



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

“Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite”

Ana Filipa Macedo Severo

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

PRESIDENTE:

Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

VOGAIS:

Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

Doutora Begoña Rubio Hernando

ORIENTADORA

Doutora Begoña Rubio Hernando

CO-ORIENTADORA

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

2011

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

“Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite”

Ana Filipa Macedo Severo

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

PRESIDENTE:

Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos

VOGAIS:

Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

Doutora Begoña Rubio Hernando

ORIENTADORA

Doutora Begoña Rubio Hernando

CO-ORIENTADORA

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

2011

LISBOA

Aos meus pais,

Agradecimentos

À Estação Tecnológica da Carne, Instituto Tecnológico Agrário, Guijuelo, Salamanca pelo acolhimento, apoio técnico e científico que permitiram a realização desta dissertação.

À minha orientadora, Doutora Begoña R. Hernando, que sempre se mostrou amável, paciente e disponível, tendo sido uma ajuda preciosa durante a parte experimental deste trabalho.

À minha co-orientadora, Prof. Doutora Maria João Fraqueza, por ter ampliado as minhas perspectivas na área da medicina veterinária, por toda a sua disponibilidade e preciosa orientação na elaboração deste trabalho.

À Cristina, Marta, Ana e restante equipa Itacyl que me acompanhou durante a realização deste projecto.

À Zezinha e à Lena por toda a paciência, disponibilidade e boa disposição, mais do que boas profissionais, boas amigas.

Ao Zé, razão pela qual me encontro aqui neste momento, que para além de ter sido um óptimo colega de estágio, tornou-se um verdadeiro amigo e um apoio incondicional em todas as alturas, o exemplo claro de que existem agradecimentos que não podem ser transmitidos por meras palavras.

Aos meus pais, por terem feito de mim tudo o que sou hoje, por fazerem sempre o possível e o impossível para me ajudarem no que fosse necessário, por todos os valores que me transmitiram e por todas as oportunidades que me concederam.

Aos meus avós, pela paciência, pelos tempos de infância que me fizeram crescer e pelos sábios conselhos de quem muito sabe sem nunca terem tido formação académica.

Aos meus irmãos, companheiros de vida desde sempre.

Ao João, razão pela qual permaneci neste curso, por ter crescido comigo e por me ter feito crescer, por todo o apoio e compreensão, por ter estado sempre ao meu lado, partilhando derrotas e vitórias ao longo de tantos anos.

À Isabel, à Miriam, ao David e ao Pipo, amigos de um tempo mais velho que o tempo, sempre presentes quando necessário.

Às minhas eternas companheiras de “armas” académicas durante os longos anos de curso, Ussman, Mendes, Fonseca, Vera, Lúcia, Sara, Carina, Carla, Raquel, Diana e Andreia, pela partilha de momentos inesquecíveis, dentro e fora dos portões da FMV.

“Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite”

Resumo

Ao longo dos anos têm sido efectuados diversos estudos na área de tecnologia alimentar, com o intuito do desenvolvimento de técnicas de prolongamento da vida útil dos produtos alimentares facilmente perecíveis, como a carne. Neste trabalho, foi avaliada a vida útil das costeletas de borrego de leite (IGP-*Lechazo de Castilla e León*) provenientes de carcaças sujeitas a dois protocolos diferentes de arrefecimento pós abate (convencional e lento), embaladas em duas atmosferas protectoras diferentes (alto e baixo teor de oxigénio), considerando um armazenamento de 13 dias em refrigeração. Esta avaliação foi efectuada através do estudo de parâmetros indicadores de qualidade, sendo realizadas análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais em dias específicos, de modo a verificar a influência destes factores na conservação da carne ao longo do tempo. Os resultados obtidos demonstraram que o tipo de arrefecimento utilizado não é muito relevante, mas que a utilização de embalagens de atmosfera modificada apresenta grande importância no prolongamento da vida útil da carne. O nosso estudo demonstrou vantagens diferentes em ambas as atmosferas, sendo que as de teor baixo em O₂ apresentam propriedades antimicrobianas importantes no atraso da deterioração microbiológica, enquanto que as de alto teor de O₂ favorecem características organolépticas visuais, essenciais na decisão de compra do consumidor.

PALAVRAS CHAVE: Borrego, vida útil, refrigeração, embalagem, atmosferas protectoras, indicadores de qualidade

“Effect of different chilling methods and modified packaging under different mixtures of modified atmosphere on lamb chops shelf life”

Abstract

Several studies have been made in Food Technology area in order to develop techniques that allow extending the shelf life of products, such as fresh meat. In this project, the shelf life of lamb chops was analyzed. Lamb carcasses were submitted to two different post-slaughter chilling systems: conventional and delay-chilling. After the primary butchery of the carcasses, lamb chops were packaged under two different modified atmospheres – high and low O₂, and stored for 13 days in refrigeration temperatures.

Microbiology, physical-chemical and sensorial analysis were made in order to verify the influence of the chilling system and the effect of different modified atmosphere packaging in meat preservation, at different storage times. The results shown that the type of refrigeration system does not affect the quality of meat significantly, but the use of both different modified atmospheres in the packaging process has a great influence in meat shelf life extension. The use of low O₂ atmospheres has an antimicrobial effect, postponing the microbiology deterioration of the meat. On the other hand, the use of high oxygen atmospheres promotes visual organoleptic properties, which are essential in consumer's choice.

KEYWORDS: Lamb, shelf-life, chilling systems, packaging, modified atmospheres, quality indicators.

Índice Geral

Dedicatória	ii
Agradecimentos.....	iii
Resumo	iv
Abstract.....	v
Índice Geral.....	vi
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas.....	ix
1. Introdução	1
2. O consumo de carne de borrego.....	3
3. IGP <i>Lechazo de Castilla e León</i> – Um produto de qualidade certificada	4
4. <i>Lechazo de Castilla y León</i> de Raça Churra – Características de raça.....	5
5. O conceito de Qualidade Alimentar na carne de borrego.....	6
6. Indicadores de Qualidade da Carne.....	8
6.1 Avaliação do pH da carne.....	9
6.2 Avaliação da cor.....	10
6.3 Oxidação lipídica.....	14
6.4 Avaliação do crescimento microbiano.....	16
6.5 Avaliação sensorial.....	20
7. Técnicas de conservação da vida útil da carne	21
7.1 Tratamentos de arrefecimento da carcaça	21
7.1.1 Arrefecimento rápido	22
7.1.1.1 Rigor mortis e encurtamento pelo frio	23
7.1.1.2 Minimização das desvantagens do arrefecimento das carcaças.....	23
7.1.2 Arrefecimento por <i>spray</i> de água.....	25
7.1.3 Arrefecimento ultrarrápido.....	25
7.1.4 Arrefecimento lento	26
7.2 Sistemas de Embalagem	26
7.2.1 Sistemas de embalagem com atmosfera modificada.....	27
7.2.1.1 Gases utilizados nas EAM.....	28
7.2.1.1.1 A utilização de dióxido de carbono.....	28
7.2.1.1.2 A utilização de azoto	29
7.2.1.1.3 A utilização de oxigénio	29

7.2.1.1.4	A utilização de monóxido de carbono e outros gases	29
7.2.1.2	Materiais utilizados nas EAM	30
7.2.1.3	Vantagens e desvantagens das EAM.....	32
8.	“Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite”	35
8.1	Material e métodos	35
8.1.1	Delineamento experimental	35
8.1.2	Análises microbiológicas	38
8.1.3	Análises físico-químicas	40
8.1.4	Análise sensorial.....	41
8.1.5	Análise estatística	43
8.2	Resultados e discussão.....	44
8.2.1	Evolução da mistura de gases nas embalagens de costeletas de borrego.....	44
8.2.2	Efeito dos tratamentos no crescimento microbiano nas costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento	46
8.2.3	Efeito dos tratamentos nos parâmetros físico-químicos das costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento	54
8.2.4	Efeito dos tratamentos na avaliação sensorial das costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento	60
9.	Discussão geral.....	67
10.	Conclusão.....	68
11.	Bibliografia	70

Índice de Figuras

Figura 1: Selos de certificação de qualidade IGP- <i>Lechazo de Castilla e León</i> (Fonte: Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro; IGP <i>Indicación Geográfica Protegida del Lechazo de Castilla y León</i>).	5
Figura 2: Ovelha e borrego de raça churra, Zamora	6
Figura 3: Processo de embalagem das bandejas de costeletas de borrego.	37
Figura 4: Inquérito para avaliação sensorial das amostras de costeletas de borrego em estudo	42
Figura 5: Evolução das concentrações de O ₂ e CO ₂ nas EAM de alto (a) e baixo oxigénio (b), contendo amostras sujeitas a dois protocolos diferentes de arrefecimento pós-abate (AL-lento e AC-convencional), ao longo do tempo de armazenamento (dias).....	44
Figura 6: Evolução das contagens microbianas (log ufc/g) de Enterobactérias (a), <i>Pseudomonas</i> spp. (b) e <i>B. thermosphacta</i> (c) nas costeletas de borrego embaladas com diferentes misturas gasosas (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).	51
Figura 7: Evolução do índice L* nas costeletas de borrego embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).	59
Figura 8: Classificação sensorial dos parâmetros de aspecto geral (a), oxidação de gordura (b), maus odores (c) e aceitabilidade geral (d), numa escala de 1 (excelente) a 5 (inaceitável), das costeletas de borrego embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).	64
Figura 9: Fotografias das costeletas de borrego provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes: AL-lento (a) e AC-convencional (b), embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).	65

Índice de Tabelas

Tabela 1: Delineamento experimental estabelecido para o estudo do efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite.	36
Tabela 2: Protocolo de análises a efectuar nas costeletas embaladas de acordo com as condições em estudo.	38
Tabela 3: Contagens microbianas médias (log ufc/g) nas costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias).	47
Tabela 4: Análise de valores médios dos parâmetros físico-químicos das costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias).	55
Tabela 5: Valores médios dos parâmetros atribuídos na avaliação sensorial das costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias), numa escala de 1 (excelente) a 5 (inaceitável).....	62

1. Introdução

Em sentido lato, a carne é a parte edível de um animal após o abate, constituindo uma fonte de energia, proteína de alta qualidade, vitaminas do grupo B e minerais. Este é um alimento de fácil digestão, necessário para funções fisiológicas essenciais.

O conceito de qualidade da carne tem variado ao longo do tempo, dependendo do fim a que se destina e das preferências do consumidor. Não existe uma definição única de qualidade devido à heterogeneidade intrínseca da própria carne e ao grau de subjectividade dos atributos que se consideram comercialmente importantes (Azevedo, Cadavez & Silva, 2007).

A carne de borrego é valorizada tanto em Portugal, como em Espanha, especialmente em ocasiões festivas, ocorrendo picos de consumo nestas épocas. Em Espanha, existe um hábito de consumo mais pronunciado deste tipo de carne ao longo de todo o ano, devido aos pratos tradicionais de borrego que fazem parte da cultura gastronómica, existindo assim uma grande expressão desta carne no mercado. Os registos de cabeças de ovinos em Espanha ultrapassam largamente os portugueses. Espanha está entre os maiores produtores de ovinos da União Europeia, figurando a província de *Castilla e León* como a mais importante neste tipo de produção (Benito, 2008).

O *Lechazo de Castilla e León* é reconhecido pela certificação de qualidade de Indicação Geográfica Protegida (IGP) e como tal, procede-se a um controlo da qualidade da carne, através de análises das suas propriedades e características, quer resultantes de percepção sensorial quer de determinações microbiológicas e físico-químicas (Azevedo *et al.*, 2007).

A deterioração da carne pode ocorrer por reacções enzimáticas e químicas nos tecidos. No entanto, o crescimento microbiano parece ser o factor mais importante no que respeita à deterioração da qualidade da carne de borrego fresca (Kennedy, Buckley & Kerry, 2004). A contaminação da carne por microrganismos pode ocorrer desde o momento de abate até ao consumo, existindo inúmeras fontes de contaminação, como as superfícies das instalações, instrumentos utilizados, conteúdos do tracto gastrointestinal, fontes de água, e até mesmo os próprios trabalhadores (Lawrie & Ledward, 2006). A própria composição química da carne propicia o crescimento e propagação de microrganismos com acção deteriorante e patogénica. De facto, as carcaças de borrego têm tendência a apresentar valores de pH intramuscular superiores a 5,8, bem como uma camada de gordura subcutânea. Tais características favorecem o crescimento de *Brochothrix thermosphacta* e de enterobactérias psicotróficas comparativamente à carne de bovino, quando as carnes são sujeitas ao armazenamento em aerobiose ou em ambientes de reduzido teor em oxigénio (Barrera, Rodríguez-Calleja, Santos,

Otero & García-López, 2007). Neste sentido, é essencial aplicar tecnologias de conservação de modo a promover a segurança e qualidade da carne comercializada.

Os processos utilizados na conservação da carne têm como principal objectivo o controlo e inibição da flora microbiana, minimizar alterações deteriorativas da cor e os processos oxidativos. Tradicionalmente, os métodos de conservação da carne podem ser agrupados em três categorias principais, baseados no controlo da temperatura e da humidade e através de processos inibitórios, como a utilização de radiações ionizantes ou sistemas de embalagem. Cada etapa de controlo pode ser vista como uma medida contra o crescimento bacteriano, sendo a combinação de metodologias ou processos essencial para atingir os objectivos de qualidade microbiana e organoléptica da carne (Lawrie & Ledward, 2006).

O uso de temperaturas abaixo ou acima do intervalo óptimo para o crescimento bacteriano tem uma acção preventiva de alterações no produto. No que se refere a carne fresca, a refrigeração tem sido o método tradicional de conservação mais utilizado. A refrigeração é essencial na higiene, segurança, tempo de vida útil, aparência e qualidade da carne, pois permite uma estabilização da carga microbiana inicialmente presente, retardando a deterioração. Pode ser efectuada segundo métodos diferentes e combinada com outros métodos de conservação, como o uso de embalagens com atmosferas protectoras, sendo esta uma prática comum no mercado.

Os consumidores têm tendência a escolher a carne embalada com base no seu aspecto visual, havendo preferência por carnes de cor vermelha e brilhante, atributos que sugerem características de frescura e de qualidade superior no momento da compra. No entanto, não conseguem perceber outros atributos como o odor, o grau de rancificação ou a qualidade microbiológica numa embalagem fechada, sendo o controlo destas características essencial para a avaliação do tempo de vida útil da carne (Berruga, Vergara & Gallego 2005).

As embalagens com atmosferas protectoras ou modificadas (EAM) mais utilizadas contêm altos teores de oxigénio de modo a estabilizar a cor mas este gás acelera o desenvolvimento de processos oxidativos e de descoloração da carne (Bórnez, Linares & Vergara, 2009). Estas desvantagens podem ser minimizadas ao utilizar misturas gasosas adaptadas especificamente ao produto que se pretende embalar (Kennedy *et al.*, 2004). No mercado, é comum a utilização de misturas de dióxido de carbono, oxigénio e/ou azoto, sendo que cada gás apresenta uma função específica no prolongamento da vida útil e na conservação das características da carne.

O presente trabalho foi desenvolvido na estação Tecnológica da Carne, em Guijuelo, Salamanca, Espanha. Este estudo teve como objectivo a avaliação da vida útil da carne de

borrego jovem, alimentado apenas a leite (*Lechazo de Castilla y León*), combinando-se o efeito do arrefecimento da carcaça com embalagem de atmosfera modificada constituída por misturas de gases diferentes. Estudou-se o efeito de dois procedimentos diferentes de arrefecimento na higiene final das carcaças de borrego. A carne obtida após desmancha dessas carcaças foi embalada com diferentes misturas de gases, avaliando-se a sua vida útil ao longo de um tempo de armazenamento definido em treze dias, em condições semelhantes às de um expositor comum de supermercado.

Efectuou-se uma revisão bibliográfica sobre o consumo de carne de borrego, o conceito de certificação de qualidade de um produto alimentar, a importância de factores que influem esse conceito, a importância do prolongamento da sua vida útil com ênfase nos métodos de embalagem e efeito do tratamento de refrigeração, em carne de borrego. Foram descritos todos os procedimentos e materiais necessários ao desenvolvimento do trabalho experimental. Os resultados obtidos foram analisados e discutidos em comparação com trabalhos de outros autores.

2. O consumo de carne de borrego

As preferências dos consumidores são influenciadas por diversos factores psicossociais. Neste sentido, é natural que a nacionalidade e tradição sejam importantes nos hábitos de consumo.

Em Portugal, o consumo da carne de borrego está muito ligada à cultura do país. Tradicionalmente, valoriza-se o consumo de carne de borrego em alturas festivas como a Páscoa e o Natal, verificando-se nos meses de Dezembro e Março picos de consumo francamente importantes. Em 2005, o Alentejo foi a principal região produtora do país, detentora de 54,2% do efectivo, seguindo-se a Beira Interior (14,2%), Trás-os-Montes (9,4%) e Ribatejo e Oeste (9,3%). O consumo *per capita* (c.p.c.) deste tipo de carne foi de 2,9 kg, um valor mais baixo que nos últimos anos mas deve ser referido que no sector dos pequenos ruminantes o auto-consumo é muito importante (Anuário PEC, 2006).

Em Espanha, porém, para além de um importante consumo deste tipo de carne nas festas tradicionais, há uma tendência para a compra de carne de borrego ao longo de todo o ano devido às tradições gastronómicas próprias do país. Deste modo, Espanha está entre os maiores produtores da União Europeia (U.E.), tal como o Reino Unido, Grécia e França, que em conjunto detinham 73% do efectivo em 2005. Neste mesmo ano houve um crescimento de 3,3% no efectivo ovino mundial, sendo a maior parte deste aumento da responsabilidade da China, o maior produtor mundial de ovinos, seguido pela Austrália, Nova Zelândia e Rússia (Anuário PEC, 2006).

Contrariamente ao que se verifica em países das regiões norte da Europa, em Espanha há uma notória preferência pela carne proveniente de animais jovens. Esta preferência deve-se às suas características nutricionais e organolépticas, como um elevado conteúdo em humidade, baixo teor em gordura, cor rosada pálida, *flavour* não muito acentuado e elevada tenrura (Miguélez, Zumalacárregui, Osorio, Figueira, Fonseca & Mateo, 2008; Muela, Sañudo, Campo, Medel & Beltrán, 2010).

Em Espanha, são comercializadas três categorias diferentes de carcaças de borrego baseadas no seu peso segundo o Regulamento (CE) 1278/94. Assim, distinguem-se carcaças de categoria A, com peso inferior a 7 kg, categoria B, entre 7 e 10 kg e categoria C, entre 10 e 13 kg (Benito, 2008). Em Portugal distinguem-se apenas animais de peso superior ou inferior a 10 kg, havendo um abate maioritário de animais mais pesados. Tal facto pode ser comprovado pelos dados registados no Anuário PEC (2006) que indicam que 67% do volume total de abate de ovinos correspondeu a borregos com peso igual ou superior a 10 Kg e apenas 24,8 a animais de peso inferior.

3. IGP *Lechazo de Castilla e León* – Um produto de qualidade certificada

A certificação de qualidade dos produtos foi promovida pela União Europeia, sendo considerada a existência das chamadas denominações geográficas: Denominação de Origem Protegida (DOP) e Indicação Geográfica Protegida (IGP), tal como é indicado no Regulamento (CE) N° 417/2008.

Tanto um produto DOP como um produto IGP fazem referência ao nome de uma região, de um lugar determinado ou, excepcionalmente, de um país, que serve para designar a origem de um produto agrícola ou género alimentício, cuja produção, transformação e elaboração ocorrem na área geográfica delimitada.

A qualidade ou as características de um produto DOP devem-se essencial ou exclusivamente a um meio geográfico específico, incluindo factores naturais e humanos. Por outro lado, um produto IGP possui determinada qualidade, reputação ou outras características que podem ser atribuídas à sua origem geográfica, estando estas definições descritas no Regulamento (CE) N° 510/2006.

Os produtos DOP e IGP estão diferenciados com o uso de etiquetas próprias que informam o consumidor da sua autenticidade.

Os selos são usados fundamentalmente para proteger e valorizar produtos que possuem características especiais devido à sua zona geográfica, formas de produção ou métodos de fabrico. Deste modo, trazem benefícios sócio-económicos para a região em causa.

Com o estabelecimento destes selos de qualidade, é protegido o nome de denominação de possíveis fraudes e o cumprimento das normas de rastreabilidade, higiene e protecção do meio ambiente é facilitado. Assim, é oferecido ao consumidor um produto de qualidade certificada, vinculando-se a imagem do produto à região de onde provém (Benito, 2008).

Em Espanha, o sector ovino apresenta algumas raças de borrego com certificação de qualidade, estando o *Lechazo de Castilla y León* reconhecido como um produto de Indicação Geográfica Protegida (Figura 1).

Figura 1: Selos de certificação de qualidade IGP- *Lechazo de Castilla y León* (Fonte: Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro; IGP *Indicación Geográfica Protegida del Lechazo de Castilla y León*).



Esta certificação foi criada em 1997, com o objectivo de preservar a qualidade da carne proveniente de borregos das raças Churra, Ojalada e Castelhana. Recentemente foi também incluída a raça Assaf e os cruzamentos entre as raças anteriores. Para além da sua linhagem, é importante que a carne provenha de animais que respeitem os requisitos estabelecidos como, por exemplo, um peso vivo de 9 a 12 kg, idade até 35 dias ao abate e terem uma alimentação exclusiva de leite materno (Benito, 2008). O cumprimento destes pressupostos vai interferir nas características da carne, conferindo-lhe determinadas características organolépticas que são muito apreciadas como a sua elevada tenrura e baixo teor de gordura.

4. *Lechazo de Castilla y León* de Raça Churra – Características de raça

A zona geográfica dedicada à produção de IGP *Lechazo de Castilla e León*, engloba grande parte da província de *Castilla e León*, abrangendo regiões como Zamora, Valladolid, Palencia, Burgos, norte de Salamanca, entre outras. Os ovinos de raça Churra (Figura 2) estão extremamente bem adaptados ao clima destas regiões.

Esta, é uma raça autóctone rústica, activa e com aptidão para percorrer grandes distâncias em busca de alimento. O seu maneio é fácil em rebanho e adapta-se muito bem a condições desfavoráveis. Destaca-se, também, um bom instinto maternal e a sua boa prolificidade. São

animais de proporções alongadas e tamanho médio, com uma peculiar pigmentação negra em redor dos olhos, orelhas, focinho e na parte distal das extremidades (Benito, 2008).

Figura 2: Ovelha e borrego de raça Churra, Zamora



A ovelha desta raça tem uma lã comprida e basta, de cor branca mas imprópria para a indústria têxtil. Por outro lado, é importante valorizar a sua boa aptidão leiteira. Os rebanhos que se dedicam à produção de leite são explorados em sistema semi-intensivo, sendo esta matéria-prima muito utilizada para produção de queijos, também eles certificados. Por outro lado, os rebanhos que não são ordenhados, são explorados em regime extensivo, recebendo suplementos de palha, feno e rações no Inverno. São destinados à produção de carne do tipo comercial *lechazo*, definido como cria de ovelha, principalmente macho, que se alimenta exclusivamente de leite materno.

Após o abate, a aptidão das carcaças IGP é verificada pelo Conselho Regulador, com base nos requisitos legais emanados para a raça e de acordo com o estabelecido pelas normas de classificação. É, então, colocada uma chapa metálica de uso alimentar em cada quarto traseiro, na qual figura o logótipo do Conselho Regulador e as Indicações que permitam a identificação de produto protegido (Benito, 2008).

5. O conceito de Qualidade Alimentar na carne de borrego

O conceito de qualidade é um conceito complexo e subjectivo. A qualidade de um bem alimentar pode ser descrita como os requisitos necessários para satisfazer as necessidades e expectativas do consumidor (Peri, 2006). No entanto, na realidade podem existir inúmeras definições de qualidade dependendo de consumidor para consumidor, consoante a predileção individual de cada um (Moskowitz, 1995).

Peri (2006), refere que pode ser definido um modelo analítico de qualidade alimentar baseado nos requisitos exigidos pelos consumidores. Este modelo inclui requisitos a nível de

segurança, valor nutricional e sensorial, incluindo ainda aspectos relativos à produção, valores morais e éticos, comerciais e de *marketing*.

A qualidade da carne pode ser analisada e avaliada segundo os parâmetros já referidos, porém, devido à sua heterogeneidade intrínseca e ao grau de subjectividade dos atributos que se consideram comercialmente importantes, este produto pode ter níveis de aceitabilidade diferentes consoante hábitos culturais diferentes (Cardello, 1995; Azevedo *et al.*, 2007).

O consumo de carne de ovino difere entre países e regiões da Europa. Nos países da região mediterrânea há uma preferência por carcaças mais leves e com pouca cobertura de gordura, enquanto nos países na região norte são valorizados animais pesados e de maior teor em matéria gorda, o que se traduz por diferentes preferências relacionadas com atributos sensoriais acessíveis ao consumidor no momento da compra (Azevedo *et al.*, 2007).

Por outro lado, a qualidade também é definida pela segurança do alimento, sendo expressa pela ausência ou controlo de perigos. Se esta condição não for respeitada pode haver prejuízo da saúde do consumidor, sendo o operador alimentar punido por lei (Peri, 2006). Os perigos presentes na carne podem ser de natureza química, física ou biológica (bactérias patogénicas, toxinas, vírus e parasitas), pelo que é necessário haver um controlo dos mesmos através da implementação de um sistema de segurança preventivo, baseado na metodologia HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*), acompanhado por análises laboratoriais regulares.

O valor nutricional dos alimentos também é importante na medida em que os bens alimentares devem satisfazer as necessidades nutricionais dos consumidores, existindo uma maior preocupação com os benefícios que podem trazer para a saúde (Peri, 2006). O consumo moderado de carne vermelha é imprescindível numa dieta equilibrada devido às propriedades nutricionais que este alimento fornece ao organismo, apresentando a carne de borrego um teor importante em ácidos gordos poli-insaturados ω -3 (Linares, Berruga, Bórnez & Vergara, 2007).

Ultimamente, tem-se verificado uma preocupação crescente no que respeita à produção dos bens alimentares, havendo uma necessidade de conhecer a origem do produto e os métodos utilizados na sua concepção. Deste modo, associa-se uma preocupação ética e moral relativamente a questões ambientais e de bem estar animal. A carne de borrego normalmente é produzida em sistema extensivo o que de certa forma a valoriza neste sentido.

Para proporcionar estas garantias de qualidade ao consumidor é necessária uma implementação de procedimentos de rastreabilidade.

A nível de mercado é importante um sistema de embalagem apropriado que seja capaz de fornecer informações ao consumidor sobre o alimento que está a comprar, sendo valorizadas as embalagens que permitam a sua visualização (materiais transparentes) e com uma rotulagem adequada. A embalagem do produto deve obedecer a requisitos estéticos e funcionais que valorize a sua forma de apresentação, aliciando a sua compra junto do consumidor (Peri, 2006). Por sua vez, a comodidade de uso deve ser valorizada, em grande parte devido às modificações na estrutura social, nomeadamente pelo aumento do trabalho feminino fora de casa na classe média, o que levou a uma menor disponibilidade de tempo para as tarefas domésticas. Deste modo, há uma preferência por produtos que tenham facilidade de armazenamento, facilidade de arrumação, abertura fácil, preparação simples ou tempo de preparação reduzido. O tempo de vida útil dos produtos armazenados nas condições devidas ou o tempo de vida do alimento após abertura da embalagem ou descongelação na primeira utilização é outro factor importante para o consumidor.

Deve ser também considerada a quantidade de produto disponível em prateleira, a sua localização e o seu preço. O rácio preço-qualidade é a síntese final na percepção do consumidor determinando a sua decisão de compra (Peri, 2006).

A apresentação da carne de borrego no mercado português é feita maioritariamente em peça, sendo as costeletas, a pá e a perna as mais comuns. Estas, podem ser cortadas no momento da compra ou estarem já dispostas em sistemas de embalagens individuais refrigeradas. O seu preço vai oscilando mas é sempre ligeiramente mais elevado comparativamente a outros tipos de carne, como a carne de frango ou de porco que são consumidas em maior escala que a de borrego no mercado português (Anuário PEC, 2006).

6. Indicadores de Qualidade da Carne

A qualidade de um produto é afectada por múltiplos factores que podem ser divididos em factores extrínsecos e intrínsecos (Cabezas, Iglesias & Nuevo, 2006).

Os factores intrínsecos são características inerentes ao próprio alimento, como as suas propriedades físico-químicas (pH, actividade de água, potencial redox), composição do produto (nutrientes disponíveis para o crescimento bacteriano, existência de enzimas activas), as suas características organolépticas iniciais e as condições da matéria prima antes de embalar. A carne fresca apresenta uma elevada actividade de água (aw) e um alto conteúdo em nutrientes. Estas características contribuem para a sua rápida deterioração pois favorecem o crescimento microbiano e alterações de origem físico-química e enzimática.

Os factores extrínsecos são referentes a características do meio envolvente ao produto, como a composição da atmosfera protectora, a relação entre o volume de gás injectado e o volume de alimento embalado, o tipo de material da embalagem e sua permeabilidade, as condições higio-sanitárias dos equipamentos e instalações, manipulação e outras técnicas complementares de conservação como o uso de aditivos, tratamentos de refrigeração, manutenção do frio, entre outros (Cabezas *et al.*, 2006). O preço do próprio produto, porém, é um dos atributos mais importantes que é necessário ter em conta.

Ao longo dos anos têm sido desenvolvidas diversas metodologias a partir das quais são avaliados indicadores de qualidade da carne. Estas metodologias podem ser divididas em dois grandes grupos, as que têm uma base instrumental e as que têm uma base sensorial (Azevedo *et al.*, 2007).

6.1 Avaliação do pH da carne

O pH é um dos factores que mais influencia a qualidade da carne como resultado do processo de transformação do músculo em carne. O pH do tecido muscular de um animal vivo é praticamente neutro (Hocquette, Ortigues-Marty, Pethick, Herpin & Fernandez, 1998). Quando o animal é abatido, o músculo sofre privação do fornecimento de oxigénio, sendo utilizado o glicogénio de reserva com conseqüente formação de ácido láctico. Deste modo, o pH pode descer até 5,4-5,5 na carne de mamíferos (Garrido, Bañón & Álvarez, 2005).

A carne de borrego, por sua vez, pode apresentar valores de pH finais ligeiramente mais elevados, na ordem dos 5,8, conferindo-lhe características próprias relativamente a outros tipos de carne, influenciando o desenvolvimento microbiano (Barrera *et al.*, 2007). Tanto o valor final do pH como a sua velocidade de descida, durante a transformação do músculo em carne, estão directamente relacionados com a temperatura, podendo afectar as características sensoriais e tecnológicas da carne (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Diversos factores podem afectar este processo, como por exemplo, o stress *ante-mortem*, a temperatura a que a carne está sujeita ou a utilização de processos de estimulação eléctrica.

Um arrefecimento demasiado rápido da carcaça pode levar a um fenómeno designado de encurtamento pelo frio, estando este reconhecido como o maior determinante da tenrura da carne de vaca e de borrego (Van Moeseke, De Smet, Claeys & Demeyer, 2001).

O encurtamento pelo frio verifica-se quando, após o abate, a temperatura interna da carcaça decai para valores abaixo dos 10 °C, em menos de 10 h, apresentando um pH ainda elevado, superior a 6 e ATP disponível, provocando endurecimento e perda de qualidade da carne (Muela *et al.*, 2010).

Por outro lado, a velocidade da glicólise *post-mortem* está dependente da temperatura de refrigeração, pois temperaturas elevadas aceleram a descida de pH, alcançando-se o pH final em menos tempo, pelo que se torna importante controlar estes dois factores. A depleção de glicogénio muscular depende em grande medida de factores que causam stresse aos animais, entre os quais o transporte, o ruído, os movimentos bruscos, os novos cheiros, a privação de água e de alimento, as temperaturas extremas, os prolongados tempos de espera, as alterações de grupos sociais estabelecidos, entre outros. A sensibilidade perante estes estímulos tem uma componente intrínseca de espécie, sendo que comparativamente com os suínos e bovinos, os ovinos são menos susceptíveis a factores de stresse (Azevedo *et al.*, 2007).

Os aspectos que relacionam os valores de pH com o stresse durante o transporte e abate dos animais de produção têm constituído uma forte preocupação em relação a todas as espécies, em particular para os suínos e bovinos. Nestas espécies, há consequências económicas de enorme dimensão associadas ao pH da carne e que resultam do aparecimento de carnes PSE (*pale, soft, exudative*) e carnes DFD (*dark, firm, dry*).

A carne PSE é um problema que ocorre sobretudo em suínos e resulta de um metabolismo *post-mortem* rápido do glicogénio com produção de ácido láctico antes de a carne ser refrigerada. Deste facto resulta uma desnaturação parcial das proteínas da carne o que ocasiona uma menor capacidade de retenção de água (CRA) e um aumento da reflexão da luz (Brewer, 2004).

Relativamente ao fenómeno DFD, este é observado em carnes com pH superior a 6, sendo caracterizadas por elevada CRA, firmeza e cor escura. Este problema pode ser explicado por excessiva glicogénese *ante-mortem* (Apple, Kegley, Galloway, Wistuba & Rakes, 2005). Nos pequenos ruminantes a incidência de DFD é reduzida (Garrido *et al.*, 2005).

Deste modo, a determinação do pH durante a transformação do músculo em carne, é um útil indicador da qualidade da carne (Purchas, 1990).

6.2 Avaliação da cor

A decisão de compra de uma determinada carne é influenciada pela sua cor mais do que por qualquer outro aspecto, isto porque os consumidores utilizam este atributo como um indicador de frescura e de boa qualidade da carne (Mancini & Hunt, 2005).

A mioglobina é o principal pigmento da carne e a sua cor resulta fundamentalmente do estado químico em que esta molécula se encontra (Beckit, Geesink, Ilian, Morton, Sedcole & Bickerstaffe, 2004).

A mioglobina é uma proteína globular monomérica, constituída por 153 aminoácidos e um grupo heme. Este grupo heme contém um ião de ferro (Fe^{2+}) em posição central, o qual

apresenta seis ligandos, dos quais quatro estão ligados a átomos de azoto e um está ligado à globulina. Outras substâncias como o oxigénio, a água ou o óxido nítrico podem ocupar a sexta posição, sendo que o estado de oxidação deste ião desempenha um papel vital na cor da carne fresca. A mioglobina pode-se apresentar em três formas diferentes, nomeadamente a deoximioglobina, a oximioglobina e a metamioglobina, sendo a cor final da carne fresca resultante dos três estados químicos em que se encontra (Feiner, 2006).

A desoximioglobina ocorre quando o sexto ligando se apresenta livre, o que resulta numa cor vermelha escura da carne. Esta cor está muitas vezes associada a carne embalada a vácuo sendo necessário um ambiente com tensão muito baixa em oxigénio para a manter. Quando a carne é exposta novamente ao ar, o oxigénio ocupa a posição do sexto ligando anteriormente livre e ocorre oxigenação, originando o composto de oximioglobina. Esta propicia o desenvolvimento de uma cor vermelha viva e brilhante da carne.

Consoante aumenta a exposição ao oxigénio, mais profunda é a penetração da oximioglobina na sua superfície. A profundidade que o oxigénio atinge e a espessura da camada de oximioglobina vão, por sua vez, depender da temperatura a que se encontra a carne, da pressão parcial de oxigénio, da competição do mesmo por outros processos respiratórios e do pH (Mancini & Hunt, 2005). A carne de borrego apresenta um maior aporte de oxigénio residual do que a carne de porco ou de bovino, o que pode ser relacionado com uma maior tendência para a descoloração quando está armazenada em estado fresco (Lawrie & Ledward, 2006).

Por outro lado, a metamioglobina é obtida quando ocorre oxidação do átomo de ferro central a Fe^{3+} , desenvolvendo-se uma tonalidade cinzento-acastanhada na carne principalmente nas zonas de baixa concentração em oxigénio. A utilização de temperaturas baixas pode ser útil no sentido em que retarda a formação de metamioglobina, suprimindo directa e indirectamente, a actividade residual das enzimas utilizadoras de oxigénio (Lawrie & Ledward, 2006). No senso comum, esta cor geralmente está associada ao facto de a carne já não ser fresca, porém, pode ser reversível quando estas áreas são oxigenadas novamente. A metamioglobina não pode absorver oxigénio directamente. Desta forma, primeiro é necessário que este composto seja reduzido por acção de enzimas presentes na própria carne. Posteriormente, a mioglobina reduzida (desoximioglobina) já está apta a ligar-se com o oxigénio formando oximioglobina, surgindo novamente um tom vermelho vivo e brilhante na superfície da carne. Porém, se o período de armazenamento for longo, esta actividade enzimática vai diminuindo progressivamente, havendo cada vez menos formação de oximioglobina. Mesmo que exista uma fina camada desta na superfície da carne, vão surgindo

cada vez mais áreas de tons cinzento-acastanhados que vão acabar por dominar a aparência da peça (Feiner, 2006).

Por último, é importante referir um outro estado químico da mioglobina, a carboximioglobina, a qual ocorre quando há uma exposição ao monóxido de carbono verificando-se uma cor vermelha viva e brilhante, mais estável que a da oximioglobina.

A carboximioglobina proporciona uma aparência atractiva e estável da cor da carne durante mais tempo que a oximioglobina. No entanto, pode mascarar o estado de deterioração microbiana da carne, não existindo correlação dos seus atributos visuais com as suas características de frescura. Embora a incorporação de misturas gasosas contendo pequenas percentagens de monóxido de carbono em sistemas de embalagens a atmosfera modificada seja útil e não constitua um perigo para a Saúde Pública, a sua utilização não é ainda plenamente aceite (Lawrie & Ledward, 2006).

Existem diferenças consideráveis entre espécies animais na cor da carne e na sua estabilidade, ou seja, na capacidade do músculo manter a mioglobina no estado oxigenado, prevenindo a formação da metamioglobina.

A taxa de consumo de oxigénio apresenta uma relação directa com a taxa de descoloração em várias espécies como, por exemplo, nos ovinos. De forma geral, os músculos dos ovinos apresentam uma taxa de consumo de oxigénio mais alta, resultando numa pior estabilidade da cor. As taxas de descoloração e de acumulação de metamioglobina nos músculos quando expostos a condições aeróbias são influenciadas pela taxa de difusão e de consumo de oxigénio, pela auto-oxidação do pigmento na presença do oxigénio e, também, pela taxa de actividade da metamioglobina reductase (Mikkelsen, Juncher & Skibsted, 1999). A taxa de consumo de oxigénio e a oxidação da mioglobina são os principais factores que condicionam a formação de metamioglobina e explicam as diferenças na estabilidade da cor entre os diferentes músculos.

Foi concluído por alguns autores que o tipo de músculo é o principal factor que controla a taxa de descoloração da carne quando expostos ao oxigénio, sendo responsável por quase metade das variações na estabilidade da cor. Desta forma, o músculo *longissimus thoracis e lumborum* (LTL) é o mais estável e o músculo *psoas major* o mais instável (Azevedo *et al.*, 2007).

A estrutura do músculo também influencia a cor da carne uma vez que interfere nas propriedades de absorção e dispersão da luz incidente (Renerre & Labadie, 2003). As variações de pH e de temperatura provocam alterações na estrutura do músculo que podem ser avaliadas pelo grau de exsudação de água. Assim, na carne com um pH elevado (DFD), ao

apresentar pouca exsudação, a luz reflectida é proporcionalmente reduzida, originando uma coloração escura. Nestas condições, as mitocôndrias permanecem activas e consomem parte do oxigénio, impedindo a formação de metamioglobina.

Porém, a cor da carne não se baseia só na sua parte muscular, mas também na cor da gordura. Esta pode variar desde a matiz debilmente rosada nos animais jovens alimentados com concentrado, até ao amarelo dos animais mais velhos alimentados com pastagens. Esta variação deve-se, principalmente, aos carotenos existentes na forragem que se depositam na gordura. Daí que os animais produzidos em pastagem, que ingerem maior quantidade de carotenos apresentem uma gordura mais amarela (Daly, Young, Graafhuis, Moorhead & Easton, 1999).

Outro aspecto relacionado com a aparência da carne e que interfere na sua cor é a presença de gordura intramuscular. Este parâmetro, refere-se, normalmente, à gordura visível nas superfícies de corte da carne. A arquitectura do músculo influencia o padrão de disposição da gordura e, ainda que existam variações entre espécies, esta tende a acumular-se com a idade e com uma baixa actividade física (Kauffman, 2001). Os resultados de Fisher *et al.* (2000), indicam que carcaças mais pesadas apresentam carne com maior teor de gordura intramuscular. A carne de *lechazo*, ao ser proveniente de animais muito jovens, leves, alimentados apenas a leite, apresenta um recobrimento ligeiro de gordura, sendo esta de coloração branca e sem expressividade na localização intramuscular.

A cor pode ser medida sensorialmente ou através de instrumentos analíticos, sendo o método proposto pela *Comission Internationale de L'Eclairage* (CIE, 1978) um dos mais utilizados. A CIE define a cor percebida como atributo visual que se compõe de uma determinada combinação de conteúdos cromáticos e acromáticos (Albertie *et al.*, 2005). A cor de um produto resulta da capacidade de reflexão pela matéria das diferentes radiações do espectro visível.

A medição da cor pode ser realizada de diversas maneiras. Um dos métodos mais utilizados recorre ao uso de um colorímetro para determinar os parâmetros da escala de referência CIELAB – L*, a* e b*, os quais definem a cor numa escala tridimensional mediante os parâmetros de luminosidade, índice de vermelho e índice de amarelo, respectivamente (Azevedo *et al.*, 2007).

A luminosidade, L*, (*Lightness*) é o atributo de um estímulo julgado em relação à luminosidade de outro estímulo que aparece como branco ou transparente, tendo uma variação de 0 (preto) a 100 (branco).

O tom (*Hue*), ou tonalidade da cor, é o atributo da sensação visual segundo o qual o estímulo aparece similar a uma das cores percebidas. No caso da carne, o estado químico da mioglobina determinará o tom, ficando este definido pela relação entre o índice de amarelo (que varia entre $b^* > 0$ para amarelo e $b^* < 0$ azul) e o índice de vermelho (que varia entre $a^* > 0$ para o vermelho e $a^* < 0$ para verde) (Azevedo *et al.*, 2007).

Por outro lado, o croma, C^* , (*Chrome*) representa a intensidade da cor, dando sensações de cores vivas ou apagadas. Relaciona-se com factores *ante mortem* (como a raça) e com a quantidade de mioglobina, a qual determina a saturação da cor. Na gordura está sobretudo dependente da existência de pigmentos com origem no alimento como as xantófilas ou os carotenos (Azevedo *et al.*, 2007).

6.3 Oxidação lipídica

O processo de oxidação lipídica começa imediatamente após a morte do animal, sendo considerado por alguns autores como uma das causas de deterioração na qualidade da carne. Este processo é influenciado por factores *ante-mortem*, como o stresse, e *post-mortem*, como o pH, encurtamento pelo frio, entre outros (Linares *et al.*, 2007).

Os produtos finais da oxidação lipídica são responsáveis pelo desenvolvimento de rancificação nas carnes armazenadas, estando associados directamente a processos cancerígenos e mutagénicos (Linares *et al.*, 2007). A deterioração da qualidade durante o armazenamento pode ocorrer tanto em condições de refrigeração como de congelação, sendo também influenciada pelas condições de acondicionamento da própria embalagem (Cifuni, Braghieri, Napolitano, Riviezzi & Girolami, 2001).

O método de embalagem de carne mais comum no mercado consiste na utilização de atmosferas protectoras com elevado teor em oxigénio (O_2), devido às suas vantagens na estabilidade da cor (Bórnez *et al.*, 2009). Apesar do O_2 ser útil nos atributos visuais da carne embalada, vai ter como consequência uma aceleração dos processos oxidativos devido ao seu elevado poder de oxidação (Linares *et al.*, 2007). Os componentes biológicos mais influenciados por estes processos metabólicos são os pigmentos, os ácidos gordos, os aminoácidos e as vitaminas.

Alguns autores consideram a existência de inter-relações entre a oxidação lipídica e a oximioglobina nos tecidos musculares, o que pode ter alguma influência na evolução da cor da carne ao longo do tempo (O'Grady, Monahan & Brunton, 2001; Berruga *et al.*, 2005). Wood *et al.*, (2003), referem ainda que apesar de alguns estudos demonstrarem que o processo de oxidação lipídica na carne promove a oxidação do pigmento e vice-versa, não existe, contudo, uma forte correlação entre estes dois aspectos. A oxidação dos pigmentos da

carne tem também sido relacionada com outras reacções de oxidação-redução através da geração de aniões superoxidados com produção adicional de radicais livres que estão envolvidos nas reacções oxidativas (McMillin, 2008).

Na carne vendida a retalho, a descoloração precede normalmente a oxidação lipídica, pelo que esta última não é importante como indicador do tempo de vida útil. Contudo, quando se avalia carne embalada em atmosferas modificadas com um teor de oxigénio superior a 21%, este indicador adquire uma certa importância, já que a própria mistura gasosa favorece a ocorrência de fenómenos de oxidação, como foi referido anteriormente (McMillin, 2008). Estudos recentes demonstraram que a carne de vaca embalada em sistemas de EAM de alto oxigénio promove a ocorrência de um maior grau de oxidação lipídica comparativamente à carne embalada a vácuo ou em EAM de baixo oxigénio (Cayuela, Gil, Bañón & Garrido, 2004; John, Cornforth, Carpenter, Sorheim, Pettee & Whittier, 2005)

A repressão de outros processos deteriorativos através da utilização de métodos de embalagem em atmosfera modificada, faz com que o processo de oxidação lipídica seja um factor limitante ao tempo de vida útil da carne (McMillin, 2008). Como tal, é importante que este parâmetro seja analisado na avaliação da sua vida útil nestas condições.

A avaliação da oxidação lipídica pode ser determinada sensorial ou instrumentalmente. A nível laboratorial são quantificadas as substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Estas funcionam como um eficaz parâmetro preditivo do estado de rancificação do produto ao longo do tempo, sendo estabelecidos limites de aceitabilidade (McMillin, 2008). Campo, Nute, Hughes, Enser, Wood & Richardson (2006) referem que a TBARS de carne de vaca deve ter um valor máximo até 2, para que esta possa ser considerada própria para consumo.

A nível sensorial a oxidação lipídica pode ser avaliada com base nas alterações de cor, cheiro ou sabor dos produtos.

A constituição lipídica da carne é o maior determinante da ocorrência de mudanças oxidativas responsáveis pela presença de maus sabores e odores na carne (Jeremiah, 2001). Estas são influenciadas, sobretudo, pela susceptibilidade dos ácidos gordos insaturados à oxidação, o que leva ao desenvolvimento de rancificação à medida que o tempo de exposição ao O₂ aumenta (Wood *et al.*, 2003). A carne de borrego apresenta um elevado teor em ácidos gordos poli-insaturados (PUFA) ω -3 que actuam como um substrato favorável ao início dos processos oxidativos (Linares *et al.*, 2007).

As condições predisponentes à rancificação da gordura intramuscular foram alvo de grande investigação, no entanto, ainda não são totalmente conhecidas.

O desenvolvimento de maus odores e sabores ocorre a partir da produção de diferentes compostos do espectro de ácidos gordos por lipólise, durante os processos de rancificação. Os maus odores são causados principalmente por compostos carbonílicos, existindo mais de duzentos diferentes, o que torna difícil a identificação dos principais responsáveis neste processo. Por outro lado, os fosfolípidos presentes na gordura da carne desempenham um importante papel na aceleração da deterioração do seu sabor (Lawrie & Ledward, 2006). Estes estão presentes em maiores proporções nos músculos vermelhos, tornando-os mais susceptíveis à ocorrência do processo de rancificação comparativamente aos músculos brancos, existindo assim uma variação na constituição lipídica consoante o tipo de fibras musculares (Wood *et al.*, 2003).

Várias abordagens têm sido propostas no intuito de melhorarem a cor e a estabilidade lipídica da carne. Neste sentido podem ser utilizados antioxidantes endógenos (carotenóides, tocoferóis, entre outros) ou aditivos antioxidantes (como citratos, ascorbatos, derivados de especiarias, entre outros). Alguns estudos afirmam que a estabilidade oxidativa tem aumentado através da suplementação da dieta dos animais com vitamina E ou, por outro lado, recorrendo à adição dos antioxidantes directamente na carne segundo diversos processos. No entanto, deve ser considerado que os métodos e substâncias utilizadas podem interferir na qualidade do produto a certos níveis. Por exemplo, a utilização de alguns compostos, como o ascorbato, podem decompor-se, resultando neste caso em peróxido de hidrogénio, o que pode afectar a cor do alimento, com uma consequente deterioração da sua qualidade (McMillin, 2008).

6.4 Avaliação do crescimento microbiano

O crescimento bacteriano é uma das causas mais comuns de deterioração dos alimentos, podendo ser facilmente perceptível pela formação de colónias ou visco à superfície do produto, alterações de textura ou formação de maus sabores e odores (Gram, Ravn, Rasch, Bruhn, Christensen & Givskov, 2002).

As populações de microrganismos presentes na carne são influenciadas por inúmeros factores como a espécie do animal, o seu estado de saúde, o seu maneo em vida, as práticas de matadouro, condições de sanidade, tratamentos de frio a que a carcaça foi submetida, tipo de embalagem onde foi acondicionada, tempo e temperatura de armazenamento (McMillin, 2008).

A microbiota deteriorativa de um produto é constituída por microrganismos que contribuem para a deterioração e microrganismos que apresentam crescimento mas não provocam alterações indesejáveis. O potencial deteriorativo de um microrganismo consiste na sua

capacidade de produção de metabolitos associados com a deterioração de um produto em particular (Gram *et al.*, 2002).

No geral, vários dos microrganismos isolados de um produto alimentar têm a capacidade de produzir metabolitos deteriorativos quando o seu crescimento atinge determinadas proporções, sendo crucial a introdução de algumas considerações quantitativas para a avaliação da deterioração microbiana. Deste modo, procura-se avaliar se a proliferação de determinados microrganismos em alimentos perecíveis é suficientemente elevada para existir produção de metabolitos associados a fenómenos de deterioração.

A avaliação da deterioração de um alimento requer uma combinação cuidadosa de análises microbiológicas, químicas e sensoriais para determinar qual, ou quais, os agentes deteriorantes específicos para determinado produto alimentar (Gram *et al.*, 2002). A contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C é o parâmetro mais utilizado para indicar a qualidade higio-sanitária dos géneros alimentícios, considerando-se que contagens superiores a 10^6 ufc/g são suficientes para ocorrer decomposição do alimento, apresentando estas mudanças significativas de cor, sabor e aspecto visual (Benito, 2008). McMillin (2008) refere, porém, que contagens bacterianas abaixo de 10^6 ufc/g podem ser já associadas a processos deteriorativos influenciando a cor da carne, devido a uma redução da tensão de oxigénio na sua superfície e à produção de agentes oxidativos. No entanto, alimentos como os produtos cárneos curados são excepção a esta regra, apresentando vulgarmente contagens microbianas elevadas (10^8 a 10^9), que lhes proporcionam características organolépticas especiais.

A qualidade higiénica do alimento pode, também, ser avaliada pela contagem de Enterobactérias, mais concretamente de *Escherichia coli* (*E. coli*). Estas são um indicador de contaminação de origem fecal, já que contagens elevadas poderão advir de uma má manipulação do alimento ou de condições de armazenamento inadequadas. Tal como *E. coli*, muitas bactérias potencialmente patogénicas estão incluídas neste grupo como *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* e *Shigella* sendo importante recorrer a uma avaliação qualitativa (Benito, 2008). Uma carne proveniente do matadouro num estado excessivamente contaminado, nunca poderá exibir um tempo de vida útil satisfatório (Cabezas *et al.*, 2006), pelo que é essencial o cumprimento de um procedimento de boas práticas com controlo rigoroso de todo o processo. A boa higiene fabril é também muito importante para evitar contaminação por agentes patogénicos capazes de provocarem infecção ou intoxicação alimentar. Na verdade, algumas estirpes de *E. coli* não necessitam de apresentar um crescimento significativo no alimento, bastando apenas uma pequena quantidade para causarem doença (Feiner, 2006).

Geralmente, apesar de existir um certo grau de heterogeneidade microbiana inicial em diferentes produtos alimentares, desenvolve-se uma microflora similar quando estes são expostos sob condições semelhantes. Alimentos ricos em proteínas, como o leite, peixe ou carne, armazenados sob aerobiose, a baixas temperaturas, apresentam uma população microbiana constituída principalmente por *Pseudomonas* spp. e outras bactérias Gram-negativas psicrotróficas (Gram *et al.*, 2002).

Lawrie & Ledward (2006) afirmam que existe um crescimento semelhante no tipo de microrganismos presentes na carne de porco, vaca e borrego pré-embalada a 3 e 7 °C, principalmente constituídos por *Achromobacter* e *Pseudomonas fluorescens*, sendo estes responsáveis pela redução da tensão de oxigénio e aumento da descoloração da carne em ambientes de aerobiose. *Pseudomonas fluorescens*, tal como *Pseudomonas fragii*, são também responsáveis pela quebra de proteínas musculares e consequente metabolização dos aminoácidos, levando a odores e sabores indesejáveis na carne (Feiner, 2006). Alguns autores referem que a degradação da carne armazenada em condições aeróbias e a temperaturas de refrigeração, geralmente é causada por este tipo de microrganismos, que metabolizam preferencialmente a glucose. Quando a carga bacteriana no alimento se torna demasiado elevada, o gradiente de difusão da glicose desde os tecidos mais profundos aos superficiais torna-se insuficiente para provir as suas necessidades, ocorrendo degradação de aminoácidos e proteínas com formação consequente de amónia, aminas e sulfitos que levam a maus odores característicos na carne (Koutsounamis, Stamatiou, Drosinos & Nychas, 2008).

Por outro lado, a carne fresca embalada em atmosfera modificada apresenta uma população dominante de bactérias ácido lácticas e/ou *Brochothrix thermosphacta*. Estas, produzem ácidos orgânicos como resultado da deterioração da carne, a qual normalmente se caracteriza pela presença de odores ácidos, azedos e tipicamente “a queijo”. Estes microrganismos apresentam uma taxa de crescimento mais lento e menos ofensivo que *Pseudomonas* spp. (Koutsounamis *et al.*, 2008). Alguns tipos de bactérias ácido lácticas (BAL) estão a ser estudadas no intuito da bio-preservação da carne, devido à sua capacidade de restrição no crescimento de outros tipos de microrganismos indesejáveis através de interações competitivas ou da produção de moléculas antagonistas como os ácidos orgânicos, bacteriocinas ou o hipotiocianato. Esta acção tem sido utilizada ao longo dos anos na conservação de produtos de carne cozidos e fermentados, estando algumas estirpes reportadas como antagonistas de microrganismos patogénicos e deteriorativos associados a esses produtos, pelo que pode ser uma abordagem alternativa na conservação da carne (Jones, Hussein, Zagorec, Bightwell & Tagg, 2008).

Doulgeraki, Paramithiotis, Kagkli & Nychas (2010), referem as bactérias ácido-lácticas como os microrganismos deteriorantes específicos que mais contribuem para a deterioração da carne armazenada em embalagens de atmosfera modificada com altas concentrações de dióxido de carbono, sendo os *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, e *Carnobacterium* os géneros mais frequentemente encontrados neste grupo. As espécies de *Leuconostoc sp.* e *L. sakei* têm sido associadas a deterioração da carne em embalagens de atmosfera modificada, armazenada em refrigeração.

Lawrie & Ledward (2006) referem que pode ser registada uma grande diversidade na microflora presente na carne proveniente de espécies distintas. Tanto em condições aeróbias como anaeróbias, observa-se a 5 °C deterioração na carne de borrego embalada, causada principalmente por *B. thermosphacta*, enquanto que a carne de vaca, em condições similares, sofre alterações provocadas maioritariamente por bactérias Gram-negativas. Os autores pressupõem que esta diferença possa ser parcialmente atribuída ao facto de a taxa de utilização do oxigénio residual ser consideravelmente mais alta no borrego do que na carne de vaca.

Kennedy *et al.* (2004), afirmam que o crescimento microbiano é o factor mais importante na deterioração da qualidade da carne de borrego fresca. Barrera *et al.* (2007) referem que as características intrínsecas deste tipo de carne, como um pH intramuscular superior a 5,8, e uma camada de gordura subcutânea, predispõe a uma maior deterioração por microrganismos, como *B. thermosphacta* e Enterobactérias psicotróficas, comparativamente à carne de bovino para o mesmo tempo de armazenamento, em condições de atmosfera normal ou com reduzido teor de oxigénio. *Brochothrix thermosphacta* provocam descoloração e presença de maus sabores e odores na carne, através da quebra de ligações proteicas e lipídicas, tendo ainda como consequência a produção de visco. A sua relativa estabilidade perante os valores reduzidos de actividade de água (aw) na carne fresca permite que o seu crescimento supere o de outras bactérias deteriorativas como as Enterobactérias (Feiner, 2006).

A carne de borrego necessita, assim, de métodos de preservação mais eficazes para retardar o crescimento bacteriano, comparativamente a outros tipos de carne.

As condições selectivas impostas às populações microbianas alimentares através de métodos químicos ou físicos são inegavelmente importantes no crescimento da microflora, podendo chegar a causar uma modificação no tipo de microrganismos normalmente presentes.

A alteração da composição da atmosfera envolvente ao produto é um dos factores de pressão selectiva mais utilizados para condicionar a microbiota da carne (Gram *et al.*, 2002). Desta

forma, o crescimento e sobrevivência de microrganismos deteriorativos ou patogénicos é afectado quando se utilizam embalagens de atmosfera modificada (McMillin, 2008).

A aplicação destas metodologias tecnológicas é essencial para diminuir o crescimento bacteriano, aumentando o tempo de vida de útil de produtos facilmente perecíveis, como a carne de borrego fresca.

6.5 Avaliação sensorial

Uma vez assegurada a componente higio-sanitária da qualidade da carne, são as características organolépticas que determinam a sua aceitabilidade pelos consumidores. Assim, o estudo dos atributos sensoriais da carne de borrego são de grande importância, não só para adequar a oferta às necessidades dos vários mercados, mas também, para fidelizar os consumidores.

A análise sensorial pode ser definida como um conjunto de técnicas utilizadas para medir as propriedades sensoriais dos alimentos através da utilização dos órgãos dos sentidos, sendo o Homem o instrumento de medição das características organolépticas (Fisher & Scott, 2000). Deste modo, esta ciência está sujeita a um determinado grau de subjectividade que pode ser minimizado através da utilização de metodologias de trabalho bem delineadas e de um painel de provadores bem treinado, possibilitando a garantia de resultados fiáveis e reprodutíveis.

Cada uma das sensações percebidas pelos órgãos dos sentidos possui um limiar de percepção, abaixo do qual é verificada insensibilidade e a acima do qual a sensação aumenta de forma exponencial com o aumento do estímulo. Este limiar de percepção é muito variável entre pessoas, pelo que é necessário utilizar vários provadores (8 a 10), dos quais devemos conhecer a sensibilidade sensorial individual (Azevedo *et al.*, 2007).

Todas as pessoas sofrem do efeito de adaptação sensorial, existindo uma diminuição da intensidade da sensação, simultânea a um maior tempo de exposição ao estímulo. Por isso, é necessário variar a ordem de apresentação das amostras, garantindo que estas sejam avaliadas em todas as combinações possíveis (Azevedo *et al.*, 2007).

Os órgãos dos sentidos são eficazes a efectuarem comparações mas não têm esta mesma capacidade no que respeita à avaliação de sensações absolutas, pelo que as experiências devem ser planeadas para trabalhar na base de comparações. É também necessário uniformizar tanto quanto possível as amostras e apresentá-las de forma aleatória, realizando-se as provas em ambiente controlado e em cabines individuais (Azevedo *et al.*, 2007).

As características da carne crua são pobres, pelo que devem ser considerados dois componentes: um independente de espécie, portanto características organolépticas comuns a

todas as carnes; outro específico de espécie, que determina a diferença organoléptica existente entre as várias espécies animais (Warris, 2000).

As características sensoriais da carne de borrego são influenciadas por factores que condicionam a composição da carcaça, podendo estes serem divididos em factores biológicos, como a raça ou peso, e factores ambientais, como o sistema de produção, alimentação, stresse pré-abate, refrigeração, maturação entre outros (Vergara, Linares, Berruga & Gallego, 2005).

7. Técnicas de conservação da vida útil da carne

Os principais processos utilizados para conservação da carne preocupam-se sobretudo com a inibição da deterioração microbiana, embora alguns deles também visem a minimização de outras alterações deteriorativas como as mudanças de cor e as reacções oxidativas (Zhou, Xu & Liu, 2010).

A carne fresca, por ser um produto facilmente perecível, deve ser submetida a tecnologias de conservação de modo a prolongar o seu tempo de vida útil, o que traz inúmeras vantagens tanto para a distribuição e comercialização, como para os próprios consumidores.

Embora existam inúmeras técnicas com esta finalidade, sendo focados os benefícios da utilização dos tratamentos de frio e do uso de sistemas de embalagem, ambas vulgarmente utilizadas na conservação de produtos alimentares no mercado.

7.1 Tratamentos de arrefecimento da carcaça

A refrigeração tem sido o método tradicional de conservação mais utilizado para a carne fresca ao longo do tempo. A utilização de tratamentos de frio é essencial para favorecer condições de higiene, segurança, tempo de vida útil, aparência e qualidade da carne (Zhou *et al.*, 2010). As metodologias de aplicação de frio podem diferir, porém todas visam a preservação das características iniciais que a carne apresenta.

Do ponto de vista sanitário, é fulcral que a carne seja refrigerada imediatamente após o abate, sendo importante o cumprimento de um plano estabelecido segundo a metodologia HACCP (Van Moeseke *et al.*, 2001).

A ocorrência de uma proliferação significativa de microrganismos antes de a carne ser refrigerada, devido a diversos factores, leva à permanência de uma elevada concentração de enzimas microbianas na carne. Deste modo, mesmo que haja um posterior acondicionamento a baixas temperaturas, as enzimas presentes na carne podem continuar a causar deterioração da sua qualidade mesmo que o crescimento bacteriano seja inibido (Lawrie & Ledward, 2006). Assim, um produto muito contaminado no seu estado inicial nunca poderá apresentar grandes atributos de qualidade (Cabezas *et al.*, 2007).

Mesmo que os procedimentos normais sejam cumpridos segundo as boas práticas vigentes, as baixas temperaturas não apresentam um poder de inibição absoluto sobre o crescimento bacteriano. Por exemplo, *Pseudomonas* spp. e *Brochothrix thermosphacta*, são tolerantes às baixas temperaturas a que se submete a carne fresca, podendo crescer nestas condições (Feiner, 2006).

O efeito da temperatura sobre o crescimento bacteriano pode diferir quando esta é conjugada com outros factores, como o tipo de nutrientes disponíveis no alimento ou a presença de oxigénio. Desta forma, em condições de refrigeração aeróbia, a flora deteriorativa da carne é dominada por *Pseudomonas* spp., enquanto que em condições anaeróbias há uma predominância de *Lactobacilus* spp. (Lawrie & Ledward, 2006).

Actualmente, a utilização de sistemas avançados de refrigeração é uma prática comum a nível mundial, promovendo um arrefecimento das carcaças durante o período crítico pós-abate e desenvolvimento de *rigor mortis*. Na última metade do século passado foi atingida uma eficiência tão elevada nos processos de remoção de calor, que estes demonstraram ter um efeitos negativos na qualidade da carne de vaca e de borrego (Savell, Mueller & Baird, 2005). Um aumento na velocidade do ar e/ou uma diminuição da temperatura, pode diminuir o tempo de arrefecimento da carcaça, sendo a remoção de calor a nível das camadas mais profundas um factor limitante deste processo (Zhou *et al.*, 2010).

Em estudos realizados com carne de vaca, a taxa de arrefecimento foi reportada como um factor crítico neste processo (Van Moeseke *et al.*, 2001). Se esta taxa for demasiado lenta ou demasiado rápida, tem como consequência uma carne de qualidade inferior, sendo as condições de arrefecimento um ponto crítico de controlo num sistema HACCP (Savell *et al.*, 2001).

O arrefecimento da carcaça pode ser realizado segundo diversos protocolos, sendo cada um deles mais ou menos vantajoso consoante as características da carne à qual se destina.

7.1.1 Arrefecimento rápido

O tipo de arrefecimento mais utilizado é o arrefecimento convencional ou rápido. Este consiste no acondicionamento das carcaças 30 minutos após o abate, numa câmara de 2 °C, até perfazer o período de 24 horas (Benito, 2008).

Um arrefecimento rápido é vantajoso, na medida em que promove um aumento do rendimento do produto ao diminuir a taxa de perdas de peso por evaporação superficial. No entanto, se este for demasiado rápido e mal controlado pode apresentar desvantagens como a

desidratação da superfície da carcaça e a ocorrência de encurtamento pelo frio (Zhou *et al.*, 2010).

7.1.1.1 Rigor mortis e encurtamento pelo frio

Após o sangramento do animal, o processo de glicólise continua a ocorrer na ausência de oxigênio, o que resulta numa produção de ácido láctico e consequente descida do pH muscular.

Numa fase inicial, continua a ocorrer no músculo relaxamento devido à existência de ATP disponível para interferir com o magnésio e quebrar as ligações que se formam entre os filamentos proteicos de actina e miosina. No entanto, quando as quantidades de ATP decrescem substancialmente, este não vai ser suficiente para intervir no processo de contracção, pelo que as pontes proteicas ficam permanentemente ligadas permanecendo em fase de rigidez muscular, sendo assim instalado o *rigor mortis* propriamente dito.

Quando a temperatura muscular é reduzida, antes de esta fase ser atingida, o retículo sarcoplasmático não vai conseguir funcionar adequadamente, o que vai ter como consequência uma permanência abundante de cálcio no sarcoplasma. O íão cálcio desempenha um papel fundamental na contracção muscular, por isso ao estar disponível no sarcoplasma vai proporcionar a ocorrência de uma contracção forte (Savell *et al.*, 2005). Segundo Lawrie & Ledward (2006), o encurtamento pelo frio pode ser provocado por uma diminuição muito rápida do pH, associada a uma diminuição pronunciada da temperatura nas primeiras horas *postmortem* (anterior ao estabelecimento do *rigor mortis*) e acompanhada por um forte aumento da concentração de cálcio no sarcoplasma, o que tem como consequência uma contracção muscular intensa.

A carne que sofreu o fenómeno de encurtamento pelo frio não é susceptível ao processo normal de maturação que ocorre após o estabelecimento de *rigor mortis*. O processo de maturação consiste numa série de reacções bioquímicas que alteram a estrutura muscular, resultando numa menor resistência à deformação e aumento do grau de tenrura. Estas carnes “encurtadas pelo frio” caracterizam-se por permanecerem duras mesmo após preparação culinária, sendo completamente desvalorizadas pelo consumidor (Cabezas *et al.*, 2006).

7.1.1.2 Minimização das desvantagens do arrefecimento das carcaças

Os efeitos negativos do método de arrefecimento rápido, como a possibilidade de ocorrência de encurtamento pelo frio, podem ser minimizados pela conjugação de processos de

estimulação eléctrica ou de programas de suspensão alternativos da carcaça (Savell *et al.*, 2005).

A estimulação eléctrica previne o fenómeno de encurtamento pelo frio, utilizando os níveis de ATP presentes no músculo antes de o *rigor mortis* ser atingido. Este método consiste na passagem de uma corrente eléctrica através da carcaça durante o processo de abate, causando uma violenta contracção muscular e acelerando o processo de glicólise anaeróbia. Por sua vez, vai aumentar a taxa de declínio do pH com uma instalação mais precoce do *rigor mortis*, o que leva a uma menor susceptibilidade muscular a este fenómeno. Estudos realizados por Shorthose, Powell & Harris (1986), confirmam que os efeitos positivos da estimulação eléctrica a nível do processo de maturação, na tenrura ou até mesmo na cor, verificados noutros trabalhos com carne de vaca, também são observados na carne de borrego.

Durante o arrefecimento da carcaça, é também importante ter em consideração a retracção física imposta pela ligação do músculo ao esqueleto, sendo que a alteração do método de suspensão previne o encurtamento muscular (Savell *et al.*, 2005).

As características próprias da carcaça também interferem no seu arrefecimento, sendo este mais lento quanto maior for o seu tamanho e cobertura em gordura (Lawrie & Ledward., 2006). Esta cobertura, desempenha um importante papel na redução de incidência do fenómeno de encurtamento pelo frio durante o arrefecimento de carne de vaca e de borrego.

Smith, Dutson, Hostetler & Carpenter (1976) reportam que as carcaças de borrego com um maior teor de gordura, arrefecem mais lentamente, sendo menos susceptíveis ao encurtamento pelo frio e mais tenras. Uma maior camada de gordura subcutânea confere uma maior tenrura à carne, permitindo que as carcaças arrefeçam mais lentamente a uma dada temperatura, aumentando a actividade enzimática.

Por outro lado, um aumento do teor de gordura pode ser útil na medida em que este actua como uma barreira contra as perdas por evaporação, diminuindo assim as perdas de rendimento da carcaça, durante o processo de arrefecimento. As carcaças leves que contenham um menor revestimento de gordura, como as carcaças de borrego do género comercial *lechazo*, são mais susceptíveis às desvantagens dos tratamentos de arrefecimento, como o encurtamento pelo frio, dessecação superficial e perdas de rendimento. Por isso, embora o tratamento de refrigeração pós-abate seja essencial para o prolongamento da sua vida útil, deve ser rigorosamente controlado de forma a não ser prejudicial à qualidade da carne.

7.1.2 Arrefecimento por *spray* de água

O principal objectivo do arrefecimento por *spray* é a redução das perdas de peso que ocorrem durante o processo normal de refrigeração das carcaças, especialmente nas primeiras 24h *post mortem*. Estes sistemas são utilizados como prática comum para arrefecimento de carcaças de bovino, borrego, porco ou aves de capoeira, nos Estados Unidos e em vários países da Europa (Savell *et al.*, 2005).

Este processo envolve um *spray* intermitente de água fria nas carcaças durante as primeiras 3 a 8h após o abate, de modo a repôr as perdas que ocorrem por evaporação. Com este método, a superfície da carcaça permanece húmida, permitindo uma transferência máxima de massa e de evaporação, sem aumentar, contudo, as perdas de peso na carcaça (Savell *et al.*, 2005) o que resulta num benefício a nível comercial. Com a utilização deste tipo de arrefecimento está reportada uma redução na ordem dos 75% nas perdas de rendimento na carcaça de bovino (Kinsella *et al.*, 2006).

Apesar de este método ser vantajoso, em diversas ocasiões foi posta em causa a qualidade microbiológica da carne resultante. No entanto, Hamby, Slavell, Acuff, Vanderzant & Cross, (1987) reportaram que o arrefecimento por *spray* não afectou a contagem de microrganismos aeróbicos em carne de bovino. Chegou a ser sugerido que um aumento da actividade da água na superfície poderia promover um crescimento bacteriano, porém, este seria inibido por uma redução relativamente rápida da temperatura da superfície da carcaça durante o processo de arrefecimento (Kinsella *et al.*, 2006).

7.1.3 Arrefecimento ultrarrápido

O arrefecimento ultrarrápido é utilizado em alguns matadouros e consiste no acondicionamento das carcaças 30 minutos pós-abate numa câmara de -20 °C, durante 3 horas, sendo posteriormente transferidas para uma câmara a 2 °C, até completar um período de 24 horas (Benito, 2008). Watt & Haring (1974), reportaram que as carcaças de borrego que foram sujeitas a um arrefecimento mais rápido, apresentaram carne mais brilhante e uma gordura com um tom mais esbranquiçado, tendo menores perdas de rendimento. No entanto, a utilização deste método reflectiu-se num endurecimento muscular, sendo o mesmo mais pronunciado no músculo *longissimus*, comparativamente aos músculos *semimembranosus*, *semitendinosus* e *biceps femoralis*, com valores ligeiramente mais elevados do que os verificados pela aplicação do método convencional.

7.1.4 Arrefecimento lento

O tratamento de refrigeração lenta pode ser definido como um processo que mantém as carcaças intactas, num espaço exterior à câmara de frio durante um determinado período de tempo (Savell *et al.*, 2005). O protocolo utilizado nas carcaças de borrego consiste numa primeira fase de acondicionamento a uma temperatura de 10 °C, durante 7 horas, e numa segunda fase em câmara de refrigeração de 2 °C, até ser completado um período de 24 horas pós-abate (Benito, 2008). Foi reportado por alguns autores, em estudos efectuados com carne de bovino, que este tipo de tratamento tem uma influência positiva na sua tenrura (Savell *et al.*, 2005), provavelmente resultante do prolongamento da proteólise durante o processo de maturação, ao mesmo tempo que previne a ocorrência do encurtamento pelo frio. No entanto, devido às exigências da cadeia comercial e aos aspectos respeitantes à segurança alimentar, este sistema é pouco aplicado na actualidade (Savell *et al.*, 2005).

7.2 Sistemas de Embalagem

A embalagem de alimentos providencia uma protecção contra efeitos deteriorativos por acondicionamento dos produtos, facilidade de uso e funciona como uma ferramenta de *marketing* (Yam, Takhistov & Miltz, 2005). A disposição da carne em materiais de plástico permite que o consumidor avalie o produto num formato de embalagem atractivo, higiénico e conveniente (Renerre & Labadie, 2003).

As tecnologias de embalagem em atmosfera protectora diferenciam-se em três tipos principais segundo as alterações que ocorrem no ambiente gasoso que rodeia o produto. Assim, são considerados sistemas de embalagens em vácuo, em atmosfera controlada e em atmosfera modificada (Cabezas *et al.*, 2006).

O sistema de embalagem a vácuo foi o primeiro método utilizado comercialmente, consistindo apenas na eliminação do ar contido na embalagem, sendo a concentração de oxigénio residual inferior a 1%. O material de embalagem fica estreitamente ligado à superfície do produto alimentar e deve apresentar uma permeabilidade muito reduzida.

Por outro lado, os sistemas de embalagem em atmosfera controlada pressupõem a substituição da atmosfera normal por um gás ou mistura de gases específicos, cuja proporção é estabelecida de acordo com as necessidades do alimento. As reacções metabólicas que ocorrem durante o tempo de armazenamento vão predispor a alterações na composição inicial desta atmosfera. Estas variações são detectadas por dispositivos de controlo, sendo compensadas com diferentes mecanismos de produção ou eliminação de gases, existindo a possibilidade de controlar o ambiente gasoso que rodeia o alimento. No entanto, só é possível implementar estes sistemas em câmaras ou contentores de grande volume, não sendo possível

a sua utilização em embalagens de pequenas dimensões de venda a retalho. Os sistemas de atmosfera controlada são muito utilizados para alimentos com elevada taxa metabólica como, por exemplo, os vegetais (Cabezas *et al.*, 2006).

Mais recentemente, foram desenvolvidos os sistemas de embalagem em atmosfera modificada. Koutsoumanis, Stamatou, Drosinos & Nychas (2008) referem este tipo de sistemas de embalagem como uma das aplicações mais eficazes no prolongamento de vida útil dos produtos frescos, sendo amplamente utilizado na indústria da carne. Estes, consistem na remoção do ar contido na embalagem com posterior injeção de gás ou combinação de gases, mais adequados às características do alimento. Os materiais utilizados podem ser de maior ou menor permeabilidade, consoante é requerida uma maior ou menor troca gasosa com o exterior. Porém, contrariamente ao sistema anterior, não é possível controlar a composição gasosa ao longo do tempo de armazenamento (Cabezas *et al.*, 2006).

Com o desenvolvimento tecnológico, foram ainda desenvolvidos novos formatos de embalagem, nomeadamente as designadas embalagens activas, onde se incluem também as embalagens “inteligentes”. As embalagens activas consistem na incorporação de compostos específicos dentro do sistema de embalagem de modo a manter ou a prolongar a qualidade do alimento e o seu tempo de vida útil. Por outro lado, as embalagens ditas “inteligentes” providenciam informações úteis acerca das propriedades do alimento ou do seu ambiente interno através do uso de sensores apropriados (McMillin, 2008).

7.2.1 Sistemas de embalagem com atmosfera modificada

Os sistemas de embalagens com atmosferas modificadas são utilizados para prolongar o tempo de vida e manter a qualidade dos alimentos facilmente perecíveis, como a carne fresca armazenada a temperaturas de refrigeração. A cor, a oxidação lipídica e o crescimento microbiano são os critérios de qualidade mais importantes no armazenamento das carnes vermelhas. Desta forma, os sistemas EAM procuram estabilizar a cor e as reacções de oxidação, ao mesmo tempo que atrasam o crescimento microbiano (Esmer, Irkin, Degirmencioglu & Degirmencioglu, 2011). A eficácia destes tipos de embalagem na inibição do crescimento bacteriano depende, também, da temperatura a que o alimento é armazenado influenciando as propriedades dos gases contidos na embalagem, sendo consideravelmente eficazes no prolongamento do tempo de vida útil das carnes vermelhas a temperaturas de refrigeração (Jeremiah, 2001; Koutsounamis *et al.*, 2008).

O ar da atmosfera é composto por aproximadamente 0,03% de dióxido de carbono (CO₂), 21% de oxigénio (O₂) e 78% de azoto (N₂). Contudo, nestes sistemas, o ar presente é removido, sendo substituído por uma mistura gasosa que contém teores diferentes destes

gases segundo as condições pretendidas (Leo & Nollet, 2006). A mistura gasosa mais utilizada para embalagem de carnes vermelhas é composta por 20-30% CO₂ e 70-80% O₂ (Esmer *et al.*, 2011).

7.2.1.1 Gases utilizados nas EAM

As misturas gasosas mais frequentemente utilizadas nos sistemas de embalagem com atmosfera modificada são compostas por dióxido de carbono, oxigénio e/ou azoto, desempenhando cada um deles um papel específico no prolongamento do tempo de vida útil e na manutenção dos atributos visuais da carne embalada (Doherty, Sheridan, Allen, MvDowell & Blair, 1996).

7.2.1.1.1 A utilização de dióxido de carbono

A utilização de dióxido de carbono é muito importante devido à sua capacidade para inibir uma ampla variedade de microrganismos, não sendo o seu mecanismo de acção ainda totalmente conhecido. No entanto, é frequentemente sugerido que a sua principal acção inibidora decorre da sua capacidade de penetrar as membranas celulares bacterianas, alterando o pH celular e afectando conseqüentemente o metabolismo celular (Leo & Nollet, 2006).

O dióxido de carbono apresenta uma elevada solubilidade na carne e nas soluções aquosas, dissolvendo-se rapidamente na água e produzindo uma solução de ácido carbónico. Desta forma, reduz o pH do meio o que também vai ser importante na inibição bacteriana, já que os microrganismos apresentam um crescimento preferencial em meio neutro (Jakobsen & Bertelsen, 2002; Feiner, 2006).

A solubilidade do dióxido de carbono é tão elevada que quanto mais alta for a sua concentração na mistura gasosa, maior vai ser a quantidade absorvida deste gás pela carne. Deste modo, acaba por ser atingido um ponto de saturação no produto e uma conseqüente diminuição significativa da sua concentração no espaço livre da embalagem. A quantidade de gás absorvida pode ser de tal forma elevada que pode causar colapso da embalagem, resultando numa aparência pouco atractiva e perda comercial. Para evitar esta situação, num sistema EAM de carne fresca que contenha uma atmosfera composta unicamente por dióxido de carbono, é recomendada a utilização de um teor superior ao que é necessário para atingir o ponto de saturação (Barrera *et al.*, 2007).

Deve ser ainda referido que a solubilidade do dióxido de carbono é influenciada pela temperatura, verificando-se uma maior solubilidade a temperaturas mais baixas, o que permite uma maior formação de ácido carbónico com dissociação de H⁺ e CO₃⁻, o que leva a uma acidificação do meio (Koutsounamis *et al.*, 2008). Tal facto, reflecte-se numa actividade

antimicrobiana consideravelmente elevada a temperaturas inferiores a 10 °C. A sua eficiência na inibição das bactérias Gram-negativas que crescem na carne fresca torna-o no principal agente antimicrobiano nos sistemas de EAM (Leo & Nollet, 2006). Esta propriedade faz com que este gás seja imprescindível no prolongamento de vida de útil da carne de borrego, pois esta apresenta uma elevada carga bacteriana comparativamente a outros tipos de carne (Barrera *et al.*, 2007).

7.2.1.1.2 A utilização de azoto

O azoto é um gás inerte, de baixa solubilidade podendo ser utilizado como um gás de preenchimento. Este gás não afecta o crescimento bacteriano directamente, no entanto, pode afectar o tempo de vida útil da carne de forma indirecta. O azoto pode ser utilizado para substituir o oxigénio e, desta forma, previne o crescimento de microrganismos aeróbios. Também pode ser utilizado em misturas gasosas em combinação com o dióxido de carbono, de modo a que não sejam necessárias concentrações tão altas deste último, prevenindo a ocorrência de fenómenos como o colapso das embalagens (Leo & Nollet, 2006).

7.2.1.1.3 A utilização de oxigénio

A presença de oxigénio nos sistemas EAM é importante na medida em que mantém a mioglobina, a principal proteína responsável pela cor da carne, na sua forma oxigenada, promovendo uma cor vermelha atractiva (Mancini & Hunt, 2005). Quando este está presente numa concentração mais elevada há uma maior penetração no pigmento da carne mantendo-se uma boa aparência durante mais tempo (Leo & Nollet, 2006). No entanto, este gás favorece o aumento da taxa de oxidação lipídica, o que causa alterações indesejáveis na cor e no sabor (Esmer *et al.*, 2011). Simultaneamente, vai predispor a uma rápida proliferação de microrganismos aeróbios. Posto isto, a combinação de oxigénio com um teor de 20 a 25% de dióxido de carbono é vantajosa, devido ao efeito que este último apresenta no controlo microbiano (Leo & Nollet, 2006).

7.2.1.1.4 A utilização de monóxido de carbono e outros gases

As desvantagens inerentes à incorporação de oxigénio podem ser minimizadas pela incorporação de monóxido de carbono na mistura gasosa da embalagem pois esta molécula ao ligar-se com a mioglobina promove uma coloração vermelha e brilhante, estável. Porém, este gás não é amplamente utilizado nos sistemas EAM devido à preocupação pública sobre a sua elevada toxicidade.

A exposição humana a altas concentrações de monóxido de carbono pode ser fatal devido à forte ligação que este estabelece com a hemoglobina impedindo o transporte de oxigénio ao

organismo. No entanto, Bórnez *et al.*, (2009) referem que a sua incorporação em percentagens muito baixas não constitui um risco de toxicidade para os consumidores. Alguns estudos comprovam que concentrações de 0,3 a 0,5% deste gás são suficientes para a estabilidade da cor da carne não provocando perigo para a saúde, podendo ser incorporado até 1% de monóxido de carbono na mistura gasosa da embalagem (Leo & Nollet 2006; Sorheim, Aune & Nesbakken, 1997)

Em 2004, foi aprovada nos Estados Unidos a sua utilização numa concentração de 0,4% em sistemas de embalagem de atmosfera modificada, sendo classificado como GRAS (Substances Generally Recognized as Safe), ou seja, substância segura, quando utilizado nestas condições (US FDA, 2004; US FDA, 2002). No entanto, está proibida a sua utilização na União Europeia.

A utilização do monóxido de carbono em sistemas de embalagem de atmosfera modificada tem sido bem estudada juntamente com alguns dos aspectos microbiológicos na carne de peru, porco e vaca, porém, o seu efeito na carne de borrego ainda não é totalmente conhecido (Fraqueza *et al.*, 2011; Luño, Roncalés, Djenane, & Beltrán, 2000; Sorheim, Nissen & Nesbakken, 1999). Esta última, apesar de ser também uma carne vermelha, pode apresentar diferenças consideráveis comparativamente às anteriores relativamente à sua vida útil (Kennedy *et al.*, 2004).

Para além de todos os gases referidos anteriormente, pode ser também utilizada uma mistura gasosa contendo gases nobres, dióxido de enxofre, cloro ou ozono. No entanto, existem alguns inconvenientes como o facto de muitos destes gases se encontrarem ainda em processo de estudo, serem perigosos à manipulação ou acarretarem um custo demasiado elevado, sendo a sua utilização condicionada (Cabezas *et al.*, 2006).

7.2.1.2 Materiais utilizados nas EAM

A embalagem protege os alimentos contra os efeitos deteriorativos, os quais podem incluir a descoloração, presença de maus sabores e cheiros, perda de nutrientes, alterações na textura, microrganismos patogénicos, entre outros. O tempo de vida útil da carne fresca é influenciado sobretudo pelo tipo de carne, mistura gasosa, tipo de embalagem e espaço livre de embalagem, equipamento de embalagem, temperatura de armazenamento e incorporação de aditivos (Zhou *et al.*, 2010). A qualidade dos alimentos embalados está directamente relacionada com os atributos do próprio alimento e do material utilizado. Neste sentido, têm sido desenvolvidos materiais de embalagem com a capacidade de manterem as propriedades desejadas da carne durante o seu armazenamento e distribuição (McMillin, 2008).

Os sistemas de EAM requerem um material de embalagem que funcione como uma barreira eficaz, mais ou menos permeável, de modo a manter um ambiente interno constante durante o período de armazenamento (Zhou *et al.*, 2010).

A principal função dos materiais de embalagem é proteger o alimento do meio externo e manter o ambiente gasoso criado no seu interior, sendo necessário proteger o alimento de odores externos, da acção deteriorativa da luz, de oscilações de temperatura e de humidade.

Comercialmente é importante que a própria embalagem seja um meio de apresentação do alimento ao consumidor, pelo que deve ser atractiva e cómoda, constituída por materiais susceptíveis a adquirirem formatos e cores diversas e com boa qualidade de impressão. A possibilidade de ver o alimento através da embalagem é bastante valorizada, sendo muitas vezes utilizados materiais transparentes que podem incorporar aditivos que evitam a formação e condensação de vapor de água na superfície interna da embalagem.

Devem ser consideradas as questões económicas, legais e ambientais do próprio material, como o seu custo, o rendimento de película por metro quadrado, a sua disponibilidade no mercado, a sua máxima inércia química ou apresentar a possibilidade de ser reciclado. Uma boa resistência do material ao impacto e à perfuração é, também, um importante critério de selecção; se a embalagem propriamente dita é facilmente danificada perde as propriedades da atmosfera protectora nela contida, o que resulta na deterioração rápida do alimento (Cabezas *et al.*, 2006).

A mistura gasosa pode sofrer alterações devido a inúmeras variáveis como a permeabilidade da embalagem aos gases utilizados, a fuga da mistura gasosa por uma selagem ou estrutura de material defeituosa, a temperatura do material de embalagem ou a sua espessura. Estas alterações podem influenciar a flora microbiana tendo consequências no período de tempo de vida útil do alimento (Skandamis & Nychas, 2002).

Podem ser utilizados vários tipos de materiais na embalagem de alimentos. O plástico apresenta diversas propriedades físicas e químicas que o tornam num material de eleição para embalagem de produtos alimentares, como o facto de ter baixa densidade, boa resistência, apresentar propriedades de barreira, permeabilidade e flexibilidade convenientes, entre outras (McMillin, 2008).

Os polímeros mais frequentemente utilizados para a embalagem de alimentos são o polietileno de baixa e alta densidade, o polipropileno, o politetrafluoroetileno e a poliamida.

Cada tipo de material tem as suas vantagens e desvantagens, apresenta diferenças nas considerações ambientais e tem diversos custos (Marsh & Bugusu, 2007). É extremamente difícil que um único material reúna todas as características desejadas, por isso, recorre-se à

utilização de embalagens com uma estrutura múltipla, constituídas por lâminas distintas de modo a que seja possível conjugar as suas diversas propriedades.

No que respeita à embalagem de carne e dos seus derivados, devem ser seleccionados materiais de baixa permeabilidade ao oxigénio e à humidade, procurando evitar-se desta forma reacções de oxidação e problemas de desidratação (Cabezas *et al.*, 2006).

7.2.1.3 Vantagens e desvantagens das EAM

A utilização de uma atmosfera gasosa cria uma pressão selectiva na flora microbiana da carne o que vai resultar no prolongamento do seu período de vida útil.

Um armazenamento em condições aeróbias a baixas temperaturas, favorece o crescimento de bactérias Gram-negativas, aeróbias, como *Pseudomonas* spp. Estas, constituem a população predominante, produzindo maus odores devido à desnaturação proteica e ao metabolismo dos aminoácidos. Na presença de oxigénio, pode também ocorrer um importante crescimento de *Brochothrix thermosphacta*, um microrganismo bastante relevante na deterioração da carne de borrego.

Por outro lado, quando o armazenamento da carne é realizado em condições anaeróbias a baixas temperaturas, com elevados níveis de dióxido de carbono, ocorre um aumento lento do crescimento de bactérias ácido-lácticas enquanto que o crescimento da flora aeróbia deteriorativa é desencorajado (Esmer *et al.*, 2011).

O aumento do tempo de vida útil do produto é importante para o operador na medida em que permite gerir com mais facilidade os *stocks* de produção, reduzir a frequência de distribuição com menores gastos em transporte e ampliar a área geográfica abrangida. Existe ainda uma optimização na gestão de espaço de armazenamento, já que as embalagens ao serem fechadas e individualizadas permitem que diferentes tipos de alimentos estejam no mesmo recinto, sem o risco de transmissão de odores entre eles e o próprio ambiente. Porém, apesar de todas as vantagens, o uso deste tipo de embalagens também apresenta alguns inconvenientes (Cabezas *et al.*, 2006).

Uma das questões mais importantes é a necessidade de adequar a composição da atmosfera ao tipo de alimento. Deste modo, é necessário seleccionar os gases mais apropriados, na concentração mais eficaz, o que requer conhecimento das características do produto que se pretende embalar (Cabezas *et al.*, 2006). A carne de borrego ao apresentar características mais propícias ao crescimento microbiano, requer, para um dado tempo de vida útil, uma mistura gasosa que contenha dióxido de carbono devido ao seu efeito bacteriostático; enquanto que a carne de vaca, devido às suas características intrínsecas, pode ser embalada apenas a vácuo para conseguir atingir um período de tempo equivalente (Kennedy *et al.*, 2004).

O uso deste tipo de embalagem tem também o inconveniente de não possibilitar o controlo da composição da atmosfera nela contida, ao longo do tempo. A composição da mistura gasosa vai-se modificando significativamente ao longo do período de armazenamento como resultado do crescimento bacteriano, da permeabilidade do material ou da absorção de gás pelo alimento (Esmer *et al.*, 2011). O'Grady, Monahan, Burke & Allen (2000) referem ainda que existe uma maior alteração na composição da mistura gasosa em sistemas de embalagem com atmosferas modificadas de alto teor de oxigénio do que com baixo teor do mesmo.

Na ocorrência de alteração do teor de gases é esperado que haja uma diminuição na concentração gasosa de dióxido de carbono, correspondente à absorção deste pela carne (Jakobsen & Bertelsen, 2002). No entanto, este declínio não deve ser monitorizado apenas com base no crescimento bacteriano ao longo do armazenamento, pois enquanto que a maioria dos microrganismos presentes na carne utilizam o oxigénio disponível, outros como as bactérias ácido-lácticas ou as *Brochothrix thermosphacta* produzem dióxido de carbono, como resultado do seu metabolismo, não sendo possível estabelecer uma correlação fidedigna (Nychas, 1994).

A utilização das EAM acarretam ainda outros inconvenientes inerentes à própria tecnologia de embalagem, como a ocorrência de colapso da embalagem ou a formação de exsudado em alimentos mantidos em atmosferas com alto teor de dióxido de carbono. O dano da embalagem implica a perda das propriedades do alimento nela contido e de todas as vantagens que a atmosfera protectora aporta, sendo também prejudicial à apresentação do produto (Cabezas *et al.*, 2006).

Pode ser ainda referida a desvantagem económica pois a aplicação desta tecnologia implica um elevado investimento inicial uma vez que os equipamentos, materiais e gases apresentam custos elevados. É, também, necessária a implementação de sistemas de controlo para a detecção de imperfeições no processo de embalamento, como a vigilância de uma boa soldadura e da efectiva existência da mistura gasosa dentro da embalagem, o que implica a utilização de mão-de-obra qualificada. Por outro lado, de acordo com a existência de um maior volume de embalagens é necessário dispor de um maior espaço para armazenamento, transporte e exposição (Cabezas *et al.*, 2006).

A percepção do consumidor é vista como o maior factor limitante na aplicação de novas tecnologias nos alimentos; é muito importante a transmissão de informação técnica com uma linguagem acessível, de forma a que os consumidores consigam compreender as tecnologias que são utilizadas nos alimentos que vão consumir (McMillin, 2008). As tecnologias de embalagem de alimentos devem ser conjugadas com outras actividades de processamento e de

preservação, de modo a haver uma amplificação dos seus benefícios na vida útil dos produtos alimentares, nomeadamente na carne fresca.

O estudo e o desenvolvimento de novos métodos de conservação adquirem uma grande importância na carne de borrego já que as suas características intrínsecas propiciam um elevado crescimento bacteriano, com conseqüente deterioração da sua qualidade, pelo que há necessidade de um maior número de estudos e desenvolvimento tecnológico nesta área num futuro próximo.

8. “Efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite”

8.1 Material e métodos

8.1.1 Delineamento experimental

Para a realização deste trabalho foram seleccionados dezasseis borregos de raça Churra, alimentados a leite, com um peso vivo médio de $9,86 \pm 0,81$ kg, adquiridos numa exploração de pequenos ruminantes, situada em Zamora, reconhecida pela IGP *Lechazo de Castilla e León*. Oito animais constituíram o primeiro lote utilizado como primeira réplica do estudo e outros oito foram usados na segunda réplica, sendo que todas as operações descritas ocorreram em dois tempos diferentes mas em condições semelhantes.

O abate ocorreu no matadouro Magnus, situado na província de Zamora, cumprindo as boas práticas e os requisitos reconhecidos na norma vigente, evitando sofrimento desnecessário, tal como é indicado no Decreto Real 731/2007 e Regulamento (CE) nº 882/2004.

O transporte dos animais foi realizado de acordo com o Decreto Real 363/2009 e Regulamento (CE) nº 1/2005, no que respeita às condições básicas que os centros de limpeza e desinfectação devem cumprir e à autorização e registo de pessoas e meios utilizados.

Para cada lote de oito carcaças formaram-se dois subgrupos distintos, um que foi submetido após abate a um tratamento de arrefecimento convencional (AC) e outro a arrefecimento lento (AL). O arrefecimento convencional, ou rápido, implica o acondicionamento das carcaças 30 minutos após o abate, numa câmara de 2 °C, até perfazer o período de 24 horas. O arrefecimento lento, consiste numa primeira fase de acondicionamento a uma temperatura de 10 °C durante 7 horas e numa segunda fase em câmara de refrigeração de 2 °C, até ser completado um período de 24 horas pós-abate.

Para monitorizar o processo foram efectuados registos do peso, temperatura e pH das carcaças às 0, 7 e 24 horas após abate no regime de arrefecimento convencional e lento, porém, os resultados dessa monitorização não serão apresentados no âmbito do presente trabalho.

As carcaças foram transportadas para a oficina da Estação Tecnológica da Carne, respeitando os requisitos legais.

Para a realização do estudo do tempo de vida útil das costeletas, foi delineado um plano experimental que consistiu num estudo factorial 2 x 3 x 4, definido por dois tipos de arrefecimento de carcaça (AC e AL), três tipos de embalagem com misturas gasosas diferentes (CO; AO e BO) e quatro tempos de armazenamento (0, 4, 7 e 13 dias).

Para cada lote utilizado, foram seleccionadas 4 carcaças de borrego submetidas a tratamento de arrefecimento convencional (AC) e outras 4 a arrefecimento lento (AL).

Cada carcaça foi dividida em duas metades (esquerda e direita). De cada uma obtiveram-se 10 costeletas que foram posteriormente dispostas em bandejas diferentes (uma costeleta por bandeja correspondente a cada dia de análise e método de embalagem diferente). Deste modo obteve-se um total de 40 bandejas por cada réplica do estudo, contendo cada uma 4 costeletas provenientes dos 4 borregos correspondentes a cada grupo de tratamento de arrefecimento diferente (Tabela 1). Deve ser ainda referido que as bandejas que continham costeletas obtidas das meias carcaças esquerdas destinaram-se à realização de análises sensoriais e físico-químicas e as que continham costeletas obtidas das meias carcaças direitas destinaram-se à realização de análises microbiológicas.

Tabela 1: Delineamento experimental estabelecido para o estudo do efeito de diferentes protocolos de arrefecimento e embalagem com distintas misturas de atmosfera protectora na vida útil de costeletas de borrego de leite.

Lote	Arrefecimento	Nº Costeletas	Nº bandejas
Lote 1 (n= 8)	Convencional (AC) (n= 4)	40 costeletas ½ carcaça esquerda	10
		40 costeletas ½ carcaça direita	10
	Lento (AL) (n= 4)	40 costeletas ½ carcaça esquerda	10
		40 costeletas ½ carcaça direita	10
Lote 2 (n= 8)	Convencional (AC) (n= 4)	40 costeletas ½ carcaça esquerda	10
		40 costeletas ½ carcaça direita	10
	Lento (AL) (n= 4)	40 costeletas ½ carcaça esquerda	10
		40 costeletas ½ carcaça direita	10

n= nº de borregos utilizados no estudo.

Para a realização das análises correspondentes ao dia 0, foram utilizadas 4 bandejas (2 correspondentes a amostras provenientes de arrefecimento convencional e 2 de arrefecimento lento), tendo sido as restantes 36 bandejas destinadas ao processo de embalagem com as misturas gasosas correspondentes (CO - Ar; AO - 70% O₂, 20% CO₂, 10% N₂; BO - 15% O₂, 85% CO₂).

Foram utilizadas bandejas de poliestireno (COOPBOX Ibérica, S.A., Murcia, Espanha). Estas foram recobertas manualmente por película aderente alimentar, *Packfilm*, de permeabilidade elevada (amostras CO) ou por película de embalagem de alta barreira (amostras AO e BO) de

25 µm de espessura (*Fibosa Packaging S.L.*, Barcelona, Espanha), com uma permeabilidade ao oxigénio de 1,8 cc/m²/24h/atm, a 20 °C e 65% HR. Este processo de embalagem foi realizado numa embaladora termoseladora TECNOVAC modelo *Linvac 400* (Barcelona, Espanha), tendo sido a relação volume de gás/peso de produto 1:1 (Figura 3).

Figura 3: Processo de embalagem das bandejas de costeletas de borrego.



Após devida identificação e embalagem, todas as amostras foram colocadas num expositor de refrigeração, simulando as condições de exposição de supermercado, a temperatura constante de 3-5 °C. Foram definidos os dias 0, 4, 7 e 13, para realização das análises de modo a avaliar a vida útil das amostras ao longo do período armazenamento.

A verificação da composição de gases ao longo do tempo de armazenamento foi realizada utilizando-se um medidor de O₂/CO₂ 1450-B3 (*Aries Ingeniería y Sistemas, S.A.*, Madrid, Espanha), tendo sido realizadas duas medições imediatamente após embalagem e nos tempos definidos para as restantes análises. As medições de gases foram efectuadas utilizando-se um valor médio das duas observações.

Em cada dia de análise definido, foram retiradas amostras provenientes de arrefecimento diferente, seleccionando-se duas por cada tipo de embalagem com misturas gasosas diferentes, tendo sido uma destinada apenas a análises microbiológicas e outra a análises físico-químicas e prova sensorial.

Este processo permitiu uma comparação das características das amostras provenientes de carcaças sujeitas a tipos de arrefecimento diferentes e embaladas em diferentes misturas de gases, para o mesmo dia de armazenamento, seguindo uma evolução temporal. Os dias definidos para análises e os testes realizados estão esquematizados na Tabela 2.

Tabela 2: Protocolo de análises a efectuar nas costeletas embaladas de acordo com as condições em estudo.

Protocolo de arrefecimento	Mistura de gases na embalagem – identificação		Tempo (dias) para efectuar análises	Análises efectuadas	
Convencional (AC) (n= 40)	– (n= 4)	FQ (n= 2)	0	Microbiológicas: C. Aeróbios Totais C. Enterobactérias C. <i>Escherichia coli</i> C. Ácido Lácticas C. <i>Pseudomonas</i> spp. C. <i>Brochothrix thermosphacta</i> Físico-Químicas: pH Cor TBA Sensoriais: Aspecto geral Oxidação muscular Oxidação gordura Odor Aceitabilidade geral	
		M (n= 2)			
	CO (n= 12)	FQ (n= 6)	4,		
		M (n= 6)			
	AO (n= 12)	FQ (n= 6)	7,		
		M (n= 6)			
	BO (n= 12)	FQ (n= 6)	13		
		M (n= 6)			
	Lento (AL) (n= 40)	– (n= 4)	FQ (n= 2)		0
			M (n= 2)		
		CO (n= 12)	FQ (n= 6)		4,
			M (n= 6)		
AO (n= 12)		FQ (n= 6)	7,		
		M (n= 6)			
BO (n=12)		FQ (n= 6)	13		
		M (n= 6)			

n= nº de bandejas utilizadas no estudo.

8.1.2 Análises microbiológicas

Preparação da amostra

A preparação da amostra realizou-se segundo a norma ISO 6887/1 (ISO, 1999).

Pesaram-se $10 \pm 0,1$ g de amostra num saco estéril com filtro e adicionaram-se 90 ml de água de peptona, respeitando os cuidados de assépsia recomendados na realização de análises microbiológicas.

Homogeneizou-se a amostra durante 2 minutos em *Stomacher* e verteu-se o filtrado num balão *Erlenmeyer* esterilizado. Deste modo foi obtida uma suspensão-mãe, numa diluição de

1:10, sendo a mesma utilizada na preparação das diluições decimais seriadas, segundo o procedimento descrito.

- Contagem de Aeróbios Totais a 30°C

Utilizando as suspensões de diluições seriadas, pipetou-se em ambiente estéril, 1 ml de cada uma para o centro de placas de *Petrifilm Plate Count Agar* (3M, Madrid, Espanha). A incubação foi feita a 30 °C, durante 72 h. Procedeu-se à contagem de colónias vermelhas características, exprimindo-se os resultados finais em log ufc/g.

- Contagem de Enterobactérias

Utilizando as diluições seriadas, pipetou-se em ambiente estéril, 1 ml de cada uma para o centro de placas de *Petrifilm Violet Red Bile Glucosa Agar* (3M, Madrid, Espanha). Após incubação a 37 °C, durante 24 h, procedeu-se à contagem de colónias características (vermelhas com zonas amareladas e/ou colónias roxas com gás, que podiam apresentar zonas amareladas ou não) exprimindo-se os resultados finais em log ufc/g.

- Contagem de *Escherichia coli*

Utilizando as suspensões de diluições seriadas, pipetou-se em ambiente estéril, 1 ml de cada uma para o centro de placas *Petrifilm TBX* agar com 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucoronide (3M, Madrid, Espanha). A incubação foi feita a 44 °C, durante 24 h. Procedeu-se à contagem de colónias azuis características, exprimindo-se os resultados finais em log ufc/g.

- Contagem de Bactérias Ácido Lácticas (BAL)

Pipetou-se 1 ml de cada diluição seriada para placas de *Petri* e adicionou-se 15 ml de meio de agar MRS (*Man, Rogosa y Sharpe*, Scharlau Chemie, Barcelona, Espanha). A incubação foi feita a 30 °C, durante 48 h, em condições de anaerobiose, por utilização de geradores (ISO 15214, 1998). Procedeu-se posteriormente à contagem de colónias características, sendo os resultados finais expressos em log ufc/g.

- Contagem de *Pseudomonas* spp.

A partir das diluições seriadas preparadas, pipetou-se em ambiente estéril, 0,1 ml de cada uma para placas de *Petri* previamente preparadas com meio agar Base *Pseudomonas* (Oxoid, Madrid, Espanha) suplementado com CFC (Cetrimida, Fucidina, Cefaloridina, Oxoid, Madrid, Espanha). O inóculo foi espalhado à superfície com uma ansa de *Drigalsky*. A incubação foi feita a 30 °C, durante 48 h (ISO 13720, 1995).

A contagem foi realizada após prova de oxidase o que permitiu diferenciar colónias oxidase positivas por mudança de cor (rosa), sendo os resultados finais expressos em log ufc/g.

- Contagem de *Brochothrix thermosphacta*

Utilizando as diluições seriadas, pipetou-se em ambiente estéril, 1 ml de cada uma para placas de *Petri* e adicionou-se 15 ml de meio de agar STAA (estreptomicina sulfato/tálio acetato/actidiona, Oxoid, Madrid, Espanha) suplementado com suplemento de STAA (Oxoid, Madrid, Espanha), previamente temperado a 45-50 °C. Após solidificação do meio, a incubação foi feita a 25 °C, durante 48 h, em microaerofilia (ISO 13722, 1996).

A contagem de colónias características (brilhantes, esbranquiçadas, forma circular) foi realizada após confirmação do teste de peroxidase positivo, usando uma solução de peróxido de hidrogénio a 3%, sendo os resultados finais expressos em log ufc/g.

8.1.3 Análises físico-químicas

- Medição de pH

O aparelho utilizado foi um potenciómetro de pH com sonda de perfuração de modelo *Metrohm 704*, sendo este calibrado aquando da sua utilização. Foram realizadas três medições por amostra, por introdução da sonda em pontos distintos do tecido muscular e os resultados foram calculados a partir de uma média destes valores (Rubio, 2006).

- Medição da Cor

Foi utilizado um colorímetro *Konika Minolta CM-2600D*, com iluminação *D65* e uma lente *standard* de 10°, sendo calibrado aquando da sua utilização com placa padrão de cor branca.

Este aparelho decompõe a frequência de absorção de cor em três índices diferentes:

L* - indica o índice de luminosidade, que pode variar entre 0, menos luminoso (preto) a 100, mais luminoso (branco).

a* - indica o índice de vermelho, que pode variar entre -60 (verde) a +60 (vermelho).

b* - indica o índice de amarelo, que pode variar entre -60 (azul) a +60 (amarelo).

A medição da cor fez-se em três pontos distintos da superfície das costeletas, em áreas musculares homogéneas. Os resultados de cada índice de cor foram calculados, respectivamente, a partir de uma média dos valores obtidos para cada um deles (Rubio, 2006).

- Determinação da oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi determinada a partir da determinação das substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo o método descrito por Rubio (2006).

O primeiro passo consistiu na pesagem de 2,5 g de amostra para um tubo de plástico, à qual se adicionou 20 ml de água destilada. Foi feita a homogeneização a alta velocidade durante 45 segundos, adicionou-se 5 ml de uma solução aquosa de ácido tricloroacético (TCA) a 25% e agitou-se. Este preparado foi deixado em refrigeração (4 °C, 15 minutos) e posteriormente foi centrifugado (10000 rpm, 15 minutos, 4 °C).

Após este procedimento, seguiu-se a filtração utilizando papel de *Whatman* nº 52. Foram transferidos 3,5 ml do filtrado resultante para um tubo de vidro, sendo depois adicionado 1,5 ml de solução aquosa de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,6%, recentemente preparada. A mistura foi homogeneizada em *vortex* durante 30 segundos, sendo imediatamente incubada em banho de água a 70 °C, durante 30 minutos. Deixou-se arrefecer e mediu-se a absorvância da solução num espectrofotómetro *Beckman Du 640*, a um comprimento de onda de 532 nm.

Antes de se realizar a leitura das amostras foi feita a calibração do equipamento com uma amostra de branco constituída por 2,5 ml de água destilada, 1 ml de TCA a 25% e 1,5 ml de TBA a 0,6%.

Os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão que foi preparada segundo distintas concentrações de malonaldeído, obtido por hidrólise de TEP (1,1,3,3-tetraetoxipropano) em 10 ml de HCl 0,1N.

Os valores de TBARS foram calculados segundo a fórmula abaixo descrita, sendo expressos em µg de malonaldeído/g de amostra:

$$(\mu\text{g MDA /g carne}) = C \times 25 / M \times 3,5$$

C, concentração obtida no espectrofotómetro a partir da curva de calibração

M, massa em g de amostra de carne

8.1.4 Análise sensorial

A avaliação sensorial das amostras de carne de borrego foi efectuada 15 minutos após a abertura das embalagens.

O painel sensorial utilizado para a avaliação do produto em estudo foi constituído por 8 profissionais da Estação Tecnológica da Carne, Guijuelo, treinados para análise sensorial de carne e produtos cárneos segundo a norma UNE 87-024-95.

Todas as provas foram realizadas na Estação Tecnológica da Carne, numa sala própria para o efeito, cujas instalações cumprem os requisitos básicos vigentes na norma UNE 87-004-79, como a existência de uma área de preparação de amostras independente da área de avaliação,

cabinas individuais, semelhantes em condições de temperatura, luz e humidade, que permitem que o provador esteja confortável e com espaço suficiente para a manipulação das amostras, com paredes e superfícies de cor neutra, entre outros aspectos considerados.

A avaliação sensorial foi realizada sob luz branca, numa sala com uma temperatura aproximada de 20 °C. As amostras foram identificadas com um código numérico de modo a que os avaliadores não tivessem acesso à informação inerente a cada uma.

Os inquéritos distribuídos para a avaliação das amostras consideraram cinco parâmetros principais (Figura 4):

- aspecto geral da carne
- visualização de oxidação de tecido muscular
- visualização de oxidação da gordura
- presença de maus odores
- aceitabilidade geral da amostra

Figura 4: Inquérito para avaliação sensorial das amostras de costeletas de borrego em estudo



EVALUACIÓN SENSORIAL CARNE DE LECHAZO ENVASADA

Nombre: _____
 Fecha: _____
 Código de la muestra: _____

Puntúe cada parámetro de la muestra que se le presenta, en una escala de 1 a 5, teniendo en cuenta las indicaciones dadas.

ASPECTO TÍPICO DE CARNE FRESCA: se valorará en una zona de la carne que no presente decoloración.

1	2	3	4	5
Excelente	Bueno	Aceptable	Malo	Inaceptable

Observaciones:

PRESENCIA OXIDACIÓN (Off-colour):

	1	2	3	4	5
Grasa	Ninguna	1-10%	11-20%	21-60%	61-100%
Magro	Ninguna	1-10%	11-20%	21-60%	61-100%

Observaciones:

PRESENCIA OLORES ANÓMALOS (Off-odors):

1	2	3	4	5
Ninguna	Ligera	Pequeña	Moderada	Extrema

Observaciones:

ACEPTABILIDAD GENERAL

1	2	3	4	5
Muy buena	Buena	Aceptable	Malta	Muy mala

Observaciones:

Estes, foram classificados numa escala de 1 a 5, sendo 1 excelente e 5 inaceitável. Quando a aceitabilidade global da carne foi superior a 3, esta foi considerada imprópria para consumo. A folha de inquérito utilizada para a avaliação sensorial está representada na Figura 4.

8.1.5 Análise estatística

Foi realizada uma análise de variância factorial (ANOVA) a partir dos dados que se obtiveram, tendo como objectivo a determinação de diferenças estatisticamente significativas e verificar a existência de interacções entre determinados factores, de modo a poder estudar-se a influência que estes têm nas variáveis utilizadas para apreciação da vida útil das amostras consideradas. Assim, neste trabalho, foram estudados como factores o tipo de arrefecimento utilizado nas carcaças de borrego após o processo de abate, o tipo de mistura gasosa contida nas embalagens de atmosfera protectora e o tempo de armazenamento, sendo a informação obtida em formato de tabela. Esta análise estatística foi desenvolvida com um intervalo de confiança de 95%, utilizando o programa *Statgraphics Plus 5.1*.

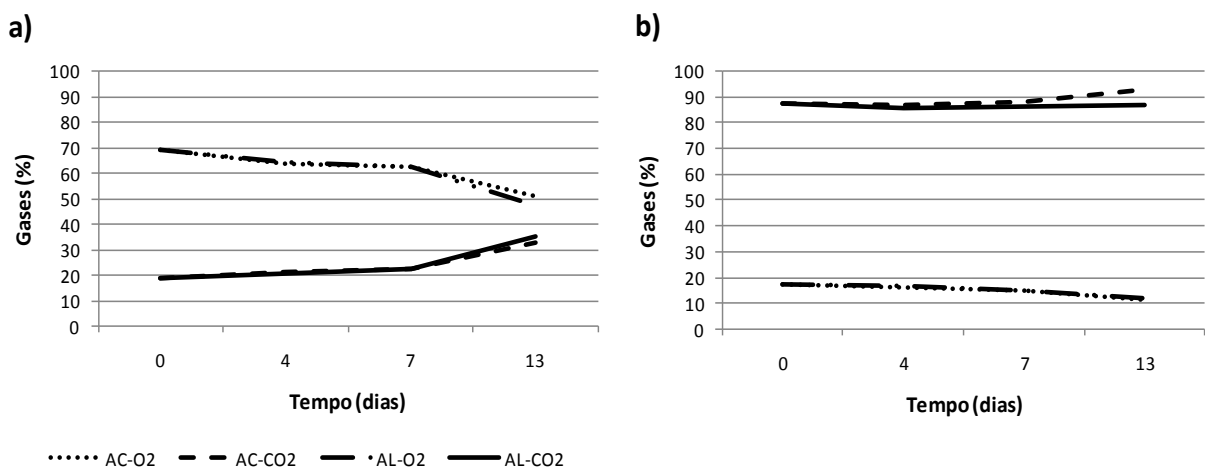
8.2 Resultados e discussão

8.2.1 Evolução da mistura de gases nas embalagens de costeletas de borrego

A Figura 5 representa a evolução das concentrações de oxigénio e dióxido de carbono nas misturas de gases contidas nas embalagens de alta (Figura 5, a) e baixa (Figura 5, b) percentagem de oxigénio.

As embalagens contém amostras provenientes de carcaças que sofreram dois tipos diferentes de arrefecimento, nomeadamente arrefecimento lento e convencional, ao longo de um período de armazenamento de 13 dias.

Figura 5: Evolução das concentrações de O₂ e CO₂ nas EAM de alto (a) e baixo oxigénio (b), contendo amostras sujeitas a dois protocolos diferentes de arrefecimento pós-abate (AL-lento e AC-convencional), ao longo do tempo de armazenamento (dias).



Analisando os resultados gráficos pode-se observar que as misturas de gases nas EAM correspondentes a carne proveniente de tratamentos de arrefecimento diferentes, apresentaram uma evolução muito semelhante nas concentrações de oxigénio e dióxido de carbono em ambos os tipos de embalagem.

Relativamente aos resultados obtidos correspondentes às embalagens de costeletas com uma mistura gasosa de alto teor em oxigénio (Figura 5, a) pode-se observar uma redução ao longo do tempo na concentração deste gás. O oxigénio, apresentou uma concentração inicial de 69,4%, diminuindo até 64% no dia 4 de armazenamento em ambas as embalagens com amostras AL e AC, estabilizando até ao dia 7. Após o dia 7, a sua concentração sofreu uma nova redução durante a fase final de armazenamento, atingindo um valor de 50,8% (AC) e de 47,2% (AL) aos 13 dias.

O dióxido de carbono, pelo contrário, sofreu um aumento da sua concentração ao longo do tempo. Este gás apresentou um teor inicial de 18,9%, atingindo um valor de 32,9% em AC e 35,38% em AL na fase final de armazenamento.

Nas embalagens com uma mistura gasosa de baixo teor em oxigénio (Figura 5, b), foi visível uma diminuição geral das concentrações deste gás.

Os valores registados na Figura 5 (b), indicaram uma concentração inicial de O₂ de 17,3% (AC) e 17,5% (AL), que decresceu progressivamente até ao dia 7 (15,1% em AC e 14,8% em AL) atingindo um valor de 11,3% (AC) e 11,9% (AL) aos 13 dias.

Por outro lado, o CO₂ registou uma concentração de 87,7% (AC) e 87,4% (AL) no dia 0, mantendo-se relativamente constante ao longo de todo o tempo de armazenamento nas embalagens de costeletas provenientes de arrefecimento lento (86,6% aos 13 dias). Nas embalagens com amostras provenientes de arrefecimento convencional, apesar de se ter verificado uma concentração estável até ao dia 7, esta aumentou na fase final de armazenamento, atingindo 92% no dia 13.

Pode observar-se que imediatamente após ser aplicado o método de embalagem de atmosfera modificada, a concentração dos gases diferem ligeiramente tanto nas embalagens EAM de alto oxigénio (69,4% O₂/18,9% CO₂) como nas EAM de baixo oxigénio (17,4% O₂/87,5% CO₂) comparativamente aos respectivos valores *standard* seleccionados (70% O₂/20% CO₂ e 15% O₂/85% CO₂). Estes dados resultam possivelmente do facto de se terem utilizado misturas de gases comerciais, as quais apresentam uma certa variabilidade na sua composição (Rubio, 2006).

Analisando de um modo geral a evolução da mistura gasosa ao longo do tempo de armazenamento, pode observar-se que ocorreu um decréscimo de O₂ simultâneo ao aumento de CO₂, em ambos os tipos de misturas gasosas contidas nas EAM, sendo estas alterações mais acentuadas nas embalagens de costeletas de alto teor em oxigénio. Estes resultados, são coincidentes com os estudos de outros autores, nomeadamente Doherty *et al.* (1996) que referem que as embalagens de atmosfera modificada com 80% de O₂ e 20% de CO₂, mostraram maiores alterações na sua composição atmosférica durante o armazenamento do que as misturas gasosas de outras embalagens com menor teor de oxigénio.

Um sistema de embalagem em atmosfera modificada não permite o controlo da composição gasosa nele contido, pelo que existem variações nos teores de gases ao longo do tempo. Embora possam existir factores inerentes à própria tecnologia de embalagem, como os materiais envolvidos no seu fabrico ou características intrínsecas dos gases utilizados e do próprio produto embalado, uma das causas mais evidentes para esta ocorrência é o aumento

do crescimento microbiano na carne ao longo do tempo. Koutsoumanis *et al.* (2008) atribuem as mudanças na composição gasosa no espaço livre de embalagem à respiração bacteriana e à baixa permeabilidade dos materiais de embalagem. A maioria dos microrganismos presentes na carne utilizam o oxigênio disponível no espaço livre de embalagem enquanto que outros, como a *B. thermosphacta* ou as BAL, produzem dióxido de carbono como produto resultante do metabolismo, o que favorece a ocorrência de modificações na composição da atmosfera contida na embalagem. Sorheim, Kropf, Hunt, Karwoski & Warren (1996) estudaram as modificações nas concentrações gasosas nas EAM de carne, tendo concluído que as percentagens dos vários gases da mistura gasosa não são estáticas, ocorrendo variações devido à respiração muscular, ao metabolismo bacteriano, à dissolução dos gases na carne, à difusão através do material de embalagem e aos efeitos da temperatura. Por sua vez, no estudo efectuado por Doherty *et al.* (1996) foi mencionado que ao serem utilizados materiais de embalagem com baixa permeabilidade, particularmente a baixas temperaturas, a troca de gases com o meio exterior afectando a composição gasosa é pouco provável, sendo o efeito dos fenómenos de respiração bacteriana e muscular mais relevantes.

8.2.2 Efeito dos tratamentos no crescimento microbiano nas costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento

Na Tabela 3 representaram-se os valores médios das contagens microbianas (log ufc/g) obtidas em amostras de costeletas de borrego de leite, provenientes de carcaças que sofreram tratamentos de refrigeração diferentes e embaladas em aerobiose e com dois tipos de atmosfera modificada.

O tipo de arrefecimento utilizado nas carcaças pós-abate exerceu um efeito significativo apenas para dois microrganismos, *E.coli* ($p < 0,001$) e *B. thermosphacta*, ($p < 0,01$). Estes, apresentaram uma contagem inferior em 1 ciclo logaritmico no seu crescimento, nas costeletas provenientes de carcaças sujeitas a arrefecimento lento comparativamente às provenientes de arrefecimento convencional. Estes resultados não seriam fáceis de prever pois, no protocolo de arrefecimento lento, a carne só foi armazenada em câmara de frio umas horas após o abate, pelo que seria de esperar que existissem condições mais favoráveis à multiplicação microbiana neste protocolo. O arrefecimento convencional, por outro lado, ao submeter as carcaças a temperaturas baixas logo após o processo de abate, permitiria inibir rapidamente a flora microbiana superficial, com uma melhoria da qualidade microbiana das costeletas de borrego, e não o oposto. No entanto, quando se avalia o teor microbiano total (contagens de aeróbios totais a 30 °C), verifica-se que esta não foi afectada de forma

significativa pelo tipo de arrefecimento ($p>0,05$). Deste modo, poderá supôr-se, que as diferenças de crescimento observadas particularmente em *E.coli* e *B. thermosphacta*, podem advir de fenómenos de selecção e de interacção microbiana. Gram *et al.* (2002), afirmaram que as condições selectivas impostas na comunidade microbiana alimentar através de parâmetros físicos e químicos são indubitavelmente importantes no crescimento e selecção dos microrganismos.

Tabela 3: Contagens microbianas médias (log ufc/g) nas costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias).

	Contagens (log ufc/g)					
	Aeróbios totais 30 °C	Enterobactérias	<i>E. coli</i>	BAL	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>B. thermosphacta</i>
Arrefecimento						
Convencional	5,96	4,04	2,95 ^b	5,45	4,71	4,63 ^b
Lento	5,50	3,81	1,68 ^a	5,00	4,95	3,70 ^a
EPM	0,28	0,14	0,18	0,23	0,19	0,23
Mistura gases						
CO	6,63 ^b	5,19 ^b	2,59	6,04 ^b	6,51 ^c	5,23 ^c
AO	5,71 ^{ab}	3,53 ^a	2,28	5,01 ^a	4,54 ^b	4,39 ^b
BO	4,84 ^a	3,06 ^a	2,09	4,61 ^a	3,44 ^a	2,88 ^a
EPM	0,34	0,17	0,22	0,28	0,23	0,28
Tempo						
0	4,19 ^a	2,57 ^a	2,19	3,67 ^a	3,50 ^a	2,26 ^a
4	4,69 ^a	3,03 ^a	2,38	4,10 ^a	4,07 ^a	3,32 ^b
7	6,67 ^b	4,51 ^b	2,66	5,60 ^b	5,36 ^b	4,56 ^c
13	7,36 ^b	5,60 ^c	2,05	7,53 ^c	6,39 ^c	6,54 ^d
EPM	0,39	0,20	0,26	0,32	0,27	0,32
Efeitos						
Arrefecimento	ns	ns	***	ns	ns	**
Mistura gases	**	***	ns	**	***	***
Tempo	***	***	ns	***	***	***
Interacções						
AB	ns	ns	ns	ns	ns	ns
AC	ns	ns	ns	ns	ns	ns
BC	ns	***	ns	ns	***	*

CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio

A-tipo de arrefecimento; B-tipo de mistura gasosa ; C-tempo de armazenamento

EPM: Erro padrão médio

^{a-d}: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes para $p<0,05$ (*), para $p<0,01$ (**) e para $p<0,001$ (***); ns para $p>0,05$.

O tipo de mistura gasosa utilizada no sistema de embalagem teve um efeito importante na qualidade microbiológica da carne. Exerceu uma influência muito significativa ($p < 0,001$) no crescimento de Enterobactérias, *Pseudomonas* spp. e *B. thermosphacta*, afectando também significativamente ($p < 0,01$) a contagem dos Aeróbios totais a 30 °C e das bactérias ácido lácticas (BAL). A contagem de *E.coli*, porém, não foi afectada por este factor, apresentando valores relativamente constantes em todas as condições de embalagem (≈ 2 log ufc/g).

Verificou-se que de um modo geral, as costeletas embaladas em aerobiose apresentaram um crescimento microbiano significativamente mais elevado do que as embaladas em atmosfera protectora relativamente aos diversos grupos analisados, registando-se uma diferença igual ou superior a 1 log ufc/g, nas contagens de todos os microrganismos, excepto em *E.coli*.

Considerando apenas as costeletas embaladas com atmosfera modificada, podemos observar que os valores microbianos obtidos são semelhantes nos dois tipos de misturas gasosas para alguns microrganismos, nomeadamente Enterobactérias e BAL, apresentando respectivamente, 3 log ufc/g e 5 log ufc/g. As contagens de aeróbios totais a 30 °C também não se apresentaram muito díspares, registando-se contagens intermédias nas costeletas embaladas em EAM de alto oxigénio (5,71 log ufc/g), comparativamente às embaladas com baixo teor de oxigénio (4,84 log ufc/g) e em aerobiose (6,63 log ufc/g).

O tipo de mistura de gases da EAM exerceu influência apenas nas contagens de *Pseudomonas* spp. e *B. thermosphacta*, sendo registadas contagens significativamente mais elevadas na mistura de alto oxigénio (4,54 log ufc/g e 4,39 log ufc/g, respectivamente) do que na de baixo oxigénio (3,44 log ufc/g e 2,88 log ufc/g).

Estes dados demonstram que as EAM de baixo oxigénio apresentam uma maior eficácia no prolongamento do tempo de vida útil da carne, o que se deve à acção bacterioestática proporcionada pelas altas concentrações de dióxido de carbono presentes (Luño *et al.*, 2000; Leo & Nollet, 2006), que vão favorecer a estabilização do teor microbiano, resultando na conservação da carne durante um período de tempo mais longo. Deste modo, as embalagens com elevadas concentrações em dióxido de carbono são consideradas por alguns autores como mais seguras para o acondicionamento da carne (García de Fernando, Nychas, Peck & Ordóñez, 1995; Jeremiah, 2001).

Na análise da Tabela 3, pode constatar-se que o factor “tempo” também exerceu um efeito importante nas contagens microbianas, independentemente do tipo de arrefecimento a que as carcaças foram sujeitas ou do tipo de mistura gasosa utilizada no processo de embalamento. Este factor exerceu um efeito muito significativo ($p < 0,001$) no crescimento de todos os

microrganismos, com exceção de *E.coli* ($p>0,05$) que apresentou contagens constantes (2 log ufc/g) ao longo do período de armazenamento.

As contagens dos microrganismos no dia 0 de armazenamento reflectem a contaminação microbiana superficial das carcaças após o processo de abate e a introduzida durante a respectiva desmancha.

A garantia da qualidade microbiológica na carne é fundamental para que esta esteja apta para consumo, garantindo ao consumidor um produto fresco controlado através de análises microbiológicas regulares. Neste sentido, foram estabelecidos critérios microbianos quantitativos na legislação europeia (Regulamento (CE) nº 1441/2007), que devem ser cumpridos rigorosamente nos alimentos comercializados.

Estes critérios baseiam-se nas contagens de microrganismos Aeróbios totais e de Enterobactérias, sendo estes considerados os principais indicadores de higiene. As contagens destes microrganismos não devem exceder, respectivamente, um valor médio de 5,0 log ufc/cm² e 2,5 log ufc/cm², na fase prévia à refrigeração. O regulamento estabelece, também, que a carne deve conter até um máximo de 5×10^6 ufc/g de Aeróbios totais a 30 °C e de 500 ufc/g de *E. coli* na fase posterior de manufatura, para ser considerada própria para consumo (Regulamento (CE) nº 1441/2007).

Os critérios microbianos estabelecidos permitem uma classificação da carne em três categorias, ou classes, consoante os resultados das contagens das análises microbiológicas, considerando-se os níveis: satisfatório, aceitável e não satisfatório. Se estas forem muito elevadas deve ser considerado uma implementação de medidas que permitam melhorar a higiene ao longo do processo de abate e manufatura, tendo também em conta a qualidade da matéria-prima.

Pode observar-se que as costeletas de borrego apresentaram inicialmente 4,19 log ufc/g de Aeróbios totais, 2,57 log ufc/g de Enterobactérias e 2,19 log ufc/g de *E. coli*. Estes valores sugerem uma carga microbiana inicial de Aeróbios totais a 30 °C elevada comparativamente a outros tipos de carne, nomeadamente a carne fresca de bovino que obteve contagens iniciais de 2,3 log ufc/g, num outro estudo em condições semelhantes (Kriaa, Arthaud & Fournaud, 1985).

Estes dados são importantes pois uma carne inicialmente mais contaminada vai ser mais propícia ao crescimento bacteriano o que, conseqüentemente, vai resultar num tempo de vida útil menor (Cabezas *et al.*, 2007). As características íntinsecas da própria carne de borrego como um pH intramuscular superior a 5,8 e uma camada de gordura subcutânea pouco desenvolvida, favorecem a ocorrência de uma maior deterioração por microrganismos,

nomeadamente enterobactérias psicrotróficas, comparativamente à carne de bovino para o mesmo tempo de armazenamento, embaladas em condições de atmosfera normal ou com reduzido teor de oxigénio (Barrera *et al.*, 2007).

Por sua vez, dentro do grupo das Enterobactérias, *E. coli* é um importante indicador de contaminação de origem fecal, podendo a sua presença advir de más condições de higiene. Embora tenha sido verificada alguma contaminação inicial por este microrganismo, as suas contagens foram reduzidas ($\approx 2 \log \text{ ufc/g}$) e constantes ao longo do tempo, para todas as condições de embalagem, não sofrendo efeitos significativos relativamente aos factores considerados.

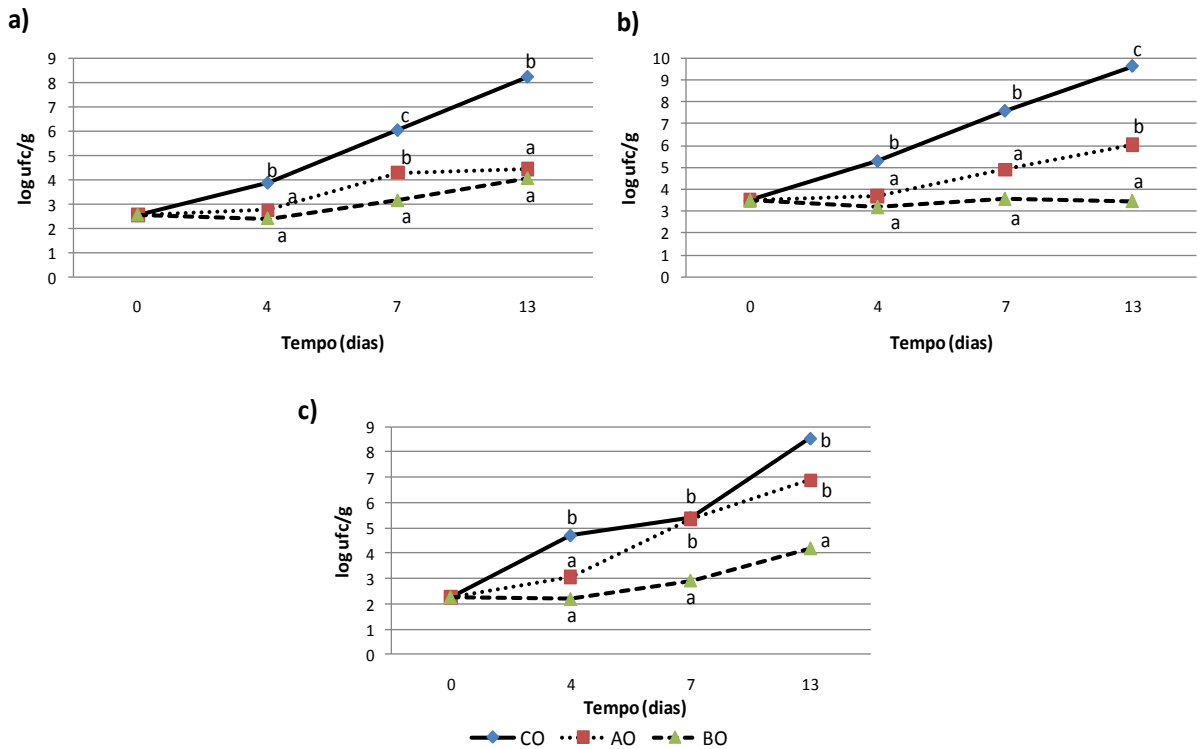
Estes resultados são indicativos de uma ocorrência reduzida de contaminação de origem fecal durante o processo de abate e desmancha da carcaça não sendo os seus valores suficientemente elevados para causar efeitos deletérios na qualidade e segurança da carne. Por outro lado, sendo uma bactéria mesófila, a sua proliferação também não é favorecida pelo armazenamento a temperaturas de refrigeração, a não ser que se considerem outros factores condicionantes como a quebra da cadeia de frio, oscilações de temperatura ou a presença de interacções microbianas, que podem resultar em picos irregulares do seu crescimento (García de Fernando *et al.*, 1995; Barrera *et al.*, 2007). Algumas estirpes podem apresentar crescimento a temperaturas mais baixas, não sendo esta, porém, uma ocorrência comum.

De um modo geral, pode observar-se na Tabela 3, que as contagens microbianas se mantêm estáveis nos primeiros dias de armazenamento, sofrendo um aumento significativo a partir do dia 7, com excepção de *B. thermosphacta* que registou contagens significativamente mais elevadas numa fase mais precoce (dia 4). Esta, tal como as Enterobactérias, BAL e *Pseudomonas* spp., apresentou um crescimento progressivo ao longo do tempo até ao dia 13 de armazenamento. Os Aeróbios totais, por outro lado, após aumentarem significativamente no dia 7, mantêm valores estáveis nas suas contagens até o final do período de armazenamento considerado.

As interacções observadas entre os diferentes factores considerados neste estudo estão resumidas na Tabela 3. Pode constatar-se que existiu apenas uma interacção significativa relativamente aos factores “tipo de mistura gasosa na embalagem” e “tempo de armazenamento”, exercendo esta um efeito muito significativo ($p < 0,001$) nas contagens microbianas de *Pseudomonas* spp. e de Enterobactérias, sendo as contagens de *B. thermosphacta* também afectadas ($p < 0,05$). Como tal, foi efectuada uma representação gráfica (Figura 6) que permitiu analisar mais detalhadamente o crescimento destes microrganismos

quando expostos a diferentes tipos de atmosfera modificada, ao longo do tempo de armazenamento considerado.

Figura 6: Evolução das contagens microbianas (log ufc/g) de Enterobactérias (a), *Pseudomonas* spp. (b) e *B. thermosphacta* (c) nas costeletas de borrego embaladas com diferentes misturas gasosas (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).



CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigênio; BO: EAM de baixo oxigênio

a-c: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes

De um modo geral, podemos observar na Figura 6 que a carne em aerobiose apresentou sempre um crescimento microbiano significativamente mais elevado que a carne embalada em atmosfera modificada.

O teor microbiano inicial nas costeletas de borrego aponta para contagens de 2,57 log ufc/g de Enterobactérias (Figura 6, a), 3,50 log ufc/g de *Pseudomonas* spp. (Figura 6, b) e 2,26 log ufc/g de *B. thermosphacta* (Figura 6, c)

Relativamente às contagens de Enterobactérias (Figura 6, a) nas costeletas em aerobiose, pode observar-se que estas apresentam um valor de 3,90 log ufc/g no dia 4, sendo o mesmo significativamente mais elevado do que nas costeletas embaladas em atmosfera modificada (2,6 log ufc/g) para o mesmo período de tempo. Entre os dias 4 e 7, podemos observar um aumento considerável nas contagens microbianas na carne embalada com diferentes misturas gasosas.

No dia 7, registaram-se contagens de 6,06 log ufc/g nas costeletas embaladas em aerobiose, 4,31 log ufc/g nas costeletas em EAM de alto oxigénio e 3,16 log ufc/g nas de EAM de baixo oxigénio, tendo existido nesta fase diferenças significativas quanto ao tipo de atmosfera modificada utilizada.

Até ao dia 13, verificou-se um aumento da contagem de Enterobactérias o que está de acordo com os dados apresentados no estudo de outros autores (Berruga *et al.*, 2005). As contagens no dia 13 foram significativamente mais elevadas na carne em aerobiose (8,25 log ufc/g) comparativamente à carne embalada em atmosfera modificada (\approx 4,25 log ufc/g).

Para além do crescimento das Enterobactérias, é importante considerar a evolução do crescimento de *Pseudomonas* spp. (Figura 6, b) e de *B. thermosphacta* (Figura 6, c) sendo ambos microrganismos importantes na deterioração da carne fresca.

No dia 4, verificou-se um comportamento semelhante tanto no crescimento de *B. thermosphacta* como de *Pseudomonas* spp.. Ambas, apresentaram contagens significativamente mais elevadas na carne embalada a aerobiose (\approx 5 log ufc/g) do que na carne embalada em atmosfera modificada, (respectivamente 3,06 log ufc/g e 3,69 log ufc/g em EAM de alto oxigénio; 2,19 log ufc/g e 3,20 log ufc/g em EAM de baixo oxigénio), não sendo o tipo de atmosfera modificada determinante neste caso.

Entre o dia 4 e o dia 13, observou-se um aumento significativo nas contagens de *B. thermosphacta* na carne embalada em atmosfera de alto oxigénio, atingindo os 5,36 log ufc/g no dia 7 e 6,89 log ufc/g no dia 13, sendo estes teores semelhantes aos registados na carne em aerobiose, para ambos os dias de armazenamento (5,42 log ufc/g no dia 7 e 8,54 log ufc/g no dia 13). Assim, ocorreu um crescimento suficientemente elevado deste microrganismo na carne embalada em ambas as condições, causando alterações deteriorativas importantes, principalmente a partir do dia 7.

A carne embalada em atmosfera de baixo oxigénio, também apresentou um aumento nas contagens deste microrganismo ao longo do tempo mas estas não foram tão pronunciadas como as anteriores, registando-se valores significativamente mais baixos, tanto no dia 7 (2,92 log ufc/g) como no dia 13 (4,18 log ufc/g). Deste modo, constatou-se um menor crescimento deste microrganismo na carne embalada com mistura de baixo oxigénio comparativamente à carne embalada nas outras condições gasosas, para o mesmo tempo de armazenamento.

O comportamento de *B. thermosphacta* está descrito em trabalhos de outros autores, sendo referida a existência de um crescimento rápido deste microrganismo na carne de borrego na fase inicial de armazenamento, existindo uma restrição da sua proliferação quando esta é embalada com uma mistura gasosa de elevado teor de dióxido de carbono, o que corrobora os

nossos resultados (Berruga *et al.*, 2005). Esta bactéria Gram-positiva, é sensível à presença de elevadas concentrações de dióxido de carbono que actua como factor inibidor, sendo porém esta acção mais pronunciada em bactérias Gram-negativas (Rubio, 2006). Muitos autores referem que a carne de borrego é mais propícia ao crescimento de *B. thermosphacta* do que a carne de vaca, devido às suas características intrínsecas anteriormente referidas. Este é considerado um dos microrganismos dominantes na carne fresca de borrego armazenada em refrigeração, conseguindo resistir às baixas temperaturas devido à sua natureza psicrófila. (Berruga *et al.*, 2005; Barrera *et al.*, 2007).

Para além de *Brochothrix*, *Pseudomonas* spp. são também referidas como microrganismos que apresentam uma especial relevância na deterioração da carne fresca armazenada, sendo consideradas por alguns autores um dos principais constituintes da população psicrófila da carne fresca refrigerada em atmosfera aeróbia (García de Fernando *et al.*, 1995; Koutsoumanis *et al.*, 2008).

Nos resultados obtidos verifica-se que *Pseudomonas* spp. apresentaram um crescimento progressivo ao longo do tempo de armazenamento. As contagens microbianas na carne em aerobiose apresentaram sempre valores estatisticamente superiores (5,30 log ufc/g aos 4 dias, 7,60 log ufc/g aos 7 dias e 9,65 log ufc/g aos 13 dias) relativamente aos da carne embalada em atmosfera modificada. A carne embalada em atmosfera modificada não apresentou diferenças significativas nas suas contagens no dia 4 e no dia 7, relativamente ao tipo de mistura gasosa utilizada na embalagem (3,69 log ufc/g e 4,91 log ufc/g em EAM de alto oxigénio; 3,20 log ufc/g e 3,57 log ufc/g em EAM de baixo oxigénio).

No dia 13 foi observado, porém, um aumento significativo nas suas contagens na carne embalada a alto oxigénio (6,05 log ufc/g), enquanto que as contagens na carne embalada a baixo oxigénio permaneceram relativamente baixas (3,47 log ufc/g). Foi verificado, nesta última, contagens constantes e relativamente baixas de *Pseudomonas* spp., desde o dia 0 até o dia 13 de armazenamento, comparativamente à carne embalada nas outras condições em estudo. Deste modo, verifica-se que a utilização da mistura gasosa de baixo oxigénio apresentou um efeito inibidor no crescimento destes microrganismos, sendo este mais evidente do que o que foi observado em *B. thermosphacta*, estando de acordo com os resultados apresentados por outros autores (Koutsounamis *et al.*, 2008; McMillin, 2008; Esmer *et al.*, 2011). Este facto indica que a utilização de EAM de baixo oxigénio resulta numa melhor conservação da carne, evitando a sua deterioração precoce, tendo havido pouca expressão tanto de *B. thermosphacta* (4,18 log ufc/g) como de *Pseudomonas* spp. (3,47 log ufc/g) na fase final de armazenamento.

8.2.3 Efeito dos tratamentos nos parâmetros físico-químicos das costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento

A Tabela 4 representa os resultados obtidos nas análises físico-químicas efectuadas nas amostras de costeletas de borrego em condições de aerobiose ou embaladas com diferentes tipos de atmosfera modificada, provenientes de carcaças sujeitas a dois tipos de arrefecimento diferentes. Foram analisados os parâmetros pH, cor e oxidação lipídica, indicadores úteis na avaliação da qualidade da carne.

Analisando os resultados da Tabela 4, pode verificar-se que o tipo de arrefecimento a que as carcaças foram sujeitas influenciou de forma significativa ($p < 0,001$) apenas um dos parâmetros físico-químicos considerados, mais concretamente o índice de cor b^* . Este registou valores significativamente mais elevados ($p < 0,001$) nas costeletas provenientes de carcaças sujeitas a um protocolo de arrefecimento lento do que a um protocolo de arrefecimento convencional.

O processo de arrefecimento lento implica o acondicionamento das carcaças nas câmaras de refrigeração umas horas após o abate, pelo que o arrefecimento é efectuado de forma progressiva (taxa de arrefecimento mais baixa) o que pode deixar espaço à ocorrência de alterações das características da carne. O protocolo do arrefecimento convencional consiste num acondicionamento das carcaças na câmara de refrigeração 30 minutos após o abate, permitindo uma estabilização mais rápida dos processos metabólicos e prevenindo a ocorrência de alterações na fase prévia à refrigeração (taxa de arrefecimento mais rápida).

Segundo Muela *et al.* (2010) diferentes protocolos de tempo e temperatura afectam a coloração superficial da carne, verificando-se um efeito significativo em todos os parâmetros de cor, sendo que uma taxa de arrefecimento aumentada resulta em valores L^* e a^* mais baixos. Os nossos resultados, porém, só apresentam diferenças a nível do parâmetro b^* , apresentando-se este mais elevado quando foi verificada uma menor taxa de arrefecimento (arrefecimento lento).

Os dados da Tabela 4 expressam alguma influência do tipo de mistura gasosa contida na embalagem na avaliação físico-química de alguns parâmetros da carne. As condições gasosas exercem um efeito significativo ($p < 0,01$) na medição do índice L^* . Este apresentou valores significativamente mais baixos na carne em aerobiose (+45,85) do que na carne embalada em atmosfera modificada (+47,39 em AO e +48,76 em BO) não existindo contudo, diferenças significativas entre o tipo de mistura gasosa utilizada. Estes valores indicaram que a carne conservada em EAM apresentava maior luminosidade. Este aumento de luminosidade pode

ser um efeito da incorporação do dióxido de carbono na mistura gasosa utilizada na conservação da carne (Esmer *et al.*, 2011).

Tabela 4: Análise de valores médios dos parâmetros físico-químicos das costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias).

	Parâmetros físico-químicos				
	pH	Cor			TBA (µg MDA/g amostra)
		L*	a*	b*	
Arrefecimento					
Convencional	5,70	46,88	5,74	13,38 ^a	2,66
Lento	5,62	47,39	6,02	14,23 ^b	2,97
EPM	0,05	0,33	0,31	0,16	0,29
Mistura gases					
CO	5,76	45,85 ^a	5,62 ^{ab}	13,48 ^a	1,93 ^a
AO	5,62	47,39 ^b	6,68 ^b	14,05 ^b	3,13 ^b
BO	5,59	48,76 ^b	5,33 ^a	13,89 ^{ab}	3,38 ^b
EPM	0,06	0,41	0,39	0,19	0,36
Tempo					
0	5,61 ^a	45,58 ^a	5,68 ^b	12,47 ^a	0,94 ^a
4	5,53 ^a	47,56 ^b	7,12 ^c	14,16 ^b	2,91 ^b
7	5,58 ^a	47,98 ^b	6,38 ^{bc}	14,43 ^b	3,22 ^{bc}
13	5,92 ^b	47,41 ^b	4,34 ^a	14,15 ^b	4,20 ^c
EPM	0,07	0,47	0,45	0,22	0,41
Efeitos					
Arrefecimento	ns	ns	ns	***	ns
Mistura gases	ns	**	ns	ns	*
Tempo	**	**	**	***	***
Interações					
AB	ns	ns	ns	ns	ns
AC	ns	ns	ns	ns	ns
BC	ns	*	ns	ns	ns

CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio

A-tipo de arrefecimento; B-tipo de mistura gasosa ; C-tempo de armazenamento

EPM: Erro padrão médio

^{a-c}: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes para p<0.05(*), para p<0,01(**) e para p<0,001(***); ns para p>0,05

Este gás, por apresentar um elevado grau de solubilidade na carne, pode ser fulcral no favorecimento do fenómeno de exsudação o que pode levar a uma consequente reflexão da luz, resultando em valores de L* elevados nesta situação.

Os dados estatísticos indicam que o tipo de mistura gasosa contida nas embalagens não apresentou um efeito significativo ($p > 0,05$) na medição dos restantes índices de cor, a* e b*. No entanto, na medição do índice a* verificou-se um registo de valores significativamente mais elevados na carne em EAM de alto oxigénio (+6,68) comparativamente à de baixo oxigénio (+5,33). Quando embalada em aerobiose, a carne apresentou valores de a* intermédios entre estas duas condições gasosas (5,62).

A medição dos valores do índice a* é considerada como o melhor parâmetro para estudar a estabilidade da cor (Khliji, van de Ven, Lamb, Lanza & Hopkins, 2010). Um sistema com alto conteúdo em oxigénio é importante, pois este gás combina-se com a mioglobina originando oximioglobina, composto responsável pela coloração vermelha da carne. Este é o atributo de qualidade com maior influência no momento de compra, influenciando a decisão dos consumidores (Khliji *et al.*, 2010). Quanto mais alta for a concentração de oxigénio maior a sua capacidade de penetração no tecido muscular e maior a quantidade de oximioglobina formada nas camadas mais profundas da carne, o que resulta numa maior estabilidade da cor a longo prazo (Kennedy *et al.*, 2004; Mancini & Hunt, 2005).

Este conceito verificou-se também no nosso estudo pois a carne apresentou valores superiores de índice a* quando foi embalada em atmosfera modificada de elevada concentração de oxigénio. A carne embalada em atmosfera de baixo oxigénio apresentou-se menos vermelha pois esta mistura gasosa apresentou apenas 15% deste gás, contendo uma concentração elevada de dióxido de carbono. A presença de CO₂ em elevadas concentrações na mistura gasosa é responsável por fenómenos de descoloração (Esmer *et al.*, 2011). A carne sob condições de aerobiose, por sua vez, está sujeita a valores de oxigénio de aproximadamente 21% e reduzida % de dióxido de carbono (0,04%), pelo que manteve valores intermédios deste índice, relativamente aos verificados na carne embalada nas outras duas condições em estudo.

Analisando os valores do índice b*, verificou-se que são significativamente mais baixos nas costeletas em aerobiose (+13,48) do que nas costeletas embaladas em atmosfera modificada (+14,05 em AO e +13,89 em BO). Estas últimas, foram sujeitas a condições de grande pressão oxidativa, pois tanto o oxigénio como o dióxido de carbono são poderosos agentes oxidantes, estando ambos presentes numa concentração elevada nos dois tipos de mistura gasosa de EAM. O dióxido de carbono ao apresentar uma elevada solubilidade, dilui-se

facilmente no substrato orgânico favorecendo a oxidação da carne. A ocorrência de reacções oxidativas tem como consequência o favorecimento de fenómenos de deterioração, promovendo alterações no produto, nomeadamente a nível de cor, o que se traduz numa maior expressão de característicos tons amarelos/acastanhados (descoloração) correspondentes a uma maior quantidade de metamioglobina na carne, o que resulta num índice b^* elevado.

Os resultados obtidos no parâmetro indicador do grau de oxidação lipídica (TBA) apresentaram-se mais elevados na carne em EAM (3,13 $\mu\text{g MDA/g}$ em AO e 3,38 $\mu\text{g MDA/g}$ em BO) do que na carne em aerobiose (1,93 $\mu\text{g MDA/g}$), tendo sido correspondentes aos resultados registados para o índice b^* . Estes registos estão de acordo com trabalhos de outros autores que também apontam uma correlação positiva entre estes dois parâmetros (Berruga *et al.*, 2005).

Deste modo, verifica-se que o tipo de mistura gasosa contida na embalagem exerceu um efeito significativo no grau de oxidação lipídica da carne de borrego ($p < 0,05$). Esmer *et al.* (2011) referem que a presença de concentrações elevadas de dióxido de carbono levam a uma diminuição na estabilidade oxidativa, acompanhada de descoloração. Para além do dióxido de carbono, a presença de altas concentrações de oxigénio também promove a ocorrência de oxidação lipídica, sendo esta favorecida pela composição em ácidos gordos da carne de borrego (O'Grady *et al.*, 2000; Ciffuni *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 2004; Linares *et al.*, 2007). A repressão de outros processos deteriorativos através da utilização de métodos de embalagem em atmosfera modificada, faz com que o processo de oxidação lipídica seja um importante factor limitante ao tempo de vida útil da carne embalada nestas condições, sendo considerado 2 $\mu\text{g MDA/g}$ o limite de aceitabilidade de TBA (McMillin, 2008). O aumento dos valores de TBA ocorre simultaneamente ao aumento da carga microbiana e à diminuição do índice de cor a^* (Kennedy *et al.*, 2004), o que está de acordo com os resultados obtidos.

O factor “tempo de armazenamento” exerceu uma influência significativa sobre todos os parâmetros físico-químicos considerados sendo, contudo, mais significativo para o parâmetro TBA e índice b^* ($p < 0,0001$) do que para os restantes índices de cor e pH ($p < 0,01$).

O valor do pH da carne no dia 0 é importante como indicador de qualidade da carne. Nos resultados obtidos foi registado um valor de 5,61, o que a caracteriza como aceitável. Valores de pH demasiado elevados, característicos de uma carne DFD ou demasiado baixos correspondentes a carne PSE, são indicativos de características de qualidade da carne desvalorizada comercialmente. Porém, a carne de borrego pode apresentar caracteristicamente um pH ligeiramente mais elevado (5,8) do que a carne de outras espécies (Garrido *et al.*, 2005; Barrera *et al.*, 2007).

Os resultados indicam que o pH se manteve estável ao longo do tempo, independentemente da condição de embalagem, verificando-se apenas um aumento significativo nos seus valores no dia 13 (5,92). Esta subida, poderá estar relacionada com uma maior carga microbiana nesta fase de armazenamento, principalmente *Pseudomonas* spp. ou Enterobactérias, que utilizam aminoácidos e libertam NH₃ durante a sua actividade metabólica (Gram *et al.*, 2002). Este parâmetro não pode ser considerado um indicador precoce de deterioração microbiana na carne pois só são registados valores elevados de pH quando já existem outros sinais de putrefacção como a presença de visco e cheiros anormais na carne (Fraqueza & Barreto, 2009).

Relativamente à cor, foi obtido um índice L* inicial de +45,58 que aumentou de forma significativa a partir do dia 4 (+47,56) e manteve-se estável até ao dia 13 (+47,41). O aumento de luminosidade da carne ao longo do tempo de armazenamento, independentemente das condições de embalagem, pode ser consequência do progressivo crescimento bacteriano que induz alterações deteriorativas, nomeadamente descoloração (Fraqueza & Barreto, 2009).

O índice a* (+5,68) registou um aumento significativo dos seus valores numa fase inicial (+7,12 no dia 4), permanecendo estes elevados até ao dia 7 (+6,38) e diminuindo posteriormente de forma significativa na fase final de armazenamento (+4,34 no dia 13). Este comportamento bifásico do índice a* é comum, sendo verificado em trabalhos realizados por outros autores (Rosenvold & Wiklund, 2011). Estes valores são indicativos da ocorrência de descoloração da carne de borrego ao longo do tempo, consequente aos fenómenos de deterioração.

O índice b*, pelo contrário, vai aumentando ao longo do período de armazenamento. Este, inicialmente apresentou um valor de +12,47 e sofreu um aumento significativo no dia 4 (+14,16), mantendo-se depois estável até ao dia 13 (+14,15). Tal como foi referido anteriormente, a expressão do índice b* está fortemente relacionada com os processos de oxidação que vão ocorrendo na carne e que promovem a descoloração, sendo esperado que os valores de TBA também aumentem neste período. Inicialmente verificou-se um valor muito reduzido deste parâmetro (0,94 µg MDA/g), apresentando este um aumento significativo a partir do dia 4 (2,91 µg MDA/g), até ao dia 13 de armazenamento (4,2 µg MDA/g), o que indica a ocorrência de um elevado nível de oxidação na carne nesta última fase, tal como foi preconizado.

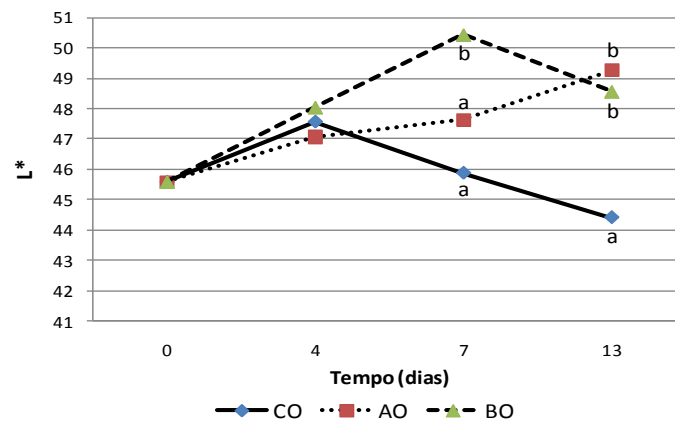
As alterações de cor ao longo do tempo estão estreitamente relacionadas com a oxidação lipídica e do pigmento de mioglobina, embora a elevada carga bacteriana presente na carne também tenha uma acção relevante neste processo (Camo, Beltrán & Roncalés, 2008;

Fraqueza & Barreto, 2009). A descoloração da carne é considerada relevante em termos comerciais, na medida em que os consumidores rejeitam carne pálida (elevado índice L*) e castanho/amarelada (elevado índice de b*), com altas concentrações de metamioglobina, consequente deste tipo de reacções (Khliji *et al.*, 2010).

A Tabela 4 expressa um efeito significativo ($p < 0,05$) resultante da interacção dos factores “tipo de mistura gasosa na embalagem” e “tempo de armazenamento” apenas para o índice de cor L*, não sendo os restantes parâmetros significativamente afectados ($p > 0,05$). Assim sendo, segue-se uma apresentação gráfica dos resultados obtidos para este parâmetro (Figura 7), ilustrando a sua evolução na carne de borrego embalada em diferentes condições gasosas, ao longo do tempo de armazenamento considerado.

A Figura 7, representa os valores obtidos na medição dos índices L* em costeletas embaladas em misturas gasosas diferentes, nos diferentes dias considerados.

Figura 7: Evolução do índice L* nas costeletas de borrego embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).



CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio

a-b: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes

Verificou-se um valor inicial de L* de + 45,58 que aumentou de forma progressiva e semelhante em todas as costeletas sujeitas às diferentes condições gasosas ($\approx +47,50$, no dia 4).

No dia 7 de armazenamento, o índice L* apresentou valores significativamente mais elevados na carne EAM de baixo oxigénio (+50,45) do que nas carnes em EAM de alto oxigénio (+47,63) e aerobiose (+45,87). Os dados obtidos reflectem um maior grau de luminosidade na carne exposta a uma % elevada de dióxido de carbono (EAM de baixo oxigénio), o que pode advir da descoloração provocada pela presença de uma elevada concentração de CO₂ (Esmer *et al.*, 2011).

No dia 13, a carne em aerobiose apresentou valores de índice L* (+44,41) significativamente mais baixos do que a carne em atmosfera modificada. A descida acentuada de L* ao longo do tempo de armazenamento na carne em aerobiose traduz-se num escurecimento da carne como consequência dos processos de envelhecimento, o que está de acordo com resultados de outros autores (Fraqueza & Barreto, 2009). Por outro lado, a carne em EAM de alto oxigénio apresentou um aumento dos seus valores (+49,27), sendo estes estatisticamente semelhantes aos da carne em EAM de baixo oxigénio (+48,57).

A luminosidade da carne é importante a nível de mercado na medida em que os consumidores rejeitam carne demasiado pálida (elevado índice L*) ou demasiado escurecida (baixo índice L*). Hopkins (1996) realizou alguns estudos que envolveram a percepção da cor da carne, tanto por parte dos produtores como dos consumidores, tentando obter uma relação entre a aceitabilidade da cor da carne de borrego fresca e os parâmetros cromáticos de cor. Este autor obteve, para ambos os grupos, baixas correlações entre os níveis de aceitabilidade e os valores colorimétricos, sugerindo que quando os valores de L* são inferiores a 35 na carne de borrego, os consumidores avaliam-na como inaceitavelmente escura. Este autor determinou um limiar de aceitabilidade da carne de borrego de valores L* entre 34-35, estando os nossos resultados dentro deste critério. Esta referência tem sido utilizada noutros estudos nomeadamente de Fogarty, Hopkins & van de Ven (2000), para classificar os efeitos na cor da carne.

8.2.4 Efeito dos tratamentos na avaliação sensorial das costeletas de borrego, ao longo do tempo de armazenamento

A Tabela 5 expressa os resultados médios atribuídos na avaliação sensorial das costeletas de borrego, provenientes de carcaças sujeitas a diferentes protocolos de arrefecimento e embaladas com diferentes tipos de mistura gasosa, ao longo de um tempo de armazenamento de 13 dias. As costeletas foram consideradas sensorialmente aceitáveis até uma avaliação de 3 pontos, numa escala de classificação de 1 (excelente) a 5 (inaceitável).

O tipo de arrefecimento a que as carcaças foram submetidas após o abate, não foi determinante na avaliação das características sensoriais gerais da carne. De todos os parâmetros, apenas a oxidação muscular foi afectada de forma significativa por este factor ($p < 0,05$). Segundo o painel, a carne de borrego sujeita a arrefecimento lento apresentou uma oxidação muscular significativamente mais elevada, sendo pior classificada (2,7) do que a carne sujeita a arrefecimento convencional (2,4). Estes dados sensoriais podem ser relacionados com os da medição instrumental da cor (Tabela 4), nomeadamente com o

parâmetro b^* , que também apresentou um aumento na carne submetida a arrefecimento lento. Uma coloração amarelada/castanha na carne pode resultar da ocorrência de reacções oxidativas. Muela *et al.* (2010) referem que os protocolos de tempo e temperatura não têm um efeito significativo no teor de oxidação lipídica, o que não está de acordo com os resultados obtidos.

O tipo de mistura gasosa presente nas embalagens de carne de borrego apresentou um efeito significativo sobre os parâmetros sensoriais avaliados tais como o aspecto, a oxidação da gordura, a presença de maus odores ($p < 0,001$), a aceitabilidade geral ($p < 0,01$) e a oxidação muscular ($p < 0,05$).

A carne embalada em aerobiose registou pontuações significativamente mais elevadas em todos os parâmetros sensoriais considerados (aspecto-2,8; oxidação de gordura-2; oxidação muscular-2,7; maus odores:3,1; aceitabilidade geral 3,2) comparativamente às costeletas embaladas em atmosfera protectora. As costeletas em aerobiose sofreram uma deterioração mais precoce que as embaladas em atmosfera modificada pelo que é natural que as suas características organolépticas apresentem alterações mais precoces e mais evidentes comparativamente às que se encontram em EAM.

O efeito da atmosfera protectora é fulcral na conservação das propriedades organolépticas da carne. Porém, o tipo de mistura gasosa utilizada não exerceu um efeito determinante na avaliação de alguns parâmetros, nomeadamente na oxidação da gordura, oxidação muscular e presença de maus odores. O tipo de atmosfera apresentou alguma relevância apenas na classificação do aspecto e da aceitabilidade geral do produto, pelo que as costeletas embaladas em atmosfera modificada de alta concentração em oxigénio apresentaram uma melhor avaliação sensorial (2,1 e 2,5) do que as embaladas em baixa concentração de O_2 (2,5 e 2,8).

Estes resultados estarão certamente relacionados com o favorecimento dos atributos de cor na carne embalada em mistura gasosa de alto oxigénio, pois este gás confere ao produto uma coloração vermelha viva, estável, devido à formação do composto de oximioglobina, tal como já foi referido. Deste modo, estes resultados indicam que a carne embalada nestas condições é mais atractiva ao painel sensorial.

Ocorreu um efeito significativo ($p < 0,01$) do factor “tempo de armazenamento” na classificação de todos os parâmetros sensoriais considerados na avaliação da carne de borrego (Tabela 5). A classificação registada apresentou pontuações significativamente mais altas para cada período de tempo considerado (variando entre 1 no dia 0 até 4,7 no dia 13) e traduziu uma avaliação progressivamente pior. Estes resultados são previsíveis devido à ocorrência dos

fenómenos de deterioração microbiológica e enzimática ao longo do armazenamento, tendo como resultado um produto sensorialmente menos atractivo.

Tabela 5: Valores médios dos parâmetros atribuídos na avaliação sensorial das costeletas provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes (AL-lento e AC-convencional) e embaladas em misturas de gases diferentes (CO, AO e BO), ao longo do tempo de armazenamento (dias), numa escala de 1 (excelente) a 5 (inaceitável).

	Parâmetros sensoriais				
	Aspecto	Oxidação gordura	Oxidação muscular	Maus Odores	Aceitabilidade Geral
Arrefecimento					
Convencional	2,4	1,6	2,4 ^a	2,5	2,7
Lento	2,6	1,6	2,7 ^b	2,5	2,9
EPM	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Mistura gases					
CO	2,8 ^c	2,0 ^b	2,7 ^b	3,1 ^b	3,2 ^c
AO	2,1 ^a	1,4 ^a	2,2 ^a	2,2 ^a	2,5 ^a
BO	2,5 ^b	1,5 ^a	2,7 ^b	2,2 ^a	2,8 ^b
EPM	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Tempo					
0	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a
4	1,8 ^b	1,2 ^a	1,6 ^b	1,6 ^b	2,0 ^b
7	2,8 ^c	1,5 ^b	3,2 ^c	3,0 ^c	3,5 ^c
13	4,2 ^d	2,8 ^c	4,4 ^d	4,4 ^d	4,7 ^d
EPM	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Efeitos					
Arrefecimento	ns	ns	*	ns	ns
Mistura gases	***	***	*	***	**
Tempo	***	***	***	***	***
Interacções					
AB	ns	ns	ns	ns	ns
AC	ns	ns	ns	ns	ns
BC	*	***	ns	***	**

CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio

A-tipo de arrefecimento; B-tipo de mistura gasosa ; C-tempo de armazenamento

EPM: Erro padrão médio

^{a-d}: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes para $p < 0,05$ (*), para $p < 0,01$ (**) e para $p < 0,001$ (***); ns para $p > 0,05$.

Constatou-se uma interacção importante dos factores “tipo de mistura gasosa na embalagem” e “tempo de armazenamento”, na avaliação das características sensoriais tendo um efeito significativo ($p < 0,001$) nos parâmetros de oxidação de gordura e maus odores, aceitabilidade geral do produto ($p < 0,01$) e aspecto ($p < 0,05$), seguindo-se a sua representação gráfica (Figura 8).

Na Figura 8, pode observar-se que o painel atribuiu uma pontuação progressivamente mais elevada nas costeletas ao longo do tempo de armazenamento, para todas as características sensoriais consideradas, independentemente das condições gasosas presentes na embalagem.

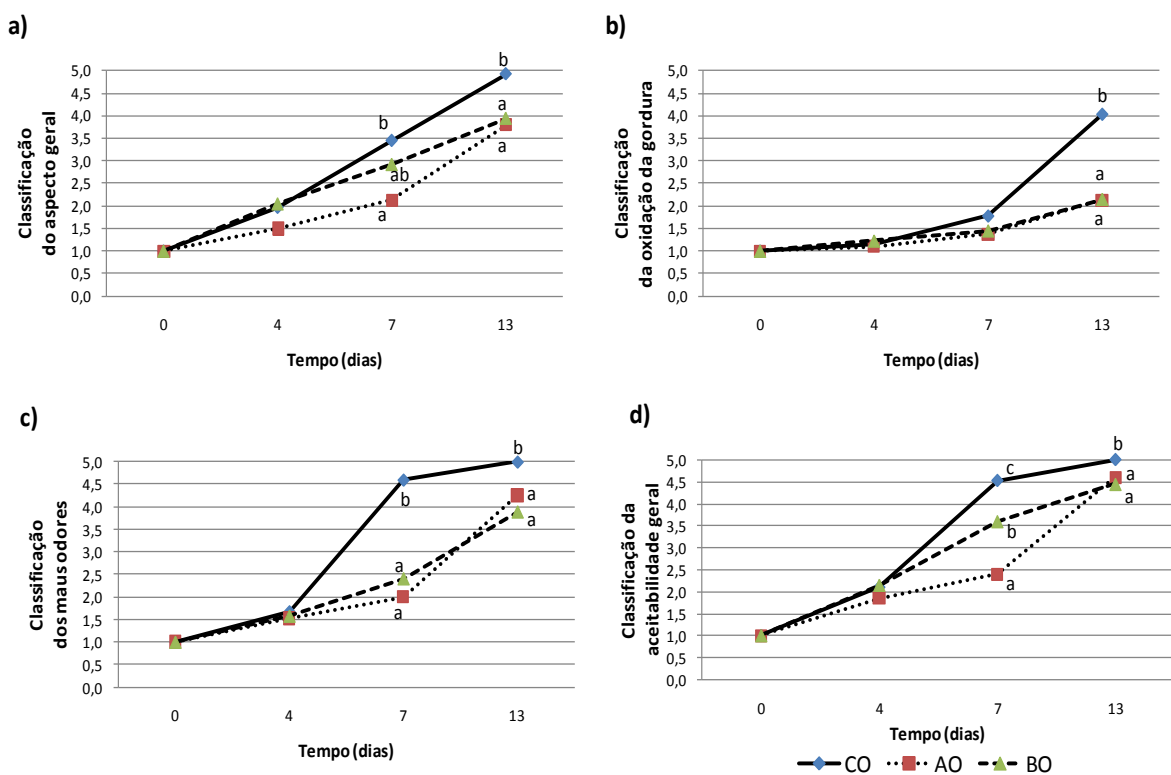
No dia 0 verificou-se uma classificação (1,0) idêntica em todos os parâmetros sensoriais nas condições em estudo. A carne neste dia apresentou inegáveis atributos de frescura, traduzida em níveis de excelência na avaliação sensorial.

No dia 4, observou-se uma ligeira subida da pontuação em todos os parâmetros, não existindo durante este período de tempo diferenças significativas na classificação conferida à carne embalada em diferentes condições gasosas. A aceitabilidade geral da carne registou uma classificação de ≈ 2 pontos neste dia, variando entre uma pontuação de 1 a 2 nos diferentes parâmetros sensoriais, sendo estes resultados indicativos de uma carne sensorialmente aceitável neste tempo de armazenamento. A partir do dia 4, contudo, observou-se uma subida acentuada na pontuação conferida a todos os parâmetros, excepto no de oxidação de gordura (Figura 8, b), que se manteve com valores pontuais reduzidos e relativamente constantes ($\approx 1,5$) na carne embalada em todas as condições gasosas consideradas. Neste parâmetro verificou-se apenas uma subida acentuada na sua pontuação no dia 13 na carne em aerobiose (4,0), tendo apresentado uma classificação aceitável nas carnes em EAM ao longo de todo o armazenamento (2,0). Estes resultados indicam que a oxidação da gordura só se torna mais evidente numa fase posterior à ocorrência das restantes alterações sensoriais consequentes ao processo de deterioração. No dia 7, o parâmetro de odor (Figura 8, c) foi o que apresentou uma subida pontual mais evidente, indicativa de ocorrência de uma clara deterioração sensorial da carne em aerobiose (4,6). As costeletas embaladas em atmosfera protectora, porém, apresentaram registos aceitáveis a nível do odor, independentemente do tipo de mistura gasosa utilizada ($\approx 2,3$). Relativamente ao aspecto visual (Figura 8, a), foi atribuída uma pontuação significativamente mais elevada na carne em aerobiose (3,5) do que na carne em EAM de alto oxigénio (2,1). As costeletas de EAM de baixo oxigénio apresentaram valores significativamente intermédios (2,9). Estes resultados indicam que a carne embalada com uma mistura gasosa rica em oxigénio apresentou-se mais atractiva ao painel.

A análise da aceitabilidade geral (Figura 8, d) da carne após 7 dias de armazenamento, registou a existência de uma classificação díspar relativamente ao tipo de misturas gasosa em questão. A carne em aerobiose apresentou valores pontuais significativamente elevados (4,5), sendo considerada inaceitável sensorialmente neste tempo de armazenamento. Por outro lado, a carne em EAM de alto oxigénio (2,4) e de baixo oxigénio (3,6) apresentaram, também, diferenças estatísticas entre si, sendo estes valores significativamente mais baixos na primeira.

A carne embalada em atmosfera protectora conseguiu conservar as suas características organolépticas durante mais tempo que a carne em aerobiose, verificando-se, porém, uma avaliação de aceitabilidade geral sensorial dentro dos limites propostos (<3) apenas na carne embalada em alto oxigénio. A carne embalada em baixo oxigénio, ao apresentar uma avaliação superior a este limite, não pode ser considerada sensorialmente aceitável para o mesmo tempo.

Figura 8: Classificação sensorial dos parâmetros de aspecto geral (a), oxidação de gordura (b), maus odores (c) e aceitabilidade geral (d), numa escala de 1 (excelente) a 5 (inaceitável), das costeletas de borrego embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).



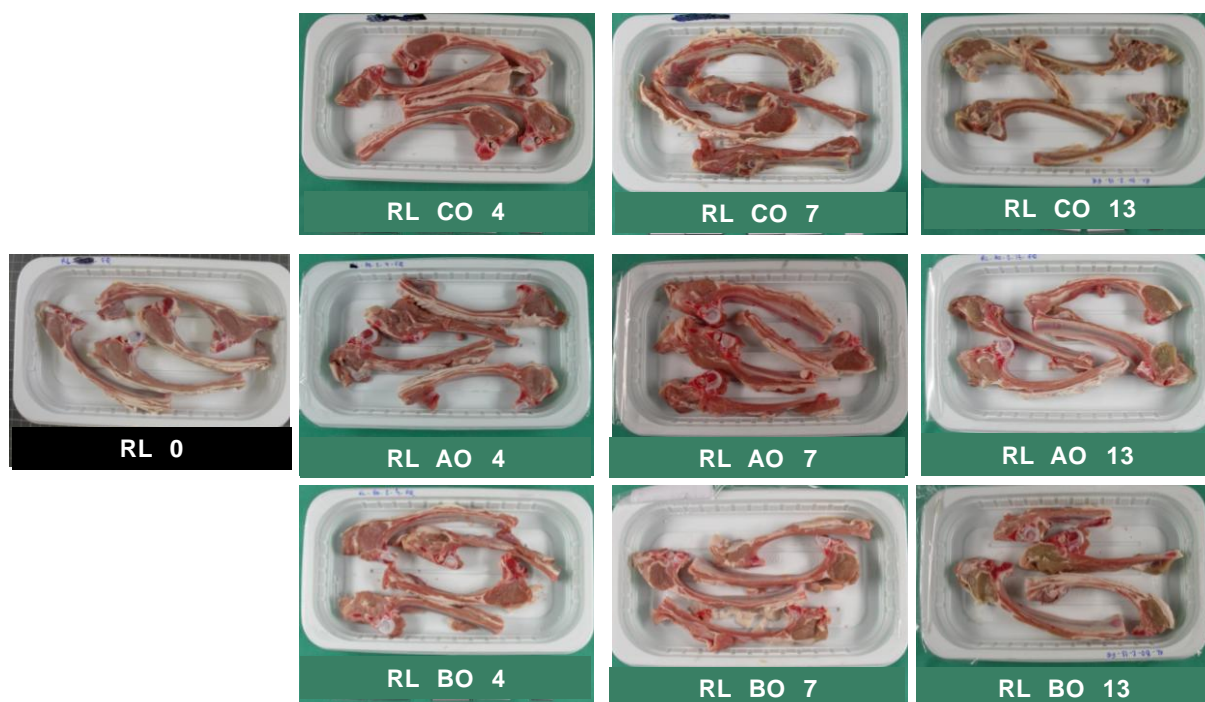
CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio

a-c: Letras diferentes dentro do mesmo grupo de valores referente a determinado parâmetro correspondem a médias significativamente diferentes.

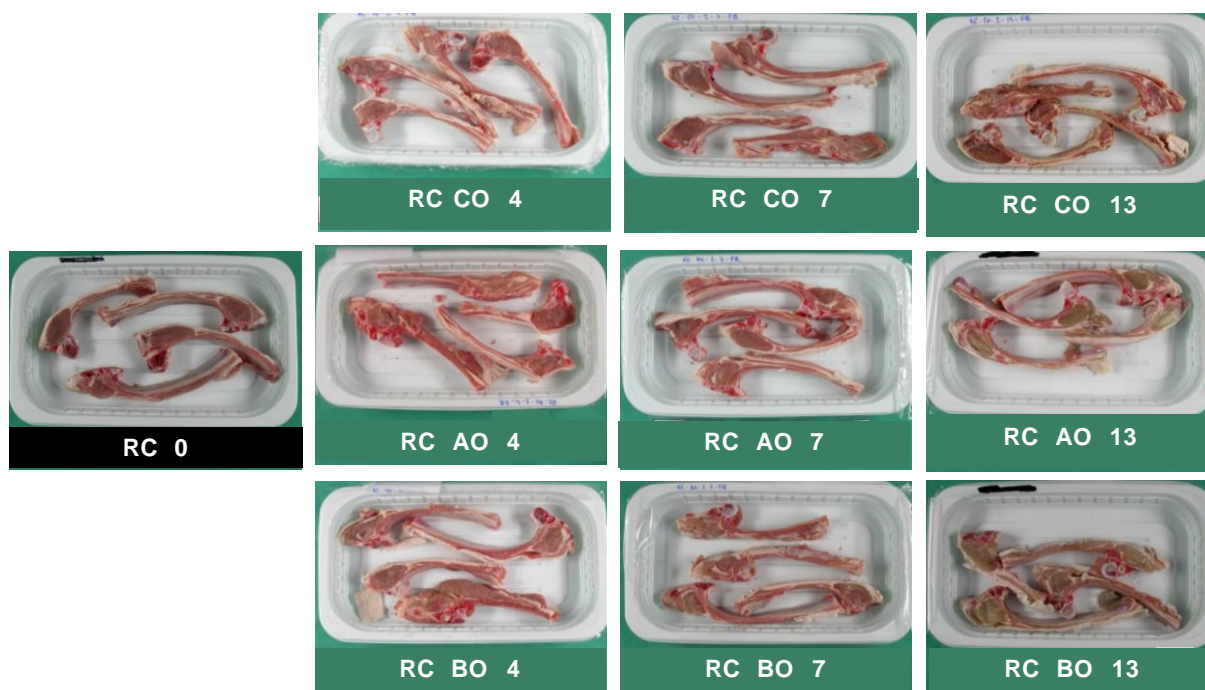
Na fase final de armazenamento, observou-se que as características sensoriais receberam pontuações cada vez mais elevadas (4 a 5), o que se traduz numa clara deterioração sensorial da carne embalada em todas as condições em estudo. A carne em aerobiose continuou a apresentar valores pontuais estatisticamente mais elevados que a carne embalada em atmosfera modificada, no entanto, no dia 13, todas as costeletas foram consideradas sensorialmente inaceitáveis, independentemente do tipo de mistura gasosa a que foram sujeitas (Figura 8).

Figura 9: Fotografias das costeletas de borrego provenientes de carcaças sujeitas a tratamentos de arrefecimento pós-abate diferentes: AL-lento (a) e AC-convencional (b), embaladas em misturas gasosas diferentes (CO, AO e BO), ao longo do período de armazenamento (dias).

a)



b)



CO: aerobiose; AO: EAM de alto oxigénio; BO: EAM de baixo oxigénio.

A degradação sensorial da carne está altamente relacionada com o aumento da carga bacteriana. Alguns autores referem que a intensidade dos maus odores está relacionado com a presença de compostos orgânicos voláteis, tendo estes sido identificados no espaço livre de

embalagem de atmosfera modificada. Os odores a“queijo” identificados na carne embalada com mistura gasosa que contenham dióxido de carbono, são produzidos por *B. thermosphacta* e BAL, ambos produtores de ácido láctico, diacetil/acetoína e alcoóis. Outros compostos não-voláteis (aminas), foram também detectados na carne em EAM. Entre estes, destacam-se a putrescina e a cadaverina que aumentaram de forma constante ao longo do período de armazenamento e cuja produção foi atribuída principalmente às Enterobactérias (García de Fernando *et al.*, 1995).

Os dados registados na Figura 8, relativamente ao parâmetro de aceitabilidade geral da carne, permitiram determinar um tempo de vida útil máximo de 8 dias para as costeletas em EAM de alto oxigénio, 6 dias para as costeletas de EAM de baixo oxigénio e de 5 dias para as costeletas em aerobiose, segundo o critério sensorial proposto inicialmente.

Estes dados não correspondem aos registos verificados anteriormente nas análises microbiológicas, que apontavam a carne embalada em EAM de baixo oxigénio como a que apresentava uma menor carga microbiana para o mesmo período de tempo, o que resultaria numa menor deterioração microbiana e consequente aumento de tempo de vida útil comparativaente à EAM de alto de oxigénio. Embora a EAM de baixo oxigénio proporcione uma boa qualidade microbiológica da carne durante um tempo consideravelmente mais longo, não confere uma estabilização simultânea das características sensoriais durante todo esse período. Desta forma, mesmo com uma carga microbiana baixa, continua a verificar-se uma degradação das características sensoriais, nomeadamente do cheiro e da cor. Estas alterações são consequência das reacções de oxidação lipídica que vão ocorrendo na carne sendo consideradas como uma desvantagem importante deste tipo de embalagem, causando uma perda precoce de qualidade (Camo *et al.*, 2008).

Apesar dos microrganismos desempenharem uma importante acção na degradação dos alimentos, o conceito de deterioração baseia-se sobretudo na avaliação sensorial, pelo que as contagens microbianas não são suficientes para predizer a sua qualidade organoléptica (Gram *et al.*, 2002).

Os resultados sensoriais analisados, indicam que a mistura gasosa de alto oxigénio é o tipo de mistura mais vantajosa na conservação das características sensoriais da carne na perspectiva do consumidor, o que pode estar relacionado com o facto de estas favorecerem, sobretudo, a sua cor. A cor da carne é o critério de qualidade mais utilizado pelos consumidores, sugestivo de atributos de frescura, o que se torna importante aquando da sua decisão de compra (Berruga *et al.*, 2005; Camo *et al.*, 2008). Este critério tem mais ou menos importância consoante a população alvo considerada, sendo reportado que os consumidores jovens (<25

anos), dão menor importância aos critérios sensoriais do que os mais velhos (>60 anos), e que as mulheres mostram-se mais exigentes do que os homens na avaliação da cor da carne (Khliji *et al.*, 2010).

9. Discussão geral

O prolongamento da vida útil dos produtos alimentares proporciona inúmeros benefícios tanto a nível económico como comercial. A utilização de técnicas de preservação de alimentos é uma prática comum no mercado, sendo esta uma área de interesse no desenvolvimento tecnológico alimentar.

A manipulação de diferentes factores, físicos e químicos, pode interferir de modo relevante na vida útil dos produtos, especialmente nos que são facilmente perecíveis, como a carne fresca.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que não existiram diferenças relevantes nos indicadores de qualidade da carne quanto ao tipo de protocolo de arrefecimento utilizado nas carcaças após o abate. No entanto, a utilização de sistemas de embalagem em atmosfera modificada é fulcral para permitir uma conservação da carne durante um período de tempo mais alargado, o que está de acordo com os resultados de outros autores (Jeremiah, 2001; Koutsounamis *et al.*, 2008).

As análises efectuadas permitiram comparar as vantagens da utilização das duas misturas gasosas estudadas (EAM de alto e de baixo teor de oxigénio) para a conservação da carne de borrego. Segundo os resultados obtidos, a utilização de EAM com alto teor de O₂ é vantajosa na conservação das características organolépticas da carne, nomeadamente da sua cor, conferindo-lhe uma aparência atractiva durante mais tempo (Mancini & Hunt, 2005). No entanto, este tipo de atmosfera favorece a ocorrência de deterioração microbiana num período de tempo precoce comparativamente à carne embalada em EAM de baixo teor de O₂. A carne embalada em EAM de baixo teor de O₂ registou contagens microbiológicas mais baixas devido ao seu efeito antimicrobiano sobre os principais microrganismos deteriorativos da carne de borrego (*B. thermosphacta* e *Pseudomonas* spp.), proporcionado pela presença de uma elevada concentração de CO₂ (Leo & Nollet, 2006). Porém, apesar de a carne embalada nestas condições apresentar uma carga microbiana inferior, está sujeita a outros fenómenos deteriorativos importantes que se reflectem nas suas características sensoriais e que são factores limitantes do seu tempo de vida útil, nomeadamente as reacções oxidativas.

Os nossos resultados indicaram que a ocorrência de reacções oxidativas constitui um dos factores mais relevantes na limitação do tempo de vida útil da carne em EAM, sendo responsáveis por fenómenos de descoloração e presença de maus odores na carne num curto

período de armazenamento o que está de acordo com outros autores (Camo *et al.*, 2008; McMillin, 2008).

Pela análise dos resultados obtidos, pode verificar-se que a utilização de uma ou de outra mistura gasosa apresenta as suas vantagens e desvantagens, sendo ambas úteis na conservação da carne e não apresentando grande disparidade em termos de tempo de armazenamento.

O desenvolvimento de métodos de conservação eficazes é imprescindível no comércio da carne de borrego pois esta ao apresentar uma carga microbiana elevada comparativamente a outros tipos de carne é susceptível a uma deterioração mais rápida, pelo que devem ser efectuados mais estudos nesta área.

A implementação de novos sistemas está dependente, não só do desenvolvimento tecnológico, como também da aceitação pelo próprio consumidor. Nem sempre é fácil estabelecer a confiança em sistemas novos, com recurso a outros processos, materiais e substâncias, pois estes provocam geralmente uma sensação de desconfiança e de insegurança no consumidor. É essencial que, quando sejam utilizados novos procedimentos, estes sejam transmitidos de uma forma acessível ao consumidor, de modo a que este perceba claramente as suas vantagens e desvantagens.

Tradicionalmente existe uma maior valorização pelo consumidor de produtos frescos e naturais, de reduzida manipulação a nível industrial. Contudo, esta exigência torna-se utópica a nível das necessidades do mercado, não permitindo uma resposta económica e comercialmente favorável, pois este tipo de produtos estão mais sujeitos a fenómenos de degradação. Deste modo podemos afirmar que a implementação de novos conceitos tecnológicos na mentalidade dos consumidores é difícil, mas inegavelmente necessária.

10. Conclusão

Com este trabalho procurou-se estudar o efeito de diferentes protocolos de arrefecimento de carcaças e de diferentes métodos de embalagem, na vida útil das costeletas de borrego de leite, IGP-*Lechazo de Castilla e León*.

Dos resultados obtidos no nosso estudo conclui-se que o tipo de tratamento de arrefecimento utilizado na carcaça após o processo de abate não apresentou especial relevância, sendo o efeito deste factor nos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais, semelhante nos dois tipos de protocolos de arrefecimento analisados.

No estudo do efeito do tipo de mistura contida nas embalagens, observou-se porém, que a utilização de embalagens com atmosfera modificada é fundamental no prolongamento da vida útil da carne de borrego.

Pode-se concluir que a utilização de uma embalagem de atmosfera modificada com uma concentração elevada em oxigénio favorece os atributos de qualidade da carne de borrego, devido ao desenvolvimento de uma cor mais viva e estável. Por outro lado, os resultados microbiológicos obtidos foram indicativos de que a carne embalada em atmosfera modificada de baixa concentração em oxigénio apresentava uma melhor qualidade microbiana, durante um maior período de armazenamento. No entanto, a presença de elevados níveis de CO₂ neste tipo de atmosfera para além de apresentar um vantajoso efeito antimicrobiano condicionou também o tempo de vida útil da carne, favorecendo a ocorrência de reacções oxidativas com consequente deterioração das características organolépticas, nomeadamente da cor e do odor. Sensorialmente foi estabelecido um tempo de vida útil de 5 dias para as costeletas em condições de aerobiose, 6 dias para as costeletas em EAM de baixo oxigénio e 8 dias para as costeletas em EAM de alto oxigénio. Deste modo, podemos concluir que a utilização de uma atmosfera com alto teor em oxigénio é mais vantajosa a nível de mercado, pois segundo as análises sensoriais efectuadas existe uma clara preferência da carne embalada segundo estas condições para o consumidor, o que se torna fulcral na sua decisão de compra.

11. Bibliografía

- Albertie, P., Panea, B., Ripoll, G., Sañudo, C., Olleta, J.L., Heguereuela, I., Campo, M.M., Serra, X. (2005). *Medición de color. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los ruminantes*. Monografías INIA: Série Ganadera, 216-225.
- Apple, J.K., Kegley, E.B., Galloway, D.L., Wistuba, T.J., Rakes, L.K. (2005). *Duration of restraint and isolation stress as a model to study the dark-cutting condition in cattle*. Journal of Animal Science, 83, 1202-1214.
- Azevedo, J.M.T., Cadavez, V.P. & Silva, S.R. (2007). *Carcaça e carne de borrego e cabrito – Avaliação da qualidade e da composição*. Portugal: Serviços gráficos – UTAD.
- Barrera, O., Rodríguez-Calleja, J.M., Santos, J.A., Otero, A. & García-López, M. (2007). *Effect of different storage conditions on E. coli O157:H7 and the indigenous bacterial microflora on lamb meat*. International Journal of Food Microbiology, 115, 244-251.
- Bekhit, A.E.D., Geesink, G.H., Morton, J.D., Bickerstaffe, R. (2001). *Metmyoglobin reducing activity and colour stability of ovine Longissimus muscle*. Meat Science, 57, 427-435.
- Beckit, A.E.D., Geesink, G.H., Ilian, M.A., Morton, J.D., Sedcole, R., Bickerstaffe, R. (2004). *Particulate metmyoglobine reducing activity and its relationship with meat color*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 60226-6035.
- Benito, C.G. (2008). *Estudio para valorar la calidad de la carne de lechazo "Churro" utilizando distintos sistemas de refrigeración*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Universidad de Salamanca. Guijuelo: Itacyl
- Berruga, M.I., Vergara, H. & Gallego, L. (2005). *Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat*. Small Ruminant Research, 57, 257-264.
- Bórnez, R., Linares, M.B. & Vergara, H. (2009). *Microbial quality and lipid oxidation of Manchega breed suckling lamb meat: Effect of stunning method and modified atmosphere packaging*. Meat Science, 83, 383-389.
- Brewer, M.S. (2004). *Chemical and physical characteristics of meat. Water-holding capacity*. Encyclopedia of Meat Science, St. Louis, MO, 242-249.
- Cabezas, L.G., Iglesias, E.G., Nuevo, J.L.F. (2006). *Tecnologías de envasado en atmósfera protectora*. Madrid: Elecé Industria Gráfica.
- Camo, J., Beltrán, J.A., Roncalés, P. (2008). *Extension of the display life of lamb with antioxidant active packaging*. Meat Science, 80, 1086-1091.
- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D., Richardson, R.I. (2006). *Flavour perception of oxidation in beef*. Meat Science, 72, 303-311.
- Cardello, A.V. (1995). *Food Quality: Relativity, Context and Consumer Expectations*. Food Quality and Preference, 6, 163-170.
- Cayuela, J. M., Gil, M. D., Bañón, S., Garrido, M. D. (2004). *Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the quality of pork loin*. European Food Research and Technology, 219, 316–320.
- Cifuni, G.F., Braghieri, A., Napolitano, F., Riviezzi, A.M., Girolami, A. (2001). *Influence of storage conditions and age at slaughter on lipid oxidation and fatty acid profiles of Apulian lamb*. Italian Journal of Food Science, 13, 329-336.
- Daly, C.C., Young, O.A., Graafhuis, A.E., Moorhead, S.M., Easton, H.S. (1999). *Some effects of diet on beef meat and fat attributes*. New Zealand Journal of Agricultural Research, 42, 279-281.
- Díaz, M.T., Álvarez, I., De la Fuente, J., Sañudo, C., Campo, M.M., Oliver, M.A., Font i Furnols, M., Montossi, F., San Julián, R., Nute, G.R., Cañeque, V. (2005). *Fatty acid composition of meat from typical lamb meat production systems of Spain, United Kingdom, Germany and Uruguay*. Meat Science, 71, 256-263.

- Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, acedido em Jun. 29, 2011, disponível em: <http://www.drapc.min-agricultura.pt/images.html>
- Doherty, A.M., Sheridan, J.J., Allen, P., McDowell, D.A., Blair, I.S. (1996). *Physical Characteristics of Lamb Primals Packaged Under Vacuum or Modified Atmospheres*. Meat Science, 3, 315-324.
- Doulgeraki, A.I., Paramithiotis, S., Kagkli, D.M., Nychas, G.-J.E. (2010). *Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions*. Food Microbiology 27, 1028-1034.
- Esmer, O.K., Irkin, R., Degirmencioglu, N. & Degirmencioglu, A. (2011). *The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat*. Meat Science, 88, 221-226.
- Feiner, G. (2006). *Meat products handbook practical science and technology*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Fisher, A.V., Enser, M., Richardson, R.I., Wood, J.D., Nute, G.R., Kurt, E., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G. (2000). *Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed x production systems*. Meat science, 55, 141-147.
- Fisher, C. & Scott, T.R. (2000). *Flavores de los alimentos. Biología y química*. Espanha, Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.
- Fraqueza, M.J. & Barreto, A.S. (2009). *The effect on turkey meat shelf life of modified-atmosphere packaging with an argon mixture*. Poultry Science, 88, 1991-1998.
- Fraqueza, M.J. & Barreto, A.S. (2011). *Gas mixtures approach to improve turkey meat shelf life under modified atmosphere packaging: the effect of carbon monoxide*. Poultry Science, 90:8 – (Proofs printing)
- Fogarty, N.M., Hopkins, D.L., van de Vem, R. (2000). *Lamb production from diverse genotypes 2. Carcass characteristics*. Animal Science, 70, 147-156.
- García de Fernando, G.D., Nychas, G.-J.E., Peck, M.W., Ordóñez, J.A. (1995). *Growth/survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres*. International Journal of Food Microbiology, 28, 221-231.
- Garrido, M.D., Bañón, S., Álvarez, D. (2005). *Medida del pH. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los ruminantes*. Monografías INIA: Série Ganadera, 206-215.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B., Givskov, M. (2002). *Food spoilage – interactions between food spoilage bacteria*. International Journal of Food Microbiology, 78, 79-97.
- Hamby, P.L., Savell, J.W., Acuff, G.R., Vanderzant, C., Cross, H.R. (1987). *Spray-chilling and carcass descontamination systems using lactic and acetic acid*. Meat Science, 21, 1-14.
- Hocquette, J.F., Ortigues-Marty, I., Pethick, D., Herpin, P., Fernandez, X. (1998). *Nutricional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals*. Livestock Production Science, 56, 115-143.
- Hopkins, D.L. (1996). *Assessment of lamb colour*. Meat Focus International, 5, 400-401.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, S.M. (2005). *Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of post mortem biochemical and structural changes*. Meat Science, 71, 194-204.
- IGP *Indicación Geográfica Protegida del Lechazo de Castilla y León*, acedido em Jun. 29, 2011, disponível em: <http://www.lechazodecastillayleon.es/>
- ISO. 1995. International Standard ISO 13720:1995. *Meat and meat products. Enumeration of Pseudomonas spp*. Int. Organ. Stand., Geneva, Switzerland.
- ISO. 1996. International Standard ISO 13722:1996. *Meat and meat products. Enumeration of Brochothrix thermosphacta – Colony Counts Technique*. Int. Organ. Stand., Geneva, Switzerland.

- ISO. 1998. International Standard ISO 15214:1998. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Enumeration of Mesophilic Lactic Acid Bacteria - Colony Counts Technique at 30°C*. Int. Organ. Stand., Geneva, Switzerland.
- ISO. 1999. International Standard ISO 6887-1:1999. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Preparation of Test Samples Initial Suspension and Decimal Dilutions for Microbial Examination – Part 1: General Rules for the preparation of the Initial Suspension and Decimal Dilutions*. Int. Organ. Stand., Geneva, Switzerland.
- Jakobsen, M. & Bertelsen, G. (2002). *The use of CO₂ in packaging of fresh red meats and its effects on chemical quality of changes in the meat: A review*. Journal of muscle foods, 13, 143-168.
- Jeremiah, L.E. (2001). *Packaging alternatives to deliver fresh meats using short- or long-term distribution*. Food Res. Int., 34, 749-772.
- John, L., Cornforth, D., Carpenter, C.E., Sorheim, O., Pettee, B.C., Whittier, D.R. (2005). *Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0,4% carbon monoxide, or vacuum*. Meat Science, 69, 441-449.
- Jones, R.J., Hussein, H.M., Zagorec, M., Brightwell, G., Tagg, J.R. (2008). *Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat*. Food Microbiology, 25, 228-234.
- Kauffman, R.G. (2001). *Meat composition. Meat science and applications*. Marcel Dekker, New York, 1-19.
- King, D.A., Schuehle Pfeiffer, C.E., Randel, R.D., Welsh, T.H., Oliphint, R.A., Baird, B.E., Curley, K.O., Vann, R.C., Hale, D.S., Savell, J.W. (2006). *Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle*. Meat Science, 74, 546-556.
- Kinsella, K.J., Sheridan, J.J., Rowe, T.A., Butler, F., Delgado, A., Quispe-Ramirez, A., Blair, I.S., McDowell, D.A. (2006). *Impact of a novel spray chilling system on surface microflora, water activity and weight loss during beef carcass chilling*. Food Microbiology, 23, 483-490.
- Kennedy, C., Buckley, D.J. & Kerry, J.P. (2004). *Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions*. Meat Science, 68, 649-658.
- Khlijji, S., Ven, R. Van de., Lamb, T.A., Lanza, M. & Hopkins, D.L. (2010). *Relationship between consumer ranking of lamb colour and objective measures of colour*. Meat Science, 85, 224-229.
- Koutsoumanis, K.P., Stamatiou, A.P., Drosinos, E.H., Nychas, G.-J.E. (2008). *Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat flora*. Food Microbiology, 25, 915-921.
- Kriaa, H., Arthaud, J.F., Fournaud, J. (1985). *Contamination and bacterial retention capacity of beef carcasses at the abattoir*. Journal of applied bacteriology, 59, 23-28.
- Lawrie, R.A. & Ledward, D.A. (2006). *Lawrie's meat science*. Woodhead Publishing Limited.
- Leo, M.L. & Nollet, F.T. (2006). *Advanced technologies for meat processing*. Taylor & Francis Group LLC.
- Linares, M.B., Berruga, M.I., Bórnez, R., Vergara, H. (2007). *Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres*. Meat Science, 76, 715-720.
- Luño, M., Roncalés, P., Djenane, D., Beltrán, J.A. (2000). *Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmospheres containing different low CO concentrations*. Meat Science, 55, 413-419.
- Mancini, R.A. & Hunt, M.C. (2005). *Current research in meat color*. Meat Science, 71, 100-121.

- Marsh, K. & Bugusu, B. (2007). *Food packaging – Roles, materials, and environmental issues*. Food Science, 72 (3), R39-R55.
- McMillin, K.W. (2008). *Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat*. Meat Science, 80, 43-65.
- Miguélez, E., Zumalacárregui, J.M., Osorio, M.T., Figueira, A.C., Fonseca, B., Mateo, J. (2008). *Quality traits of suckling lamb covered by the protected geographical indication “Lechazo de Castilla y León” European quality label*. (2008). Small Ruminant Research, 77, 65-70.
- Mikkelsen, A., Juncher, D., Skibsted, L.H. (1999). *Metmyoglobin reductase activity in porcine Longissimus dorsi muscle*. Meat Science, 51, 155-161.
- Ministério da Agricultura, de Desenvolvimento Rural e das Pescas, Gabinete de Planeamento e Políticas (2006). *Anuário PEC*. Acedido em Mar. 20, 2011, disponível em: <http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/period/Anuario Pec 2006-07.pdf>
- Moskowitz, H.R. (1995). *Food Quality: Conceptual and Sensory Aspects*. Food Quality and Preference, 6, 157-162.
- Muela, E, Sañudo, C., Campo, M.M., Medel, I., Beltrán, J.A. (2010). *Effects of cooling temperature and hot carcass weight on the quality of lamb*. Meat Science, 84, 101-107.
- Nissen, H., Sorheim, O., Dainty, R. (1996). *Effects of vacuum, modified atmospheres and storage temperature on the microbial flora of packaged beef*. Food Microbiology, 13, 183-191.
- Nychas, G.J.E. (1994). *Modified atmosphere packaging of meats. Minimal processing of foods and process optimization*. London: An Interface CRC Press.
- Ockerman, H.W. & Basu, L. (2004). *Carcass chilling and boning*. Encyclopedia of Meat Science, 144-149.
- O’Grady, M.N., Monahan, F.J., Burke, R.M., Allen, P. (2000). *The effect of oxygen level and exogenous α -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs*. Meat Science, 55, 39-45.
- O’Grady, M.N., Monahan, F.J., Brunton, N.P. (2001). *Oxymyoglobin oxidation and lipid oxidation in bovine muscle – mechanistic studies*. Journal of Food Science, 66, 386-392.
- Peri, C. (2006). *The universe of food quality*. Food Quality and Preference, 17, 3-8.
- Purchas, R.W. (1990). *An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers*. Meat Science, 27, 129-140.
- Regulamento (CE) n° 1278/94 do Conselho de 30 de Maio de 1994 que altera o Regulamento (CEE) n° 338/91, que determina a qualidade-tipo comunitária de carcaças de ovino frescas ou refrigeradas, e o Regulamento (CEE) n° 2137/92, relativo à grelha comunitária de classificação de carcaças de ovinos e à qualidade-tipo comunitária de carcaças de ovinos frescas ou refrigeradas, JO L 140 de 3.6.1994, p. 5-6
- Regulamento (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril de 2004, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais, JO L 165 de 30.4.2004, p. 1-141.
- Regulamento (CE) n.º 1/2005 do Conselho, de 22 de Dezembro de 2004, relativo à protecção dos animais durante o transporte e operações afins e que altera as Directivas 64/432/CEE e 93/119/CE e o Regulamento (CE) n.º 1255/97, JO L 3 de 5.1.2005, p. 1-44.
- Regulamento (CE) n. 510/2006 do Conselho, de 20 de Março de 2006 , relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios, JO L 93 de 31.3.2006, p. 12-25.

- Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro de 2007 , que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Texto relevante para efeitos do EEE), JO L 322 de 7.12.2007, p. 12-29.
- Regulamento (CE) n.º 417/2008 da Comissão, de 8 de Maio de 2008 , que altera os anexos I e II do Regulamento (CE) n.º 510/2006 do Conselho relativo à protecção das indicações geográficas e denominações de origem dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios, JO L 125 de 9.5.2008, p. 27-27
- Renner, M. & Labadie, J. (2003). *Fresh red meat packaging and meat quality. Review paper. Proc. International Congress on Meat Science Technology, 39th ICoMST*, Calgary, AB, Canada 8, 361-389.
- Rosenvold, K. & Wiklund, E. (2011). *Retail color display life of chilled lamb as affected by processing conditions and storage temperature*. Meat Science, 88, 354-360.
- Rubio, B. (2006). *Conservación de productos cárnicos crudos curados mediante envasado com atmósferas modificadas y altas presiones*. Tesis Doctoral, Universidad de Burgos, Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos.
- Savell, J.W., Mueller, S.L., Baird, B.E. (2005). *The chilling of carcasses*. Meat Science 70, 449-459.
- Shorthose, W.R., Powell, V.H., Harris, P.V. (1986). *Influence of electrical stimulation, cooling rates and aging on the shear force values of chilled lamb*. Journal of Food Science, 51, 889-892.
- Skandamis, N.P. & Nychas, G.-J.E. (2002). *Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions*. International Journal of Food Microbiology, 79, 35-45.
- Smith, G.C., Duston, T.R., Hostetler, R.L., Carpenter, Z.L. (1976). *Fatness, rate of chilling and tenderness of lamb*. Journal of Food Science, 41, 748-756.
- Soldatou, N., Nerantzaki, A., Kontominas, M.G. & Savva, I.N. (2009). *Physicochemical and microbiological changes of “Souvlaki” – A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters*. Food Chemistry, 113, 36-42.
- Sorheim, O., Kropf, D.H., Hunt, M.C., Karwoski, M.T., Warren, K.E. (1996). *Effects of Modified Gas Atmosphere Packaging on Pork Loin Colour, Display life and Drip Loss*. Meat Science, 43, 203-212.
- Sorheim, O., Aune, T., Nesbakken, T. (1997). *Technological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified-atmosphere packaging of meat*. Trends in Food Science and Technology, 8, 307-312.
- Sorheim, O., Nissen, H., Nesbakken, T.. (1999). *The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and carbon dioxide*. Meat Science, 52, 157-164.
- Tomovic, V.M., Petrovic, L.S., Dzinic, N.R. (2008). *Effects of rapid chilling of carcasses and time of deboning on weight loss and technological quality of pork semimembranosus muscle*. Meat Science, 80, 1188-1193.
- UNE 87-004-79 (1987). *Análisis Sensorial. Guía para la instalación de una cámara para análisis sensorial*. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).
- UNE 87-024-95 (1) (1995). *Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. Parte I: Catadores*. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).
- US FDA (2004). *Agency response letter. GRAS notice n.GRN 0000143*. Acedido em Mai. 31, 2011, disponível em: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn000167.pdf

- US FDA (2000), *Agency response letter. GRAS notice n.GRN 000083*. Acedido em Mai. 31, 2011, disponível em: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn_000083B.pdf
- Van Moeseke, W., De Smet, S., Claeys, E., Demeyer, D. (2001). *Very fast chilling of beef: effects on meat quality*. *Meat Science*, 59, 31-37.
- Vergara, H., Linares, M.B., Berruga, M.I., Gallego, L. (2005). *Meat quality in suckling lamb: effect of pre-slaughter handling*. *Meat Science*, 69, 473-478.
- Warriss, P.D. (2000). *Meat Science. An introductory text*. London: CABI Publishing.
- Watt, D.B. & Haring, H.K. (1974). *Rapid chilling of beef carcasses utilizing ammonia and cryogenic systems: Effects on shrink and tenderness*. *Journal of Animal Science*, 38, 928-934.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2003). *Effects of fatty acids on meat quality: a review*. *Meat Science*, 66, 21-32.
- Yam, K.L., Takhistov, P.T. & Miltz, J. (2005). *Intelligent packaging: Concepts and applications*. *Journal of Food Science*, 70 (1), R1-R10.
- Zhou, G.H., Xu, X.L. & Liu, Y. (2010). *Preservation technologies for fresh meat – A review*. *Meat Science*, 86, 119-128.