vitelos abatidos com 7 a 9 meses de idade e da mesma raça, embalados a vácuo e maturados durante 14 dias.

As diferenças de cor e outras características sensoriais entre distintas peças de uma mesma carcaça devem-se a diferenças na composição e no tipo de fibra muscular predominantes nos músculos em questão (Wegner et al. 2000).

Para maximizar a estabilidade da cor da carne há que perceber as características do músculo, o consumo de oxigénio e a redução da metamioglobina (Mancini and Hunt. 2005). Os fatores endógenos determinantes na estabilidade da cor no músculo são a atividade da mioglobina redutase e a taxa de consumo de oxigénio, havendo músculos que conservam a cor mais estável porque apresentam uma maior atividade da enzima mioglobina redutase (Bekhit and Faustman 2005).

Em geral, o músculo mantém os níveis da mioglobina redutase durante três dias, sendo que a taxa de consumo de oxigénio por parte das mitocôndrias é o outro fator que determinará a estabilidade da cor do músculo. Os músculos com uma cor mais estável são aqueles que têm uma atividade redutora superior à taxa de consumo de oxigénio (Mckenna et al. 2005). Porém, em outros estudos (King et al. 2011) a correlação entre parâmetros

de cor, consumo de oxigênio e a atividade redutora de metamioglobina foram muito baixos (<0,53) e também se constatou que existe uma variação na estabilidade de cor do músculo durante o tempo de exposição devida ao efeito do indivíduo, estando esta variação regulada parcialmente por fatores genéticos (King et al. 2011).

A carne crua dos mamíferos imediatamente após o abate contém, em média, 75% de água, percentagem que varia com a espécie de procedência e com o músculo que se considere. Parte desta água perde-se ao longo do processo de conservação por evaporação durante o arrefecimento e refrigeração das carcaças, estimando-se 2% como o valor médio de perda de peso nas carcaças de bovino, mas também por escorrimento como consequência do corte dos tecidos durante a desmancha e preparação da carne, sendo as perdas variáveis com o grau de processamento, mas podendo atingir os 6%, valor que pode duplicar após a descongelação. Contudo, as maiores perdas de água produzem-se como consequência dos processos culinários, perdas que podem superar os 40% (Offer e Knight, 1988). Todas estas perdas resultam em reduções do peso do produto, o que pode implicar perdas económicas (Monteiro 2012).

Considerando a forma como a água está presente no músculo e os distintos mecanismos que a retêm, Hamm (1986) propôs quatro formas de medir a capacidade de retenção de água na carne:

1. Perdas por escorrimento (*drip loss*), determinadas pela formação de um exsudado sobre a carne, sem aplicação de forças externas
2. Perdas por descongelação (*thawing loss*), que originam um exsudado sobre a carne, depois da sua congelação e descongelação, sem aplicação de forças externas
3. Perdas por cozinhado (*cooking loss*), fluidos libertados durante o aquecimento da carne sem aplicação de forças externas como a centrifugação ou a pressão.
4. Suco (*expressible juice*) da carne não aquecida (incluindo a descongelada), avaliado mediante a aplicação de forças externas originadas por métodos de compressão, centrifugação ou sucção.

A perda de água tem uma grande importância na qualidade do produto, pois pode resultar numa carne menos suculenta e com alterações da sua textura, fortemente penalizados pelo consumidor, a par de uma exsudação excessiva que tem um efeito adverso na aparência do produto (Oddy et al. 2001; Cheng and Sun 2008).

Durante o aquecimento da carne até uma temperatura de 71 °C, as proteínas desnaturam. Isto produz mudanças estruturais como a destruição de membranas celulares, encolhimento das fibras, agregação de proteínas sarcoplasmáticas e encolhimento do tecido conjuntivo. Todos estes fenómenos, especialmente o último, originam uma diminuição da capacidade de retenção de água na carne enquanto se submete ao calor (Hamm 1986).

Varela et al. (2004) observou em machos de raça Rubia Galega Inteiros ou castrados com 24 meses de idade valores de capacidade de retenção de água de 29.05, 24.59% respetivamente. Olivan et al. (2000) em carne de Asturiana submetida a diferentes tempos de maturação (7, 14, 21 dias) observou 25.14, 23.65, 24.65% de perda de água por cozinhado.

Neste trabalho determinou-se a capacidade de retenção de água na carne por perdas por cozinhado. As amostras para a determinação das perdas por cozinhado não podem ser as utilizadas previamente para as perdas por escorrimento. As condições de aquecimento devem ser estritamente definidas e controladas. Depois de saídas do grelhador e de se secarem cuidadosamente com papel absorvente, sem compressão, para eliminar o suco que permaneça, são pesadas.

As perdas por cozinhado expressam-se em percentagem, entre o peso perdido e o peso inicial de cada amostra.

#### **3.4.1.2. Cor e quantidade da gordura**

A gordura, apesar de se encontrar localizada em diferentes depósitos na carcaça (interna ou visceral, subcutâneo, intermuscular ou intramuscular),

tem uma importante influência nas características organolépticas da carne quer através de efeitos diretos, quer indiretos.

A gordura subcutânea tem uma influência nas características da carne, nomeadamente na tenrura, através de efeito essencialmente indiretos. O aumento da espessura da camada de gordura subcutânea está relacionado com um aumento da tenrura da carne por oferecer uma camada protetora dos músculos, através do seu efeito isolante, promovendo um arrefecimento mais lento da carcaça, tendo assim um papel importante na redução do *cold shortening* durante o processo de arrefecimento da carcaça (Dolezal et al. 1982), fenómeno que tem um efeito dramático na tenrura da carne. Ao promover um arrefecimento muscular mais lento, promove também um aumento da atividade enzimática (Dolezal et al. 1982). Estes autores estabeleceram que uma camada de gordura com espessura inferior a 2,54 mm está associada a um aumento da força de corte e a classificações mais baixas da tenrura avaliada por painel de provadores. A quantidade de gordura subcutânea está relacionada com a quantidade de gordura intermuscular, que tem um efeito semelhante, contribuindo para conferir proteção aos músculos do arrefecimento muito rápido, mas cujos efeitos estão menos bem quantificados.

A cor da gordura visível, seja ela subcutânea ou intermuscular, afeta fortemente a apreciação dos consumidores. A cor da gordura subcutânea das carcaças pode variar entre o branco, bege, rosado e amarelo, verificando-se uma clara preferência dos consumidores pela cor branca nacarada. A cor amarela é frequentemente associada a animais velhos, o que pode não ser verdadeiro já que animais jovens alimentados com dietas à base de pastagens e/ou forragens, como as silagens de milho ou erva, apresentam uma gordura mais amarelada do que os animais alimentados com dietas à base de alimentos compostos cujo ingrediente principal é a cevada (Dunne et al. 2006; Albertí et al. 2010).

A gordura amarelada da gordura dos animais que consumiram forragens deve-se à acumulação de carotenoides, precursores da síntese de vitamina A. O que em nada afeta as outras características organolépticas (Dunne et al. 2006), pelo que em vez de ser um aspeto negativo, a pigmentação da

gordura deveria ser explicada ao consumidor como sendo uma qualidade positiva ligada a sistemas de produção baseados em forragem.

Apesar da relação entre gordura intramuscular e textura, objetivamente a sua relação com medidas sensoriais é pobre (Monteiro et al. 2009), enquanto a relação entre gordura intramuscular e flavour é geralmente forte.

### **3.4.2 Textura da carne**

A textura da carne define-se como um conjunto de sensações resultantes da percepção das propriedades químicas e físicas da carne, a densidade, a firmeza, a plasticidade, a elasticidade, a consistência, o conteúdo de gordura, a suculência e o tamanho de partícula da mesma (Lawrie, 1998). A textura só é apreciada no momento do consumo, verificando-se que, para a carne de bovino, a tenrura é a característica organolética mais valorizada pelo consumidor, influenciando fortemente o seu grau de satisfação (Savell et al. 1987, 1989; Smith et al. 1987; Lawrie 1998).

A textura da carne é consequência da sua estrutura e composição, nomeadamente das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, da quantidade e natureza do tecido conjuntivo, assim como da quantidade e composição da gordura intramuscular. A tenrura da carne é determinada essencialmente pelas duas frações proteicas presentes no músculo: as proteínas do tecido conjuntivo e as miofibrilares (Marsh 1977). As primeiras são constituídas por colagénio, elastina e reticulina, exercendo um efeito negativo na tenrura, determinando aquilo que se designa como dureza de base da carne. O colagénio é o principal componente do tecido conjuntivo e sua influência depende da quantidade e das suas características, nomeadamente a sua solubilidade que, de acordo com Hill (1966) é a mais determinante.

A segunda fração proteica é constituída pelas proteínas miofibrilares, cujas transformações *post-mortem* são responsáveis pelas principais variações de tenrura, existindo uma estreita relação entre o grau de contração das

miofibrilas e a tenrura, ou seja, os músculos distendidos são mais tenros do que os contraídos, podendo o grau de contração ser avaliado através da medição do comprimento dos sarcômeros (Herring et al. 1967).

No entanto, o fator determinante na textura final é atribuído à extensão da proteólise (Kemp et al. 2010) que ocorre *post-mortem*, processo designado por maturação. A contribuição da proteólise para a textura da carne é regulada pelos níveis e atividade de proteases e peptidases musculares das peptidases durante a maturação (Koochmaraie and Geesink 2006).

Entre os métodos mais utilizados para medir este parâmetro, tem maior destaque o método de determinação da força de corte, usando um texturómetro equipado com uma lâmina de Warner-Bratzler, que mede a resistência da carne ao corte (Tornberg 2005). No entanto, esta técnica consiste em medir apenas um parâmetro, a força máxima de corte, não imitando completamente a complexidade de movimentos necessários à mastigação da carne (Duizer et al. 1996). Ainda assim, a força de corte assim determinada é a técnica que atualmente produz a melhor correlação com o painel de provadores para a textura da carne (Monteiro 2012). A utilização da força de corte permitiu estabelecer que os consumidores consideram a carne de bovino tenra com valores inferiores a 5 kg (Miller et al. (2001)) ou a 4,5 kg. Miller et al. (2001) observaram que para valores de força de corte de < 3,0, < 3.4, < 4.0, < 4.3 e > 4,9 kg os resultados de satisfação do consumidor com a textura da carne eram de 100, 99, 94, 86, e 25%.

Outros métodos importantes são as técnicas que determinam quimicamente a quantidade de colagénio e a sua solubilidade, a medição do comprimento dos sarcômeros, a determinação do índice de fragmentação miofibrilar, parâmetros que estão descritos como tendo influência nas características organolépticas da carne, nomeadamente na tenrura, mas cujas correlações encontradas são relativamente baixas e muito variáveis.

A carne proveniente de animais de aptidão leiteira possui maior conteúdo em colagénio e é menos tenra do que a carne dos animais de aptidão cárnica. Segundo Miller et al. (1997), a influência genética na tenrura tem uma grande importância. Em animais da mesma idade, as fêmeas têm

carne mais tenra que os machos e os castrados são mais tenros do que os inteiros (Misock et al. 1976).

### **3.4.3 Suculência e flavour**

A suculência representa o carácter mais ou menos seco que a carne apresenta durante o processo de mastigação. Pode ser dividido em duas componentes: a primeira ocorre durante os primeiros movimentos de mastigação, em que os sucos são libertados em resultado da rutura das fibras musculares, que depende essencialmente da capacidade de retenção de água da carne (Monteiro 2012); a segunda componente, mais persistente, que resulta do aumento de produção de saliva devido ao efeito de estimulação da gordura intramuscular sobre as glândulas salivares (Monteiro 2012), para além do próprio poder lubrificante da gordura. Assim, a suculência não depende apenas de um componente da carne, mas da relação de todos eles durante a mastigação.

A carne crua apresenta um flavour muito pouco intenso (Wasserman 1972), pois só durante o aquecimento no processo de cozinhado é que o flavour se desenvolve (Macleod and Ames 1986), consequência da ocorrência de reações de Maillard entre os aminoácidos, os açúcares redutores e a solubilização térmica dos lípidos. O resultado é o desenvolvimento do flavour característico da carne (Gandemer 1998).

Na carne distinguem-se dois componentes diferentes do flavour: o flavour básico a carne, que está associado a compostos hidrossolúveis do músculo (açúcares, aminoácidos) e que é comum às diferentes espécies animais; o flavour característico da espécie animal, resultante da oxidação da fração lipídica e a sua libertação é induzida pelo calor (Aaslyng and Meinert 2017), e que depende essencialmente da composição em ácidos gordos da gordura intramuscular.

O flavour da carne tem vindo a ser reconhecido como uma qualidade organoléptica quase tão importante como a tenrura. Quando a tenrura atinge um patamar mínimo de satisfação do consumidor, então encontra-

se uma elevada correlação entre o flavour e aceitação geral avaliada pelo consumidor. De facto, Corbin et al. (2015) encontraram um coeficiente de correlação de 0,96 entre a aceitação geral e o flavour num estudo que envolveu carne de diferentes qualidades provenientes de animais de 10 raças de bovinos.

Fatores como a raça, sexo, idade, alimentação, taxa de crescimento, método de abate e maturação influenciam o flavour da carne (Therkildsen et al. 2017). No entanto, enquanto que, em larga medida, a tenrura é o resultado de processos *post-mortem* que podem ser otimizados no sentido de produzir carne mais tenra, o *flavour* é uma característica organoléptica muito dependente das características musculares do animal antes do abate, que é pouco alterada com o tratamento *post-mortem*, mas que pode deteriorar-se ao longo do processo de maturação. A correlação entre aceitação geral e flavour, em carne de 10 diferentes raças e qualidade, foi de 0,96 para Corbin et al. (2015).

Um estudo espanhol que incluía consumidores de três cidades (Barcelona, Saragoça e Pamplona) demonstrou que a perceção de flavour depende da região, e que provavelmente reflete os diferentes sistemas de produção e estratégias de cozinhar de cada região (Pérez-Juan et al. 2014). A maioria dos consumidores prefere carne da sua região e da forma que está habituado a consumir. Os consumidores norte americanos preferem carne com elevado teor de gordura intramuscular, levando a um aumento de sabores a manteiga e gordura, e isso é associado ao seu flavour favorito (O'Quinn et al. 2016).

A avaliação do flavour, na carne pode ser decomposto em duas componentes diferentes: a intensidade do flavour, essencialmente dependente da quantidade de gordura, e as características do flavour, essencialmente dependentes da composição em ácidos gordos da gordura (Larick et al. 1987). Estes aspetos justificam o efeito do sexo dos animais no flavour da carne, em que os machos castrados e as fêmeas obtêm melhores avaliações devido ao seu maior conteúdo em gordura intramuscular, comparativamente a novilhos inteiros.

Com o objetivo de melhorar o perfil de ácidos gordos na carne para um perfil mais insaturado e saudável, vários aditivos e matérias primas têm sido

testados (Enser and Wood. 1999). Num estudo comparativo entre carne de animais acabados a concentrado versus animais acabados em pasto, os animais alimentados a concentrado apresentaram concentrações maiores de ácido linoleico na sua carne e ao cozinhar produziram sete compostos aromáticos de intensidade três vezes superior aos animais acabados no pasto, os quais apresentaram uma quantidade muito superior de ácido linolénico e produziram uma quantidade superior de apenas dois compostos, phyt-1-ene e phyt-2-ene, derivados da clorofila (Elmore et al. 2004).

Estes resultados são semelhantes aos apresentados por Larick et al. (1987) que encontrou uma maior concentração de phyt-2-ene, produzido pelo cozinhado de gordura subcutânea e considerou-o como um bom marcador para identificar animais alimentados a erva.

Noutro estudo, Larick et al. (1987) observou que novilhos terminados com trevo branco (*Trifolium pratense*) tinham um sabor mais "grassy" do que aqueles alimentados com capim (*Festuca arundinacea*) e animais alimentados com pastagens produziam carne que não era apenas mais rica em ácidos gordos polinsaturados, mas também era mais instável (Larick and Turner 1990). Os autores atribuíram essas diferenças de sabor tanto ao conteúdo elevado em ácidos gordos polinsaturados, particularmente ácido  $\alpha$ -linolénico na fração fosfolipídica, quanto à sua baixa estabilidade oxidativa.

Por ex, inclusão de 10% de semente de linho no concentrado de vitelos Holstein dos 200 aos 325 dias de idade alterou o conteúdo de ácidos gordos polinsaturados n-3 de 12 mg/100g músculo para 30mg/100g de músculo, mas não teve um efeito no flavour perceptível pelos consumidores (Pérez-Juan et al. 2014) a dieta também incluía um suplemento de Vit. E para proteger os ácidos gordos insaturados da oxidação. Resultados semelhantes foram observados por Albertí et al. (2017) e Vatansever et al. (2000).

O flavour a peixe é usualmente associado com o aumento dos níveis de ácidos gordos polinsaturados, e a sua suscetibilidade para a oxidação, no estudo de Lee et al. (2009) uma concentração baixa em Vit. E foi medida.

Entre amostras de carne corrigidas para gordura intramuscular, 5%, foram minimais entre amostras de carne Angus alimentados a concentrados ou a pastagem (Frank et al. 2016).

#### **3.4.4. Os lípidos e a qualidade da carne de bovino**

O perfil de ácidos gordos da carne de bovino e da sua gordura é altamente influenciada pela microbiota ruminal. Os lípidos da alimentação são rapidamente hidrolisados libertando ácidos gordos livres e as ligações duplas entre carbonos são isomerizadas e biohidrogenadas convertendo ácidos gordos insaturados (AGI) principalmente em ácidos gordos monoinsaturados e ácidos gordos saturados. No entanto vários estudos têm demonstrado que o conteúdo em ácidos gordos polinsaturados da carne pode ser alterado com diferentes estratégias nutricionais. Animais alimentados com pastagens e silagem tendem a produzir carne com maior concentração de ácidos gordos polinsaturados, particularmente n-3 comparativamente a animais alimentados com dietas à base de concentrados de cereais, que contem principalmente n-6 (Realini et al. 2004; Nuernberg et al. 2005; Ponnampalam et al. 2006). Conteúdos maiores de n-3 em feno e pastagens contribuem para uma concentração na carne de bovino (Vahmani, et al. 2015). Além disso, os metabolitos secundários encontrados em pastagens e forragens podem ajudar a proteger os ácidos gordos polinsaturados da biohidrogenação ruminal, o que facilita o aumento da sua absorção e deposição (Lourenço et al. 2008).

A gordura na carne está presente nas membranas celulares (como fosfolípidos), gordura intermuscular (entre os diversos músculos), gordura intramuscular e gordura subcutânea. O conteúdo em gordura, varia largamente dependendo da peça anatómica e da limpeza de gordura da mesma. Carne magra, geralmente contém 2-5% de gordura intramuscular e em muitos países é aceite como “baixa em gorduras”.

A gordura intramuscular que forma o marmoreado é um parâmetro de qualidade muito importante ligado diretamente à suculência, flavour e

tenrura da carne e é de grande importância devido ao seu perfil de ácidos gordos e a saúde humana. Refere-se às manchas brancas do tecido adiposo entre os feixes de fibras musculares e está ligada ao conteúdo de gordura intramuscular.

Na Europa, o conteúdo habitual da carne em gordura intramuscular é baixo ainda assim elevado quando comparado com a carne de suíno e de aves, mas isto depende do genótipo e do músculo em causa. O teor de gordura acima de 4-5% influencia e potencia o flavour dessa carne.

Se a tenrura estiver fixa, o flavour e a suculência podem aumentar 14-20% com o aumento da gordura intramuscular (Thompson 2004). Estas relações entre gordura intramuscular e características sensoriais da carne cozinhada e o alerta para o interesse em conhecer o perfil de ácidos gordos da carne aumentaram o interesse dos produtores para alterar e aumentar a composição desta gordura depositada na carne.

#### **3.4.4.1 Regulação da deposição dos lípidos intramusculares**

A gordura intramuscular é uma característica muito importante em alguns mercados (por ex., América do Norte e Ásia), porque é associada a uma boa experiência sensorial, mas na maioria dos países Europeus, uma quantidade excessiva de gordura intramuscular pode ser avaliada de forma negativa pelo consumidor. Deste modo, estratégias para aumentar o conteúdo da carne em gordura intramuscular e em particular o marmoreado são uma área muito estudada (Smith et al. 2009; Du et al. 2013). Valores de gordura intramuscular muito baixos (abaixo de 2%) são reportados em carne produzida na Europa, especialmente quando são utilizadas raças de maturação tardia (Albertí et al. 2014) e/ou quando os animais são alimentados a pastagem (Rosa et al. 2014). A deposição de gordura intramuscular é uma característica complexa dependente de fatores intrínsecos, como genética, diferenciação celular, estadio de desenvolvimento e tipo de músculo, e também por fatores extrínsecos,

principalmente pela nutrição, quantidade e tipo de energia fornecida pelo alimento.

Contrariamente ao tecido adiposo no qual os adipócitos utilizam acetato como substrato lipogénico, os adipócitos intramusculares utilizam principalmente glucose (Smith et al. 2009). O que suporta o conceito de aumento da disponibilidade de glucose como a melhor estratégia alimentar para o aumento de gordura intramuscular (Pethick et al. 2004), e isto consegue-se na prática por um aumento de amido na dieta. Isto certamente contribui para explicar porque os animais acabados com concentrados têm de forma consistente valores mais elevados de gordura intramuscular comparativamente a animais acabados em pastagem (Daley et al. 2010). Apesar disto as fontes de amido e o seu processamento tecnológico podem afetar a sua utilização pelo animal. A maioria do amido (e dos açúcares solúveis) são extensamente fermentados no rúmen, aumentando o propionato e algumas vezes a absorção de ácido láctico (Giuberti et al. 2014), o que suporta a gluconeogénese hepática, aumentando a disponibilidade de glucose e conseqüentemente a concentração plasmática de insulina (Pethick et al. 2004). O aumento de insulina é claramente associado a uma resposta lipogénica (Mauvoisin et al. 2011).

A gordura intramuscular é depositada em maior quantidade dentro dos adipócitos intramusculares.

Na prática, está claro que o desenvolvimento da gordura intramuscular responsável pelo marmoreado depende do estadio de maturação do animal. Mais precisamente, acontece devido à manutenção ou aumento de produção de gordura em combinação com a diminuição do crescimento muscular enquanto o animal fica mais velho (Pethick 2004). O conteúdo em gordura intramuscular é explicado pelo número de pré adipócitos que o animal tem ao nascimento ou no início do período de engorda e que dependem da genética e de fatores nutricionais. Por exemplo, em raças de desenvolvimento tardio (ex. Limousine) deposita-se mais músculo e menos gordura comparativamente com raças leiteiras ou precoces como Holstein ou Angus.

A maior ferramenta nutricional para aumentar o desenvolvimento do marmoreado é o aumento da energia do alimento para a produção de gordura durante o acabamento (Harper and Pethick 2004).

Esta é a razão pela qual a gordura intramuscular é sempre mais baixa em animais de pasto comparativamente com animais alimentados com dietas à base de concentrado, altas em energia. Ao nível celular, isto pode ser explicado pelo efeito anabólico da insulina que estimula a lipogénese (Pethick et al. 2004).

Relativamente ao controlo nutricional da deposição da gordura, a síntese de ácidos gordos nos adipócitos a nível intramuscular acontece principalmente devido ao efeito da insulina e menos do acetato (Smith et al. 2009). Portanto, provavelmente as dietas que promovem o fornecimento de glucose ao musculo podem aumentar a deposição de gordura intramuscular. Um aumento do aporte de glucose pode ser conseguido pela maximização da fermentação no rúmen para produzir precursores gluconeogénicos (como o propionato) ou pelo aumento da digestão de amido no intestino delgado. Uma forma de o conseguir é o aumento do processamento do alimento para maximizar o acesso ao amido durante a digestão (Rowe, Choct, and Pethick 1999). Em termos de mecanismos biológicos, não só é importante um aumento do aporte de glucose aos adipócitos intramusculares, mas também o aumento dos níveis circulantes de insulina, devido a um aumento do fornecimento de glucose que se conhece por estimular a lipogénese (Pethick et al. 2004).

#### **3.4.4.2 Perfil de ácidos gordos da carne de bovino**

Em geral, o teor em gordura da carne de bovino da Europa oscila entre 23 e 144 mg/g de gordura, os isómeros, t-18:1 são quantitativamente os mais importantes com uma concentração total de 26,5-45mg /g de gordura no retalho em carne de bovino. O ácido vacénico e t10-18:1 são os isómeros dominantes contribuindo com 60-90% to total de ácidos gordos *trans*. (Dugan et al. 2011; Mapiye et al. 2015). As concentrações totais de ácido

linoleico conjugado no retalho em carne de bovino oscilam entre os 3,4-8,2 mg/g de gordura. A concentração de ácido ruménico, o maior isómero de ácido linoleico conjugado varia entre 2,3 e 6,2 mg/g de gordura. Apesar de a carne de bovino estar entre as principais fontes de intermediários da biohidrogenação na dieta humana, as concentrações encontradas nesta carne são inadequadas para apresentarem efeitos positivos na saúde (Bessa et al. 2015; Vahmani et al. 2017; Toral et al. 2018)

#### **3.4.4.2.1. Perfil dos ácidos gordos e qualidade organoléptica**

Os ácidos gordos da carne podem chegar ao músculo provenientes do plasma ou sintetizados de novo pelo tecido adiposo do músculo. Existem poucas modificações aos ácidos gordos após a sua absorção e chegada ao plasma, exceto a dessaturação dos ácidos gordos polinsaturados e AGM pela  $\Delta$ -9 dessaturase. Esta enzima converte 14:0, 16:0, e 18:0 em c9-14:1, c9-16:1, e c9-18:1, adicionando uma ligação dupla *cis* no carbono número 9 da cadeia do ácido gordo. Esta enzima também converte t11-18:1 em c9t11-18:2, o principal isómero de ácido linoleico conjugado na carne. Esta enzima compensa parcialmente a grande atividade de saturação operada pelos microrganismos do rúmen o que ajuda a reduzir o ponto de fusão da gordura corporal, assegurando a sua fluidez à temperatura corporal (Doreau et al. 2016). Esta dessaturação é levada a cabo nos tecidos (adipócitos), mas alguma atividade de dessaturação está também presente nos enterócitos durante a absorção intestinal.

Então a composição em ácidos gordos dos produtos animais depende do balanço entre estes processos (ingestão de ácidos gordos polinsaturados, síntese, dessaturação e esterificação). A digestão ruminal, o rúmen, é o principal responsável por este processo, determina diretamente a composição de ácidos gordos que chegam ao duodeno e estão disponíveis para absorção e deposição nos tecidos (Lee et al. 2006).

Por ex. uma menor hidrogenação ruminal com uma dieta rica em ácidos gordos polinsaturados resulta num aumento de ácidos gordos

polinsaturados no músculo (Nuernber et al. 2005). A relação entre o metabolismo ruminal e o perfil de ácidos gordos no músculo é mais fraca do que com o leite. O perfil de ácidos gordos da carne é o resultado da história alimentar do animal e não apenas das últimas semanas antes do abate. Contrariamente ao leite, o perfil de ácidos gordos da carne precisa de algumas semanas para ser significativamente alterado, mas a sua plasticidade também é elevada. Por ex. o conteúdo em ácido linolénico no músculo depende da duração do período em que o animal consumiu pastagem antes do abate, porque a erva é muito rica em ácido linolénico (Noci et al. 2005). O perfil de ácidos gordos depende da dieta do animal, mas também da raça, músculo, sexo (incluindo os castrados), e idade do animal (De Smet et al. 2004; Wood et al. 2008).

Com a maioria das dietas, a concentração de ácidos gordos polinsaturados tem apenas uma pequena influência na biohidrogenação ruminal, logo a quantidade de ácidos gordos polinsaturados disponíveis para absorção intestinal está linearmente dependente da ingestão de ácidos gordos polinsaturados. Os alimentos mais comuns para ruminantes (forragens, concentrados) não diferem grandemente na quantidade de lípidos. No entanto, um grande fornecimento de sementes de oleaginosas resulta numa diminuição da biohidrogenação ruminal. Na verdade, a presença do óleo entre as paredes das células da semente funciona como uma proteção física para a biohidrogenação. Isto tem sido demonstrado em sementes de soja e de linho, e depende da natureza da casca da semente.

No entanto, exceto para alimentos contendo proteção contra a biohidrogenação ruminal, as únicas dietas capazes de diminuir a biohidrogenação de forma significativa (<60% e 80% para ácido linoleico e ácido linolénico, respetivamente) são as dietas com >70% de concentrados (e menos de 30% de forragens de erva, silagem ou feno) em matéria seca (Doreau et al. 1997), estas dietas são pouco habituais na produção leiteira mas muito utilizadas no crescimento e engorda de bovinos para produção de carne.

A causa da diminuição da biohidrogenação é o baixo pH do rúmen, que é uma consequência de dietas ricas em concentrado. O valor do pH ruminal, que é geralmente entre 6-7 com a maioria das dietas, pode chegar a baixar

de 5,5 com dietas baseadas em concentrados. A consequência do pH baixo é a diminuição na atividade de microrganismo, enzimas, lípases, e especialmente isomerases e hidrogenases, e foi comprovada em ensaios *in vitro* (Tregeler-Meynadier et al. 2006)

A análise sensorial é a disciplina científica que permite medir de forma objetiva e reprodutível as características de um produto mediante os sentidos (Guerrero 2000). Para avaliar a qualidade sensorial da carne utilizam-se painéis de provadores treinados que avaliam os atributos da carne, tenrura, suculência, sabor e flavour da carne. No entanto, e dada a importância que tem a forma de preparar na qualidade final da carne é conveniente complementar essa avaliação de qualidade com um painel de consumidores. Além disso, é difícil prever uma avaliação do consumidor final com base na avaliação do painel de provadores, uma vez que embora as notas de avaliação de ambos estejam correlacionadas o coeficiente de correlação é baixo (Lorenzen et al. 2003).

A tenrura é quiçá o atributo que maior influência tem no juízo de valor da qualidade global da carne. Deste modo, na avaliação sensorial da carne de novilho as notas dos consumidores estiveram relacionadas com as notas do painel de provadores por esta ordem de importância, tenrura, suculência e flavour (Sierra et al. 2010).

Tradicionalmente, a tenrura, suculência e o flavour, têm sido os três principais atributos utilizados para descrever a palatibilidade da carne (Watson et al. 2008), e a combinação destes atributos define a qualidade da carne (Behrends et al. 2005). No entanto, entre estes atributos, o flavour é o fator mais complexo porque é o resultado de várias reações químicas, incluindo a oxidação lipídica. A reação de Maillard iniciada por açúcares redutores e aminoácidos e a interação dos produtos da reação de Maillard com os resultados da oxidação dos lípidos (Mottram 1998).

O aumento da gordura intramuscular, quando a carne tem tenrura aceitável e ausência de off-flavours, é o principal fator de aceitação da carne e influenciador do flavour (Corbin et al. 2015).

O'Quinn et al. (2015) observaram que o aumento do nível de gordura na carne afetava positivamente a tenrura, suculência, flavour, e aceitação

geral da carne. Além disso, o flavour é a característica de qualidade de carne com mais alta correlação com a aceitação geral pelo consumidor.

Está documentado que o aumento do marmoreado está relacionado com um aumento da tenrura, suculência, flavour e aceitação geral em painéis de provadores treinados e em painéis de consumidores (Lorenzen et al. 2003; Garmyn et al. 2011). Mais especificamente, a pontuação para o flavour aumenta com o aumento do marmoreado da carne (Lorenzen et al. 2003). Pelo contrário, Voges et al. (2007) não reportou diferenças de aceitação entre vários graus de qualidade de carne, de premium a standard. Embora estas avaliações tenham sido efetuadas após 42 dias de maturação.

Da mesma forma, num estudo realizado com sete raças de novilhos sacrificados a dois níveis de peso observou-se que a apreciação global da carne realizada pelo painel de provadores treinados estava correlacionada com as notas de qualidade do flavor em maior medida do que a tenrura, enquanto o painel de consumidores correlacionou a apreciação global com a tenrura e fibrosidade (Macie 2002) e muito pouco com os outros fatores. A alimentação que consumiu o novilho tem um papel fundamental na qualidade sensorial da carne, já que se alteram os precursores do flavour na carne, os pastos produzem mais aminoácidos livres no músculo enquanto as dietas de concentrado produzem mais açúcares redutores no músculo (Koutsidis et al. 2008). Enquanto ao tipo de ácidos gordos do alimento de engorda há que considerar que em geral o ácido oleico se correlaciona com flavour desejáveis enquanto os ácidos gordos polinsaturados se associam com flavour desagradáveis (Duckett et al. 1993).

A avaliação dos atributos de aroma e flavour é mais complexa que a de outros atributos, como a tenrura e quiçá os ligados à oxidação das gorduras seja dos mais difíceis de avaliar da mesma forma por pessoas distintas já que é uma qualidade muito ligada ao tipo cultural e do tipo de alimentos consumidos habitualmente. Na União Europeia muito consumidores preferem carne de animais alimentados a forragem, enquanto nos Estados Unidos este tipo de carne tem menor aceitação (Mandell et al. 1998).

Análises sensoriais e análises aos compostos aromáticos produzidos demonstraram que os animais alimentados com forragens de base têm uma intensidade de flavor mais alta com um conteúdo mais elevado em aldeídos insaturados de baixo peso molecular resultantes da oxidação dos ácidos gordos polinsaturados (Raes et al. 2003).

Um exemplo evidente está nos queijos maturados, alimento rico em notas oxidadas, mais ou menos ranço que algumas pessoas apreciam e a outras repugna.

Dado que a avaliação de carne em painéis treinados representa um gasto importante e como demonstrado, os dados finais não apresentam grande correlação com a aceitação global do consumidor final, está-se a tentar desenvolver sistemas alternativos como o NIR (*near infrared*). Esta técnica, como acontece com as técnicas utilizadas para obter a composição química da carne também poderia chegar a prever notas de atributos de qualidade sensoriais, embora os resultados sejam contraditórios (Alomar et al. 2003; Andrés et al. 2007; Ripoll et al. 2008)

### **Oxidação lipídica**

Os processos oxidativos da carne são os mais importantes logo após a deterioração microbiana, e afetam os lípidos, pigmentos, proteínas e vitaminas. Durante este processo ocorre a degradação sensorial do produto, levando á rejeição pelo consumidor. Subsequentemente, ocorrem perdas nutricionais que originam a formação de substância tóxicas, logo o controlo do processo oxidativo é de uma importância vital para a indústria da carne. Apesar do processo de oxidação lipídica ser investigado à décadas, a complexidade de reações envolvidas no processo, assim como as diferentes vias e fatores que o influenciam, fazem com que os mecanismos de oxidação lipídica ainda não tenham sido completamente entendidos (Dominguez et al. 2019).

A oxidação dos lípidos é um processo muito complexo, e inclui mecanismos múltiplos que interagem entre si. A oxidação lipídica no músculo começa

ao nível da membrana celular. Para o explicar de forma breve, os ácidos gordos insaturados reagem com oxigénio formando radicais livres que irão fazer propagar a cadeia de oxidação lipídica. Derivado desta reação, são produzidos hidroperóxidos que são considerados os primeiros produtos desta oxidação. Em contraste com outros derivados do processo, os hidroperóxidos não têm odor ou aroma. no entanto, estes compostos são altamente instáveis e decompõe-se de forma rápida daí resultando um largo conjunto de produtos secundários que inclui os aldeídos, cetonas, álcoois, esterres e ácidos (Ross et al. 2006)., que causam o aparecimento de off-flavours na carne. No entanto, nem todos estes compostos têm a mesma importância e capacidade de afetar o aroma da carne. A importância de cada composto depende da sua concentração e do nível de perceção (Rivas-cañedo et al. 2010). De entre todos os compostos derivados do processo oxidativo, os aldeídos são considerados os mais importantes para a decomposição do produto e os maiores contribuintes em off-flavours na carne (Cheng 2016). Este aspeto está relacionado com o seu baixo nível de deteção e pelas quantidades significativas em que se encontra na carne que sofreu oxidação (Dominguez et al. 2019). Os principais aldeídos derivados do processo oxidativo são n-alkanals, trans-2-alkenals, 4-hydroxy-trans-2-alkenals e malondialdeido (Chaijan and Panpipat 2017). Além de contribuírem para o aroma da carne, os aldeídos também são importantes porque reagem com as proteínas causando modificações que resultam em alterações nutricionais e organolépticas (Guyon et al. 2016). Malondialdeido ou MDA (1,3-propanedial) é um dos aldeídos mais importantes produzido durante o processo secundário de oxidação lipídica dos ácidos gordos polinsaturados. Este aldeído também tem grande importância na carne porque em pequenas quantidades produz aromas a ranço (Jones et al. 2017), e é considerado o marcador de oxidação lipídica mais importante (Pereira and Abreu 2018). De facto, vários estudos indicam 2,0-2,5 mg MDA/kg como o limite para que não sejam detetados odores a ranço na carne e produtos cárnicos (Campo et al. 2006; Zhang et al. 2019). Na sua avaliação, deve ser convenientemente libertado antes da medição para que possa reagir convenientemente com os reagentes. Para libertar o

MDA da sua matriz, foram propostos tratamentos ácidos ou por calor (Estévez et al. 2009).

O teste do ácido tiobarbiturico (TBA) é a principal técnica para quantificar malondialdeído. Consiste numa medida colorimétrica de um complexo formado entre o ácido tiobarbiturico e malondialdeído. No entanto, apesar de Malondialdeído ser a principal substância reativa para ácido tiobarbiturico, está bem estabelecido que a reação de ácido tiobarbiturico não é específica para malondialdeído, existindo outros aldeídos que também reagem com ácido tiobarbiturico. Consequentemente, o método é denominado de substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS) a fim de englobar todas as substâncias que reagem com o ácido tiobarbiturico (Estévez et al. 2009; Yang and Boyle 2016).

Vários estudos reportaram que o processo de oxidação lipídica aumenta a descoloração da carne. Zakrys et al. (2008) investigou parâmetros de qualidade em carne embalada, com 0%, 10%, 20%, 50% e 80% de oxigénio e (20% de dióxido de carbono e azoto, se necessário) e conclui que “mudanças nos valores de OxiMB e a\* parecem ser conduzidos pela oxidação lipídica e estão fortemente correlacionados com TBARS”. O mecanismo pelo que a oxidação lipídica pode aumentar a oxidação da mioglobina tem sido explicado primariamente nas reações de produtos primários e secundários derivados dos ácidos gordos.

A oxidação dos ácidos gordos insaturados é o principal fator gerador de off-flavours e responsável pela deterioração da carne (Skibsted et al. 1998).

#### **3.4.4.2.2 Perfil de ácidos gordos da carne e relação com saúde humana**

A carne de bovino é rica em ácidos gordos saturados, 30-40% do total de ácidos gordos), porque os ácidos gordos insaturados presentes no alimento são largamente biohidrogenados a ácidos gordos saturados pelos microrganismos do rúmen, para os humanos, carne de bovino faz uma contribuição grande para o total de ácidos gordos saturados ingeridos. Reduzir o consumo de ácidos gordos saturados continua a ser uma das principais recomendações para prevenir doenças crónicas, como as doenças cardiovasculares pelas autoridades sanitárias, agências governamentais encorajando a redução, eliminação ou substituição da carne de bovino como parte de uma dieta saudável (World Health Organization 2018; American Heart Association 2019). No entanto, estas recomendações mais ou menos justificadas contra a carne de bovino ignoram o facto de que cada ácido gordo saturado afeta a saúde humana de forma diferente, e os efeitos dos ácidos gordos saturados podem ser influenciadas pela alimentação base (Astrup et al. 2019). Por exemplo, dos ácidos gordos saturados da carne de bovino 30-40% são de ácido esteárico (18:0), conhecido por não ter impacto no colesterol (Mensink 2005). Além disso, cerca de 40-50% dos ácidos gordos na carne de bovino estão sobre a forma *cis*  $\omega$ -monoinsaturados ácidos gordos monoinsaturados, predominando o ácido oleico, o qual é geralmente considerado um ácido gordo saudável para o coração (Pérez-Jiménez et al 1999; Schwingshackl and Hoffmann 2014). De forma importante, evidências recentes desafiam a má impressão da carne de bovino nos media e a bem estabelecida relação de que a carne é má para a saúde e bem-estar, e têm sido divulgados benefícios para a saúde de alguns ácidos gordos com efeito bioativo para além do seu valor nutricional (Lee et al. 2012; Vahmani et al. 2020). A gordura na carne de bovino é distinta por conter uma grande variedade de lípidos bioativos incluindo ácidos gordos ómega 3 (n-3), intermediários da biohidrogenação (IBI), ácidos gordos ramificados e fosfolípidos.

Os ácidos gordos ómega 3 (n-3) e ómega 6 (n-6) pertencem ao grupo dos ácidos gordos polinsaturados. Os ácidos gordos n-3 são classificados quanto ao seu número de átomos de carbono, quando apresentam < 19 carbonos consideram-se de cadeia curta e com 20-24 átomos de carbono, são n-3 de cadeia longa (Ratnayake e Galli 2009). O n é utilizado para identificar o ácido gordo insaturado pelo que indica a posição da primeira ligação dupla mais próxima da extremidade que possui o grupo metilo do ácido gordo insaturado. Por ex, para o 18:3n-3 (ácido linolénico), a primeira ligação dupla acontece no terceiro carbono a contar do grupo metilo. O ácido linolénico é o precursor para a série n-3 de cadeia comprida, enquanto o ácido linoleico é o precursor para os n-6 de cadeia comprida. Os precursores, ácido linoleico e ácido linolénico não podem ser sintetizados pelos mamíferos e são considerados ácidos gordos essenciais. Logo, os mamíferos devem obter estes nutrientes através da sua alimentação. no entanto a conversão do ácido linolénico para os seus derivados de cadeia comprida incluindo o ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, e ácido docosahexaenoico é controlado por fatores biológicos. Estudos têm demonstrado que o processo de conversão é lento e ineficiente quando comparado com a absorção de derivados de cadeia comprida (Emken et al. 1990). Devido à baixa eficiência na conversão (alongamento e desnaturação), é difícil alimentar suficiente ácido linolénico para aumentar a concentração de ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico nos tecidos. Portanto, é necessário aos mamíferos ingerirem suficiente ácido linolénico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico para cumprir com as suas necessidades ao funcionamento metabólico e para a prevenção de doenças (Liou et al. 2007; Dugan et al. 2018).

Nos ruminantes, ácidos gordos polinsaturados são preferencialmente depositados nos fosfolípidos, onde desempenham um importante papel na função metabólica, funcional e no estado fisiológico (Dugan et al. 2018; Ponnampalam et al. 2018). Em geral, o ácido linolénico proveniente da alimentação promove a acumulação de ácido linolénico, ácido eicosapentaenoico e ácido docosapentaenoico, mas o enriquecimento em ácido docosahexaenoico é muito limitado. As enzimas necessárias ao

alongamento dos ácidos gordos, desaturase 1 (AGDS1) e desaturase 2 (AGDS2) preferem os n-3 aos n-6, no entanto, uma elevada quantidade de AL (pela utilização de dietas ricas em concentrados), consumida pode interferir com o processo de conversão de ácido linolénico em ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico e ácido docosahexaenoico. Arterburn et al (2006) demonstrou que a conversão de ácido linolénico em ácidos gordos n-3 de cadeia comprida não é rápida nem tão eficiente como a suplementação com óleos de peixe. Apenas 0,2% do ácido linolénico alimentar é convertido para ácido eicosapentaenoico, mas 65% do ácido eicosapentaenoico é convertido para ácido docosapentaenoico n-3 e 37% do ácido docosapentaenoico é convertido para ácido docosahexaenoico. A conversão geral de ácido linolénico para ácido eicosapentaenoico é de 0,2%, de ácido linolénico para ácido docosapentaenoico n-3 é de 0,13% e de ácido linolénico para ácido docosahexaenoico é de 0,05% (Pawlosky et al. 2001).

Em muitos países ocidentais, muitas pessoas não consomem suficiente quantidade de ácido gordo polinsaturados n-3 de cadeia comprida necessários à saúde. As recomendações de consumo dependem da idade, padrão de alimentação e estado fisiológico (GOED 2019) no entanto as recomendações globais para crianças dos 6-10 anos e para mulheres grávidas ou em período de aleitamento são de 200-250 e 200-300 mg/dia respetivamente (FAO 2009). A carne de bovino pode contribuir com cerca de 20% das necessidades em ácido gordo polinsaturados n-3, particularmente em populações com baixo consumo de peixe (Russo 2009). O enriquecimento da carne de bovino com estes ácidos gordos pode de futuro aumentar o consumo de ácidos gordos polinsaturados n-3 para aqueles que consumirem carne (Howe, et al. 2006). Como resultado, vários trabalhos têm sido publicados sobre esta matéria dando destaque a importância de aumentar a quantidade de ácidos gordos polinsaturados n-3 na carne (Kronberg et al. 2006). No entanto, nenhuma estratégia aplicada para o aumento da concentração de ácidos gordos polinsaturados n-3 na carne de bovino demonstrou ser economicamente viável e aplicável na prática quando comparada com a carne produzida com alimentos comuns (Vahmani et al. 2020).

### **3.4.4.3 Estratégias para alterar o perfil de ácidos gordos da carne de bovino**

Os fatores genéticos e nutricionais têm sido largamente estudados para entender a forma como podemos alterar o perfil de ácidos gordos da carne, no entanto, é reconhecido que os fatores genéticos têm aqui menor preponderância do que os fatores nutricionais (De Smet et al. 2004).

No entanto, e como observado por De Smet (2004), apesar de os fatores genéticos terem uma baixa influência, são capazes de definir a expressão dos genes e desta forma condicionar o tipo e quantidade de enzimas presentes no processo de produção de ácidos gordos. Avanços em tecnologia e no conhecimento do genoma bovino resultaram na identificação de vários polimorfismos de nucleótidos simples (PNS) relacionados com o metabolismo de ácidos gordos em bovinos e o que veio abrir a possibilidade para selecionar animais com um determinado perfil de ácidos gordos (Shingfield, et al. 2013).

De especial atenção é a relação entre o nível de acabamento e a relação ácidos gordos polinsaturados: ácidos gordos saturados. Como o conteúdo em ácidos gordos saturados e ácidos gordos monoinsaturados aumenta mais rapidamente do que o nível de gordura na carcaça, com o avançar do processo de acabamento tende a existir uma diminuição no rácio ácidos gordos polinsaturados: ácidos gordos monoinsaturados (Scollan and Hocquette, et al. 2006). Logo as raças de maturação tardia irão apresentar uma relação polinsaturados: saturados maior do que as raças precoces quando sacrificadas com o mesmo peso de carcaça (Raes, de Smet, Demeyer 2001).

O potencial para alterar o perfil de ácidos gordos é em larga medida determinado pela extensão da biohidrogenação ruminal dos lípidos da dieta (Palmquist et al. 2005). Durand (2005) demonstrou a capacidade de aumentar acentuadamente a concentração de ácidos gordos polinsaturados n-3 no músculo quando ácido linolénico (como óleo de linho) foi administrado diretamente no intestino delgado, fazendo um by-pass ao rúmen. Esta estratégia aumentou a concentração de ácido linolénico de

26,3 para 176,5 mg/100g musculo. Fortin et al. (2010) testou a infusão de óleo de peixe no abomaso (40g/kg de matéria seca ingerida) e conseguiu um aumento de concentração de ácido eicosapentaenoico na gordura intramuscular de 4,4 no grupo controlo para 13,9g/100g nos animais tratados. No mesmo ensaio o ácido docosahexaenoico passou de 0,69 a 3,9g/100g. o desafio atual é atingir estes níveis de enriquecimento através da alimentação sem comprometer a vida útil da carne, ou seja, sem diminuir a sua validade. Estas alterações no perfil lipídico podem ainda interferir com o flavour.

As forragens contêm uma alta proporção (50-75%) do total de ácidos gordos como  $\alpha$ -linolénico (Dewhurst 2007), o que é o ponto de partida da série n-3, através de alongação e desnaturação dá lugar à síntese de ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenoico. Em climas temperados, a erva na forma de pasto ou de silagem é uma das formas mais económicas de alimentação para ruminantes. Além disso, preocupações de sustentabilidade com outras fontes como o óleo de peixe, deram um ímpeto ainda maior à procura e avaliação de fontes de ácido linolénico mais sustentáveis como podem ser as forragens. O impacto da utilização de forragens verdes na alimentação de bovinos está bem documentada e demonstra uma grande consistência (Moloney et al. 2008; Daley et al. 2010; Morgan et al. 2012). Estes alimentados a forragens verdes, comparativamente com concentrados, resultaram em concentrações mais altas de ácidos gordos polinsaturados n-3 no músculo. Em carne produzida na Argentina foi observado uma concentração de 15 e 4 mg EPA/100g e de 12 e 6 mg DHA/100g carne para carne de pastagem ou carne de animais acabados com alimentos concentrados. Alimentar novilhos castrados a concentrado por dois meses antes do abate, após o crescimento em pastagem, diminui a proporção em ácidos gordos polinsaturados n-3 e aumentou a concentração de ácidos gordos polinsaturados n-6 no músculo (Aldai et al. 2011). Alimentar com forragens comparativamente a concentrados durante o período de acabamento é frequentemente associado com uma diminuição de ácidos gordos polinsaturados e um aumento na concentração de ácidos gordos monoinsaturados no músculo (Shingfield et al. 2013).

Geralmente os níveis de ácidos gordos polinsaturados n-3 são mais elevados em animais alimentados a forragens verdes frescas comparativamente com a utilização de silagem, aumentam com o aumento de pastagem consumida e o tempo em pastagem (Scollan et al. 2006).

Suplementar forragens com ácidos gordos polinsaturados n-6, particularmente ácido linoleico é atualmente a melhor abordagem para aumentar ácido vacénico e ácido ruménico na carne (Mapiye et al. 2015; Scollan et al. 2017; Vahmani et al. 2017). Fontes de ácidos gordos polinsaturados n-3 (óleo de linho, óleo de peixe e algas) também aumentam ácido rumelénico conjuntamente com o ácido vacénico e ácido ruménico, com as algas a mostrarem maior efeito do que o óleo de peixe (Chikwanha et al. 2018). Alimentar forragens e ácidos gordos polinsaturados sequencialmente, por oposição à utilização de um alimento único também promove o aumento de intermediários da biohidrogenação na carne (Vahmani et al. 2017). A duração do suplemento com óleo, tempo em pastagem ou forragem também influencia positivamente a acumulação de intermediários da biohidrogenação (Chikwanha et al. 2018). A proporção de intermediários da biohidrogenação na carne aumenta de forma linear com o nível de ácidos gordos polinsaturados na dieta até ao limite de 80 g/kg de matéria seca ingerida, acima da qual a função ruminal fica comprometida (Doreau and Chilliard. 1997; Mapiye et al. 2015).

Suplementando dietas baixas em forragens com ácidos gordos polinsaturados e/ou dietas ricas em amido, reduz o pH ruminal e altera a população de bactérias ruminais de espécies maioritariamente celulolíticas, que produzem ácido vacénico para fermentadores de açúcares que produzem  $\mu$ 10-18:1, que se torna o intermediário da biohidrogenação predominante na carne (Scollan et al. 2017; Chikwanha et al. 2018). O que resulta na acumulação de outros isómeros de ácido linoleico conjugado à custa da diminuição de ácido ruménico (Aldai et al. 2009; Bravo-Lamas et al. 2016). A concentração em  $\mu$ 10-18:1 é influenciada pelo tempo em dietas altas em cereais e pela sua moenda (Chikwanha et al. 2018), com uma moenda grosseira e pouco tempo a produzirem concentrações menores. Muitas estratégias nutricionais foram testadas para evitar a mudança para a produção de  $\mu$ 10-18:1, incluindo a utilização de promotores de

crescimento, suplementação com fibra, tampões ou antioxidantes ao alimento base, mas nenhuma delas melhorou com sucesso o perfil de intermediários da bioidrogenação da carne (Mapiye et al. 2015; Scollan et al. 2017; Chikwanha et al. 2018).

### **3.5 Maturação**

A maturação caracteriza-se por processos enzimáticos naturais que acontecem após a morte do animal e que melhoram a palatabilidade da carne, o seu flavour, suculência e tenrura (Vieira et al. 2006; Khan et al. 2016; Kahraman and Gurbuz 2018). A maturação é um processo que melhora a tenrura e o sabor da carne em refrigeração (Jelenikova et al. 2008). Vários estudos reportam que o processo de maturação aporta um sabor desejável à carne (Brewer et al. 1995). Muitos estudos têm referido a tenrura como um dos aspetos pelo qual o consumidor está predisposto a pagar mais (Jayasooriya et al. 2007; Kim et al. 2014; Battaglia et al. 2015). Na atualidade, existem duas formas de maturar carne, em húmido ou em seco, em ambos os casos esta técnica permite obter carcaças com mais sabor, flavour e tenrura. A maturação via húmida consiste em embalar a vácuo, peças da carcaça ou bifes durante um tempo determinado, em condições de refrigeração. Enquanto na maturação a seco maturam-se apenas peças, como podem ser os lombos ou vazias, sem embalar, em camaras de maturação com ambiente controlado durante vários dias ou semanas. Durante a maturação da carne aumenta a capacidade de retenção de água e produz-se uma degradação enzimática das proteínas e da gordura da carne, mediante a ação de enzimas próprias do músculo, que dão lugar a uma carne de odor e sabor mais intensos e carne mais tenra (Cabezas 2017).

Os principais parâmetros a ter em conta durante a maturação são: o tempo, a temperatura (Olsson et al. 1994), humidade e velocidade do vento. As condições ambientais mais adequadas para a maturação da carcaça ou peças da mesma, para manter uma boa qualidade de cor de carne são:

humidade relativa entre 60-85%, velocidade do ar entre 0,5-2,0 m/s e temperaturas entre 0-4° C (Boakye and Mittal.1996).

A temperatura mais elevada aumenta o risco de crescimento bacteriano e a aparição de odores desagradáveis na carne, temperatura abaixo de 0° C, os processos enzimáticos das proteínas do músculo ficam mais lentos (Cabezas 2017).

Kahraman e Gurbuz (2019) estudaram o efeito de três processos de maturação, maturação a seco (dry aging), maturação húmida, bife embalado a vácuo em saco estanque (wet aging) e maturação a seco em saco permeável) em cinco períodos de tempos de maturação (0, 7, 14 21 e 28 dias), o seu efeito em aspetos físicos, químicos, textura e propriedades sensoriais da carne de Longissimus lumborum de vitelos Holstein-Frisios castrados. Todos os métodos provaram uma diminuição no valor de força de corte (WBSF). A diminuição do valor da força de corte foi rápida e acentuado até ao 14 dia de maturação. A maturação húmida promoveu os mais baixos valores de WBSF em comparação com as outras. Os valores mais altos de aceitação para flavour, tenrura e aceitação geral foram conseguidos pela carne embalada a vácuo em saco estanque submetida a 14 dias de maturação.

A transformação do músculo em carne tem lugar depois do abate do animal. Implica uma série de mudanças físico químicas e bioquímicas que se levam a cabo em duas fases.

A primeira consiste no desenvolvimento e instauração do *rigor mortis* ou rigidez cadavérica, como consequência das mudanças metabólicas produzidas depois da morte do animal.

A segunda é a maturação, devido fundamentalmente à ação das proteases, capazes de diminuir a resistência da carne por degradação proteica (Roncalés 2001). Antes do consumo, deve-se deixar passar a fase do *rigor mortis*. Porém, a fase da maturação tem uma duração muito variável, podendo ser curta ou degenerar, se se deixa atuar de forma indeterminada, em putrefação.

A instauração completa do *rigor mortis* depende da espécie animal (2 horas em aves, 15-36 horas em bovinos), do individuo, do músculo (o pH nas fibras brancas desce mais rapidamente do que nas fibras vermelhas), do

*stress* prévio ao abate (carne DFD em bovinos por pH elevado) e da temperatura de conservação (temperaturas altas 20-37°C, aceleram a velocidade das reações e reduzem o tempo para alcançar o pH final da carne).

Não é fácil determinar o momento exato em que termina a fase de *rigor mortis* e começa a maturação. Porém, o amolecimento da carne ao longo deste processo é uma consequência direta das mudanças estruturais das miofibrilas pela degradação das proteínas que as constituem.

São fundamentalmente processos enzimáticos que efetuam a maturação (Geesink et al. 2001), embora ainda exista incerteza quanto ao papel do cálcio neste processo (Takahashi 1996). A atividade proteolítica deve-se, principalmente ao efeito das calpainas e catepsinas.

As calpainas apresentam uma atividade ótima a pH neutro e requerem a presença de cálcio para o seu funcionamento. Dos nove tipos de calpainas descritos só se conhece o mecanismo de ação de três. A micro-calpaina atua com níveis de cálcio 200 vezes menores do que a m-calpaina. Dada a sua participação na degradação de proteínas chave da estrutura muscular, considera-se a enzima chave no processo de maturação (Dransfield 1993). A sua atividade desce claramente ao longo do processo de maturação e está regulada pela presença de um inibidor específico, a calpastatina.

As catepsinas são proteases dos lisossomas que atuam a pH ácido, porém, variável, dependendo de cada enzima em específico, de 4 a 6, pelo que no músculo *post mortem* só manifestam uma parte da sua atividade. No início do processo de maturação a sua atividade é muito escassa, também sendo a sua atividade afetada pelas baixas temperaturas (Roncalés 2001), mas são mais estáveis do que as calpainas e responsáveis por processos de maturação a mais longo prazo, atuando sobre a maioria das proteínas musculares, apresentando baixa especificidade.

Diversos fatores influem no amolecimento da carne durante a maturação. O aumento da temperatura produz um aumento na velocidade do processo devido a maior atividade enzimática das proteases implicadas. Mesmo durante o processo de cozinhado são ativas até à sua desnaturação a 60°C, embora a atividade se veja reduzida a partir dos 40°C (Bouton et al. 1976). Por sua vez, a congelação apenas diminui a sua atividade, não as destrói.

A velocidade de amolecimento varia com a espécie, já que cada uma apresenta um tempo ótimo de maturação: um dia para o frango, cinco dias para os suínos e dez a catorze no caso dos bovinos (Koochmaraie 1996).

O tipo de músculo afeta a maturação, uma vez que a velocidade de amolecimento é maior na musculatura branca do que na musculatura vermelha (Ouali 1990).

A raça é também um fator importante, uma vez que as raças rústicas apresentam velocidades de maturação mais lentas do que as raças cárnicas, necessitando de mais tempo de maturação para atingir o mesmo nível de tenrura (Campo et al. 1999). A idade, o peso de abate e o sexo também podem afetar o ritmo de maturação.

Segundo Chasco (1997), a maturação origina um aumento dos parâmetros  $a^*$  e  $C^*$  que determinam a aparição de uma cor mais vermelha ( $>a^*$ ) e mais intensa ( $>C^*$ ) na carne. Alguns autores correlacionam positivamente a apreciação da cor da carne pelo consumidor com o parâmetro  $a^*$ , o que permite afirmar que a cor da carne melhora com a maturação.

Oliete et al. (2006) no seu estudo sobre maturação a vácuo de carne de vitela Rubia Gallega encontrou um aumento significativo nas coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  ao longo dos dias de maturação (1, 7, 14, e 21 dias) estabilizando aos 21 dias, afirmando que se obtém carnes mais atraentes e apetecíveis para o consumidor com uma alta luminosidade e uma tonalidade mais rosa e que se mantêm durante o período de maturação.

## 3.6 Vitamina E

### 3.6.1 Estrutura e funções da vitamina E

A atividade de Vitamina E em plantas deriva da atividade de oito componentes existentes naturalmente, os tocoferóis e tocotrienóis. Em (1922) Evans e Bishop na universidade da Califórnia, Berkeley reconheceram a presença de um composto nutricional nos óleos vegetais essencial para a reprodução em ratos. Em (1936), Evans et al. isolaram e deram nome ao composto  $\alpha$ -tocoferol, derivado do Grego “tokos-pherein”, significa “a descendência do urso” e juntaram-lhe um sufixo “-ol” assinalando a presença de um grupo álcool (DSM 2019).

De acordo com a União Internacional de Bioquímica (IUPAC-IUB), a vitamina E é usada como designação para todos os derivados de tocol e tocotrienol que exibem qualitativamente a atividade biológica do alfa-tocoferol. Tanto os tocoferóis (tocóis) como os tocotrienóis consistem num núcleo de hidroquinona e uma cadeia lateral de isoprenóides (Scherf et al. 1996). Caracteristicamente, os tocoferóis possuem uma cadeia lateral saturada, enquanto os tocotrienóis possuem uma cadeia lateral insaturada contendo três ligações duplas. Existem quatro compostos principais de cada uma dessas duas fontes de atividade da vitamina E ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), diferenciados pela presença de grupos metil (-CH<sub>3</sub>) nas posições 5, 7 ou 8 do anel Saturação. O  $\alpha$ -tocoferol, o mais biologicamente ativo desses compostos, é a forma ativa predominante de vitamina E nos alimentos para animais e a forma utilizada comercialmente para suplementação de dietas de animais (Scherf et al. 1996). A atividade biológica dos outros tocóis e tocotrienóis é limitada, mas algumas novas funções foram encontradas recentemente para formas não alfa-tocoferóis da vitamina E (Schaffer et al. 2005).

A molécula de tocoferol contém três átomos de carbono assimétricos localizados nas posições 2', 4' e 8'. Na forma d do alfa-tocoferol, os grupos metilo em todos os três átomos de carbono assimétricos têm arranjo espacial idêntico, voltado abaixo do plano da molécula de tocoferol. Isso é designado como a forma RRR e é a forma de  $\alpha$ -tocoferol encontrada nas

plantas (Scherf et al. 1996). A forma DL do  $\alpha$ -tocoferol consiste numa proporção igual das configurações R e S em cada um dos três carbonos quirais, o que resulta numa mistura equimolar (12,5% cada) dos oito possíveis estereoisómeros do  $\alpha$ -tocoferol. Esta é designada como forma alfa-tocoferol totalmente racêmica, além de ser chamada dl-  $\alpha$  -tocoferol. Apesar das alegações em contrário, não há vitamina E verdadeiramente “natural” disponível comercialmente (Scherf et al. 1996).

Em ruminantes, não existe ou é mínima a absorção pré-intestinal de tocoferol. Os mais recentes estudos, utilizando a forma estabilizada de Vitamina E (dl-alfa-tocopheryl acetato), têm demonstrado baixa, senão inexistente degradação de Vit E no rúmen (Weiss 1998).

A absorção de vitamina E varia de 50% a 75% da ingestão em animais deficientes, de 20% a 30% em animais com nível adequado de vitamina E e de 1% a 5% em animais alimentados com grandes excessos de vitamina E. No entanto, isso pode nem sempre ser o caso. Hidiroglou et al. (1988) não relataram correlação entre o nível de vitamina E, e a absorção de  $\alpha$ -tocoferol. Outros fatores alimentares e animais - em particular a ingestão de gordura, digestão e função hepática - afetam a absorção de vitamina E e de outras vitaminas lipossolúveis. A absorção de vitamina E pode ser prejudicada por uma variedade de distúrbios associados à má absorção de gordura. Uma deficiência (Kim et al. 1998) ou um excesso de zinco na dieta prejudicam a absorção da vitamina E.

Em geral, pode assumir-se que a maioria da vitamina E no plasma, eritrócitos e nos outros tecidos é  $\alpha$ -tocoferol. A vitamina E é transportada no plasma por lipoproteínas, e é entregue aos tecidos juntamente com os lípidos.

As duas principais razões para a utilização de vitamina E em alimentos para animais são prevenir o aparecimento de deficiências e otimizar o desenvolvimento do animal. Os níveis necessários para otimizar o desempenho são na maioria das vezes bastante mais altos do que os necessários para prevenir o aparecimento de sinais de deficiência. As necessidades em vitamina E, e outras vitaminas têm mudado poucos nas últimas décadas e não refletem o desenvolvimento genético tido e as exigências de manejo das modernas explorações de ruminantes.

Os níveis vitamínicos, incluindo vitamina E, precisam de ser mantidos a níveis que permitam a utilização de diferentes tipos de manejo e sejam altos o suficiente para suportar um aumento de necessidades devido a alterações ambientais como a temperatura, energia dos alimentos e outros fatores como desafios de patologias, *stress*, variações biológicas e formulação que podem influenciar a composição do alimento e as necessidades em vitaminas (DSM 2019).

A forma mais ativa de vitamina E que ocorre naturalmente, como afirmado anteriormente, é o dl- $\alpha$ -tocoferol. Por muitos anos, a principal fonte de vitamina E suplementar para alimentação animal foram os tocoferóis encontrados em produtos vegetais verdes, oleaginosas e óleos vegetais. A biodisponibilidade dos estereoisómeros do  $\alpha$ -tocoferol é expressa em termos da Unidade Internacional (UI). O acetato de dl- $\alpha$ -tocoferil, também chamado acetato de all-rac-tocoferil, é o padrão internacional de atividade da vitamina E, com uma UI equivalente a um miligrama de acetato de dl- $\alpha$ -tocoferil. Essa forma de vitamina E é a fonte mais amplamente disponível e econômica de atividade da vitamina E para a suplementação de alimento para animais (DSM 2019).

Demonstrou-se que a vitamina E é essencial para a integridade e função dos sistemas reprodutivo, muscular, circulatório, nervoso e imunológico em animais e humanos. Está bem documentado que algumas funções da vitamina E podem ser cumpridas parcial ou totalmente pelo selênio ou por outros antioxidantes. A necessidade de vitamina E é afetada pelos aminoácidos cistina e metionina. A vitamina C (ácido ascórbico) demonstrou poupar vitamina E nos tecidos, regenerando o  $\alpha$ -tocoferol dos seus produtos de oxidação. Evidências indicam que pode haver funções metabólicas não descobertos da vitamina E, que podem ser comparados biologicamente com funções do selênio e possivelmente de outras substâncias. Por exemplo, foi demonstrado que a vitamina E potencializa a ação da insulina em humanos.

Um trabalho avaliou resultados de parâmetros produtivos de 21 artigos publicados (Secrist et al. 1997) em que o efeito da suplementação com

vitamina E revelou um aumento no GMD e no IC dos animais alimentados com níveis superiores de vitamina E de (200 a 2000UI dia) durante o período de acabamento (38-298 dias). Na maioria dos estudos, os animais estiveram entre 84 a 145 dias em engorda e foram alimentados com 85% a 90% de concentrado. Os autores concluíram que alimentar 500 UI de vitamina E dia durante o período de acabamento pode ser justificado pelo aumento do desempenho produtivo do animal por si só, no entanto esse mesmo valor também é indicado para aumentar de forma significativa o valor comercial da carne baseado na sua aparência (Faustman et al. 2004).

### **3.6.2 Necessidades de vitamina E nos bovinos**

As necessidades em Vitamina E para ruminantes ainda não foram claramente definidas. As necessidades mínimas para bovinos de engorda (NRC 2000) são estimadas dentro de um intervalo de 15 a 60 UI por kg de matéria seca da dieta. Os valores nutricionais de Vitamina E são difíceis de determinar devido à interação com outros nutrientes.

O nível do alimento em ácidos gordos polinsaturados afeta diretamente as necessidades em vitamina E. Os ruminantes, resultado da biohidrogenação estão parcialmente protegidos dos efeitos dos ácidos gordos polinsaturados. No entanto, trabalhos têm demonstrado que os ácidos gordos polinsaturados, quando utilizados no alimento em grande quantidade, conseguem escapar à hidrogenação ruminal.

Várias formas de *stress* contribuem para um aumento das necessidades de vitamina E. Para aumentar a imunidade, são necessários níveis de vitamina E acima dos definidos para aumento do desempenho dos resultados produtivos. Devido ao *stress* à chegada à engorda, o último NRC (NRC 2000) recomenda 400 a 500 UI de vitamina E para o período de adaptação. Existe uma crescente diferenciação entre necessidades mínimas e nível de utilização ótima de vitaminas na literatura.

A vitamina E é um antioxidante lipossolúvel que impede a cadeia de peroxidação da gordura e previne a formação de peróxidos (Buckley et al. 1995). A vitamina E atua reduzindo a formação de peróxidos e inibindo as lipoperoxidases, que são as enzimas responsáveis pela rancificação da gordura. Pelo que se indica um aumento de utilização de vitamina E, especialmente quando a gordura contém proporções elevadas de ácidos gordos polinsaturados.

O aumento do conteúdo de ácidos gordos polinsaturados na carne pode levar a uma menor estabilidade oxidativa, ou seja, uma maior facilidade de rancificação, com o aparecimento de odores desagradáveis e variações na qualidade sensorial. Estas alterações devem-se a modificações no flavour (Campo et al. 2006), cor (Faustman et al. 1998) e compostos tóxicos (Stan. 1992).

Por isso, uma das formas de limitar estes efeitos negativos da oxidação é o enriquecimento do alimento de engorda com antioxidantes como os tocoferóis e em especial a vitamina E (Liu et al. 1995). Os fosfolípidos presentes nas membranas das mitocôndrias são muito ricos em ácidos gordos polinsaturados e estão expostos à peroxidação devido à sua proximidade aos pro-oxidantes. A presença de iões de ferro, pode gerar espécies químicas capazes de captar um próton dos ácidos gordos polinsaturados e iniciar o processo oxidativo (Gray et al. 1996).

Os pastos de gramíneas são ricos em Vitamina E enquanto os cereais que compõem os alimentos compostos necessitam de uma suplementação com vitamina E para alcançar um nível similar. Realini et al. (2004) avaliaram em 1000 unidades internacionais de vit E/dia as necessidades de vitelos castrados, engordados durante 100 dias.

A concentração de tocoferóis por unidade de matéria seca na forragem fresca é entre cinco e 10 vezes maior que a da maioria dos cereais ou dos seus subprodutos. Animais de pastagem tinham geralmente de 4 a 6 µg de alfa-tocoferol por grama de músculo em comparação com 1 a 2 µg de alfa-tocoferol por g de músculo em vitelos de engorda alimentados com base em cereais (Yang et al. 2002). Foi observado que a variabilidade no teor de vitamina E das forragens é grande, tanto entre regiões como entre parcelas

numa mesma região. Análises contínuas de forragens e alimentos compostos para animais devem ser conduzidas para garantir níveis adequados de suplementação da vitamina E. Esses autores concluem que as concentrações de vitamina E em forragens publicadas anteriormente não são adequadas para a formulação de alimentos.

A secagem induzida do milho resulta numa redução do teor de vitamina E. Em estudo de estabilidade, o teor de vitamina E do milho foi reduzido de 40 mg/kg (de 30 a 50 mg/kg) para 5 mg por kg (18,1 a 2,27 mg/kg) de peso seco, secando a 212 °F (100 °C) por 24 horas sob fluxo contínuo de ar. Da mesma forma, foi relatado que a secagem de milho por 40 minutos a 88 ° C produz uma perda média de 19% de  $\alpha$ -tocoferol e uma perda de 12% de outros tocoferóis (Adams 1973). O milho seco por 54 minutos a 93° C (199° F) teve uma perda média de vitamina E de 41%, concentrações de  $\alpha$ -tocoferol de 9,3 e 20 mg por kg de milho seco artificialmente e milho seco em campo, respectivamente.

### **3.6.3 Efeitos da suplementação com vitamina E nas performances e na qualidade da carne de bovinos**

A cor é um componente muito importante da aparência da carne de bovino fresca e influencia fortemente a percepção de qualidade pelo consumidor. A descoloração da carne resulta em diminuição do valor da carne até à sua rejeição e perda. O custo de diminuir preço ou rejeitar carne é elevado, por isso, muitas tentativas de controlar a oxidação lipídica em carne têm sido feitas com antioxidantes.

A estratégia de maior sucesso encontrada até agora é a suplementação dos alimentos para animais com vitamina E, o que funciona como um antioxidante lipossolúvel nas membranas das células, protegendo os fosfolípidos e até o colesterol da oxidação. O aumento dos níveis de vitamina E no alimento resulta em maiores níveis de alfa-tocoferol nos tecidos e conseqüentemente maior estabilidade oxidativa destes tecidos.

Faustman et al (1989) observaram que aumentando o nível de alfa tocoferol nos tecidos pela suplementação diária de 500UI de vitamina E estabilizavam e reduziam a oxidação da mioglobina no músculo preservando a cor vermelha do músculo.

Determinou-se 3,3 µg/g de vitamina E no músculo, como a quantidade necessária para alargar a vida útil da carne segundo a sua cor e a estabilidade oxidativa dos lípidos (Arnold et al. 1993; Faustman et al. 1998), enquanto Liu (1995) estimou em 1,2 µg de α-tocoferol por grama de carne para melhorar a cor durante o tempo de exposição.

Para se aumentar uma determinada quantidade de Vit E no músculo pode atuar-se através da dose de vitamina E na dieta ou do tempo de administração dessa mesma dieta (Liu et al. 1996). Schwarz et al. (1998) conclui que a duração do tempo de suplementação com vitamina E teve mais efeito que o nível de suplementação em cor e estabilidade oxidativa da carne de novilho, enquanto a quantidade armazenada no músculo dependeu mais do nível de suplementação. Num estudo realizado por Arnold et al. (1992) conseguiram um aumento de vida útil da carne por estabilidade de cor de 2,5 a 4,8 dias no músculo *longissimus dorsi* com a utilização de 1200 UI/dia durante 38 dias, ou 1140UI/dia durante 67 dias ou 300/UI dia durante 270 dias.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. ENSAIO I: Efeito da substituição do óleo de palma saponificado por óleo de soja e da suplementação com vitamina E em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade da carne**

#### **4.1.1. Animais e parâmetros produtivos.**

Os cuidados, manipulação e procedimentos experimentais com os animais realizaram-se em conformidade com a diretiva Europeia 2010/63/EU para a proteção de animais utilizados em experimentação animal.

Este estudo realizou-se numa exploração comercial, a Fragaleite, especializada em crescimento e engorda de vitelos, situada na Zebreira, distrito de Castelo Branco. Esta exploração possuía uma unidade de crescimento e engorda para vitelos, constituída por 20 parques cobertos, exatamente iguais, todos no mesmo edifício, com o pavimento em cimento, com uma área aproximada de 50 m<sup>2</sup> cada um, equipados com uma tolva de alimentação para distribuição do alimento composto, um comedouro com palha e dois bebedouros de nível constante de inox, que permitiram fornecer os alimentos e água *ad libitum* durante o período de ensaio.

Utilizaram-se 54 vitelos de raça Holstein-Frísia com seis meses de idade, castrados ao mês de idade, todos provenientes da mesma exploração leiteira, submetidos ao mesmo sistema alimentar, depois do desmame alimentados com concentrado *ad libitum* e palha de trigo (3,5% PB, 1,6% GB, 70,9% FND, 6,1% cinzas e 0,30 UFC; MS). Tinham um peso vivo médio de 248 ± 23,4 kg. Grupos de 6 animais foram distribuídos aleatoriamente por 9 parques, adjacentes, sendo 3 parques por tratamento experimental, num desenho unifatorial completamente casualizado.

Após 15 dias de adaptação, deu-se início ao período experimental que teve a duração de 58 dias. Os animais foram pesados no início, aos 25 dias e no final do período de ensaio (dia 58), sempre à mesma hora (09.00h). As pesagens realizaram-se com uma balança TRU-TEST com uma plataforma de alumínio desmontável, apoiada sobre duas barras com sensores EC2000 com uma precisão de ±100 gramas.

Todo o alimento concentrado distribuído aos animais foi pesado desde o primeiro dia de ensaio, e no último dia pesaram-se as sobras, sendo assim possível quantificar o consumo total de alimento concentrado por parque.

Depois de terminado o ensaio, os animais foram transportados para o matadouro de Alcains, a 46 km da exploração, onde foram abatidos de imediato, de acordo com todos os procedimentos legais e com a rotina habitual em matadouros industriais.

O rendimento da carcaça fria (RCF) foi calculado pela seguinte equação  $RCF = \text{peso carcaça fria (kg)} / \text{peso vivo (kg)} * 100$ . O peso vivo final foi avaliado na exploração, previamente ao transporte para o matadouro.



Figura 2. Parques da exploração Fragaleite utilizados no ensaio.

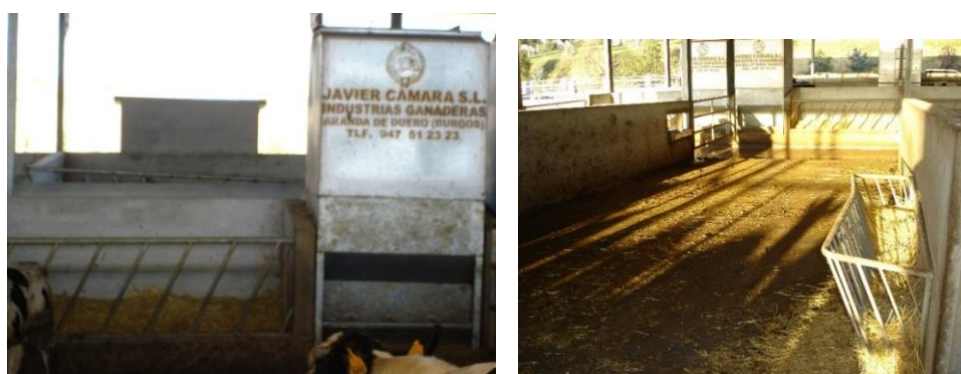


Figura 3. Tolva de alimentação e palheira do parque.



Figura 4. Balança utilizada para a pesagem individual de cada animal.

#### 4.1.2. Dietas

Os animais foram alimentados, durante o período de adaptação e a totalidade do período de ensaio, com palha de trigo de boa qualidade fornecida *ad libitum* e com um dos três alimentos compostos experimentais, também fornecidos *ad libitum*: **controle** - alimento composto comercial com 4,7 % de óleo de palma saponificado (OPS); **óleo de Soja** - o mesmo alimento composto mas com 4% de óleo de soja em substituição do óleo de palma (OS); **óleo de Soja + Vit E** - alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de vitamina E (OSVTE) (Lutavit E 50, BASF, Alemanha). Os alimentos compostos experimentais foram formulados de acordo com o objetivo de serem isoenergéticos e isoproteicos e de conterem a mesma concentração de gordura, tendo como base as recomendações nutricionais (INRA 2007) para dietas de acabamento de vitelos de raça Holstein-Frísia.

Na (Tabela 1) apresenta-se a composição dos três alimentos compostos experimentais e na (Tabela 2) a respetiva composição química e valor nutritivo dos mesmos.

**Tabela 1. Composição dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca).**

Ingredientes	OPS	OS	OSVTE
Milho	40,7	40,7	40,7
Cevada	15,0	15,0	15,0
Sêmea de Trigo	10,0	10,0	10,0
Bagaço Soja 44%	7,8	7,8	7,8
Bagaço Colza	7,0	7,0	7,0
Corn Gluten Feed	6,8	6,8	6,8
Destilados e solúveis de Milho	5,0	5,0	5,0
Óleo de Palma Saponificado	4,7	-	-
Óleo de Soja	-	4,0	4,0
Carbonato de cálcio	1,7	2,4	2,4
Bicarbonato de sódio	0,8	0,8	0,8
Premix Vit/Min <sup>1</sup>	0,3	0,3	0,3
Sal	0,2	0,2	0,2
Vitamina E, (mg/kg)	-	-	50,0

(OPS) - alimento composto com 4% de óleo de palma saponificado; (OS) - alimento composto com 4% de óleo de soja; (OSVTE) - alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de vitamina E.

<sup>1</sup>composição (kg): 2 500 000 U.I. Vitamina A; 500 000U.I. Vitamina D3; 8,33 g Vitamina E; 0,6 g Vitamina B1; 6,67g de Manganésio; 16,67g de Zinco; 2,67g de Cobre; 6,67g de Ferro; 0,2g de Cobalto; 0,2g de Iodo; 0,067g de selênio; 25g de enxofre; 100g de magnésio.

**Tabela 2. Composição química e valor nutritivo dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca) (Fedna 2008).**

Nutrientes	OPS	OS	OSVTE
Matéria seca	88,00	88,00	88,00
UFC/kg	1,05	1,05	1,05
Proteína bruta	14,80	14,80	14,80
Fibra bruta	4,62	4,62	4,62
Fibra neutro detergente	18,96	18,96	18,96
Fibra ácido detergente	6,80	6,80	6,80
Cinza	7,40	6,72	6,72
Amido	37,00	37,00	37,00
Gordura bruta	7,00	7,00	7,00
Vit E, mg/kg	25,00	25,00	75,00

(OPS) - alimento composto com 4% de óleo de palma saponificado; (OS) - alimento composto com 4% de óleo de soja; (OSVTE) - alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de vitamina E.

UFC/Kg MF = Unidade Forrageira de Carne por kilogramo de Matéria Fresca;

Para avaliar a composição dos alimentos fabricados foram recolhidas 8 amostras de cada lote produzido, sendo posteriormente analisadas no laboratório próprio da Sorgal e de acordo com as Normas Oficiais para a determinação da matéria seca ISO6496 (1999), da proteína bruta ISO5983 (1997), da gordura bruta ISO6492 (1999) e da fibra ISO13906 (2008) para a determinação de FND a FAD, cujos resultados obtidos se apresentam na (Tabela 3).

**Tabela 3. Resultados das análises químicas dos alimentos compostos experimentais (% da matéria fresca) realizadas no Laboratório próprio da Sorgal.**

Nutrientes	OPS	OS	OSVTE
Matéria seca	89,08	89,21	89,19
Proteína bruta	15,94	15,31	15,50
Fibra bruta	4,49	4,65	4,22
Amido	40,19	40,93	40,89
Gordura Bruta	6,06	6,14	6,17

(OPS) - alimento composto com 4% de óleo de palma saponificado; (OS) - alimento composto com 4% de óleo de soja; (OSVTE) - alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de vitamina E.

Na (Tabela 4) apresenta-se o perfil de ácidos gordos das gorduras utilizadas no fabrico dos alimentos compostos (óleo saponificado de palma e óleo de soja), analisadas com base no método One Step, proposto por Sukhija & Palmquist (1988). Os esteres metílicos dos ácidos gordos analisaram-se por cromatografia de gases utilizando um comatógrafo Hewlett Packard 5890 (Avondale, PA, USA) equipado com um injetor de split (1/50), detetor de ionização (FID) e coluna capilar marca Teknokroma com fase estacionária polar de cianosiliconas (100m x 0,25 mm x 0.22 µm). As condições de trabalho foram: temperatura do injetor: 230° C; temperatura do detetor: 250°C.

Como gás solvente utilizou-se o Hélio, o fluxo da coluna foi de 1 ml/min e a pressão 17.9 psi. No FID utilizou-se hidrogénio com um fluxo de 32ml/min e azoto com um fluxo de 31.7 ml/min. O fluxo do *split* foi de 32,5 ml/min. Os vias de lavagem continham tolueno.

A Identificação individualizada de ácidos gordos realizou-se mediante o emprego de misturas conhecidas de padrões externos, Supelco TM 37 component FAME Mix. Os ácidos gordos identificados expressaram-se em gramas de ácido gordo/100g de ácidos gordos identificados nas amostras.

**Tabela 4. Composição dos ácidos gordos (% do total dos ácidos gordos identificados) das gorduras incluídas nos alimentos compostos experimentais.**

Ácidos gordos	OPS	OS
12:0	0,30	0,14
14:0	1,00	0,20
16:0	43,00	10,50
16:1	0,08	0,20
18:0	4,40	3,80
18:1 <i>cis</i> -9	37,10	21,70
18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	9,90	53,10
18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12 <i>cis</i> -15 n-3	0,30	7,40

(OPS) - alimento composto com 4% de óleo de palma saponificado; (OS) - alimento composto com 4% de óleo de soja;



**Figura 5. Aspeto das carcaças 24 após o abate, antes e depois da recolha das amostras**

#### 4.1.3. Avaliação da qualidade da carne

A avaliação das características físico-químicas da carne foi realizada em amostras do músculo *longissimus dorsi*, colhidas entre a 6ª e a 9ª costela 24 horas após o abate, em três carcaças de vitelos selecionados aleatoriamente em cada parque (nove animais por tratamento). As amostras foram recolhidas dissecando o espaço acima da 6ª costela da meia carcaça esquerda, realizando-se o corte de forma perpendicular ao eixo da coluna vertebral, começando pelo espaço intercostal até chegar à vertebra, segundo o método indicado por Robelin e Geay, (1974). Recolheram-se assim 5 amostras de carne, com cerca de 2 cm de espessura. Foram embaladas a vácuo e refrigeradas a uma temperatura de 0-4 °C até ao processamento em laboratório ao quinto dia após o abate. Todas as amostras foram identificadas com o número do animal e numeradas de 1 a 5, destinando-se às seguintes determinações:

- Amostra 1 - pH, cor e força de corte 5 dias após o abate
- Amostra 2 - pH, cor e força de corte 21 dias após o abate
- Amostra 3 – pH e cor 42 dias após o abate
- Amostra 4 – Análise química e perfil de ácidos gordos
- Amostra 5 – Painel de provadores

Ao dia 5 após o abate as amostras destinadas ao painel de provadores e à análise química foram congeladas a -20 °C, permanecendo as que se destinavam a análises do pH e da cor refrigerados até a data de realização das mesmas, sendo nessa data também congeladas a -20 °C até à determinação de força de corte.



Figura 6. Amostra de carne recolhida, antes da desossa (A) e amostras já embaladas e identificadas, prontas a congelar até à realização do painel de provadores.

#### 4.1.3.1. Determinação do pH e da cor da carne

O pH e a cor da carne, foram avaliados, aos 5, aos 21 e aos 42 dias após o abate. As amostras foram retiradas das bolsas de vácuo e deixados ao ar durante cerca de uma hora a oxigenar (*blooming*).

O pH foi medido com um potenciómetro portátil (modelo HI 99163, Hanna Instruments Inc., Rhode Island, USA) equipado com um elétrodo de penetração, em dois locais diferentes do músculo, sendo o valor final a média aritmética dos valores obtidos.

A cor da carne foi determinada usando um colorímetro Minolta CR 300 (Konica Minolta Holdings Inc., Tokio, Japan). O sistema utilizado neste trabalho foi o CIE L\* a\* b\*, em que a componente L\* é designada por Luminosidade, e a\* e b\* são designados por coordenadas de cromaticidade, em que a\* corresponde ao índice de vermelhos e o b\* ao índice de amarelos. As coordenadas de cromaticidade foram ainda usadas para calcular o Tom (h\*) e a saturação (C\*) com base nas seguintes equações:

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

$$h^* \text{ (Tom)} = \arctang(b^*/a^*) \text{ (de 0 a } 360^\circ)$$

Realizaram-se duas medições em localizações diferentes, tendo o cuidado de evitar acumulações de gordura ou de tecido conjuntivo, sendo os valores finais, a média aritmética dos valores registados.

Após as determinações do pH e da cor, as amostras foram congeladas a -20 °C até à realização da determinação da força de corte.



Figura 7. Vista geral das amostras, enquanto aguardam o tempo necessário para oxigenar e realizar o teste de cor.

#### 4.1.3.2. Determinação da força de corte e das perdas por cozedura

As amostras de carne reservadas para efetuar as determinações da força de corte e das perdas por cozedura foram descongeladas durante 24 horas a temperatura de refrigeração (0 - 4 °C). Depois de descongeladas, as amostras foram retiradas dos sacos e após a remoção gordura intermuscular e do epimísio foram pesadas. Após o registo do peso os bifes foram grelhados num grelhador elétrico (Modular 65/70 FTES, Modular System Ltd., Italy), previamente aquecido a 250°C, até ser atingida a temperatura de 71 °C no seu centro geométrico. A temperatura foi monitorizada com auxílio de um termopar (Lufft C120, Munchen, German). Após arrefecimento à temperatura ambiente, os bifes foram secos com papel absorvente e novamente pesados. As perdas foram calculadas com a seguinte equação:

$$\text{Perdas de água por Cozedura} = (A - B) / A * 100$$

Em que,

A = Peso da amostra antes de cozinhada;

B = Peso da amostra após cozinhada.



**Figuras 8. Amostras pesadas, prontas a cozinhar; amostras a cozinhar.**

Para a determinação da força de corte utilizaram-se os bifes que serviram para o cálculo das perdas por cozedura. Após a segunda pesagem, foram preparadas em cada bife 8 a 10 subamostras, com a forma paralelepípedica com 1 cm<sup>2</sup> de secção e cortadas paralelamente ao eixo das fibras musculares. Para avaliação de força de corte utilizou-se um texturómetro TA-TX Plus Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK), com uma célula de 30 kg, e equipado com uma lâmina de corte do tipo Warner-Bratzler. Os cortes realizaram-se perpendicularmente ao sentido das fibras musculares a uma velocidade de 300 mm/min (Monteiro 2012).

Os valores obtidos foram registados com o software Texture Expert Exceed (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK). Avaliamos o valor de força máxima (FC) exercida para cortar a carne. Os valores finais correspondem à média aritmética dos valores obtidos no corte das 8 a 10 amostras.



**Figura 9. Amostras de carne, recortada no sentido das fibras do músculo, preparada para avaliação de força de corte.**

#### 4.1.3.3. Painel de provadores

As características organolépticas da carne foram avaliadas por um painel de provadores da FMV com cerca de três anos de experiência na avaliação sensorial da carne. O recrutamento, seleção e treino dos provadores foi descrito por Costa *et al.* (2017). Para estas provas o painel foi constituído por 12 provadores, quatro do sexo masculino e oito do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 25 e os 65 anos, investigadores ou docentes da FMV.

Para cada sessão de avaliação foram descongelados 9 bifes (3 de cada tratamento) durante 24 horas a uma temperatura de 0-4°C, tendo sido cozinhados do mesmo modo que o referido para a determinação da força de corte. Sem deixar arrefecer, removeu-se todo o tecido conjuntivo exterior e prepararam-se amostras com sensivelmente 2 x 2 x 2 cm, que foram mantidas a cerca de 60°C até ao momento da prova. A cada provador foi servido um prato com duas amostras de cada tratamento. Água destilada e bolachas sem sal foram disponibilizadas para limpar o palato entre amostras.

Os provadores classificaram as amostras quanto à tenrura, à suculência, à intensidade do flavour (considerado como o flavour característico da carne de bovino), à intensidade de off-flavours (considerado como qualquer flavour indesejável ou não característico da carne de bovino) e apreciação global, numa escala estruturada de 8 pontos, sendo 1 extremamente rija, seca, fraco e pouco desejável e 8 extremamente tenra, suculenta, intenso e desejável. Para os off-flavours utilizou-se uma escala estruturada de 9 pontos, em que zero corresponde a ausência e 8 extremamente intenso.

Atributos			
Valor	Descrição	Importância (0-10)	Aperfeiçoamento
1 (Estrutura)	1.1. Estrutura	1.1. Estrutura	1.1. Estrutura
2 (Sabor)	2.1. Sabor	2.1. Sabor	2.1. Sabor
3 (Aparência)	3.1. Aparência	3.1. Aparência	3.1. Aparência
4 (Textura)	4.1. Textura	4.1. Textura	4.1. Textura
5 (Aroma)	5.1. Aroma	5.1. Aroma	5.1. Aroma
6 (Cor)	6.1. Cor	6.1. Cor	6.1. Cor
7 (Outros)	7.1. Outros	7.1. Outros	7.1. Outros

Atributos (0-10) - Nota										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1. Estrutura (1-5)										
2. Sabor (1-5)										
3. Aparência (1-5)										
4. Textura (1-5)										
5. Aroma (1-5)										
6. Cor (1-5)										
7. Outros (1-5)										



Figuras 10. Impresso para classificação pelo painel de provadores e vista geral da preparação da bancada individual para painel de provadores

#### 4.1.3.4. Perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular

Para determinar o perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular do *longissimus dorsi*, as amostras de carne foram liofilizadas num liofilizador marca Telstar modelo Lyoquest, -55. O método utilizado para a obtenção dos esteres metílicos dos ácidos gordos das amostras foi o descrito por Lee et al. (2012).

Os esteres metílicos dos ácidos gordos analisaram-se por cromatografia de gases segundo o método descrito para a análises do perfil de ácidos gordos das dietas experimentais. Os ácidos gordos identificados expressaram-se em gramas de ácido gordo/100g de carne.

#### 4.1.4. Vitamina E, colesterol e gordura intramuscular da carne.

O colesterol total e o  $\alpha$ -tocoferol foram extraídos de amostras de carne homogeneizadas após a saponificação com solução de KOH recentemente preparada, de acordo com o procedimento descrito por Prates et al. (2006). O colesterol e o  $\alpha$ -tocoferol foram separados por HPLC de fase normal

(Zorbax Rx-Sil com a coluna de proteção analítica de 12,5 mm correspondente, tamanho de partícula de 250 mm x 4,6 mm, tamanho de partícula de 5 µm, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, EUA), usando um sistema HPLC (Agilent 1100 series, Agilent Technologies Inc.) equipado com uma detecção de matriz de fotodiodo UV-Vis para colesterol (202 nm) e com uma detecção fluorescente para o  $\alpha$ -tocoferol (comprimento de onda de excitação de 295 nm e comprimento de onda de emissão de 325 nm) em série. O fluxo de solvente (30 ml/l de isopropanol em n-hexano) foi de 1 ml/min e os volumes de injeção foram de 100 µl para o colesterol e 20 µl para  $\alpha$ -tocoferol.

O conteúdo total de colesterol e  $\alpha$ -tocoferol no músculo foram determinados em duplicado, com base na técnica padrão externa, a partir de uma curva padrão para áreas de pico versus concentração de compostos.

A quantificação da gordura intramuscular executou-se com amostras de *longissimus dorsi* destinadas a análise química. A gordura intramuscular foi quantificada de acordo com o método oficial AOAC 945.16 (2000), e expresso em mg/g de músculo. De forma breve, as amostras de carne para gordura intramuscular foram liofilizadas num liofilizador (Edwards High Vacuum International, UK) (-60 °C). 0,25 g de carne picada liofilizada foi pesada, e depois de uma hora de hidrólise com HCL 4N, as amostras foram filtradas com filtros Whatman nº 1, que posteriormente foram secos a 103 ± 1 °C por uma hora. Depois de arrefecerem a temperatura ambiente os filtros foram inseridos em dedais (de celulose) para extração. A extração foi feita com éter de petróleo durante 6 horas. Após a evaporação do éter de petróleo os balões de extração de Soxlet (500ml) foram colocados na estufa durante a noite a 103°C para completar o processo de evaporação.

#### **4.1.5. Análise estatística**

A análise de dados foi feita utilizando os procedimentos do programa estatístico SAS (versão 9.1 Inst. Inc., Cary, USA, 2004).

Em primeiro lugar fez-se o diagnóstico do modelo, utilizou-se o procedimento univariável, e considerou-se que os resultados se distribuíram de uma forma normal porque o teste estatístico Shapiro-Wilk foi igual ou maior do que 0,05.

Os dados produtivos obtidos foram analisados segundo um desenho unifactorial completamente aleatorizado mediante análises de variância, utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS.

Para o estudo da evolução do peso vivo dos animais, o ganho médio diário foi considerado o animal como unidade experimental (n=18). No modelo utilizado, nas variáveis que estudam a evolução do peso dos animais durante a engorda, inclui-se o peso inicial como covariável.

Foi assumido que um efeito de parque era negligenciável devido ao facto de todos os parques serem exatamente iguais, e adjacentes dentro do mesmo edifício, o manejo utilizado era igual entre parques e animais, grande uniformidade de animais entre parques em termos de genótipo (todos provenientes da mesma vacaria), estado fisiológico e estado sanitário e não houve alteração de animais de cada parque durante o ensaio (St. Pierre et al. 2007). Foi também assumido que para as variáveis dependentes, as respostas individuais de cada animal não estão correlacionadas devido a: 1) foi utilizado mesmo número de animais e a mesma densidade em todos os parques, não houve acesso diferencial à alimentação devido ao comportamento social e não houve competição pelo espaço entre os animais dentro dos parques 2) foi demonstrado que a correlação das respostas individuais dos animais dentro dos currais é baixa para as variáveis dependentes que medem a qualidade da carne (Jauhainen et al. 2008)

Estabeleceram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ . Valores de  $P < 0,1$  discutem-se como tendência. As diferenças entre médias dos distintos tratamentos estabeleceram-se segundo o método LSD.

Para o estudo das variáveis: ingestão de alimento e índice de conversão, considerou-se como unidade experimental o parque (n=3), uma vez que a ingestão de alimento composto foi medida por parque. Para as variáveis relacionadas com a qualidade de carne utilizou-se os vitelos selecionados de cada parque (n=9).

Os dados de qualidade de carne obtidos nos diferentes dias de maturação (5, 21 e 42 dias), analisaram-se mediante uma análise de medidas repetidas, utilizando o PROC MIXED do programa estatístico SAS (versão 9.1 Inst. Inc., Cary, NC). Para obter simuladores de variância robustos elegeram-se as melhores estruturas de covariância das variáveis de resposta, em função dos critérios de Akaike & Schwarz. Os dados apresentam-se como médias corrigidas por mínimos quadrados. A comparação entre as médias realizou-se mediante um teste de Tukey. Estabeleceram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ . Valores de  $P < 0,1$  discutem-se como tendência.

Os resultados de painel de provadores foram verificados quanto à normalidade e homogeneidade da variância, para as variáveis avaliadas pelo painel. Foram encontradas diferenças significativas de variância entre os grupos e, portanto, foram analisadas pelo modelo PROC MIXED para heterogeneidade de variância. O modelo incluiu os grupos OPS, OS e OSVTE como efeitos fixos. Estabeleceram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ .

## **4.2. ENSAIO II: Efeito da suplementação de dietas de acabamento para vitelos com diferentes níveis de vitamina E: desempenho produtivo e qualidade da carne**

### **4.2.1 Animais e parâmetros produtivos**

Este segundo ensaio decorreu na mesma exploração que o Ensaio 1, na Fragaleite em Zebreira, pelo que as instalações foram as mesmas e já foram descritas no capítulo anterior.

Utilizaram-se 54 vitelos castrados de raça Holstein-Frísia com cerca de seis meses de idade, inteiros, todos provenientes da mesma exploração leiteira, e que tinham um peso vivo médio de  $200,5 \pm 24,1$  kg. Grupos de 6 animais foram distribuídos aleatoriamente por 9 parques, sendo 3 parques por tratamento experimental, num desenho unifactorial completamente casualizado.

Após 15 dias de adaptação, deu-se início ao período experimental que teve a duração de 60 dias. Os animais foram pesados no início, aos 30 dias e no final do período de ensaio (dia 60), sempre à mesma hora (09.00h) e em jejum. As pesagens realizaram-se com uma balança TRU-TEST com uma plataforma de alumínio desmontável, apoiada sobre duas barras com sensores EC2000 com uma precisão de  $\pm 100$  gramas.

Todo o alimento concentrado distribuído aos animais foi pesado desde o primeiro dia de ensaio, e no último dia pesaram-se as sobras, sendo assim possível quantificar o consumo total de alimento concentrado por parque.

Depois de terminado o ensaio, os animais foram transportados para o matadouro de Alcains, a 46 km da exploração, onde foram abatidos de imediato, de acordo todos os procedimentos legais e com a rotina habitual em matadouros industriais.

O rendimento da carcaça fria (RCF) foi calculado pela seguinte equação  $RCF = \text{peso carcaça fria (kg)} / \text{peso vivo (kg)} * 100$ .

#### 4.2.2. Dietas

Neste segundo ensaio, os animais foram alimentados, durante o período de adaptação e a totalidade do período de ensaio, com palha de trigo de boa qualidade fornecida *ad libitum* e com um dos três alimentos compostos experimentais, também fornecidos *ad libitum*: **O. Soja + VitE<sub>75</sub>** (OSVTE<sub>75</sub>) – alimento composto comercial com 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de Vitamina E; **O. Soja + Vit E<sub>125</sub>** (OSVTE<sub>125</sub>) – o mesmo alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 100 mg/kg de Vitamina E; **O. Soja + Vit E<sub>225</sub>** (OSVTE<sub>225</sub>) – o mesmo alimento composto com 4% de óleo de soja mas suplementado com 200 mg/kg de Vitamina E, Lutavit E 50, BASF (Germany). Os alimentos compostos experimentais foram formulados de acordo com o objetivo de serem isoenergéticos e isoproteicos e de conterem a mesma concentração de gordura, tendo como base as recomendações nutricionais INRA (2007) para dietas de acabamento de vitelos de raças precoces. O alimento concentrado comercial que serviu de base à elaboração dos alimentos compostos experimentais tinha 25 mg/kg de Vitamina E. Na (Tabela 5) mostra-se a composição dos alimentos compostos experimentais e na (Tabela 6) a composição química e valor nutritivo dos mesmos.

**Tabela 5. Composição dos alimentos compostos experimentais (em % matéria fresca).**

Ingredientes	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>
Milho	40,7	40,7	40,7
Cevada	15,0	15,0	15,0
Sêmea de Trigo	10,0	10,0	10,0
Bagaço Soja 44%	7,8	7,8	7,8
Bagaço Colza	7,0	7,0	7,0
Corn Gluten Feed	6,8	6,8	6,8
Destilados a solúveis de Milho	5,0	5,0	5,0
Óleo de Soja	4,0	4,0	4,0
Carbonato de cálcio	2,39	2,38	2,36
Bicarbonato de sódio	0,8	0,8	0,8
Premix Vit/Min <sup>1</sup>	0,3	0,3	0,3
Sal	0,2	0,2	0,2
Lutavit E 50	0,01	0,02	0,04

(OSVTE<sub>75</sub>) – alimento composto 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>125</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 100 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>225</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 200 mg/kg de Vitamina E.

<sup>1</sup>composição (por kg): 2 500 000 U.I. vitamina A; 500 000U.I. vitamina D3; 8,33 g vitamina E; 0,6 g vitamina B1; 6,67g de manganésio; 16,67g de zinco; 2,67g de cobre; 6,67g de ferro; 0,2g de Cobalto; 0,2g de Iodo; 0,067g de selênio; 25g de enxofre; 100g de magnésio;

**Tabela 6. Composição química e valor nutritivo dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca), (FEDNA 2008).**

	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>
Matéria seca	88,00	88,00	88,00
UFC/kg MF	1,05	1,05	1,05
Proteína bruta	14,80	14,80	14,80
Fibra bruta	4,62	4,62	4,62
Fibra Neutro Detergente	18,96	18,96	18,96
Fibra Ácido Detergente	6,80	6,80	6,80
Cinza	6,72	6,72	6,72
Amido	37,00	37,00	37,00
Gordura Bruta	7,00	7,00	7,00
Vit E, mg/kg	75,00	125,00	225,00

(OSVTE<sub>75</sub>) – alimento composto 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>125</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 100 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>225</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 200 mg/kg de Vitamina E.

UFC/Kg MF = Unidade forrageira de Carne por kilograma de Materia Fresca;

Para avaliar a composição dos alimentos fabricados foram recolhidas 8 amostras de cada lote produzido e foram analisados em laboratórios próprios da Sorgal segundo as normas oficiais para matéria seca (NP 875:1994), proteína bruta (NP EN ISO 10634:2009), gordura bruta (NP ISO 6492:2014) e fibra bruta (NP EN ISSO 6895:2009). Os resultados obtidos apresentam-se na (Tabela 7).

**Tabela 7. Resultados das análises químicas dos alimentos compostos experimentais (em % da matéria fresca) realizadas no Laboratório próprio da Sorgal.**

Nutrientes	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>
Matéria seca	89,19	89,24	89,15
Proteína bruta	15,55	15,40	15,58
Fibra bruta	4,29	4,22	4,13
Amido	40,34	40,89	40,45
Gordura bruta	6,21	6,17	6,05

(OSVTE<sub>75</sub>) – alimento composto 4% de óleo de soja suplementado com 50 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>125</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 100 mg/kg de Vitamina E; (OSVTE<sub>225</sub>) –alimento composto com 4% de óleo de soja suplementado com 200 mg/kg de Vitamina E.

#### **4.2.3. Avaliação da qualidade da carne**

A avaliação da qualidade da carne foi realizada em amostras do músculo *longissimus dorsi*, colhidas entre a 6ª e a 9ª costela 24 horas após o abate, em três carcaças de vitelos selecionados aleatoriamente em cada parque (nove animais por tratamento). As amostras foram recolhidas dissecando o espaço acima da 6ª costela da meia carcaça esquerda, realizando-se o corte de forma perpendicular ao eixo da coluna vertebral, começando pelo espaço intercostal até chegar à vertebra, segundo o método indicado por Robelin e Geay, (1974). Recolheram-se assim 3 amostras de carne, com cerca de 2 cm de espessura, que foram embaladas a vácuo e refrigeradas a uma temperatura de 0-4 °C até ao processamento em laboratório ao quinto dia após o abate. Todas as amostras foram identificadas com o número do animal e numeradas de 1 a 3, destinando-se às seguintes determinações:

Amostra 1 - pH, cor, força de corte e análise química 7 dias após o abate

Amostra 2 – pH e cor 21 dias após o abate

Amostra 3 – pH e cor a análise química 42 dias após o abate

Ao dia 5 após o abate as amostras destinadas à análise química foram congeladas a -20 °C após a determinação do pH e da medição da cor. As amostras 2 e 3 mantiveram-se refrigeradas até ao dia 21 e 42, em que foram também congeladas após a determinação do pH e da cor até ao seu processamento posterior.

#### **4.2.3.1. Determinação do pH e da cor da carne**

As determinações do pH e da cor das amostras de carne recolhidas realizaram-se exatamente com base nos mesmos procedimentos e equipamentos descritos no Capítulo 4.1.3.1. Determinação do pH e da cor da carne.

#### **4.2.3.2. Determinação da força de corte e das perdas por cozedura**

As determinações da força de corte e das perdas por cozedura das amostras de carne recolhidas realizaram-se exatamente com base nos mesmos procedimentos e equipamentos descritos no Capítulo 4.1.3.2. Determinação da força de corte e das perdas por cozedura.

#### **4.2.3.3. Análise de ácido tiobarbiturico**

A determinação do grau de oxidação foi realizada pela técnica de medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrita por Bootsoglou et al. (1994) e modificada por Grau et al. (2000). Resumidamente, pesamos 2 gramas de carne picada e adicionamos 1 ml

de EDTA (0,3% em solução aquosa), 5 ml de BHT (0,8% em hexano) e 8 ml de TCA (5% em solução aquosa). A mistura foi homogeneizada a 19000 rpm durante 30 segundos, mantendo os tubos em gelo, seguido de uma centrifugação a 2500 rpm durante 5 min. A parte superior constituída por hexano foi descartada e o restante foi filtrado e ajustado o volume a 10 ml com solução de TCA. Uma alíquota de 2,5 ml foi removida e 1,5 ml de solução de TBA foi adicionada. Foi a incubar durante 30 minutos a 70 °C. Depois de arrefecer os tubos em água, a absorvência foi medida a 532 nm contra uma amostra em branco (2,5 ml TCA + 1,5 ml TBA). Todas as análises foram feitas em duplicado e utilizado o valor médio para cada uma delas. Os resultados são expressos em mg de malondialdeído (MDA) por kg de carne.

#### **4.2.4. Análise estatística**

A análise de dados foi feita utilizando os procedimentos do programa estatístico SAS (versão 9.1 Inst. Inc., Cary, NC).

Em primeiro lugar fez-se o diagnóstico do modelo, utilizou-se o procedimento univariável, e considerou-se que os resultados se distribuíram de uma forma normal porque o teste estatístico Shapiro-Wilk foi igual ou maior do que 0,05.

Os dados produtivos obtidos foram analisados segundo um desenho unifactorial completamente aleatorizado mediante análises de variância, utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS.

Para o estudo da evolução do peso vivo dos animais, ganho médio diário e características da carcaça foi considerado o animal como unidade experimental (n=18). No modelo utilizado, nas variáveis que estudam a evolução do peso dos animais durante a engorda, inclui-se o peso inicial como covariável.

Estabeleceram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ . Valores de  $P < 0,1$  discutem-se como tendência. As diferenças entre médias dos distintos tratamentos estabeleceram-se segundo o método LSD.

Para avaliar os diversos parâmetros de qualidade de carne foram aleatoriamente recolhidas amostras de 3 carcaças de cada parque e de cada tratamento ( $n=9$ ).

Os dados de qualidade de carne obtidos nos diferentes dias de maturação (5, 21 e 42 dias) foram analisados mediante uma análise de medidas repetidas, utilizando o procedimento MIXED do programa estatístico SAS (Versão 9.1 Inst. Inc., Cary, NC). Para obter simuladores de variância robustos elegeram-se as melhores estruturas de covariância das variáveis de resposta, em função dos critérios de Akaike e de Schwarz. Os dados apresentam-se como médias corrigidas por mínimos quadrados. A comparação entre as médias realizou-se mediante um teste de Tukey. Estabeleceram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ . Valores de  $P < 0,1$  discutem-se como tendência

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Ensaio I: Efeito da substituição do óleo de palma saponificado por óleo de soja e da suplementação com Vitamina E em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo a qualidade de carne.**

#### **5.1.1. Animais e parâmetros produtivos**

Na (Tabela 8) apresentam-se os resultados obtidos, nos parâmetros produtivos e nas características da carcaça dos animais utilizados no ensaio.

Os vitelos do tratamento OSVTE alcançaram um peso vivo aos 58 dias significativamente mais alto do que o tratamento OPS. Não observamos diferenças significativas no peso vivo aos 58 dias entre os vitelos do tratamento OPS a OS, nem entre os tratamentos OS a OSVTE. O mesmo efeito foi observado para a ganho médio diário total do período de experimentação. Os animais do tratamento OSVTE demonstraram um ritmo de crescimento superior ( $p < 0,05$ ) que os vitelos do tratamento OPS, 1,53 vs 1,32 kg/dia, respectivamente. Não existiram diferenças estatisticamente significativas para o GMD entre os tratamentos OPS e OS, nem entre OS e OSVTE.

Igualmente, para o período compreendido entre os 25 a 58 dias do ensaio experimental, os animais dos tratamentos OS e OSVTE apresentaram um GMD significativamente mais elevado ( $p < 0,05$ ) que o tratamento OPS (1,47, 1,53 vs 1,32 kg/d). Durante o período do ensaio, o tratamento OSVTE, teve um efeito significativo promovendo um maior ganho médio diário dos animais que consumiram este tratamento.

**Tabela 8. Parâmetros produtivos e características da carcaça de vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controle (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)).**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OPS	OS	OSVTE		
Peso vivo inicial (kg)	252,93	248,21	242,86	6,300	0,5328
Peso vivo 25 dias (kg)	281,16	284,11	286,14	1,546	0,0918
Peso vivo 58 dias (kg)	325,16 <sup>b</sup>	333,44 <sup>ab</sup>	336,25 <sup>a</sup>	3,094	0,0451
GMD 25 dias (kg/dia)	1,31	1,44	1,54	0,063	0,0535
GMD 58 dias (kg/dia)	1,33 <sup>b</sup>	1,49 <sup>a</sup>	1,52 <sup>a</sup>	0,050	0,0212
GMD Total (kg/dia)	1,32 <sup>b</sup>	1,47 <sup>ab</sup>	1,53 <sup>a</sup>	0,053	0,0278
Ingestão de matéria fresca <sup>2</sup> (kg/d)	7,43	7,88	7,99	0,510	0,3376
Índice de conversão <sup>2</sup> (kg/kg)	5,69	5,55	5,27	0,831	0,7418
Peso de carcaça fria (kg)	158,06 <sup>b</sup>	162,69 <sup>b</sup>	168,97 <sup>a</sup>	1,741	0,0004
Rendimento de carcaça (%)	48,76	48,77	50,14	0,498	0,0893

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média; <sup>a, b, c</sup> Índices diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ )

<sup>2</sup>Para ingestão de matéria fresca e índice de conversão  $n=3$

Os vitelos que consumiram a dieta OSVTE apresentaram um peso de carcaça fria, significativamente mais alto ( $p < 0,05$ ) que os do tratamento OPS e OS (1,68,97 vs 158,06, 162,69 kg, respetivamente). Durante o período estudado, os vitelos do tratamento OSVTE apresentaram um maior ritmo de crescimento e um melhor peso de carcaça fria do que os vitelos que receberam as dietas OPS a OS.

Observou-se uma tendência ( $p=0,0893$ ) a um melhor rendimento de carcaça para os vitelos que receberam a dieta OSVTE frente aos dos tratamentos OPS e OS (50,14 vs 48,76, 48,77%, respetivamente).

As restantes características da carcaça não puderam ser avaliadas dado que todos os animais do ensaio foram classificados como “vitela” (categoria V), pelo que não foram sujeitos a classificação de carcaça quanto à conformação e quantidade de gordura.

## 5.1.2 Avaliação da qualidade da carne

### 5.1.2.1. pH e cor da carne

Na (Tabela 9) apresentam-se os resultados obtidos no que respeita aos valores de pH e dos parâmetros da cor da carne obtidos no músculo *longissimus dorsi* dos animais utilizados no ensaio.

O pH final da carne não variou significativamente entre grupos ( $p=0,2077$ ). O músculo longissimus dorsi dos animais alimentados com o tratamento OSVTE apresentou uma tendência ( $p=0,0614$ ) a um maior valor de luminosidade ( $L^*$ ) (38,41) que os vitelos alimentados com os tratamentos OPS e OS (34,97 e 34,48).

Como se observa na (Tabela 9), a carne dos animais alimentados com a dieta OS apresenta uma tendência ( $p=0,0763$ ) a um menor valor de índice vermelho ( $a^*$ ) (15,47) que os alimentados com as dietas OPS e OSVTE (16,72 e 16,49).

Verificaram-se diferenças significativas ( $p<0,05$ ) no índice de amarelo ( $b^*$ ), sendo o valor mais elevado o do grupo OSVTE (4,04), comparado com os obtidos na carne dos animais que receberam a dieta OPS (2,70) e OS (2,33).

O Tom ( $h^*$ ) foi significativamente maior ( $p<0,05$ ) na carne dos vitelos que consumiram a dieta OSVTE que dos vitelos que consumiram as dietas OPS e OS (13,16 vs 8,87, 8,5 respetivamente).

A carne dos vitelos que consumiram as dietas OPS e OSVTE apresentou uma tendência ( $p=0,0533$ ) a um maior valor de índice de saturação ( $C^*$ ) (16,99 e 17,06) que a carne dos vitelos alimentados com a dieta OS (15,66).

**Tabela 9. Valores de pH e dos parâmetros da cor da carne (L\*, a\*, b\*, Tom e Saturação) observados em amostras de *longissimus dorsi* dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.**

	Dietas experimentais				
	OPS	OS	OSVTE	DPM <sup>1</sup>	P
pH	5,61	5,65	5,60	0,021	0,2077
Luminosidade (L*)	34,97	34,48	38,41	1,200	0,0614
Índice de vermelho (a*)	16,72	15,47	16,49	0,370	0,0763
Índice de amarelo (b*)	2,70 <sup>b</sup>	2,33 <sup>b</sup>	4,04 <sup>a</sup>	0,443	0,0300
Tom (h*)	8,87 <sup>b</sup>	8,50 <sup>b</sup>	13,16 <sup>a</sup>	1,305	0,0105
Saturação (C*)	16,99	15,66	17,06	0,426	0,0533

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média; a, b, c índices diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ )

#### 5.1.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado

Na (Tabela 10) apresentam-se os resultados obtidos no que respeita aos valores de força de corte e das perdas por cozedura da carne obtidos no músculo longissimus dorsi dos animais utilizados no ensaio, não tendo sido verificadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos experimentais.

**Tabela 10. Valores de força de corte e das perdas por cozedura observados em amostras de longissimus dorsi dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.**

	Dietas experimentais				
	OPS	OS	OSVTE	DPM <sup>1</sup>	P
Força de corte (kg)	6,81	6,55	6,41	0,54	0,8705
Perdas por cozedura (%)	19,79	19,73	21,91	1,62	0,5631

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média; a, b, c Índices diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ )

### 5.1.2.3. Características organoléticas da carne

As características organoléticas da carne dos vitelos dos diferentes grupos experimentais foram avaliadas por um painel de provadores, não tendo sido registada nenhuma diferença significativa entre grupos ( $p > 0,05$ ), tal como se pode observar na (Tabela 11).

**Tabela 11. Resultados da avaliação das características organoléticas, por painel de provadores, das amostras de *longissimus dorsi* dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OPS	OS	OSVTE		
Tenrura	5,78	5,29	5,67	0,548	0,8300
Suculência	3,83	3,50	4,22	0,341	0,3859
Flavour	4,72	4,86	4,67	0,270	0,8942
Apreciação Global	4,89	4,86	5,28	0,440	0,7662

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média

#### 5.1.2.4. Perfil de ácidos gordos da carne

Tabela 12. Perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular (g/100g de músculo) de carne vitelos Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OPS	OS	OSVTE		
AGS	1,47	1,80	1,78	0,122	0,4622
12:0	0,01	0,01	0,01	0,000	0,5335
14:0	0,08	0,11	0,11	0,010	0,3821
15:0	0,01	0,01	0,02	0,001	0,1900
16:0	0,83	0,97	0,94	0,069	0,6725
17:0	0,03	0,04	0,05	0,003	0,1651
18:0	0,51	0,66	0,66	0,042	0,2425
AGM	1,30	1,53	1,57	0,099	0,4873
14:1	0,01	0,02	0,01	0,002	0,6419
16:1	0,08	0,09	0,10	0,008	0,7508
18:1 <i>trans</i>	0,10	0,11	0,16	0,010	0,0698
18:1 <i>cis</i> -9	1,05	1,24	1,24	0,081	0,5423
18:1 <i>cis</i> -11	0,05	0,06	0,06	0,003	0,2152
AGP	0,22	0,2514	0,26	0,0093	0,1648
18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12 <i>n</i> -6	0,15	0,18	0,19	0,0079	0,1679
18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA	0,0057	0,0058	0,0067	0,0006	0,7526
18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 CLA	0,0004	0,0007	0,0012	<0,000	0,1253
18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15 <i>n</i> -3	0,0053 <sup>b</sup>	0,0078 <sup>a</sup>	0,0085 <sup>a</sup>	0,0004	0,0309
20:3 <i>n</i> -6	0,01	0,01	0,01	0,0003	0,8894
20:4 <i>n</i> -6	0,04	0,04	0,04	0,0008	0,9827
20:5 <i>n</i> -3	0,0010 <sup>b</sup>	0,0012 <sup>ab</sup>	0,0014 <sup>a</sup>	<0,000	0,0179
22:5 <i>n</i> -3	0,0054 <sup>b</sup>	0,0058 <sup>ab</sup>	0,0062 <sup>a</sup>	0,0001	0,0413
<i>n</i> -6 AGP	0,20	0,23	0,24	0,0081	0,1744
<i>n</i> -3 AGP	0,0117 <sup>b</sup>	0,0148 <sup>a</sup>	0,0162 <sup>a</sup>	0,0005	0,0048
AGP/AGS	0,17	0,15	0,16	0,0099	0,7100
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3 AGP	17,3654 <sup>a</sup>	15,6051 <sup>b</sup>	14,7821 <sup>b</sup>	0,2450	0,0006
<i>Atherogenicity index</i> <sup>2</sup>	0,74	0,77	0,72	0,0209	0,6240
$\Delta^9$ <i>desaturase index</i> <sup>3</sup>	0,44	0,44	0,44	0,0037	0,9792
Total de ácidos gordos	3,00	3,58	3,62	0,2489	0,2265

<sup>1</sup>DPM: Desvio padrão da média

<sup>2</sup>Índice de aterogenicidade (12:0+4×14:0+16:0) / (AGM+AGP) (Ulbricht and Southgate, 1991).

<sup>3</sup>  $\Delta^9$  Índice Desaturase = (14:1 + 16:1 + 18:1) / (14:1 + 16:1 + 18:1 + 14:0 + 16:0 + 18:0) (Noci et al. 2006)

<sup>a, b</sup> Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas (P<0,05).

Na (Tabela 12) encontram-se os resultados da análise do perfil dos ácidos gordos da gordura intramuscular do *Longissimus dorsi* para cada um dos tratamentos experimentais (controlo, óleo de soja e óleo de soja + vitamina E).

Os principais ácidos gordos presentes na gordura intramuscular foram o ácido oleico (18:1 *cis*-9), o ácido palmítico (16:0) e o ácido esteárico (18:0). Não se observaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre tratamentos no conteúdo de 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, tendo sido observada apenas uma tendência ( $P = 0,0698$ ) para um valor mais elevado de (18:1 *trans*) na gordura intramuscular dos animais do grupo OSVTE, (0,16 g/100 g de carne) comparativamente ao tratamento OPS (0,10) a OS (0,11).

Nos ácidos gordos monoinsaturados, 14:1, 16:1, 18:1 *cis*-9, 18: *cis*-11, não se encontraram diferenças significativas entre os três tratamentos.

O tipo de tratamento do alimento, não influenciou ( $P > 0,05$ ) no conteúdo de 18:2 *cis*-9, *cis*-12 n-6; 18:2 *cis*-9, *trans*-11 CLA; 18:2 *trans*-10, *cis*-12 CLA; 20:3 n-6; 20:4 n-6

Verificou-se que a gordura intramuscular dos animais do grupo OS e OSVTE apresentaram valores mais elevados de ácido linolénico (18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 n-3), (0,0078 a 0,0085) respetivamente, frente a (0,0053) ao grupo ao OPS. A gordura intramuscular dos animais do grupo OSVTE apresentaram maior conteúdo em EPA (20:5 n-3) e DPA (22:5 n-3) (0,0014 a 0,0062), do que o grupo OS (0,0012 a 0,0058) sendo este ainda assim superior ao grupo OPS (0,0010 a 0,0054) respetivamente.

O tipo de tratamento utilizado não afetou de forma estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ) o conteúdo de ácidos gordos saturados (AGS), ácidos gordos monoinsaturados (AGM), nem o total de ácidos gordos polinsaturados (AGP), a relação polinsaturados/saturados, o total de ácidos gordos da série n-6 e nem o índice  $\Delta 9$  desaturase. Pelo contrário, o total de ácidos gordos da série n-3 presentes na gordura intramuscular foi mais elevado nos vitelos alimentados com o tratamento OSVTE (0,0162) frente a (0,0148) do grupo OS, que por sua vez foi superior ao valor obtido pelo grupo OPS (0,0117).

O índice de aterogenicidade, calculado a partir da proposta de Ulbricht a Southgate, (1991), não apresentou diferenças entre os tratamentos estudados ( $p=0,6240$ ).

### 5.1.3. Vitamina E, colesterol a % de gordura intramuscular da carne

Na (Tabela 13) apresentam-se os resultados obtidos no que respeita aos teores de gordura intramuscular, de Vitamina E e de Colesterol no músculo *longissimus dorsi* dos animais utilizados no ensaio. O teor de Vitamina E foi significativamente diferente entre os três tratamentos, verificando-se o valor mais elevado nos animais do grupo OSVTE e o mais baixo nos do grupo OPS. O teor de colesterol foi também mais elevado nos animais dos grupos OSVTE e OS do que nos do grupo OPS. O teor de gordura intramuscular não variou significativamente entre tratamentos.

**Tabela 13. Teores de gordura intramuscular, de vitamina E e de colesterol do músculo *Longissimus dorsi* dos vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com as três dietas experimentais (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), sujeitas a 5 dias de maturação.**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OPS	OS	OSVTE		
Gordura Intramuscular (%)	1,62	2,04	2,82	0,010	0,1443
Vitamina E (µg/g)	1,44 <sup>c</sup>	2,49 <sup>b</sup>	3,69 <sup>a</sup>	0,296	<0,0001
Colesterol (µg/g)	15,86 <sup>b</sup>	24,83 <sup>a</sup>	23,60 <sup>a</sup>	1,890	0,0051

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média; <sup>a, b, c</sup> Índices diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ( $P<0,05$ )

### 5.1.4. Qualidade de carne a diversos tempos de maturação

Na (Tabela 14) apresenta-se o efeito do tratamento (OPS, OS e OSVTE), do tempo de maturação (5, 21 e 42 dias) e da interação entre ambos

(tratamento x tempo de maturação) sobre os valores do pH e dos parâmetros da cor do músculo longissimus dorsi dos vitelos utilizados neste ensaio.

Em nenhum dos parâmetros avaliados se observaram diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ) para a interação entre o tipo de dieta e os dias de maturação.

Como se pode observar, verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na evolução do índice de vermelho ( $a^*$ ), índice de amarelo ( $b^*$ ), saturação ( $c^*$ ) e Tom ( $h^*$ ) ao longo dos dias de maturação estudados.

A Luminosidade manteve-se constante ao longo dos 42 dias do ensaio, (35,95), (36,13) e (35,83) aos 5, 21 e 42 dias de maturação. O índice de vermelho alcançou o valor mais alto ( $P < 0,05$ ) ao fim de 21 de maturação (17,84) comparativamente aos 5 dias (16,23) e 42 dias de maturação (15,71). O índice de amarelo foi mais alto ( $P < 0,05$ ) aos 21 (5,59) e 42 (5,21) dias do que aos 5 dias de maturação (3,02). A saturação foi mais alta aos 21 dias (18,73), ( $P < 0,05$ ) do que aos 42 (16,59) e 5 dias (16,57) de maturação respectivamente. O Tom foi mais baixo aos 5 dias de maturação, (10,18) ( $P < 0,0001$ ) comparando com os 21 (16,98) e os 42 dias de maturação (18,22).

**Tabela 14. Efeito da inclusão de diferentes fontes de gordura, (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), diferentes dias de maturação e a interação entre estes dois fatores (alimentos x dias de maturação) sobre o pH, e o valor das coordenadas L\*, a\*, b\*, Tom e Saturação do músculo *Longissimus dorsi*.**

	Dietas experimentais			Maturação			P		
	OPS	OS	OSVTE	5	21	42	D	DM	DxDM
pH	5,63±0,011	5,65±0,011	5,62±0,011	5,62±0,011	5,66±0,011	5,63±0,011	0,1870	0,0744	0,7769
L*	34,77±1,574	35,78±1,574	37,36±1,574	35,95±0,941	36,13±1,547	35,83±0,950	0,5107	0,9803	0,7229
a*	16,85±0,838	16,43±0,838	16,49±0,838	16,23 <sup>y</sup> ±0,395	17,84 <sup>x</sup> ±0,655	15,71 <sup>y</sup> ±0,677	0,9268	0,0066	0,8500
b*	4,18±0,550	4,40±0,550	5,25±0,550	3,02 <sup>y</sup> ±0,360	5,59 <sup>x</sup> ±0,360	5,21 <sup>x</sup> ±0,360	0,3599	<0,0001	0,6235
C*	17,43±0,940	17,07±0,940	17,39±0,940	16,57 <sup>y</sup> ±0,730	18,73 <sup>x</sup> ±0,730	16,59 <sup>y</sup> ±0,731	0,9575	0,0009	0,8359
h*	13,54±1,151	14,73±1,151	17,11±1,151	10,18 <sup>y</sup> ±0,793	16,98 <sup>x</sup> ±0,793	18,22 <sup>x</sup> ±0,793	0,104	<0,0001	0,3165

<sup>1</sup>D: efeito do tipo de dieta; DM: efeito dos dias de maturação; DxDM: efeito da interação entre ambos fatores

<sup>x, y, z</sup> Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

Na (Tabela 15) mostram-se os resultados obtidos com os diferentes tratamentos experimentais a distintos dias de maturação e a interação entre eles (alimentos x dias de maturação) sobre a força de corte e as perdas de cozinhado.

O efeito da dieta e a interação entre dieta e dias de maturação não apresentam efeitos significativos ( $P > 0,05$ ) sobre a força de corte e as perdas por cozinhado, no entanto a força de corte foi significativamente menor ( $P < 0,0001$ ) aos 21 dias de maturação (3,67 kg/cm<sup>2</sup>) do que aos 5 dias de maturação (6,59 kg/cm<sup>2</sup>).

As perdas por cozinhado não sofreram alteração ( $P > 0,05$ ) com os dias de maturação, 20,48% aos 5 dias de maturação e 20,75% aos 21 dias de maturação.

**Tabela 15. Efeito da inclusão de diferentes fontes de gordura, (controlo (OPS), óleo de soja (OS) e óleo de soja + vitamina E (OSVTE)), diferentes dias de maturação e a interação entre estes dois fatores (alimentos x dias de maturação) sobre parâmetros de textura e perdas por cozinhado no músculo *Longissimus dorsi*.**

	Dietas experimentais			Maturação		D	DM	DxDM
	OPS	OS	OSVTE	5 dias	21 dias			
Força de corte (kg/cm <sup>2</sup> )	<b>5,25±0,32</b>	<b>5,17±0,32</b>	<b>4,96±0,32</b>	<b>6,59<sup>x</sup>±0,31</b>	<b>3,67<sup>y</sup>±0,16</b>	0,804	<0,0001	0,9077
Perdas por cozinhado (%)	<b>20,01±1,19</b>	<b>20,28±1,19</b>	<b>21,56±1,19</b>	<b>20,48±0,93</b>	<b>20,75±0,65</b>	0,6226	0,7478	0,6791

D: efeito do tipo de dieta; DM: efeito dos dias de maturação; DxDM: efeito da interação entre ambos fatores

<sup>x, y, z</sup> Superíndices distintos na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

## **5.2. Ensaio II: Efeito do óleo de soja e da suplementação com Vitamina E, a três níveis em dietas de acabamento para vitelos: desempenho produtivo e qualidade de carne**

### **5.2.1. Animais e parâmetros produtivos**

Na (Tabela 16) apresentam-se os rendimentos produtivos e as características da carcaça. Como se pode observar, os vitelos apresentaram ganhos médios diários semelhantes entre grupos ( $P=0,62$ ), os vitelos do tratamento OSVTE<sub>75</sub> ganharam 1,57 kg de peso vivo por dia, enquanto os vitelos alimentados com OSVTE<sub>125</sub> ganharam 1,67 kg de peso vivo dia e os do tratamento OSVTE<sub>225</sub> ganharam 1,60 kg de peso vivo dia durante os 60 dias do ensaio.

No peso vivo final existiram diferenças ( $P=0,56$ ), os vitelos do tratamento OSVTE<sub>125</sub> a apresentarem o maior peso vivo final (300,84 kg) seguidos dos vitelos que consumiram OSVTE<sub>22</sub> (296,12 kg) e por fim os vitelos do grupo OSVTE<sub>75</sub> (294,20 kg).

Os consumos médios diários foram numericamente diferentes, tratamento OSVTE<sub>75</sub> com 6,70 kg, tratamento OSVTE<sub>125</sub> 7,36 kg e tratamento OSVTE<sub>225</sub> 6,71 kg. Os consumos foram registados por grupo.

**Tabela 16. Rendimentos produtivos e características de carcaça de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com 4% de óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)).**

	Dietas Experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>		
Peso vivo inicial (kg)	202,47	196,10	202,93	6,325	0,6968
Peso Vivo 30 dias (kg)	247,44	250,75	248,47	2,191	0,5595
Peso Vivo 60 dias (kg)	294,20	300,84	296,12	4,421	0,5599
GMD 30 dias (kg/dia)	1,57	1,67	1,60	0,073	0,6126
GMD 60 dias (kg/dia)	1,56	1,66	1,59	0,076	0,6369
GMD Total (kg/dia)	1,57	1,67	1,60	0,074	0,6185
Ingestão de matéria fresca <sup>2</sup> (kg/d)	6,70	7,36	6,71	0,504	0,2288
Índice de conversão <sup>2</sup> (kg/kg)	4,31	4,64	4,40	1,280	0,5677
Peso de carcaça fria (kg)	145,18	145,99	148,58	2,274	0,5486
Rendimento de carcaça (%)	49,40	48,54	50,44	0,642	0,1310

<sup>1</sup>DPM: Desvio padrão da média

<sup>a, b</sup>. Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas (P<0,05)

<sup>2</sup>Para ingestão de matéria fresca e índice de conversão n=3

Na (Tabela 16) também se incluem o peso e rendimento de carcaça dos vitelos alimentados com os três tratamentos. As carcaças foram todas avaliadas como vitela, V, não tendo sido feita avaliação da carcaça em conformação e gordura apresentada.

## 5.2.2. Avaliação da qualidade da carne

### 5.2.2.1. pH e cor da carne

Como se observa (Tabela 17) não existem diferenças estaticamente significativas (P <0,05) entre tratamentos nas coordenadas de cor, Luminosidade (L\*), índice de vermelho (a\*), índice de amarelo (b\*), saturação (C\*) e no Tom (h\*).

**Tabela 17. Valor de pH, L\*, a\*, b\*, Saturação e Tom do *Longissimus dorsi* de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), depois de 5 dias de maturação.**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>		
pH	5,69	5,75	5,71	0,039	0,6025
Luminosidade (L*)	33,16	33,14	34,51	1,496	0,5471
Índice de vermelho (a*)	14,62	14,35	13,32	0,918	0,3459
Índice de amarelo (b*)	2,57	2,54	3,95	0,295	0,6579
Saturação (C*)	14,70	14,45	13,40	0,919	0,3505
Tom (h*)	5,61	5,82	5,12	1,252	0,9215

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média

<sup>a, b</sup>. Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas (P<0,05)

#### 5.2.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado

Como se pode observar pela (Tabela 18), não existiram diferenças significativas nos parâmetros analisados de força de corte e perdas por cozinhado.

**Tabela 18. Força de corte e perdas por cozinhado do *longissimus dorsi* de vitelos de raça Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)) depois de 7 dias de maturação.**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>		
Força de corte (kg)	4,49	4,66	4,08	0,425	0,6110
Perdas por cozinhado (%)	18,91	17,69	16,23	1,165	0,3034

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média

<sup>a, b</sup>. Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas (P<0,05)

### 5.2.2.3. Gordura intramuscular a oxidação lipídica da carne

A (Tabela 19) mostra a quantidade de gordura intramuscular do músculo obtida após a utilização dos três tratamentos e os valores de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico) da peroxidação induzida da carne. Os valores de TBARS estão expressos em mg de MDA (Malondialdeído)/g de carne. A oxidação da carne será tanto maior quanto maior a concentração de (MDA) na amostra

**Tabela 19. Gordura intramuscular (%) e malondialdeído (mg/kg carne) do *Longissimus dorsi* de vitelos Holstein-Frísia alimentados com dietas com óleo de soja e diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), após 42 dias de maturação.**

	Dietas experimentais			DPM <sup>1</sup>	P
	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>		
Gordura Intramuscular	1,14	1,31	1,28	0,010	0,1443
MDA	0,261	0,221	0,220	0,319	0,6235

<sup>1</sup>DPM: desvio padrão da média

### 5.2.3. Qualidade da carne a diversos tempos de maturação

Na (Tabela 20) apresenta-se o efeito dos vários tratamentos (OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub>), diferentes dias de maturação (5, 21 e 42 dias) e a interação entre ambos (dietas x dias de maturação) sobre os valores das coordenadas de cor L\* (luminosidade), a\* (índice de vermelho), b\* (índice de amarelo), saturação (c\*) e Tom (h\*) do músculo *longissimus dorsi*.

Em nenhum dos parâmetros avaliados se observaram diferenças estatisticamente significativas (P> 0,05) para a interação entre o tipo de dieta e os dias de maturação.

Como se pode observar, verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), Luminosidade ( $L^*$ ) e índice de amarelo ( $b^*$ ) ao longo dos dias de maturação estudados.

A Luminosidade apresentou um movimento semelhante, (33.60), (32.75) e (33.72) aos 5, 21 e 42 dias de maturação, respectivamente.

O índice de amarelo foi mais alto ( $P < 0,05$ ) aos 42 dias (2.95) do que aos 21 (2.24) dias e do que aos 5 dias de maturação (1.29).

**Tabela 20. Efeito da inclusão de óleo de soja com diferentes níveis de vitamina E (75 ppm (OSVTE<sub>75</sub>), 125 ppm (OSVTE<sub>125</sub>) e 225 ppm (OSVTE<sub>225</sub>)), distintos dias de maturação e a interação entre ambos (dietas x dias de maturação) sobre o pH e o valor das coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Tom e Saturação do músculo *Longissimus dorsi*.**

	Dietas experimentais			Maturação			P		
	OSVTE <sub>75</sub>	OSVTE <sub>125</sub>	OSVTE <sub>225</sub>	5	21	42	D	DM	DxDM
pH	5,66±0,029	5,75±0,029	5,72±0,029	5,72±0,029	5,68±0,029	5,74±0,029	0,1166	0,2980	0,8785
$L^*$	33,18±1,988	32,69±1,988	34,20±1,988	33,60 <sup>x</sup> ±1,066	32,75 <sup>y</sup> ±1,077	33,72 <sup>x</sup> ±1,396	0,8625	0,0370	0,7594
$a^*$	14,39±1,157	14,23±1,157	13,78±1,157	14,10±0,686	14,14±0,631	14,17±0,793	0,9271	0,9849	0,6093
$b^*$	1,91±0,510	2,44±0,510	2,13±0,510	1,29 <sup>z</sup> ±0,171	2,24 <sup>y</sup> ±0,378	2,95 <sup>x</sup> ±0,521	0,7646	0,0157	0,5588
$C^*$	14,57±1,194	14,58±1,194	14,11±1,194	14,18±0,686	14,42±0,653	14,65±0,825	0,9507	0,4799	0,4364
$h^*$	7,57±1,763	9,32±1,763	8,55±1,763	5,51 <sup>y</sup> ±0,723	8,72 <sup>y</sup> ±1,340	11,20 <sup>x</sup> ±1,861	0,7820	0,0218	0,5015

<sup>1</sup>D: efeito do tipo de dieta; DM: efeito dos dias de maturação; DxDM: efeito da interação entre ambos fatores

<sup>x, y, z</sup> Superíndices distintos na mesma fila indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

## **6. Discussão**

### **6.1 Ensaio I: parâmetros produtivos e qualidade de carne**

A utilização de vitelos machos castrados de raça Holstein-Frísia, entre os 5 e 8 meses para a obtenção de carcaças leves e com elevada qualidade de carne é algo pouco usual em Portugal. Com o objetivo de produzir uma carne diferenciada pelo seu perfil lipídico e quantidade de gordura intramuscular testámos a utilização de gorduras (óleo de palma saponificado 4%, óleo de soja 4% e óleo de soja 4% + Vit E 50 mg/kg) em dietas à base de concentrado (90% de alimento concentrado + 10% de palha). A utilização de dietas à base de concentrados, é algo pouco utilizado no centro e norte da Europa, no entanto uma realidade na Península ibérica.

#### **6.1.1 Parâmetros produtivos**

A incorporação de gorduras nos alimentos compostos complementares para ruminantes, nomeadamente óleos altamente insaturados (Jenkins, 1993), pode ser um risco para a saúde ruminal e para a qualidade de carne, aumentando a sua propensão à oxidação.

A utilização de mais de 3% de gordura saponificada de palma pode levar a uma diminuição do consumo (Ferret et al. 2008) e a utilização de mais de 2-3% de óleo de soja pode influir negativamente na fermentação ruminal (NRC 2001). No entanto, no presente trabalho não se observaram estes efeitos. Nos sistemas de alimentação com alimento concentrado e palha em engorda intensiva de vitelos, os níveis de incorporação de gorduras saponificadas e óleos vegetais podem chegar a 4% de matéria fresca do alimento composto complementar sem afetar os resultados produtivos dos animais (Castro et al. 2015).

Neste estudo, apesar de suplementar as dietas com óleos ricos em ácidos gordos insaturados, como o óleo de soja, registaram-se parâmetros produtivos (peso e ganho médio diário) adequados para o tipo de vitelo utilizado, superando até os parâmetros avaliados no grupo OPS, dieta suplementada, com uma gordura inerte ou *by-pass*, de gordura mais saturada (óleo de palma saponificado).

Os ganhos médios diários de 1,32 kg para o tratamento OPS e de 1,53 kg para o tratamento OSVTE ( $P=0,028$ ) são diferentes entre grupos e podem indicar um efeito benéfico da Vit E no estado geral dos vitelos, isto pode dever-se a um melhor estado de saúde e menor morbidade deste grupo, ainda que clinicamente não tenha sido observável qualquer diferença entre os animais de ambos grupos. Deste modo, pode ter contribuído para um aumento do GMD do grupo óleo de Soja + Vit E, não havendo diferenças entre OPS e OS e entre OS e OSVTE.

Com efeito, o grupo OSVTE apresenta um ganho médio diário superior ao grupo OPS, pelo que nos faz pensar nos possíveis diferentes efeitos na digestibilidade e absorção das fontes de gordura. Segundo (Reddy et al. 1987) a suplementação com vitamina E pode compensar alguns dos efeitos nocivos dos fatores de *stress* sobre a função imune.

Os GMD estão alinhados com os obtidos por Mach et al. (2009) de 1,5 kg/dia para vitelos Holstein castrados e de 1,6 kg/dia para o grupo de vitelos inteiros. Marti et al. (2014) em vitelos de raça Frísia castrados aos 3 meses de idade observaram um ganho médio diário de 1,36 kg/dia quando alimentados com alimento concentrado suplementado com óleo de palma. Para vitelos Holstein inteiros Albertí et al. (2013) observaram crescimentos diários de 1,72kg/dia. O maior GMD observado em inteiros comparativamente a castrados pode ser atribuído a propriedades anabolizantes das hormonas naturais, especialmente da testosterona (Mach et al. 2009).

Devido às características da exploração apenas podemos avaliar o valor de ingestão de alimento por parque. Apesar disso, o consumo médio registado está de acordo com as observações de (Mach et al. 2009) 7,6 kg/dia de MSI para vitelos Holstein castrados e inteiros alimentados com dieta à base de concentrados suplementada com óleo de palma. Os valores

encontrados podem refletir uma diminuição de ingestão da gordura saponificada de óleo de palma devido à sua baixa palatibilidade e ao seu odor intenso (Chouinard et al. 1997). Allen (2000) conclui que por cada unidade em percentagem de inclusão de sabão cálcico na ração, a ingestão de matéria seca diminui 2,5%.

De forma interessante, alguns trabalhos referem valores de índice de conversão similares aos observados no presente trabalho: 5 kg de alimento para 1 kg de ganho de peso vivo (Albertí et al. 2013) em Holstein inteiros; 1 kg de alimento para 0,2 kg de ganho de peso vivo (Marti et al. 2011) Holstein inteiros comparativamente a castrados; 0,2 kg de peso vivo por kg de alimento ingerido (Mach et al. 2009) em Holstein castrados.

Cano et al. (2017) por sua vez não observaram diferenças nos GMD de vitelos Holstein-Frísios castrados, suplementados por 56 dias com vitamina E (500UI animal e dia), provavelmente devido à falta de desafios ou elementos provocadores de *stress*. Por seu lado, Rivera et al. (2002) observaram melhorias nos GMD em vitelos à receção infetados com rinotraqueite bovina viral (IBR). O estado de saúde pode ser um fator decisivo na resposta à suplementação com Vitamina E.

Em dietas com forragens, a incorporação de elevadas quantidades de gordura perturba a digestão da parte fibrosa e pode modificar a digestão da matéria orgânica, alterar a digestão e a velocidade de passagem do alimento pelo sistema digestivo, especialmente em dietas forrageiras de vacas leiteiras (Hess et al. 2008). Porém, em dietas com concentrados esses efeitos negativos não costumam ser observados, podendo ser substituídos por sintomas semelhantes produzidos pela presença de elevadas quantidades de amido no alimento, que ao serem fermentados rapidamente provocam a descida de pH ruminal. As dietas experimentais formularam-se com um aporte de 37% de amido, abaixo dos 45% considerados como o limite máximo de amido a fornecer sem prejudicar a saúde a o funcionamento do rúmen, recomendações FEDNA (2015). Para diminuir o risco de acidose utilizamos substâncias tampão, como o bicarbonato de sódio. Os animais tiveram livre acesso ao alimento e palha. Tudo isto reduz ou limita o aparecimento de acidose ruminal.

Também se sabe que as gorduras afetam sobretudo a degradação dos carboidratos estruturais. Doreau & Chilliard (1997), indicam que a redução observada ao incorporar gorduras insaturadas, na digestibilidade da matéria orgânica é devida à interação com a parte fibrosa, sem modificar a digestão do amido, o que pode explicar, neste estudo, a ausência de efeitos negativos sobre os parâmetros produtivos apesar de incorporar gorduras insaturadas como o óleo de soja.

### **6.1.2. Avaliação da qualidade de carne**

#### **6.1.2.1. pH e cor da carne**

Os tratamentos não tiveram a capacidade de influenciar, ou alterar, os valores de pH habituais medidos em carne de bovino após o abate. O valor de pH entre 5,6 e 5,7 medidos 24 h depois do abate é um valor que se espera para vitelos que não tenham sofrido *stress* prévio ao abate. Um transporte curto, o manejo correto (não misturar animais de lotes diferentes) e tempo limitado entre a saída dos parques de engorda e o matadouro, onde o animal deixa de receber alimento, asseguram que as reservas de glicogénio das células do animal e do fígado não se esgotam ( et al. 1990). Deste modo, pode continuar a produção de ATP a nível celular de forma anaeróbia, que tem como produto secundário o ácido láctico que provocará a acidificação do músculo (Partida et al. 2007). Este valor de pH ácido assegura a correta conservação da carne durante o tempo de maturação e garante que a qualidade da carne se mantenha (De Smet et al. 2004). Não é o que acontece à carne com pH elevado (> 6) que origina carne DFD (Abril et al. 2001).

Com o mesmo tipo de animais, Holstein-Frísia castrados, Marti et al. (2011) observaram valores de pH final da carne de 5,58 em animais abatidos com 232 kg de carcaça, enquanto noutro estudo (Marti *et al.* 2014) observaram um valor de pH final de 5,55 em vitelos de raça Frísia castrados, abatidos aos 10 meses de idade. Em ambas as experiências os vitelos foram submetidos a uma alimentação à base de alimento concentrado e palha.

A luminosidade aos 5 dias após o abate mostrou uma tendência ( $P=0,06$ ), para um valor mais alto no tratamento OSVTE (38,41) frente à observada na carne dos animais alimentados com a dieta OPS (34,97) e ao O. de Soja (34,48). Este valor de (38,41) é superior ao observado por (Mach et al. 2009) de (35,3) e por (Marti et al. 2011) de (35,4), ambos para vitelos de raça Holstein-Frísia. Os resultados sugerem que, aparentemente, se verifica a hipótese de aumento de Luminosidade pela presença da suplementação com 600UI/dia/vitelo de Vitamina E, enquanto composto capaz de travar a oxidação lipídica e consequente perda de cor e escurecimento da carne.

A cor da carne depende fundamentalmente do conteúdo em mioglobina e do seu estado químico (Renerre et al. 1982) e é influenciada pela idade, o exercício, a nutrição, o pH e a quantidade de gordura intramuscular da carne (Priolo et al. 2001). No nosso estudo, todos estes fatores, exceto a nutrição foram iguais em todos os grupos experimentais, pelo que estes sugerem que a Vitamina E pode favorecer uma carne com maior Luminosidade.

Os valores de  $a^*$  obtidos de (16,72; 15,47 a 16,49) para os tratamentos OPS, OS e OSVTE respetivamente estão acima do limiar proposto por Holman et al. (2017), que sugerem que o valor de  $a^*$  fornece a previsão mais simples e robusta da aceitabilidade da cor da carne bovina. A cor da carne é considerada aceitável pelo público (com 95% de aceitação) quando os valores  $a^*$  são iguais ou superiores a 14,5.

Existem diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos nas coordenadas de cor: índice de amarelo ( $b^*$ ) e no Tom ( $h^*$ ). Sendo  $b^*$ , maior no tratamento OSVTE (4,04), comparado com os obtidos na carne dos animais que receberam a dieta OPS (2,70) e O. Soja (2,33). Se o índice de amarelo parece típico para a raça, como observado por Marti et al. (2011) com valores de 4,71 e Mach et al. (2009) 6,4 em vitelos Holstein alimentados a concentrado e palha, contrastam com os valores do grupo OPS e do grupo OS. Aparentemente o tratamento OSVTE contribui para uma carne mais amarela.

O Tom ( $h^*$ ) do músculo foi significativamente diferente ( $P < 0,05$ ), apresentando um maior valor (13,16) nos animais que receberam a dieta

OSVTE, frente aos que consumiram a dieta OPS (8,87) e OS (8,50). O valor de Tom, tonalidade, é o resultado de uma equação matemática de avaliação da relação entre  $a^*$  e  $b^*$ , deste modo o valor mais elevado do tratamento óleo de soja + vit E reflete o valor mais elevado de  $b^*$ , contribuindo desta forma para uma melhor cor de carne. O valor de ( $C^*$ ), saturação, mostrou uma tendência a um menor valor na carne procedente dos vitelos alimentados com a dieta OS (15,66) e OPS (16,99), frente aos animais que consumiram a dieta OSVTE (17,06). O aspeto da carne durante a sua exposição está muito relacionado com os valores de Saturação e Tom (MacDougall, 1982).

#### **6.1.2.2. Força de corte e perdas por cozinhado**

A tenrura da carne, medida pela força de corte, é um dos parâmetros que nos podem orientar acerca da qualidade da carne, sendo muito importante no grau de aceitabilidade pelo consumidor (Takahashi, 1996).

No nosso estudo não se observaram diferenças significativas entre tratamentos nos valores de força de corte. Os valores de força máxima obtida (6,81 kg/cm<sup>2</sup>, 6,55 kg/cm<sup>2</sup>, 6,41 kg/cm<sup>2</sup>, para os tratamentos OPS, óleo de Soja e óleo de Soja + Vit E) são similares aos obtidos por (Marti et al. 2014) que registaram 7,0 kg/cm<sup>2</sup> aos zero dias de maturação, descendo depois para 4,8 kg/cm<sup>2</sup> aos 7 dias de maturação o que deixa bem marcado o efeito da maturação sobre a força de corte. Marti et al. (2011) já tinham observado um efeito semelhante sobre os valores de força de corte em vitelos de raça Frísia castrados, variando os valores desde 7,87 kg/cm<sup>2</sup> aos zero dias após abate para 5,08 kg/cm<sup>2</sup> aos 7 dias de maturação.

As perdas por cozinhado são muito influenciadas pela maturação. Esta melhora deve-se provavelmente à desintegração das estruturas miofibrilares durante a maturação (Oliete et al. 2006). Os valores obtidos são semelhantes em todos os tratamentos (19,73% do peso para o tratamento OS e 21,91% para o tratamento OSVTE) e bastante inferiores aos medidos por (Oliva et al. 2003) e (Varela et al. 2004) que mediram

respetivamente 23,65% para carne de Asturiana com 14 dias de maturação e 29,05 % para carne de Rubia Galega, ambas raças cárnicas.

### 6.1.2.3. Painel de provadores

Como observado, a composição do alimento concentrado não influenciou em nenhum dos parâmetros sensoriais da carne avaliados.

Sabe-se que os ácidos gordos insaturados são mais sensíveis aos processos oxidativos e podem originar aromas ou sabores anormais, geralmente designados por *off flavour*, ranço ou outros. Porém, a intensidade destes aromas ou *flavours* não aumentaram nas dietas OS e OSVTE.

Durante o processo de cozinhado não se produz uma degradação dos ácidos gordos da carne e não se altera o seu perfil (Sarriés et al. 2009), pelo que a avaliação sensorial dos aromas e *flavours* estará diretamente ligada ao perfil de ácidos gordos da gordura intramuscular, devido à alimentação. Dado, as dietas OS e OSVTE modificarem as percentagens de alguns ácidos gordos polinsaturados, sem que altere significativamente a proporção total de ácidos gordos polinsaturados da gordura intramuscular, aparentemente não haveria razão para o aparecimento de *off flavours* ou aromas de ranço.

A maior concentração de vitamina E na carne não teve qualquer impacto no painel de provadores. Sem efeito no aumento de aromas agradáveis, pelo facto de os potenciar ou por inibir aromas a ranço.

Talvez devido aos níveis de gordura intramuscular registados serem muito baixos. Já que no tratamento OS também não houve aparecimento de aromas a ranço ou outro *off flavour*. A utilização de uma gordura polinsaturada teoricamente pode facilitar esse resultado.

A suculência da carne também não respondeu de diferente forma aos diferentes tratamentos. A ausência de diferenças significativas nestes atributos confirma a qualidade das carnes obtidas das distintas dietas.

Embora isso possa ser devido à familiaridade com um certo sabor por parte dos provadores há outras explicações. Larick et al. (1987) observaram que os novilhos terminados em trevo branco (*trifolium pratense*) tinham um sabor "grassy" maior do que aqueles alimentados com erva (*festuca arundinacea*) e do que animais alimentados à base de concentrados. Animais alimentados em pastagem produziram carne mais rica em ácidos gordos polinsaturados, mas também mais instável à oxidação (Larick & Turner, 1990). Os autores atribuíram essas diferenças de sabor ao aumento do conteúdo de ácidos gordos polinsaturados, particularmente o ácido  $\alpha$ -linolênico na fração fosfolipídica, e à sua menor estabilidade oxidativa.

Apesar de no tratamento OS e OSVTE existir um aumento significativo deste ácido gordo, não foi o suficiente para ser notado pelo painel de provadores. A avaliação global da apreciação da carne foi pontuada por igual entre os três tipos de dieta, reflexo da falta de diferenciação nos atributos ligados à textura, aroma e flavour.

Os atributos da tenrura, suculência e flavour são os atributos que maior importância têm na descrição da variação sensorial entre carnes (Rodboten et al. 2004).

#### **6.1.2.4. Gordura intramuscular e composição de ácidos gordos da carne**

No nosso estudo não se observaram diferenças na gordura intramuscular da carne entre os tratamentos experimentais. Alguns trabalhos observam que o aumento de energia no alimento de acabamento dá lugar a um maior conteúdo em gordura intramuscular (Wang et al. 2019). Porém, Castro et al. (2016) não observaram alterações no conteúdo de gordura intramuscular na carne de vitelos ao suplementar com diferentes tipos de gordura.

Porém os valores obtidos de 1,62% de gordura intramuscular dos vitelos do grupo OPS até aos 2,82% dos vitelos do grupo OSVTE estão alinhados

com os resultados obtidos por Marti et al. (2014), que mediram um valor médio de gordura intramuscular de 2,9% para vitelos de raça Holstein-Frísia castrados aos 3 meses, alimentados à base de concentrado e palha e abatidos aos 10 meses. Observaram ainda que dos vários grupos de animais utilizados na experiência, vitelos de raça Holstein-Frísia castrados aos 3 meses, vitelos de raça Holstein-Frísia castrados aos 8 meses e vitelos de raça Holstein-Frísia inteiros, o valor médio de gordura intramuscular ia subindo de forma linear, apresentando 1,6% aos 10 meses de idade ao abate, 2,2% para os vitelos abatidos com 12 meses de vida e 3% para os vitelos abatidos com 14 meses, demonstrando uma subida consistente com a idade ao abate. Recordando que os vitelos deste ensaio foram abatidos com menos de 8 meses de idade, verifica-se que os valores obtidos encaixam perfeitamente nesta evolução observada por Marti *et al.* (2014). Marti *et al.* (2011) noutra experiência, verificaram para vitelos de raça Frísia castrados, abatidos com 445 kg e 14 meses de idade, um valor de 3,69% de gordura intramuscular enquanto Mach *et al.* (2006) observaram 4,1% para animais de 263 kg de carcaça e cerca de 15 meses de vida.

Apesar dos valores estarem alinhados com outros autores, observamos uma grande diferença entre o valor de gordura intramuscular (1,14, 1,31 e 1,28% de gordura intramuscular para os tratamentos OPS, OS e OSVTE respetivamente) e o total de ácidos gordos (3,00, 3,58 e 3,62 g/100g de carne respetivamente para os tratamentos OPS, OS e OSVTE). A utilização de um método modificado para a quantificação de gordura com base em 0,25 g de amostra pode estar na base de valores abaixo do real. Estes dois parâmetros foram avaliados com dois métodos distintos e em diferentes laboratórios, apenas isso justifica a diferença de resultados obtidos.

Os ácidos gordos presentes em maior quantidade na gordura intramuscular dos vitelos alimentados com os diferentes tratamentos foram, em qualquer dos casos, o ácido oleico (18:1 *cis*-9), o ácido palmítico (16:0) e o ácido esteárico (18:0). Rule et al. (1994), identificaram o ácido oleico como o mais abundante na carne de bovino devido à sua síntese no tecido adiposo pela ação da enzima  $\Delta$ 9-desaturasa a partir do ácido esteárico.

A gordura intramuscular dos vitelos alimentados com OSVTE apresentou uma tendência ( $P=0,07$ ) de maior conteúdo em (18:1 *trans*) do que a

gordura dos vitelos alimentados com a dieta OPS. Para este resultado certamente contribui o ácido vacénico (18:1 *trans*-11) e outros isómeros, o último passo da biohidrogenação ruminal do ácido linoleico (18:2 *cis*-9, *cis*-12), a esteárico (18:0) (Harfoot & Hazlewood, 1997), mais abundantes nos tratamentos OS e OSVTE.

Quando a atividade da população microbiana é alterada (por dietas com alto conteúdo em cereais, capazes de induzir uma baixa de pH, ou elevadas quantidades de ácidos gordos polinsaturados, como acontece neste trabalho), o último passo da biohidrogenação é o mais afetado, dando lugar a uma acumulação de *trans* 18:1 no rúmen, que irá chegar em maior quantidade ao intestino delgado para absorção e deposição no tecido adiposo em vez de ácido esteárico (18:0) (Doreau et al. 2016).

Porem, o ácido ruménico (18:2 *cis*-9, *trans*-11) não demonstrou diferenças de concentração entre tratamentos. O ácido ruménico provém também da síntese endógena nos tecidos pela dessaturação do 18:1 *trans*-11 (ácido vacénico) por ação da enzima  $\Delta 9$ -dessaturase. A dessaturação do ácido vacénico considera-se o primeiro passo para a acumulação de ácido ruménico nos tecidos (Piperova et al. 2002).

Os mecanismos que determinam as vias que segue a biohidrogenação ruminal dos ácidos gordos insaturados no rúmen e os fatores que as afetam não estão, todavia, suficientemente estabelecidos (Bessa et al. 2015). A via descrita por Harfoot & Hazlewood, (1997), dá lugar principalmente a Ruménico (18:2 *cis*-9, *trans*-11) e Vacénico (18:1 *trans*-11) como principais intermediários na hidrogenação do ácido linoleico (Griinari et al. 2000).

Em estudos anteriores, a inclusão de Vitamina E (Realini et al. 2004; Montgomery et al. 2005; Lee et al. 2011) não demonstrou qualquer efeito no crescimento dos animais ou na qualidade de carne.

Como previamente sugerido por Juárez *et al.* (2010), a vitamina E pode influenciar as vias de biohidrogenação, atuando como um inibidor das bactérias produtoras de 18:1 *trans*-10 ou como catalisador da ação do *Butyrivibrio fibrisolvens* (Pottier et al. 2006). Juárez *et al.* (2011) observaram que incluindo níveis elevados de Vit E (1051UI/animal/dia) simultaneamente com semente de linho na dieta, resultava níveis mais elevados de ácido  $\alpha$ -linolénico, o que sugere que a Vitamina E de alguma

forma consegue alterar a biohidrogenação ruminal. Neste ensaio (Juárez et al. 2011) a vitamina E na presença de ácido  $\alpha$ -linolénico reduziu a acumulação de 18:1 *trans*-10 no músculo. Este autor concluiu que a inclusão de uma fonte de ácido  $\alpha$ -linolénico (semente de linho) na presença de vitamina E levava a um aumento da quantidade ácidos gordos n-3 no músculo, em vez de aumentar o 18:1 *trans*-10, como observado quando alimentamos dietas à base de concentrado ou 18:1 *trans*-11 quando utilizamos dietas baseadas em forragem. Alimentando com uma dieta elevada em ácido  $\alpha$ -linolénico resultou numa diminuição de *trans*-10 e uma invulgar acumulação de produtos intermédios da biohidrogenação como os 18:1 *trans*.

No nosso estudo devido a uma limitação metodológica, não conseguimos separar os 18:1 *trans*, apenas podemos observar uma maior acumulação de intermediários da biohidrogenação (18:1 *trans*) devido à presença de uma maior quantidade de Vitamina E.

Devido à capacidade da  $\Delta 9$ -dessaturase no tecido muscular para transformar o ácido Vacénico em ácido Ruménico (Turpein et al. 2002), o aumento no conteúdo de 18:1 *trans*-11 da carne supõe uma melhora no seu perfil lipídico. Sabe-se que o consumo de outros isómeros *trans*, como o *trans*-10 podem resultar prejudiciais para a saúde (Mapiye, et al 2015).

Os vitelos alimentados com OS e OSVTE apresentaram uma maior percentagem de ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15) na sua gordura intramuscular frente aos animais que consumiram o alimento OPS, devido a uma superior concentração deste ácido gordo na dieta. Resultado similar obteve Alberti et al. (2014) quando alimentou vitelos com semente de linho frente a outros alimentados com gordura saponificada de palma.

O ácido linoleico favorece a síntese a araquidónico (20:4 n-6) e o  $\alpha$ -linolénico dá lugar ao EPA (20:5 n-3) e ao DPA (22:5 n-3) (Nakamura & Nara 2003). No nosso estudo não encontramos diferenças no ácido linoleico ou no ácido araquidónico entre tratamentos. Devido a que a sua produção é muito mais dependente da velocidade de alongação do que da disponibilidade de substrato, ácido linolénico, para a reação nos tecidos (Scollan et al. 2014). Em consequência de maior valor de  $\alpha$ -linolénico nos

vitelos alimentados com os tratamentos OS e OSVTE observamos maiores valores de EPA e DPA na gordura intramuscular desses mesmos vitelos. A carne dos animais alimentados com OS e OSVTE apresenta uma melhora no perfil de ácidos gordos em relação aos animais alimentados com a dieta OPS, já que além de apresentar uma maior quantidade de ácido  $\alpha$ -linolénico, observa-se uma maior quantidade de EPA e DPA e um maior conteúdo em ácidos gordos de série n-3.

Ulbricht & Southgate (1991) estabeleceram o índice de aterogenicidade, que relaciona o conteúdo de ácidos gordos capazes de aumentar os níveis de colesterol sérico (ácido láurico, mirístico e palmítico) com os ácidos gordos de ação protetora (AGM e AGP). Segundo os valores observados, as dietas não influenciaram este resultado, contrariando os resultados apresentados (Scollan et al. 2006; Alberti et al. 2014) que o conseguiram alimentando novilhos com dietas suplementadas com óleos ricos em ácido linoleico e ácido  $\alpha$ -linolénico.

### 6.1.3. Vitamina E

Tal como esperado, devido á utilização de suplemento de vit E na dieta, a concentração de vitamina E no músculo foi significativamente superior ( $P < 0,05$ ) nos vitelos alimentados com OSVTE (3,69  $\mu$ /g), comparativamente aos vitelos alimentados com OS (2,49  $\mu$ /g) e aos alimentados com a dieta OPS (1,44  $\mu$ /g).

O valor obtido é superior aos 3,3  $\mu$ /g de vitamina E no músculo apontados por Arnold *et al.* (1993) e Faustman *et al.* (1989) como necessários para alargar a vida útil da carne, considerando a cor e a estabilidade oxidativa da carne, de 3,7 para 6,3 dias. Porém, não foram utilizadas as 1000 UI de Vitamina E por animal e dia propostas por Realini *et al.* (2004). O alimento continha 75 ppm de Vit E, aportou 600 UI de vitamina E por animal e dia. Como observado por Schwarz *et al.* (1998) não só interessa o nível de Vitamina E aportado, mas também a duração do suplemento. Arnold *et al.* (1992) demonstraram que com diferentes níveis de suplementação de

vitamina E a diferentes tempos de tratamento, conseguiam atingir um mesmo resultado, a preservação da cor de carne durante mais tempo.

O facto de os vitelos utilizados no estudo serem provenientes de uma recria baseada em alimento concentrado (com um valor basal de 25 ppm de Vit E no alimento) por certo influiu neste resultado. Permitindo que uma concentração aparentemente menor do que a proposta por Realini *et al* (2004) e Arnold *et al* (1992), seja suficiente para atingir as 3,3  $\mu$  de Vit E por grama de músculo.

Outra hipótese a colocar é a influência da suplementação de óleo de soja na absorção da Vitamina E, uma vez que os animais do tratamento OS (2,49  $\mu$ /g) apresentaram um valor superior aos alimentados com a dieta OPS (1,44  $\mu$ /g).

Ainda assim o valor de (1,44  $\mu$ /g) de vitamina E no músculo do grupo OPS é adequado para melhorar a cor da carne em exposição. Valor acima do nível de 1,2  $\mu$ /g apontado por Liu *et al.* (1995).

O óleo de Soja pode levar a uma maior absorção de Vit E no intestino, uma vez que a Vit E é absorvida juntamente com os lípidos e assim justificar o valor mais elevado entre o tratamento óleo soja e o tratamento OPS. A suplementação com óleo de soja e 50mg de Vit E durante 60 dias, no grupo OSVTE permitiu atingir uma quantidade de vitamina E no músculo de (3,69  $\mu$ /g), superior à concentração de (3,3  $\mu$ /g), aceites como necessário para alargar a vida útil da carne segundo a cor e a estabilidade oxidativa.

#### **6.1.4. Qualidade da carne a diversos tempos de maturação**

Nos resultados de força de corte aos 21 dias também não se observaram diferenças entre tratamentos ou interação significativa entre tratamento x dias de maturação. Observou-se um efeito enorme dos dias de maturação, em que os resultados aos 21 dias de maturação refletem valores baixos, alinhados com carne de altíssima qualidade 3,5 kg/cm<sup>2</sup> e 3,8 kg/cm<sup>2</sup> para carne do tratamento óleo de Soja + Vit E e para óleo de Soja

respetivamente. Estes resultados estão em linha com o observado por Mach et al. (2006), 3,1 Kg/cm<sup>2</sup> para carne com 14 dias de maturação.

O que define a maturação como um método essencial na produção de carne de qualidade. Com base nos estudos de Miller et al (2001) podemos estimar uma aceitação acima dos 94% para o aspeto da tenrura nesta carne.

A cor da carne manteve-se muito bem durante os 42 dias do ensaio em refrigeração, já que depois de alcançar o momento de ótimo aspeto, a Luminosidade e o Tom mantiveram-se estáveis.

Com o tempo de exposição, aumenta a percentagem de metamioglobina devido à oxidação dos pigmentos da carne (Tichivangan et al. 1985), o que se manifesta pelo aparecimento de manchas escuras ou descoradas e os valores de L\*, a\*, b\* e Saturação diminuem (Camo et al. 2011; Insausti et al. 1999), enquanto o valor de Tom costuma aumentar de forma brusca a partir dos 21 dias.

Neste estudo prolongamos o acompanhamento da carne até aos 42 dias propositadamente.

## **6.2. Ensaio II: parâmetros produtivos e qualidade de carne**

### **6.2.1. Parâmetros produtivos**

Os vitelos apresentaram ganhos médios diários semelhantes entre grupos (P=0,62), os vitelos do tratamento OSVTE<sub>75</sub> ganharam 1,57 kg de peso vivo por dia, enquanto os vitelos alimentados com OSVTE<sub>125</sub> ganharam 1,67 kg de peso vivo por dia e os do tratamento OSVTE<sub>225</sub> ganharam 1,60 kg de peso vivo por dia durante os 60 dias do ensaio. Estes valores estão de acordo com o máximo crescimento potencial apontado pelo INRA 2018, de 1,6 kg/dia dos 250 aos 400 kg de peso vivo, e são superiores aos 1,37 kg/dia obtidos por Marti *et al.* (2011), para vitelos de raça Frísia castrados e ao 1,5 kg/dia observado por Mach *et al.* (2009). Estes resultados obtidos no presente trabalho comprovam as boas condições do alimento, da sua formulação, fabrico e condições de manejo em que decorreu o ensaio.

Os níveis crescentes de Vit E não foram capazes de influenciar os parâmetros produtivos, ou por falta de desafio ou porque o nível OSVTE<sub>75</sub> utilizado nesta experiência, 75 ppm de Vitamina E, são suficientes para a total expressão genética e de crescimento dos animais, como tinha sido indicado por Secrist et al. (1997).

Os valores de GMD obtidos no ensaio II foram superiores aos do ensaio I. Estes resultados poderão ser explicados pelo facto de terem sido abatidos a peso vivo mais baixo, e sabe-se que os animais mais jovens apresentam maior velocidade de crescimento.

## **6.2.2. Avaliação da qualidade de carne**

### **6.2.2.1. pH e cor de carne**

Como se observou na tabela 10 não existem diferenças estaticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamentos nos valores de pH, nas coordenadas de cor, Luminosidade ( $L^*$ ), índice de vermelho ( $a^*$ ), índice de amarelo ( $b^*$ ), Saturação ( $C^*$ ), no Tom ( $h^*$ ) e nas perdas por cozinhado.

Os valores de  $a^*$  obtidos de (14,39; 14,23 e 13,78) para os tratamentos OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub> respetivamente estão aquém, mas muito próximos do limiar proposto por Holman et al. (2017), que sugere que o valor de  $a^*$  fornece a previsão mais simples e robusta da aceitabilidade da cor da carne bovina. A cor da carne é considerada aceitável (com 95% de aceitação) quando os valores  $a^*$  são iguais ou superiores a 14,5. Os resultados obtidos poderão ser reflexo da idade e do baixo peso de carcaça dos animais.

Os valores de pH não foram influenciados pelos tratamentos e continuaram a estar próximos do intervalo entre 5,69 e 5,75. Refletindo a dificuldade de carcaças pequenas pouco recobertas de gordura têm de se proteger do frio e permitir uma correta instauração do *rigor mortis* (Beriain et al. 1997).

### **6.2.2.2. Valores de força de corte e perdas por cozinhado**

Neste ensaio não se observaram diferenças significativas entre tratamentos nos valores de força de corte. Os valores de força máxima de corte aos 7 dias obtida (4,5 kg/cm<sup>2</sup>, 4,7 kg/cm<sup>2</sup>, 4,1 kg/cm<sup>2</sup>, para os tratamentos OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub>) são similares aos obtidos por (Marti et al. 2014) que registaram 4,8 kg/cm<sup>2</sup> aos 7 dias de maturação.

Os valores obtidos são semelhantes em todos os tratamentos (18,9%, 17,7 % e 16,2% para os tratamentos OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub> respectivamente) e bastante inferiores aos medidos por (Oliva et al. 2003) e (Varela et al. 2004) que mediram respectivamente 23,65% para carne de Asturiana com 14 dias de maturação e 29,05 % para carne de Rubia Galega, ambas raças cárnicas.

### **6.2.2.3. Gordura intramuscular e oxidação lipídica da carne**

Os valores obtidos de 1,14%, 1,31% e 1,28% de gordura intramuscular para os vitelos dos tratamentos OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub> respectivamente, estão alinhados com os resultados obtidos por Marti et al. (2014) que para vitelos de raça Holstein-Frísia castrados aos 8 meses e vitelos de raça Holstein-Frísia inteiros, obteve o valor médio de gordura intramuscular de 1,6% aos 10 meses de idade ao abate.

Neste trabalho, os valores de TBARS observados foram similares para os três tratamentos. Mcniven *et al.* (2004) observaram uma maior oxidação na carne de animais alimentados com soja extrudida relativamente a vitelos alimentados com óleo de palma, pelo que poderíamos esperar um desafio. Geralmente observam-se valores mais elevados de TBARS pela suplementação de todos os alimentos com 4% de óleo de Soja.

Juárez *et al.* (2012) numa experiência levada a cabo em vitelos castrados, observaram um efeito positivo de diminuição do valor de TBARS com a utilização de suplemento de Vit E. Para os animais suplementados durante 130 dias observou valores de TBARS de 0,22 nmoles de MDA/kg por comparação com os 0,42 nmoles de MDA/kg apresentados pelos animais com o valor basal de Vit E 451 UI cabeça e dia.

Pelo que na nossa experiência observamos o mesmo grau de proteção contra a oxidação com a suplementação de 600UI de Vit E cabeça e dia, utilizando valores de Vit E mais próximo do valor basal de Juárez *et al.* (2012) do que o valor do suplemento. Poderá ser explicado pela alimentação anterior ao teste. Os animais deste ensaio foram sempre alimentados com um nível basal de 25UI de Vit E em todos os alimentos concentrados consumidos ao longo da vida. Na experiência de Juárez *et al.* (2012) não temos conhecimento da alimentação dos animais no período anterior ao ensaio.

Os valores de TBARS encontrados, de 0,261 mg de MDA/kg carne, de 0,221 mg de MDA/kg carne e de 0,22 mg de MDA/kg carne para os tratamentos OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub>, OSVTE<sub>225</sub>, respetivamente, além de não demonstrarem nenhuma diferença entre si, não evidenciam nenhuma predisposição para a oxidação dos alimentos suplementados com ácidos gordos polinsaturados após os 42 dias de maturação. Estão muito abaixo dos valores propostos como limiares de perceção do aroma a ranço (off-flavour), 2-2,5 mg de MDA por kg de carne proposto por Campos *et al.* (2006) e Dominguez *et al.* (2019).

Em Portugal a carne fresca embalada tinha habitualmente 21 dias de validade, este estudo demonstrou que as características da carne se mantêm em perfeitas condições para consumo até aos 42 dias. Portanto, pode ser proposto um alargamento do prazo de validade com estas condições de produção.

### 6.2.3. Qualidade de carne a diversos tempos de maturação

Não existiram diferenças no efeito dos vários tratamentos (OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub>), nos diferentes dias de maturação (5, 21 e 42 dias) e a interação entre ambos (dietas x dias de maturação) sobre os valores das coordenadas de cor L\* (luminosidade), a\* (índice de vermelho), b\* (índice de amarelo), Saturação (c\*) e Tom (h\*) do músculo *longissimus dorsi*.

Apesar do valor de pH ser ligeiramente superior a 5,7 (5,71, 5,73 e 5,72 para OSVTE<sub>75</sub>, OSVTE<sub>125</sub> e OSVTE<sub>225</sub>) não foi suficiente para influenciar negativamente a cor da carne. Os valores obtidos aos 5 dias de maturação de 33,6 L\*, 14,1 a\* e 1,29 b\* revelam uma carne clara e luminosa, usualmente da preferência do consumidor (Steenkamp, 1997). Marti et al. (2014) observaram valores de 34.0 L\*, 15,6 a\* e 2,7 b\* para vitelos frísios castrados aos 3 meses com valor de pH ao abate de 5,5.

Como se pode observar, verificaram-se diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), Luminosidade (L\*) e índice de amarelo (b\*) e Tom (h\*) ao longo dos dias de maturação estudados. A Luminosidade desceu aos 21 dias e voltou a subir aos 42 dias para um valor próximo do dia 5, (33.60), (32.75) e (33.72) aos 5, 21 e 42 dias de maturação, respetivamente. Demonstrando que a carne está preparada para sobreviver 42 dias fechada em vácuo. Não se observou um aumento da Luminosidade com concentrações crescentes de Vit E, uma das hipóteses que testávamos neste segundo ensaio.

### 6.3. Discussão conjunta dos dois ensaios

Os dois ensaios realizados no âmbito deste trabalho foram efetuados na mesma exploração. No entanto, só na sequência dos resultados obtidos no primeiro foi planeado o segundo ensaio, estando assim separados por cerca de um ano. Ainda assim, parece razoável tentar fazer uma síntese conjunta dos resultados, devendo a mesma ser encarada com algumas reservas uma vez que, por não ser legítimo, não sofreram qualquer tipo de tratamento estatístico.

Os resultados produtivos obtidos nos dois ensaios realizados estão de acordo com os expectáveis para este tipo de vitelo e para o estadio de desenvolvimento, cujos objetivos de velocidade de crescimento são, de acordo com as diretrizes do INRA (2007), de 1,6 kg/dia. Na verdade, no segundo ensaio este objetivo foi plenamente atingido (GMD entre 1,57 e 1,67 kg/dia), enquanto que os valores mais baixos verificados no primeiro ensaio (GMD entre 1,32 e 1,53 kg/dia) poderão ser explicados pelo peso vivo mais elevado dos animais, avaliado através do carcaça mais elevado (145-148 kg de carcaça no Ensaio II frente a 158-169 no Ensaio I). A mesma explicação poderá ser apontada para os resultados obtidos no Índice de Conversão, também ele mais elevado nos abatidos com peso vivo mais elevado (5,27-5,69 kg/kg no Ensaio I frente a 4,31-4,64 kg/kg no Ensaio II).

No que respeita às características da carne, as diferenças observadas nos resultados dos dois ensaios são pequenas. A carne dos animais do segundo ensaio apresentou menos gordura intramuscular (cerca de 1,3% no primeiro e entre 1,6 e 2,8% no segundo), o que está de acordo com o menor peso de carcaça. Também o pH ligeiramente mais elevado na carne do segundo ensaio poderá estar relacionado com o peso de carcaça mais baixo, que poderá originar um arrefecimento muscular mais acelerado, resultando num pH ligeiramente mais elevado e, conseqüentemente, um valor de L\* mais baixo.

Comparando apenas as dietas iguais nos dois ensaios, OSVTE e OSVTE<sub>75</sub>, os resultados obtidos são também muito equiparáveis, sendo as pequenas

diferenças discutidas da mesma forma que o foram na comparação global dos dois ensaios.

## **7. Conclusão**

Os resultados obtidos permitem afirmar que o óleo de soja é uma alternativa viável ao óleo de palma saponificado na alimentação de vitelos em período de crescimento/acabamento, permitindo obter bons resultados produtivos. Os resultados melhoram quando o alimento é suplementado com vitamina E.

A utilização de óleo de soja, com ou sem a adição de Vit E, não teve qualquer efeito negativo na qualidade da carne e no painel de provadores. O tratamento OSVTE (75mg/kg) conseguiu alargar a vida útil da carne em exposição, segundo a cor e estabilidade oxidativa. Este tratamento promoveu a produção de carne mais clara e brilhante.

Concentrações crescentes de vitamina E acima de 75mg/kg de alimento não demonstraram ser capazes de influenciar o desempenho produtivo e a qualidade da carne.

A carne mantém todas as suas características após 42 dias de refrigeração embalada a vácuo. A maturação é o fator determinante para diminuir a força de corte da carne.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Aaslyng MD, Meinert L. 2017. Meat Flavour in Pork and Beef – From Animal to Meal. *Meat Science*. 132:112–17. <http://doi:10.106/j.meatsci.2017.04.012>
- Abril M, Campo MM, Önenç A, Sañudo C, Albertí P, Negueruela AI. 2001. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*. 58(1):69-78.
- Adams CR. 1973. Effect of environmental conditions on the stability of vitamins in feeds. In: National Academy of Sciences. *Effect of Processing on the Nutritional Value of Feeds*. Washington, DC. National Research Council.
- Albertí P, Sañudo C, Santolaria P, Negueruela Y, Olleta JL, Mamaqui E, Campo M, Alvarez FS. 1995. Calidad de la carne de ternera de raza Parda Alpina y Pirenaica cebados con pienso rico en gluten feed y mandioca. In: ITEA. Zaragoza. p. 630-632.
- Albertí P, Ripoll G, Panea B, Casasús I, Joy M, Congost S, Vallés M. 2010. Utilización de sistemas de cebo basados en ensilados y forrajes unifeed como alternativa al sistema de cebo a pienso; efecto en los parámetros productivos y en la calidad de la carne. *Informaciones Técnicas*. 215:1-16.
- Albertí P, Gómez I, Mendizabal JA, Ripoll G, Barahona M, Sarriés V, Realini C. 2013. Effect of whole linseed and rumen-protected conjugated linoleic acid enriched diets on feedlot performance, carcass characteristics, and adipose tissue development in young Holstein bulls. *Meat Science*. 94(2):208-214.
- Albertí P, Beriain MJ, Ripoll G, Sarriés V, Panea B, Mendizabal JA, Sañudo C. 2014. Effect of including linseed in a concentrate fed to young bulls on intramuscular fatty acids and beef color. *Meat Science*. 96(3):1258-1265.
- Albertí P, et al. 2017. Effect of Including Whole Linseed and Vitamin E in the Diet of Young Bulls Slaughtered at Two Fat Covers on the Sensory Quality of Beef Packaged in Two Different Packaging Systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(3):753–760. <http://doi:10.1002/jsfa.7792>.
- Aldai N, Dugan MER, Rolland DC, Kramer JKG. 2009. Survey of the fatty acid composition of Canadian beef: Backfat and longissimus lumborum muscle. *Can J Anim Sci*. 89:315–329. <http://doi:10.4141/CJAS08126>

- Aldai N, Dugan MER, Kramer JKG, Martinez A, Lopez-Campos O, Mantecon AR, Osoro K. 2011. Length of concentrate finishing affects the fatty acid composition of grass-fed and genetically lean beef: An emphasis on trans-18:1 and conjugated linoleic acid profiles. *Animal*. 5(10):1643–1652.
- Aldai N, et al. 2013. What are the trans fatty acids issues in foods after discontinuation of industrially produced trans fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 115(12):1378–1401. <http://doi:10.1002/ejlt.201300072>
- Alfaia CPM, Alves SP, Martins SIV, Costa ASH, Fontes CMGA, Lemos JPC, Bessa RJB, Prates JAM. 2009. Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry*. 114(3):939–946.
- Allen KE, Cornforth DP. 2006. Myoglobin oxidation in a model system as affected by nonheme iron and iron chelating agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54:10134-10140.
- Allen MS. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 83.
- Alves SP, Bessa RJB, Quaresma MAG, Kilminster T, Scanlon T, Oldham C, Almeida AM 2013. Does the fat tailed damara ovine breed have a distinct lipid metabolism leading to a high concentration of branched chain fatty acids in tissues? *PLoS One*, 8(10), e77313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077313>
- Alves SP, Bessa RJB. 2014 ‘The trans-10,cis-15 18:2: A missing intermediate of trans-10 shifted rumen biohydrogenation pathway?’, *Lipids*, 49(6), pp. 527–541. <http://doi:10.1007/s11745-014-3897-4>
- Alomar D, Gallo C, Castaneda M, Fuchslocher R. 2003. Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Science*. 63(4):441-450.
- American Heart Association. The American Heart Association’s Diet and Lifestyle Recommendations. (2019). Available at [http://www.heart.org/HEARTORG/HealthyLiving/HealthyEating/Nutrition/The-American-Heart-Associations-Diet-and-Lifestyle-recommendations\\_UCM\\_305855\\_Article.jsp-.XKltpetKjOQ](http://www.heart.org/HEARTORG/HealthyLiving/HealthyEating/Nutrition/The-American-Heart-Associations-Diet-and-Lifestyle-recommendations_UCM_305855_Article.jsp-.XKltpetKjOQ)
- AMSA. 2012. Meat color measurement guidelines. American Meat Science Association. Champaign, IL.

- Andrés S, Murray I, Navajas EA, Fisher AV, Lambe NR, Bünger L. 2007. Prediction of sensory characteristics of lamb meat samples by near infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*. 76(3):509-516.
- AOAC. 945.16. 2000. Oil in cereals adjuncts. Petroleum ether extraction method 945.16. In *Official methods of analysis*. 27:31. Gaithersburg, MA, USA, Association of Official Analytical Chemists International.
- Apple JK, Maxwell CV, Galloway DL, Hamilton CR, Yancey JWS. 2005. Interactive effects of dietary fat source and slaughter weight in growing-finishing swine: II. Fatty acid composition of subcutaneous fat. *Journal of Animal Science*. 87:1423-1440.
- Arnold RN, Scheller KK, Arp SC, Williams SN, Buege DR, Schaefer DM. 1992. Effect of long- or short-term feeding of alphatocopheryl acetate to Holstein and crossbred beef steers on performance, carcass characteristics, and beef color stability. *Journal of Animal Science*. 70(10):3055-3065.
- Arnold RN, Arp SC, Scheller KK, Williams SN, Schaefer DM. 1993. Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science*. 71(1):105-118.
- Astrup A, Bertram HC, Bonjour JP, de Groot LC, de Oliveira Otto MC, Feeney EL, Soedamah-Muthu SS. 2019. WHO draft guidelines on dietary saturated and trans fatty acids: Time for a new approach?. *366:41-37*.
- Barton-Gade PA. 1981. The measurement of meat quality in pigs postmortem. In: Froystein T, Slinde E, Standal N, editors. *Porcine stress and meat quality-causes and possible solutions to the problems*. Agricultural Food Research Society. p. 205.
- Battaglia CT, Vilella GF, Sousa BI, Gomes CL, de Felicio PE, Pflanzner SB. 2015. Are sarcomere length and miofibrillar fragmentation index predictors for sensory and instrumental tenderness of aged beef? *Meat Sci*. 112:148. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2015.08.105>
- Beaulieu AD, Drackley JK, Merchen NR. 2002. Concentrations of conjugated linoleic acid (cis-9, trans-11 octadecadienoic acid) are not increased in tissue lipids of cattle fed a high-concentrate diet supplemented with soybean oil. *Journal of Animal Science*. 80:847-861.
- Behrends JM, Goodson KJ, Koohmaraie M, Shackelford SD, Wheeler TL, Morgan WW, Reagan JO, Gwartney BL, Wise JW, Savell JW. 2005. Beef customer satisfaction: USDA quality grade and marination effects on consumer evaluations of top round steaks. *Journal of Animal Science*. 83(3):662-670.

- Bekhit AED, Faustman C. 2005. Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science*. 71(3):407-439.
- Bendich A. 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. *J.Dairy Sci*. 76:2789-2794.
- Beriain MJ, Lizaso G. 1997. Calidad de la carne de vacuno. In: Buxadé C, editor. *Vacuno de carne: aspectos clave*. Madrid: Mundi Prensa. p.493-510.
- Bessa RJB, et al. 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science*. 96(2–3):185–194. <http://doi:10.1016/j.livprodsci.2005.01.017>
- Bessa RJB, et al. 2007. Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs, *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109(8):868–878. <http://doi:10.1002/ejlt.200600311>
- Bessa RJB, Alves SP, Santos-Silva J. 2015. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 117(9):1325–1344. <http://doi:10.1002/ejlt.201400468>
- Biesalski HK. 2005. Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat Science*. 70:509-524.
- Bloor WR. 1943. *Biochemistry of the Fatty Acids and their compounds, the lipids*. American In: Chemical Society Monograph. New York: Reinhold Publishing Corp. p. 93-128.
- Boakye K, Mittal GS. 1996. Changes in colour of beef M. longissimus dorsi muscle during ageing. *Meat Science*. 42(3):347-354.
- Bodirsky BL, Rolinski S, Biewald A, Weindl I, Popp A, Lotze-Campen H. 2015. Global food demand scenarios for the 21st century. *PLoS One*. 10(11).
- Boeckaert C, Fievez V; Van Hecke D, Verstraete W, Boon N. 2007. Changes in Rumen Biohydrogenation Intermediates and Ciliate Protozoa Diversity After Algae Supplementation to Dairy Cattle. *Eur. J Lipid Sci Technol*. 109.
- Bonny S, Pethick D, Legrand I, et al. 2016. European conformation and fat scores have no relationship with eating quality. *Animal*. 10:996–1006.

- Bouton PE, Harris PV, Shorthose WR. 1976. Factors influencing cooking losses from meat. *Journal of Food Science*. 41: 1092-1095.
- Bouwstra RJ, Goselink RMA, Dobbelaar P, Nielen M, Newbold JR, Van Werven T. 2008. The relationship between oxidative damage and vitamin E concentration in blood, milk, and liver tissue from vitamin E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers. *J Dairy Sci*. 91:977-987.
- Bravo-Lamas L, et al. 2016. 'Characterization of the fatty acid composition of lamb commercially available in northern Spain: Emphasis on the trans-18:1 and CLA content and profile'. *Meat Science*. 117:108–116. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2016.02.043>
- Brazal, T, Boccard, R. 1977. Efectos de dos tratamientos antemortem sobre la calidad de la canal y de la carne de cordero. *An INIA Ser Producción Animal*. 8:97-125.
- Brewer MS, Rostogi BK, Argoudelis L, Sprouls GR. 1995. Sodium lactate/sodium chloride effects on aerobic plate counts and color of aerobically packaged ground pork. *J Food Sci*. 60:58-62.
- Buccioni A, et al. 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology*. 174(1–2):1–25. <http://doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.02.009>
- Buckley, DJ, Morrissey, PA, Gray, JI. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J Anim Sci*. 73(10):3122-3130.
- Cabalero, B. 1994. Vitamin E improves the action of insulin. *Nutr Rev*. 51:339.
- Cabezas A. 2017. Utilización de aceites vegetales en piensos de terneros cebados según sistema de alimentación pienso y paja: rendimientos productivos y calidad de la carne tras su maduración. (tesis doctoral). Madrid. Faculdade de Veterinária - Universidade Complutense de Madrid.
- Camo J, Lorés A, Djenane D, Beltrán JA, Roncalés P. 2011. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*. 88(1):174-178.
- Campo MM, Sañudo C, Panea B, Albertí P, Santolaria P. 1999. Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. *Meat Science*. 51:383-390.

- Campo MM, Nute GR, Hughes SI, Enser M, Wood JD, Richardson RI. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*. 72(2):303-311.
- Cano AB, Montano M, Salinas-Chavira J, Zinn RA. 2017. Evaluation of supplemental vitamin E on 56-days feedlot growth performance and plasma tocoferol concentrations in calf-fed Holstein steers. *Journal of applied Animal Research*. 45(1):90-92.
- Castro T, Cabezas A, De la Fuente J, Isabel B, Manso T, Jimeno V. 2016. Animal performance and meat characteristics in steers reared in intensive conditions fed with different vegetable oils. *Animal*. 10(3):520-530.
- Chaijan M, Panpipat W. 2017. Mechanism of oxidation in foods of animal origin. In: Banerjee R, Verma AK, Siddiqui MW, editors. *Natural antioxidants. Applications in foods of animal origin*. London: CRC Press. p. 1-37
- Chasco J. 1997. Calidad de la carne de terneros machos de raza Pirenaica y su evolución durante la maduración. VII Jornadas sobre Producción Animal. ITEA. p. 772-774.
- Cheng JH. 2016. Lipid oxidation in meat. *J Nutr Food Sci*. 6:1–3. <http://doi:10.4172/2155-9600.1000494>
- Cheng Q, Sun DW. 2008. Factors affecting the water holding capacity of red meat products: A review of recent research advances. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*. 48:137-159.
- Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*. 70(1):31-48.
- Chilliard Y, Glasser F, Ferlay A, Bernard L, Rouel J, Doreau, M. 2007. Diet, Rumen Biohydrogenation, and Nutritional Quality of Cow and Goat Milk Fat. *Eur J Lipid Sci Technol*. 109:828-855.
- Chouinard PY, Girard V, Brisson GJ. 1997. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat-treated soybeans using various processing methods. *J Dairy Sci*. 80:334–342.
- CIE. Comission Internacionale de l'Eclairage. 1986. *Colorimetry*, 2nd Ed. Vienna.

- Corbin CH, O'Quinn TG, Garmyn AJ, Legako JF, Hunt MR, Dinh TTN, Rathmann RJ, Brooks JC, Miller MF. 2015. Sensory evaluation of tender beef strip loin steaks of varying marbling levels and quality treatments. *Meat Sci.* 100:24–31.
- Corcoran K, Bernués A, Manrique E, Pacchioli MT, Baines R, Boutonnet JP. 2001. Current consumer attitudes towards lamb and beef in Europe. *Options méditerranéennes.* A46: 5–79.
- Costa P, Simões JA, Alves SP, Lemos JPC, Alfaia CM, Lopes PA, Prates JAM, Hocquette J, Calkins CR, Vleck V, Bessa RJB. 2017. Beef palatability and its relationship with protein degradation and muscle fibre type profile in longissimus thoracis in Alentejana breed from divergent growth pathways. Cambridge University Press. 11(1):175-182.
- Daley CA, Abbott A, Doyle PS, Nader GA, Larson S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal.* 9:11-12.
- De Smet S, Raes K, Demeyer D. 2004. Meat fatty acid composition as affected by genetic factors. *Animal Research.* 53:81-88.
- Dewhurst RJ, Moorby JM, Vlaeminck B, et al. 2007. Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. *J Dairy Sci.* 90:1775–1780.
- Dolezal HG, Smith GC, Savell JM, Carpenter ZL. 1982. Effect of time-on-feed on palatability of rib steaks from steers and heifers. *J Food Sci.* 47:368.
- Domínguez R, et al. 2019. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants.* 8(10):1–31. <http://doi:10.3390/antiox8100429>
- Doreau M, Chilliard Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition.* 78(S1):S15-S35.
- Doreau M, Meynadier A, Fievez V, Ferlay A. 2016. Ruminant Metabolism of Fatty Acids: Modulation of Polyunsaturated, Conjugated, and Trans Fatty Acids in Meat and Milk. *Handbook of Lipids in Human Function. Fatty Acids.* 521-542.
- Dransfield E. 1993. Modelling post-mortem tenderization. IV. Role of Calpains and calpastatin in conditioning. *Meat Science.* 34:217-234.
- DSM in Animal Nutrition and Health (2019). <https://www.dsn.com/markets/anh/enUS/Compendium/ruminants/vitamin E.html>

- Du M, et al. 2013. Meat science and muscle Biology Symposium: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 91(3):1419–1427. <http://doi:10.2527/jas.2012-5670>
- Du M, Huang Y, Das AK, Yang Q, et al. 2013. Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *J Anim Sci*. 91:1419–1427.
- Duckett SK, Wagner DG, Yates LD, Dolezal HG, May SG. 1993. Effects of time on feed on beef nutrient composition. *Journal of Animal Science*. 71:2079-2088.
- Dugan MER, et al. 2011. Review: Transforming beef to provide healthier fatty acid profiles. *Canadian Journal of Animal Science*. 91(4):545–556. <http://doi:10.4141/cjas2011-044>
- Dugan MER, Mapiye C, Vahmani P. 2018. Polyunsaturated fatty acid biosynthesis and metabolism in agriculturally important species. In: Burdge, GC, editor. *Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism*. AOCS Press. 61-86.
- Duizer LM, Gullett EA, Findlay CJ. 1996. The relationship between sensory time-intensity, physiological electromyography and instrumental texture profile analysis measurements of beef tenderness. *Meat Science*. 42:215-224.
- Dunne PG, O'Mara FP, Monahan FJ, Moloney AP. 2006. Changes in colour characteristics and pigmentation of subcutaneous adipose tissue and *M. longissimus dorsi* of heifers fed grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science*. 74(2):231-241.
- Durand D, Scislowski V, Gruffat D, Chilliard Y, Bauchart D. 2005. High-fat rations and lipid peroxidation in ruminants: Consequences on the health of animals and quality of their products. In: Hocquette JF, Gigli S, editors. *Indicators of milk and beef quality*. EAAP Publ. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers. p. 137-150.
- EFSA. 2009. (Autoridade Europeia de Segurança Alimentar). Scientific Opinion on Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the omission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *The EFSA Journal*. 1176:1-11.

- Elmore JS, Warren HE, Mottram DS, Scollan ND, Enser M, Richardson RI, et al. 2004. 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 Science*. 68:27-33.
- Emken EA, Adlof RO, Rakoff H, Rohwedder WK, Gulley RM. 1990. Metabolism in vivo of deuterium-labelled linolenic and linoleic acids in humans. *Biochemical Society Transactions*. 18(5):766–769.
- Engle TE, Spears JW, Fellner V, Odle J. 2000. Effects of soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *Journal of Animal Science*. 78:2713-2721.
- Enjalbert F, Troegeler-Meynadier A. 2009. Biosynthesis of Trans Fatty Acids in Ruminants. In: Destailats F, Se'be'dio JL, Dionisi F, Chardigny JM, editors. *Trans Fatty Acids in Human Nutrition*. Bridgwater, UK: The Oily Press. p. 142.
- Enser M, Scollan ND, Choi NJ, Kurt E, Wood JD. 1999. Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *Journal of Animal Science*. 69:143-146.
- Estévez M, Morcuente D, Ventanas S. 2009. Determination of oxidation. In: Nollet LML, Toldrá F, editors. *Handbook of Muscle Foods Analysis*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. p. 221–240.
- EU Market Observatory [https://ec.europa.eu/agriculture/market-observatory/meat\\_en](https://ec.europa.eu/agriculture/market-observatory/meat_en)
- European Meat Market Observatory CE (EMMO-CE).2020. Beef and veal market situation. [https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/food-farming-fisheries/farming/documents/beef-production\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/food-farming-fisheries/farming/documents/beef-production_en.pdf)
- Evans HM, Emerson OH, Emerson GA. 1936. The isolation from wheat germ oil of an alcohol, alpha-tocopherol, having the properties of vitamin E. *J Biol Chem*. 113:319-332.
- FAO. 2010. *Fat and Fatty Acids in Human Nutrition; Report of an Expert Consultation; FAO Food and Nutrition Paper No. 91; FAO: Rome, Italy.*
- FAO. 2011. *World Livestock 2011-Livestock in Food Security*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <http://www.fao.org/docrep/014/i2373e/i2373.pdf>
- FAO. 2018. *Livestock Commodities*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. <http://www.fao.org/3/ca3880en/ca3880en.pdf>

- FAO. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/>
- FAO/WHO Expert Consultation, Geneva, November 2008. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 55: 1-3.
- Faustman C. 2004. Food from supplement-fed animals. In: Smith J, editor. *Technology of Reduced Additive Foods*. 2<sup>nd</sup> edition. Ames, Iowa: Blackwell, Publ. Ch 8.
- Faustman C, Cassens RG, Schaefer DM, Buege DR, Sheller KK. 1989. Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak color. *Journal of Food Science*. 54:485-486.
- Faustman C, Sun Q, Mancini R, Suman, SP. 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*. 86(1):86-94.
- Faustman C, Chan WK, Schaefer DM, Havens A. 1998. Beef color update: the role for vitamin E. *J Anim Sci*. 76:1019-1026.
- FEDNA. 2008. De Blas C. Normas Fedna para la formulación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid.
- FEDNA. 2015. De Blas C. Normas Fedna para la formulación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid.
- Ferret A, Calsamiglia S, Bach A, Devant M, Fernández C, García-Rebollar P. 2008. Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo. Normas FEDNA. 54.
- Font-i-Furnols M, Guerrero L. 2014. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*. 98(3):361–371.
- Fortin M, Julien P, Couture Y, Dubreuil P, Chouinard PY, Latulippe C, Davis TA, Thivierge MC. 2010. Regulation of glucose and protein metabolism in growing steers by long-chain n-3 fatty acids in muscle membrane phospholipids is dose- dependent. *Animal*. 4(1):89–101.
- Frank D, Joo S, Warner R. 2016. Consumer acceptability of intramuscular fat. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 36(6):699–708. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.699>
- Freiser H, Jiang Q. 2009.  $\gamma$ -tocotrienol and  $\gamma$ -tocopherol are primarily metabolized to conjugated 2-( $\beta$ -carboxyethyl)-6-hydroxy-2,7,8-trimethylchroman and sulfated long-chain carboxychromanols in rats. *J Nutr*. 139:884-889.

- Gandemer G. 1998. Lipids and meat quality-lipolysis- oxidation and flavour. Proc. 44th ICOMST:106-119.
- Gardner GE, Jacob R, Pethick DW. 2001. The effect of magnesium oxide supplementation on muscle glycogen metabolism before and after exercise and at slaughter in sheep. Australian Journal of Agricultural Research. 52:723–729.
- Garmyn AJ, Hilton RG, Morga JB, Reecy JM, Tait RG, Beitz DC, Duan Q, Schoonmaker JP, Mayes MS, Drewnoski ME, et al. 2011. Estimation of relationships between mineral concentration and fatty acid composition of longissimus muscle and beef palatability traits. J Anim Sci. 89:2849-2858.
- Geesink GH, Taylor RG, Bekhit AED. 2001. Evidence against non-enzymatic calcium theory of tenderization. Meat Science. 59:417-422.
- Giese J. 1995. Measuring physical properties of foods. Food Technology. 49(2):54-63.
- Glasser F, Schmidely P, Sauvant D, Doreau M. 2008. Digestion of Fatty Acids in Ruminants: A Meta-Analysis of Flows and Variation Factors. 2. C18 Fatty Acids. Animal. 2:691-704.
- Glitsch K. 1997. Consumer behaviour towards meat in the EU: A preliminary statistical analysis. In Proc. 4 th Meeting of EU Project Partners, The National food Centre, Dublin, 6-8 June.
- Gobert M, Martin B, Ferlay A, Chilliard Y, Graulet B, Pradel P, Bauchart D, Durand D. 2009. Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. J Dairy Sci. 92:6095-6104.
- GOED (2019). The global organization for EPA & DHA omega-3. Omega-3 Basics. [www.goedomega3.com](http://www.goedomega3.com)
- Gotoh T, Shikama K. 1974. Autoxidation of Oxymyoglobin from bovine heart muscle. Archives of Biochemistry & Biophysics. 163:476-481.
- Gray JI, Goma EA, Buckley DJ. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. Meat Science. 43:S111-S123.
- Griinari JM, Bauman DE. 1999. In: Yurawecz MP, Mossoba MM, Kramer JKC, Nelson G, Pariza MW, editors. 1999. Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, vol 1. Champaign, IL, USA: AOCS Press. p. 180–200.

- Griinari J, Cori B, Lacy S, Chouinard P, Nurmela K, Bauman D. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta-9 desaturase. *Journal of Nutrition*. 130:2285-2291.
- Griswold KE, Apgar GA, Robinson RA, Jacobson BN, Johnson D, Woody HD. 2003. Effectiveness of short-term feeding strategies for altering conjugated linoleic acid content of beef. *Journal of Animal Science*. 81:1862-1871.
- Grunert KG, Bredahl L, Brunso K. 2004. Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector—a review. *Meat Science*. 66(2):259-272.
- Grunert KG. 2006. Future trends and consumer lifestyles with regard to meat consumption. *Meat Science*. 74(1):149-160.
- Guerrero L. 2000. Determinación sensorial de la calidad de la carne. In: Cañeque V, Sañudo C, editors. *Estandarización de las metodologías para la evaluación de la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los ruminantes*. Madrid: INIA. p. 205-220.
- Gulati SK, Garg MR, Scott TW. 2005. Rumen protected protein and fat produced from oilseeds and/or meals by formaldehyde treatment; their role in ruminant production and product quality: A review. *Aust J Exp Agric*. 45:1189–1203.
- Guyon C, Meynier A, Lamballerie M. 2016. Protein and lipid oxidation in meat: a review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends in Food Science & Technology*. 50:131–143. <http://doi:10.1016/j.tifs.2016.01.026>
- Hamm R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In: Bechtel PJ, editor. *Muscle as food*. Orlando, USA: Academic Press. p. 135-199.
- Hardy B, Frape DL. 1983. *Micronutrients and reproduction*. 1895. Hoffmann-La Roche, Basel.
- Harfoot CG, Hazlewood GP. 1997. Lipid Metabolism in the Rumen. In: Hobson PN, Stewart CS, editors. *The Rumen Microbial Ecosystem*. London: Blackie Academic & Professional. p. 382-426.
- Harper GS, Pethick DW. 2004. How might marbling begin? *Australian Journal of experimental Agriculture*. 44:653-662.
- Herdmann A, Martin J, Nuernberg G, Dannenberger D, Nuernberg K. 2010. Effect of Dietary n-3 and n-6 PUFA on Lipid Composition of Different Tissues of German Holstein Bulls and the Fate of Bioactive Fatty Acids During Processing. *J Agric Food Chem*. 58:8314-8321.

- Hernandez B. 1994. Estudio del color en carnes: caracterización y control de calidad. (tesis doctoral). Zaragoza: Faculdade de Veterinaria - Universidade de Zaragoza.
- Herring HR, Cassens RG, Suess GG, Brungardt VH, Briskey EJ. 1967. Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. *Journal of Food Science*. 32:317-322.
- Hess BW, Moss GE, Rule DC. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*. 86(14\_suppl):E188-E204.
- Hidiroglou N, Laflamme LF, McDowell LR. 1988. Blood, plasma and tissue concentrations of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds. *J Anim Sci*. 66:3227-3234.
- Hill F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. *Journal of Food Science*. 31:161-166.
- Hocquette JF, et al. 2012. 'Opportunities for predicting and manipulating beef quality'. *Meat Science*. 92(3):197–209. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2012.04.007>
- Hoekstra WG. 1975. Biochemical Function of Selenium and its Relation to Vitamin E. *Fed Proc*. 34:2083.
- Holman BWB, Mao Y, Coombs CEO, van de Ven RJ, Hopkins DL. 2016. Relationship between colorimetric (instrumental) evaluation and consumer-defined beef colour acceptability. *Meat Science*. 121:104–106.
- Holman BWB, et al. 2017. Using Instrumental (CIE and Reflectance) Measures to Predict Consumers' Acceptance of Beef Colour. *Meat Science*. 127:57–62. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2017.01.005>
- Howe P, et al. 2006. Dietary intake of long-chain  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids: Contribution of meat sources. *Nutrition*. 22(1):47–53. <http://doi:10.1016/j.nut.2005.05.009>
- Hudson JA, Cai Y, Corner R J, Morvan B, Joblin KN, Identification and enumeration of oleic acid and linoleic acid hydrating bacteria in the rumen of sheep and cows. *J. Appl. Microbiol*. 2000, 88, 286–292
- INE. 2017. Instituto Nacional de Estatística - Anuário estatístico de Portugal: 2017. Lisboa: INE, 2018. Disponível na [wwwurl: <https://www.ine.pt/xurl/pub/320469310>](http://www.ine.pt/xurl/pub/320469310)

- INE. 2020. Instituto Nacional de Estatística - Anuário estatístico de Portugal: 2019. Lisboa: INE, 2020. Disponível [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorrCod=0000211&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=PT](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000211&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=PT)
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins: Besoins des animaux - Valeurs des aliments, tables. Ed.: Quae, Paris. 84 p.
- INRA. 2018. Apports nutritionnels – Besoins et réponses des animaux Rationnement – Tables des values des aliments. Editions Quae
- Insausti K, Beriain MJ, Purroy A, Albertí P, Lizaso L, Hernández B. 1999. Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Science*. 53(4):241-249.
- ISO 13906 (2008) Animal feeding stuffs — Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO5983 (1997). Animal feeding stuffs determination of nitrogen content and calculation of crude protein content, Kjeldhal method. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO6492 (1999). Animal feeding stuffs determination of fat content. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO6496 (1999). Animal feeding stuffs determination of moisture and other volatile matter content. Geneve, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jakobsen M, Bertelsen G. 2000. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*. 54(1):49-57.
- Jayasooriya SD, Torley PJ, D'Arcy BR, Bhandari BR. 2007. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. *Meat Sci*. 75:628-639.
- Jelenikova J, Pipek P, Staruch L. 2008. The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Sci*. 80(3):870-874. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2008.04.004>
- Jenkins TC. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 67:978-986.
- Jenkins TC, Bridges WC. 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109 8):778–789.

- Jenkins TC; Wallace RJ, Moate PJ, Mosley EE. 2008. Recent Advances in Biohydrogenation of Unsaturated Fatty Acids Within the Rumen Microbial Ecosystem. *J Anim Sci.* 86:397-412.
- Jimeno V, Castro T, Alonso T. 2008. Alimentacion de ganado vacuno de carne: cebo de terneros; XII Jornadas da Associação Portuguesa de Buiatria, Vilamoura.
- Jones SDM, Schaefer AL, Robertson WM, Vincent BC. 1990. The effects of withholding feed and water on carcass shrinkage and meat quality in beef cattle. *Meat Science.* 28(2):131-139.
- Jones T. 2017 Methods and their applications for measuring and managing lipid oxidation: Meat, poultry, and seafood products. In: Banerjee R, Verma AK, Siddiqui MW, editors. *Natural Antioxidants. Applications in Foods of Animal Origin.* Boca Raton, FL, USA: Apple Academic Press, Inc. p. 203–260.
- Juárez M, Dugan MER, Aalhus JL, Aldai N, Basarab JA, Baron VS, McAllister TA. 2010. Effects of vitamin E and flaxseed on rumenderived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science.* 88(3):434-440.
- Juárez M, Dugan MER, Aalhus JL, Aldai N, Basarab JA, Baron VS, McAllister TA. 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science.* 88(3):434-440.
- Juárez M, Dugan MER, Aalhus JL, Aldai N, Basara JA, Baron VS, McAllister TA. 2012. Beef Quality attributes as affected by increasing the intramuscular levels of vitamin E and omega-3 fatty acids. *Meat Science.* 90:764-769.
- Kahraman HA, Gurbuz U. 2018. Aging applications on beef meat. *Manas J. Engineering.* 6(1):7-13.
- Kahraman HA, Gurbuz U. 2019. 'Effects of three aging methods on the Longissimus lumborum muscle from Holstein-Friesian steers', *Medycyna Weterynaryjna.* 75(3):179–184. <http://doi:10.21521/mw.6182>
- Keeney, M. 1970. Lipid Metabolism in the Rumen. In: Phillipson AT, editor. *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant.* Newcastle upon Tyne, UK: Oriel Press. p. 489-503.
- Kemp CM, Sensky PL, Bardsley RG, Buttery PJ, Parr T. 2010. Tenderness – An enzymatic view. *Meat Science.* 84:248-256.

- Khan MA, et al. 2016. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers'. *Journal of Dairy Science*. 99(2):885–902. <http://doi:10.3168/jds.2015-9975>
- Khliji S, et al. 2010. Relationship between Consumer Ranking of Lamb Colour and Objective Measures of Colour. *Meat Science*. 85,(2):224–29. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2010.01.002>
- Kim C, Leo M, Lowe N, Lieber C.1988. Effects of Vitamin A and Ethanol on Liver Plasma Membrane Fluidity. *Hepatology by the American Association for the Study of Liver Diseases*. 8(4)4: 735-741. Printed in U.S.A.
- Kim YHB, Warner RD, Rosenvold K. 2014. Influence of high pre-rigor temperature and fast pH fall on muscle proteins and meat quality: A review. *Animal Production Science*. 54:375–395.
- King DA, Shackelford SD, Rodriguez AB, Wheeler TL. 2011. Effect of time of measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen consumption to instrumental measures of beef longissimus color stability. *Meat Science*. 87(1):26-32.
- Kishino S, Ogawa J, Yokozeki K, Shimizu S. 2009. Metabolic diversity in biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids by lactic acid bacteria involving conjugated fatty acid production. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 84:87–97.
- Klasmeyer TH, Lynch GL, Clark H, Nelson DR. 1991. Effects of calcium salts of fatty acids and proportion of forage in diet on ruminal fermentation and nutrient flow to duodenum of cows. *Dairy Sci*. 74:2220.
- Koomarahie M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*. 43(S):S193-S201.
- Koohmaraie M, Geesink GH. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*. 74:34-43.
- Koutsidis G, Elmore JS, Oruna-Concha MJ, Campo MM, Wood JD, Mottram DS. 2008. Water-soluble precursors of beef flavour: I. Effect of diet and breed. *Meat Science*. 79(1):124-130.
- Kronberg SL, Barcelo-Coblijn G, Shin J, Lee K, Murphy EJ. 2006. Bovine muscle n-3 fatty acid content is increased with flaxseed feeding. *Lipids*. 41(11):1059–1068. <https://doi.org/10.1007/s11745-006-5056-z>

- Larick DK, Hedrick, HB, Bailey ME, Williams JE, Hancock DL, Garner GB, Morrow ME. 1987. Flavor constituents of beef as influenced by forage and grain-feeding. *Journal of Food Science*. 52(2):245-251.
- Larick DK, Turner BE. 1990. Flavor constituents of forage-and grain-fed beef as influenced by phospholipid and fatty acid compositional differences. *Journal of Food Science*. 55(2):312.
- Lawrie RA. 1998. The eating quality of meat. In: R. A. Lawrie (Ed), *Meat Science* (6th ed) (pp. 212-257). Oxford, England: Pergamont Press.
- Lee MRF, Tweed JKS, Dewhurst RJ, Scollan ND. 2006. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal metabolism and duodenal flow of fatty acids in beef steers. *Journal of Animal Science*. 82:31-40.
- Lee YJ, Thompson JT, Vanden Heuvel JP. 2009. 9E,11E-conjugated linoleic acid increases expression of the endogenous anti-inflammatory factor, interleukin-1 receptor antagonist, in RAW 264.7 cells. *J Nutr*. 139:1861–1866.
- Lee YJ, Jenkins TC. 2011. Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *Journal of Nutrition*. 141(8):1445–1450. <http://doi:10.3945/jn.111.138396>
- Lee MRF, Tweed JKS, Kim EJ, Scollan ND. 2012. Beef, chicken and lamb fatty acid analysis, a simplified direct bimethylation procedure using freeze-dried material. *Meat Science*- 92:863–866.
- Lemos JPC, 1997. Crescimento, características da carcaça e da carne de bovinos das raças Alentejanas, Barrosã, Mertolenga e Frísia produzidos em pastoreio. (tese de doutoramento em Ciências Veterinárias). Lisboa, Portugal: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.
- Linder MC. 1985. Nutrition and metabolism of vitamins. In: Linder MC, editor. *Nutritional Biochemistry and Metabolism*. New York, USA: Elsevier Sci Publ Co.
- Liu Q, Lanari MC, Schaefer DM. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*. 73(10):3131-3140.
- Liu Q, Scheller KK, Arp SC, Schaefer DM, Williams SN. 1996. Titration of fresh meat color stability and malondialdehyde development with Holstein steers fed vitamin E-supplemented diets. *J Anim Sci*. 74(1):117-126.

- Löhrke B, Viergutz T, Kanitz W, Losand B, Weiss DG, Simko M. 2005. Short communication: hydroperoxides in circulating lipids from dairy cows: implications for bioactivity of endogenous-oxidized lipids. *J Dairy Sci.* 88:1708-1710.
- Lorenzen CL, Golden JW, Martz FA, Grün IU, Ellersieck MR, Gerrish JR, Moore KC. 2003. Conjugated linoleic acid content of beef differs by feeding regime and muscle. *Meat Science.* 75:159-167.
- Lourenço M, et al. 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *Journal of Animal Science.* 86(11):3045–3053. <http://doi:10.2527/jas.2007-0708>
- Lourenço M, Ramos-Morales E, Wallace RJ. 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal.* 4(7):1008–1023. <http://doi:10.1017/S175173111000042X>
- Lynch NM, Kastner CL, Kropf DH. 1986. Consumer acceptance of vacuum packaged ground beef as influenced by product color and educational materials. *Journal of Food Science.* 51:253–255.
- MacDougall DB. 1982. Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry.* 9(12):75-88.
- Mach N, Devant M, Díaz I, Font-Furnols M, Oliver MA, Garcia JA, Bach, A. 2006. Increasing the amount of n-3 fatty acids in meat from young Holstein bulls through nutrition. *Journal of animal Science.* 84:3039-3048.
- Mach N, Bach A, Realini CE, Font-Furnols M, Velarde A, Devant, M. 2009. Burdizzo pre-pubertal castration effects on performance, behaviour, carcass characteristics, and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *Journal of animal Science.* 81:329-334.
- Macíe ESA. 2002. Influencia de la raza y del peso vivo al sacrificio sobre la evolución de la calidad de la carne a lo largo de la maduración. (tesis doctoral). Zaragoza. Facultad de Veterinaria - Universidad de Zaragoza.
- Macleod G, Ames JM. 1986. The effect of heat on beef aroma: Comparisons of chemical composition and sensory properties. *Flavour and Fragrance Journal.* 1:91-104.
- Madron MS, Peterson DG, Dwyer DA, Corl BA, Baumgard LH, Beermann DH, Bauman DE. 2002. Effect of extruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. *Journal of Animal Science.* 80(4):1135-1143.

- Mancini RA, Hunt MC. 2005. Current research in meat color September 2005 Meat Science 71 (1) : 100-121  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Mandell IB, Buchanan S, Campbell CP. 1998. Effects of forage vs grain feeding on carcass characteristics, fatty acid composition, and beef quality in Limousin-cross steers when time on feed is controlled. Journal of Animal Science. 76:2619-2630.
- Mapiye C, Vahmani P, Mlambo V, Muchenje V, Dzama K, Hoffman L, Dugan M. 2015. The trans-octadecenoic fatty acid profile of beef: Implications for global food and nutrition security. Food Research International. 76:992-1000.
- Marsh BB. 1977. The nature of tenderness. In Proc. 30 th Annual Reciprocal Meat Conference, 69, A.M.S.A.
- Marti S, Realini CE, Bach A, Pérez-Juan M, Devant M. 2011. Effect of Vitamin A restriction on performance and meat quality in finishing Holstein bulls and steers. Meat Science. 89:412-418.
- Marti S, Realini CE, Bach A, Pérez-Juan M, Devant M. 2014. Effect of castration and slaughter age on performance, carcass, and meat quality traits of Holstein calves fed a high-concentrate diet. Journal of animal Science. 91:1129-1140.
- Mauvoisin D, Mounier C. 2011. Hormonal and nutritional regulation of SCD1 gene expression. Biochimie. 93(1):78–86.  
<http://doi:10.1016/j.biochi.2010.08.001>
- McDowell LR. 2000. "Vitamins in Animal and Human Nutrition". Iowa State University Press, Ames, IA.
- McKenna DR, Mies PD, Baird BE, Pfeiffer, KD, Ellebracht, JW, Savell, JW. 2005. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. Meat Science. 70(4):665-682.
- McNiven MA, Duynisveld J, Charmley E, Mitchell A. 2004. Processing of soybean affects meat fatty acid composition and lipid peroxidation in beef cattle. Animal Feed Science and Technology. 116:175-184.
- Mensink RP. 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. Lipids. 40:1201–1205.
- Miller AJ, Smith JL, Buchanan RL. 1997. Proc Conf Food Safety: From producerism to Consumerism. Sheridan JJ, O’Keeffe M, Rogers M, editors. The Implications of Change. Dublin: The National Food Centre.

- Miller MF, Carr MA, Ramsey CB, Crockett KL, Hoover LC. 2001. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *Journal of Animal Science*. 79(12):3062–3068.
- Misock JP, Campion DR, Field RA, Riley ML. 1976. Palatability of heavy ram lambs. *Journal of Animal Science*. 42:1440.
- Moloney AP, Fievez V, Martin B, Nute GR, Richardson RI. 2008. Botanically diverse forage-based rations for cattle: Implications for product composition and quality and consumer health. *Grassland Science in Europe*. 13:361–374.
- Moloney AP, Shingfield KJ, Dunne P. 2011. Fatty acid composition of longissimus dorsi muscle of early or late maturing heifers offered supplements containing either safflower oil or ruminally protected tuna oil while at pasture. *Advances in Animal Biosciences*. 2(2):275.
- Monin G. 1998. Recent methods for predicting quality of whole meat. *Proc 44th. ICOMST*:56-65.
- Monteils V, Sibra C, Ellies-Oury MP, Botreau R, De la Torre A, Laurent C. 2017. A set of indicators to better characterize beef carcasses at the slaughterhouse level in addition to the EUROP system. *Livestock Science*. 202:44–51.
- Monteiro ACG. 2012. Relationship between Portuguese consumer preferences and textural properties, chemical composition and nutritional value of beef. (tese de doutoramento em Ciências Veterinárias) Lisboa, Portugal: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Montgomery SP, Drouillard JS, Sindt JJ, Greenquist MA, Depenbush BE, Good EJ, Loe ER, Sulpizio MJ, Kessen TJ, Ethington RT. 2005. Effects of dried full-fat corn germ and vitamin E on growth performance: and carcass characteristics of finishing cattle. *J Animal Sci*. 83:2440-2447.
- Morgan S, Huws SA, Scollan ND. 2012. Progress in forage-based strategies to improve the fatty acid composition of beef. *Grassland Science in Europe*. 17:295–307.
- Mosley EE, Powell GL, Riley MB, Jenkins TC. 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *J Lipid Res*. 43:290–296.
- Mottram DS. 1998. Flavour formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry*. 62(4):415–424.
- Murray AC. 1989. Factors affecting beef color at time of grading. *Canadian Journal of Animal Science*. 69:347-355.

- Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. 2001. *Bioquímica de Harper*. Ed. El Manual Moderno. Santafé de Bogotá. Colombia
- Nakamura, M.T., Nara, T.Y. (2004). Essential fatty acid sintesis and its regulation in mamals. *Prostaglandins Leuk Essent Fatty Acids*. 68:145-150.
- Noci F, O'Kiely P, Monahan FJ, Stanton C, Moloney AP. 2005. Conjugated linoleic acid concentration in *M. longissimus dorsi* from heifers offered sunflower oil-based concentrates and conserved forages. *Meat Science*. 69(3):509-518.
- Noci F, Monahan FJ, Scollan ND, Moloney AP. 2007. The fatty acid composition of muscle and adipose tissue of steers offered unwilted or wilted grass silage supplemented with sunflower oil and fish oil. *British Journal of Nutrition*. 97(3):502–513.
- NRC. 2000. *Nutrient requirements of beef cattle*. Updated 7th rev. ed. Washington, DC: National Academies Press.
- NRC. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. Updated rev. ed. Washington, DC: National Academies Press.
- Nuernberg K, et al. 2005. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*. 94(1–2):137–147.  
<http://doi.10.1016/j.livprodsci.2004.11.036>
- O'Quinn TG, Brooks JC, Miller MF. 2015. Consumer Assessment of Beef Tenderloin Steaks from Various USDA Quality Grades at 3 Degrees of Doneness. *Journal of Food Science*. 80(2):S444–S449.  
<http://doi:10.1111/1750-3841.12775>
- O'Quinn TG, et al. 2016. Identifying Consumer Preferences for Specific Beef Flavor Characteristics in Relation to Cattle Production and Postmortem Processing Parameters. *Meat Science*. 112: 90–102.  
<http://doi:10.1016/j.meatsci.2015.11.001>
- Oddy VH, Harper GS, Greenwood PL, McDonagh MB. 2001. Nutritional and developmental effects on the intrinsic properties as muscle as they relate to the eating quality of beef. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 41:921-942.
- Offer G, Knight P. 1988. The structural basis of water-holding in meat. In: Lawrie R, editor. *Developments in Meat Science*, 4, part 2. p. 173.

- Oliete B, Moreno T, Carballo JA, Varela A, Monserrat L, Sánchez L. 2005. Influence of ageing time on the quality of yearling calf meat under vacuum. *European Food Research and Technology*. 220:489–493. <http://doi:10.1007/s00217-004-1071-6>
- Oliete B, Carballo JA, Varela A, Moreno T, Monserrat L, Sánchez L. 2006. Effect of weaning status and storage time under vacuum upon physical characteristics of meat of the Rubia Gallega breed. *Meat Science*. 73(1):102-108.
- Olsson V, Hertzman C, Tomberg E. 1994. The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor and tenderness of two beef muscles. *Meat Science*. 37:115-131.
- Orstadius K, Nordstrom G, Lannek N. 1963. Combined therapy with vitamin E and selenite in experimental nutritional muscular dystrophy of pigs. *Cornell Vet*. 53:60.
- Ouali A. 1990. Meat tenderisation: possible mechanisms, A review. *Journal of Muscle Foods*. 1:129-165.
- Paillard D, McKain N, Chaudhary LC, Walker ND, Pizette F, Koppova I, McEwan NR, Kopecny J, Vercoe PE, Louis P, et al. 2007. Relation Between Phylogenic Position, Lipid Metabolism and Butyrate Production by Different *Butyrivibrio*-Like Bacteria from the Rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*. 91:303-314.
- Palmquist DL. 1994 The Role of Dietary Fats in Efficiency of ruminants. Cobference: Regulating Lipid Metabolism to increase Productive Efficiency. The Journal of Nutrition. American institution of Nutrition. Ohio. Journal of Nutrition . September 1994 <http://doi:10.1093/jn/124.suppl.8.1377S>
- Palmquist DL, Lock AL, Shingfield KJ, Bauman DE. 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. In: Taylor SL, editor. *Advances in food and nutrition research*. San Diego, CA, USA: Elsevier Academic Press. p. 50, 179-217.
- Partida JA, Olleta JL, Sañudo C, Albertí P, Campo MM. 2007. Fatty acid composition and sensory traits of beef fed palm oil supplements. *Meat Science*. 76(3):444-454.
- Pawlosky RJ, et al. 2001. 'Physiological compartmental analysis of  $\alpha$ -linolenic acid metabolism in adult humans', *Journal of Lipid Research*. 42(8):1257–1265

- Pereira ALF, Abreu VKG. 2018. Lipid peroxidation in meat and meat products. In: Mansour MA, editor. Lipid Peroxidation. London, UK: Intech Open. p. 1–14
- Pérez-Alvarez JA. 1996. Contribución al estudio objetivo del color en productos cárnicos crudo-curados. PhD. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Pérez-Alvarez JA. 1996. Contribución al estudio objetivo del color en productos cárnicos crudo-curados. (tesis doctoral). Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Pérez-Alvarez JA, Fernandez-Lopez J, Sayas-barberá ME, Cartagena-Gracia R. 1998. Caracterización de los parámetros de color de diferentes materias primas usadas en la industria cárnica. *Eurocarne*. 63:115-122.
- Pérez-Jiménez F, Castro P, López-Miranda J, Paz-Rojas E, Blanco A, López-Segura F, et al. 1999. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis*. 145:351-358.
- Pérez-Juan M, et al. 2014. "Effects of Enrichment with Polyunsaturated Fatty Acids (Omega-3 and Conjugated Linoleic Acid) on Consumer Liking of Beef Aged for 7 or 21 d Evaluated at Different Locations." *Journal of Food Science*. 79(11):S2377–S2382. <http://doi:10.1111/1750-3841.12667>
- Pethick DW, Harper GS, Oddy VH. 2004. Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. *Australian Journal of experimental Agriculture*. 44:705-715.
- Pipek P, Haberl A, Jeleniková J. 2003. Influence of slaughterhouse handling on the quality of beef carcasses. *Czech J Anim Sci*. 48:371-378.
- Piperova LS, Sampugna J, Teter BB, Kalscheur KF, Yurawecz Y, Ku K, Morehouse KM, Erdman RA. 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that post absorptive synthesis is the predominant source of cis-9- containing CLA in lactating dairy cows. *Journal Nutrition*. 132:1235-1241.
- Ponnampalam EN, Mann NJ, Sinclair AJ. 2006. Effect of feeding systems on omega-3 fatty acids, conjugated linoleic acid and trans fatty acids in Australian beef cuts: Potential impact on human health. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 15(1):21–29.
- Pottier J, Focant M, Debier C, De Buysser G, Goffe C, Mignolet E, Froidmont E, Larondelle Y. 2006. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *J Dairy Sci*. 89:685-692.

- Prates JAM, Quaresma MAG, Bessa RJB, Fontes CMGA, Alfaia, CMPM. 2006. Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and b-carotene in Barrosã-PDO veal. *Food Chemistry*. 94:469-477.
- Priolo A, Micol D and Agabriel J. 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour, a review. *Animal Research*. 50:185–200.
- Proell JM, Mosley EE, Powell GL, Jenkins TC. 2002. Isomerization of stable isotopically labeled elaidic acid to cis and trans monoenes by ruminal microbes. *J Lipid Res*. 43:2072–2076.
- Purchas RW. 1990. An assessment if the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. *Meat Science*. 27:129-140.
- Raes K, De Smet S, Demeyer D. 2001. Effect of double-muscling in Belgian Blue young bulls on the intramuscular fatty acid composition with emphasis on conjugated linoleic acid and polyunsaturated fatty acids. *Animal Science*. 73:253–260.
- Raes K, Balcaen A, Dirinck P, De Winne A, Claeys E, Demeyer D, et al. 2003. Meat quality fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*. 65:1237-1246.
- Raes K, De Smet S, Demeyer D. 2004. Effect of Dietary Fatty Acids on Incorporation of Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Conjugated Linoleic Acid in Lamb, Beef and Pork Meat: a Review. *Anim Feed Sci Technol*. 113:199-221.
- Ratnayake WM, Galli C. 2009. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Annals of Nutrition & Metabolism*. 55(1–3):8–43. <https://doi.org/10.1159/000228994>
- Razminowicz RH, Kreuzer M, Leuenberger H, Scheeder MRL. 2008. Efficiency of extruded linseed for the finishing of grass fed steers to counteract a decline of omega-3 fatty acids in the beef. *Livestock Science*. 114:150-163.
- Realini CE, Duckett SK, Brito GW, Dalla Rizza, M, De Mattos, D. 2004. Effect of pasture vs Concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*. 66:567-577.
- Reddy PV, Morril JL, Frey RA. 1987. Vitamin E requirements of dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 70:123-129.

- Regulamento (CE) nº 1183/2006 de 24 de Julho. Jornal Oficial da União Europeia nº214. Conselho da União Europeia. Bruxelas. disponível em: <http://eurollex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1183&from=PT>
- Regulamento (CE) nº 700/2007 de 11 de Junho. Jornal Oficial da União Europeia nº161. Conselho da União Europeia. Bruxelas. disponível em: <http://eurollex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R0700&from=PT>
- Regulamento (CE) No 116/2010 de 9 de Fevereiro 2010 amending Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council with regard to the list of nutrition claims [http://data.europa.eu/eli/reg/2010/116\(1\)/oj](http://data.europa.eu/eli/reg/2010/116(1)/oj)
- Regulamento (CE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de dezembro de 2013 <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32013R1308>
- Renner M. 1982. La couleur de la viande et sa mesure. Bull. Tech. C.R.Z, V. Theix. INRA. 47:47-54.
- Renner M. 1988. Quelles recommandations pour mesurer la couleur de la viande au laboratoire. Industries Alimentaires et Agricoles. Juin:530.
- Renner M. 2000. Oxidative processes and myoglobin. Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality. New York. John Wiley & Sons, Inc. Ch 5.
- Renner M, Dumont F, Gatellier PH. 1996. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. Meat Science. 43:111.
- Ripoll G, Albertí P, Panea B, Olleta JL, Sañudo C. 2008. Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental and sensory quality of beef. Meat science. 80(3):697-702.
- Ripoll G, Panea B, Albertí P. 2012. Visual appraisal of beef and its relationship with the CIELab colour space. Informacion Tecnica Economica Agraria. 108:222–232.
- Ripoll G, et al. 2018. “Colour Variability of Beef in Young Bulls from Fifteen European Breeds.” International Journal of Food Science and Technology. 53(12):2777–2785. <http://doi:10.1111/ijfs.13890>

- Rivas-Cañedo A, Nuñez M, Fernández-García E. 2009. Volatile compounds in Spanish dry-fermented sausage 'salchichón' subjected to high pressure processing - Effect of the packaging material. *Meat Sci.* 83:620–626.
- Robelin J, Geay Y. 1974. Estimation de la composition des carcasses de jeunes bovines males a partir de la eme cote. *Bull Technique/Centre de Reserches Zootechniques et Vétérinaires de Theix, INRA*:15-27.
- Roncalés P. 2001. Transformacion del músculo en carne: rigor mortis e maduración. In: Martín Bejarano, S, editor. *Enciclopédia de la carne y de los produtos cárnicos*, 1. Ed. Cáceres: Martin & Martin. p. 884.
- Rosa HJD, et al. 2014. Effect of corn supplementation of grass finishing of Holstein bulls on fatty acid composition of meat lipids. *Journal of Animal Science.* 92(8):3701–3714. <http://doi:10.2527/jas.2013-6982>
- Ross C, Smith D. 2006. Use of Volatiles as Indicators of lipid oxidation in Muscle Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 5(1):18–25.
- Rowe JB, Choct M, Pethick DW. 1999. Processing cereal grain for animal feeding. *Australian Journal of Agricultural Research.* 50:721–736.
- Rule DC, Busboom JR, Kercher CJ. 1994. Effect of dietary canola on fatty acid composition of bovine adipose tissue, muscle, kidney and liver. *Journal of Animal Science.* 72:2735-2744.
- Russo GL. 2009. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology.* 77(6):937-946.
- Sahin S, Sumnu SG. 2006. Rheological properties of foods. In: Heldman DR, editor. *Physical properties of foods. Food science text series.* New York, USA: Springer. p. 39-106.
- Sanchez B, Sanchez L, De la calle B, Monserrat L. 1997. Influencia de factores de variación en los valores de pH y color de la ternera gallega. *VII Jornadas sobre Producción Animal. ITEA*:766-768.
- Santos-Silva J, et al. 2020. Effects of a high-fibre and low-starch diet in growth performance, carcass and meat quality of young Alentejana breed bulls. *Meat Science.* 168. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2020.108191>
- Sañudo C. 1992. La calidad organoléptica de la carne con especial referència a la especie ovina: factores que la determinan, métodos de medida y causas de variación. *Curso Internacional de Producción Ovina. SIA, Zaragoza.*

- Sarriés MV, Murray BE, Moloney AP, Troy D, Beriain MJ. 2009. The effect of cooking on the fatty acid composition of longissimus muscle from beef heifers fed rations designed to increase the concentration of conjugated linoleic acid in tissue. *Meat Science*. 81(2):307-312.
- SAS Institute. 2002. SAS/STAT® User's Guide, versión 9.0. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Savell JW, Cross HR, Smith GC. 1986. Percentage ether extractable fat and moisture content of beef longissimus muscle as related to USDA marbling score. *J Food Sci*. 51:838–839. <http://doi:10.1111/j.1365-2621>
- Savell JW, Branson RE, Cross HR, Stiffler DM, Wise JW, Griffin DB, Smith GC. 1987. National consumer retail beef study: palatability evaluations of beef loin steaks that differed in marbling. *J Food Sci*. 52:517–519. <http://doi:10.1111/j.1365-2621>
- Sayas ME. 1997. Contribuciones al proceso tecnológico de elaboración del jamón curado: aspectos físicos, fisicoquímicos y ultraestructurales en los procesos de curado tradicional y rápido (tesis doctoral). Valencia: Universidade Politècnica de València
- Schaffer S, Walter EM, Gunter PE. 2005. Tocotrienols: Constitutional Effects in Aging and Disease. *The Journal of Nutrition*. 135:151–154.
- Scherf H, Machlin LJ, Frye TM, Krautmann BA, Williams SN. 1996. Vitamin E biopotency: Comparison of various 'natural-derived' and chemically synthesized  $\alpha$ -tocopherols. *Animal Feed Science and Technology*. 59:115-126.
- Schwarz FJ, Augustini C, Timm M, Kirchgebner M, Steinhart, H. 1998. Effect of vitamin E on  $\alpha$ -tocopherol concentration in different tissues and oxidative stability of bull beef. *Livestock Production Science*. 56(2):165-171.
- Schwingshackl L, Hoffmann G. 2014. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids in Health and Disease*. 13:154.
- Scollan ND, Hocquette JF, Nuernberg K, Dannenberger D, Richardson I, Moloney A. 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*. 74:17-33.
- Scollan ND, et al. 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*. 97(3):384–394. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2014.02.015>

- Scollan ND, et al. 2017. Can we improve the nutritional quality of meat? Proceedings of the Nutrition Society. 76(4):603–618. <http://doi:10.1017/S0029665117001112>.
- Secrist DS, Owens FN and Gill DR. 1997. Effects of vitamin E on performance of feedlot cattle: a review. Prof Anim Sci. 13:47-54.
- Sheffy BE, Schultz RD. 1979. Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms. Fed Proc. 38:21-39.
- Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. Animal. 7:132–162.
- Shorthose WR, Harris PV. 1991. Effects of growth and composition on meat quality. Advances in Meat Science. 7:515–549.
- Sierra V, Guerrero L, Fernández-Suárez V, Martínez A, Castro P, Osoro K, Rodríguez-Colunga MJ, Coto-Montes A, Oliván M. 2010. Eating quality of beef from biotypes included in the PGI "Ternera Asturiana" showing distinct physicochemical characteristics and tenderization pattern. Meat Science. 86(2):343-351.
- Silva J, Patarata L, Martins C. 1999. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. Meat Science. 52(4):453-459.
- Skibsted LH, Mikkelsen A, Bertelsen G. 1998. Lipid-derived of-flavours in meat. In: Shahidi F, editor. Flavor of meat, meat products and seafoods. London, UK: Blackie Academic and Professional. p. 217-256.
- Smith GC, Savell JW, Cross HR, Carpenter ZL, Murphey CE, Davis GW, Abraham HC, Parrish Jr FC, Berry BW. 1987. Relationship of USDA quality grades to palatability of cooked beef. J Food Qual. 10(4):269–286.
- Smith SB., Kawachi H, Choi CB, Choi CW, Wu G, Sawyer JE. 2009. Cellular regulation of bovine intramuscular adipose tissue development and composition. Journal of Animal Science. 87(14):E72–E82.
- Stan K. 1992. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. Free Radical Biology and Medicine, 12(1):63-81.
- Steenkamp JBEM. 1997. Dynamics in consumer behaviour with respect to agricultural and food products. In: Wierenga B, van Tilburg A, Grunert K, Steenkamp J-BEM, Wedel M, editors. Agricultural marketing and consumer behaviour in a changing world. Dordrecht: Kluwer Academic publishers. p. 143-188.

- Stewart MR, Zipser MW, Watts BM. 1965. The Use of Reflectance Spectrophotometry for the Assay of Raw Meat Pigments. *Journal of Food Science*. 30(3):464-469.
- Sukhija PS, Palmquist DL. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of agricultural and food chemistry*. 36:1202–1206.
- Suman, Surendranath P, et al. 2014. Improving Beef Color Stability: Practical Strategies and Underlying Mechanisms. *Meat Science*. 98(3):490–504. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.032>
- Takahashi, K. (1996). Structural weakening of skeletal muscle tissue during post-mortem ageing of meat: the non-enzymatic mechanism of meat tenderization *Meat Science* Volume 43, Supplement 1, 1996, Pages 67-80
- Taylor SA. 1996. Modified atmosphere packaging of meat. In: Taylor SA, Raimundo A, Severini M, Smulders FJ, editors. *Meat Quality and Meat Packaging*. Utrecht, The Netherlands: ECCEAMST, III. p. 301-311.
- Therkildsen M, Spleth P, Lange. 2017. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A. Animal Science*. 67(3-4):85-95. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09064702.2018.1487466>
- Thompson JM. 2004. The effects of marbling on flavour and juiciness scores of cooked beef, after adjusting to a constant tenderness. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44:645-652.
- Tichivangan JZ, Morrissey PA. 1985. Metmyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Science*. 15:107-116.
- Toral PG, et al. 2018. Review: Modulating ruminal lipid metabolism to improve the fatty acid composition of meat and milk; Challenges and opportunities. *Animal*. 12(S2):S272–S281. <http://doi:10.1017/S1751731118001994>
- Tornberg E, 2005. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*. 70:493-508.
- Traber MG, Sies H. 1996. Vitamin E in humans: demand and delivery. *Annu Rev Nutr*. 16:321-347.
- Troegeler-Meynadier A, Bret-Bennis L, Enjalbert, F. 2006. Rates and Efficiencies of Reactions of Ruminal Biohydrogenation of Linoleic Acid According to Ph and Polyunsaturated Fatty Acids Concentrations. *Reprod Nutr Dev*. 46:713-724.

- Troy DJ, Kerry JP. 2010. Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*. 86:214–226.
- Turpeinen AM, Mutanen M, Aro A, Salminen I, Basu S, Palmquist DL. 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 76:504–510.
- Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*. 338:985-992.
- United Nations. 2011. World Population Prospects, the 2010 Revision. <https://www.unilibrary.org/populationanddemography/worldpopulationpros>
- Vahmani P, et al. 2015. The scope for manipulating the polyunsaturated fatty acid content of beef: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 6(1):1–13. <http://doi:10.1186/s40104-015-0026-z>
- Vahmani P, et al. 2017. Effects of feeding steers extruded flaxseed on its own before hay or mixed with hay on animal performance, carcass quality, and meat and hamburger fatty acid composition. *Meat Science*. 131:9–17. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2017.04.008>
- Vahmani P, et al. 2020. Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids: Invited Review. *Meat Science*. 165:108-114. <http://doi:10.1016/j.meatsci.2020.108114>
- Varela A, Oliete B, Moreno T, Portela C, Monserrat L, Carballo JA, Sánchez L. 2004. Effect of pasture finishing on the meat characteristics and intramuscular fatty acid profile of steers of the Rubia Gallega breed. *Meat Science*. 67(3):515-522.
- Vatansever L, Kurt E, Enser M, Nute GR, Scollan ND, Wood JD, et al. 2000. Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*. 71:471–482.
- Verbeke W, Van Wezemael L, de Barcellos MD, Kugler JO, Hocquette JF, Ueland O, Grunert KG. 2010. European beef consumers' interest in a beef eating-quality guarantee: Insights from a qualitative study in four EU countries. *Appetite*. 54(2):289–296.
- Vieira C, García-Cachán MD, Recio MD, Domínguez M, Astiz CS. 2006. Effect of ageing time on beef quality of rustic type and rustic x Charolais crossbred cattle slaughtered at the same finishing grade. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 4(3):225-234.

- Voges KL, Mason CL, Brooks JC, Delmore RJ, Griffin DB, Hale DS, Henning WR, Johnson DD, Lorenzen CL, Maddock RJ, et al. 2007. National beef tenderness survey—2006: Assessment of Warner-Bratzler shear force and sensory panel ratings for beef from US retail and food service establishments. *Meat Sci.* 77:357-364.
- Wasserman AE. 1972. Thermally produced flavor components in the aroma of meat and poultry. *J Agric Food Chem.* 20:737.
- Watson R, Gee A, Polkinghorne R, Porter M. 2008. Consumer assessment of eating quality—development of protocols for Meat Standards Australia (MSA) testing. *Aust J Exp Agric.* 48:1360–1367. <http://doi:10.1071/EA07176>
- Webster AJF. 1986. Factors affecting efficiency of metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society.* 45:45-53.
- Wegner J, Albrecht E, Fiedler I, Teuscher F, Papstein HJ, Ender K. 2000. Growth- and breed-related changes of muscle fiber characteristics in cattle. *Journal of Animal Science.* 78(6):1485-1496.
- Weiser H, Riss G, Kormann AW. 1992. Selective biodiscrimination of alpha-tocopherol stereoisomers: similar enrichment of all 2R forms in rat tissues after oral all-rac-alpha-tocopheryl acetate. *Ann NY Acad Sci.* 669:393-395.
- Weiss WP. 1998. Requirements of Fat-soluble Vitamins for Dairy Cows: A Review. Department of Animal Sciences, Ohio Agricultural Research and Development Center.
- Wheeler TL, Kohmaraie M. 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine Longissimus muscle. *Journal of Animal Science.* 72:1232-1238.
- WHO. 2018. Replace trans fats. <https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-trans-fat-faqs.pdf?Status=Temp> hiperlink: [https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-trans-fat-faqs.pdf?Status=Temp&sfvrsn=956d171f\\_6](https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-trans-fat-faqs.pdf?Status=Temp&sfvrsn=956d171f_6).HYPERLINK[https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-trans-fat-faqs.pdf?Status=Temp&sfvrsn=956d171f\\_6](https://www.who.int/docs/default-source/documents/replace-transfats/replace-trans-fat-faqs.pdf?Status=Temp&sfvrsn=956d171f_6)
- WHO. World Health Organization. 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO technical report series 916, Geneva.
- Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Sheard PR, Richardson RI, Hughes SI, Whittington FM. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science.* 78(4):343-358.

- Woods VB, Fearon AM. 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livestock Science*. 126(1–3):1–20.
- Wulf D, Emmett RS, Leheska JM, Moeller SJ. 2002. Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*. 80(7):1895–1903. <http://doi:10.2527/2002.8071895>
- Wyness L. 2013. Nutritional aspects of red meat in the diet. Nutrition and climate change: Major issues confronting the meat industry. Nottingham University Press. p. 1-22.
- Yang A, Lanari MC, Brewster MJ, Tume RK. 2002. Lipid stability and meat color of beef from pasture-and-grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science*. 60:41-50.
- Yang X, Boyle RA. 2016. Sensory evaluation of oils/fats and oil/fat-based foods. In: Hu M, Jacobsen C, editors. *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*. Amsterdam, The Netherlands. p.157–185.
- Zakrys PI, Hogan SA, O’Sullivan MG, Allen P, Kerry JP. 2008. Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science*. 79:648-655.
- Zened A, Troegeler-Meynadier A, Nicot MC, Combes S, Cauquil L, Farizon Y, Enjalbert F. 2011. Starch and Oil in the Donor Cow Diet and Starch in Substrate Differently Affect the In Vitro Ruminal Biohydrogenation of Linoleic and Linolenic Acids. *J Dairy Sci*. 94:5634-5645.
- Zhang Y, Holman BWB, Ponnampalam EN, Kerr MG, Bailes KL, Kilgannon AK, Collins D, Hopkins DL. 2019. Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). *Meat Sci*. 149:114–119.
- Zinn RA, Plascencia A. 1996. Effects of forage level on the comparative feeding value of supplemental fat in growing-finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 74:1194-1201.