

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



Dissertação

Reatividade Animal e indicadores fisiológicos de estresse: avaliação das suas relações com a qualidade final da carne bovina em distintos períodos de jejum pré-abate.

Sandra Vieira de Moura

Pelotas, 2011

Sandra Vieira de Moura

Reatividade Animal e indicadores fisiológicos de estresse: avaliação das suas relações com a qualidade final da carne bovina em distintos períodos de jejum pré-abate.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Produção Animal).

Orientador: Isabella Dias Barbosa Silveira

Co-Orientador: Francisco Augusto Burkert Del Pino

Pelotas, 2011

**Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)**

M929r Moura, Sandra Vieira de

Reatividade animal e indicadores fisiológicos de estresse: avaliação das suas relações com a qualidade final da carne bovina em distintos períodos de jejum pré-abate / Sandra Vieira de Moura ; orientador Isabella Dias Barbosa Silveira ; co-orientador Francisco Augusto Burkert Del Pino - Pelotas,2011.-56f.- Dissertação (Mestrado) – Área de conhecimento Produção animal. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Bovinos 2.Abate humanitário 3.Cortisol 4.Glicose 5.pH
I.Silveira, Isabella Dias Barbosa (orientador) II .Título.

Banca examinadora:

Dra. Isabella Dias Barbosa Silveira

Dr. Éverton Fagonde da Silva

Dr. José Pedro Pereira Trindade

Dr. Mateus José Paranhos da Costa

Suplente: Dr. Jerri Teixeira Zanusso

Suplente: Dr. Otoniel Geter Lauz Ferreira

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Vito e Genny, meus grandes incentivadores, e sem dúvida meus exemplos de vida, meu porto seguro, fonte inesgotável de amor.

À dinda Neusa, pelo carinho, amizade e dedicação por toda a vida, obrigada!

Às minhas irmãs Eunice e Marlene, sempre presentes e vibrantes com as minhas conquistas – amo vocês!!

Às minhas sobrinhas queridas Jordana, Mariana, Anita e Isabela, por alegrarem a vida da tia Sandrinha!!

Ao meu noivo Virgílio, pelo carinho, pela amizade, por me aturar nas ausências, nas correrias da vida, nas crises...por me puxar a orelha quando necessário, e principalmente por estar comigo. Te amo!!!

Ao “pessoal aqui de casa”, que participam ativamente dos meus feitos, valeu pela companhia, pela amizade, pelas risadas.

Aos meus queridos estagiários Cícero, Gustavo e Leontino, elementos fundamentais para a realização deste trabalho, pela dedicação, companheirismo e força de vontade – Valeu gurizada!!

À colega e amiga Elizabeth Schwegler, por cuidar das análises bioquímicas.

Ao professor Francisco Augusto Burkert Del Pino pela co-orientação e disponibilização do laboratório para a realização das análises.

Ao frigorífico Famile, por viabilizar a realização do experimento e principalmente por “abrir as portas” para que pudéssemos buscar conhecer e trocar experiências. Agradeço imensamente ao Sr. Paulo Corvelo, Márcia Safons, dona Elaine e Fábio pela colaboração com a ciência e a preocupação em buscar melhorias. Ao Anderson pela dedicação e comprometimento com os animais e ao Paulinho e Leandro por cuidarem da qualidade da nossa carne.

À minha orientadora Isabella Dias Barbosa Silveira, pelo apoio técnico, pelos ensinamentos, por “abraçar a causa” e principalmente, pela amizade e companheirismo, princípios fundamentais para o crescimento profissional – Gracias!

À colega e amiga Mônica Daiana de Paula Peters que teve participação fundamental em todos os momentos, agradeço imensamente pela parceria!!!

Aos colegas, do grupo GECAP, pela convivência tão rica, que nos faz crescer a cada dia como profissionais e, acima de tudo, como seres humanos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia por me acolher e oportunizar esta importante etapa do meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Aos laboratórios de carnes do PPGZ e DCTA e química de alimentos, por tão gentilmente cederem seus espaços para a realização das análises

Aos colegas de pós-graduação pela convivência e troca de experiências.

Ao CNPQ pela bolsa de estudos e por fomentar a pesquisa neste país onde ainda necessitamos de tantas respostas!!!

Aos colegas Carlos Pedroso, Otoniel e Pedro Trindade pela colaboração estatística.

A todos os professores e funcionários de PPGZ pelos ensinamentos e pela convivência.

Resumo

MOURA, Sandra Vieira de. **Reatividade Animal e indicadores fisiológicos de estresse: avaliação das suas relações com a qualidade final da carne bovina em distintos períodos de jejum pré-abate**. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Foi avaliada a influência de diferentes períodos de jejum pré-abate sobre a reatividade animal, indicadores fisiológicos de estresse e qualidade final da carne, considerando a glicose como potencial indicador de estresse. Foram utilizados 33 novilhos castrados, cruza Aberdeen Angus com aproximadamente 24 meses de idade, peso médio de 450 kg, com procedência, tempo e condições de viagem semelhantes, sendo abatidos em um frigorífico comercial na cidade de Pelotas – RS. Os animais foram classificados em quatro períodos distintos de jejum. A reatividade foi classificada de acordo com uma escala de 0 a 5, sendo 0 o menos reativo e 5 o mais reativo. Amostras de sangue foram coletadas para determinação dos níveis de glicose e cortisol. Após 24 horas do abate, foram obtidas amostras do músculo *Longissimus Dorsi* resfriado para determinação da qualidade final da carne através das características de coloração, capacidade de retenção de água (CRA), maciez e pH. Os dados foram analisados através de estatística multivariada com teste de agrupamento e ordenação pelo método de análise de componentes (PCA). Os níveis de glicose e cortisol apresentaram crescimento simultâneo. Os animais mais reativos apresentaram níveis sanguíneos de cortisol e glicose elevados, bem como o pH final da carne. Os animais menos reativos tiveram melhores características de maciez, coloração, pH e CRA da carne. O jejum pré-abate não apresentou influência nos parâmetros bioquímicos e nas características de qualidade da carne. A glicose pode representar um indicador fisiológico de estresse.

Palavras-chave: Abate Humanitário. Bovinos. Cortisol. Glicose. pH.

ABSTRACT

MOURA, Sandra Vieira de. Animal reactivity and stress physiological indicators: relationship with bovine meat final quality under different pre-slaughter fasting periods. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Evaluation was made of the effect of different pre-slaughter fasting periods on animal reactivity, physiological stress indicators and final meat quality, considering glucose as a potential stress indicator. Thirty three (33) castrated Aberdeen Angus breed young bulls were used, approximately 24 months old, average weight of 450 kg, with similar origin, time and transportation conditions, being slaughtered in a commercial packing plant in Pelotas, RS, Brazil. Animals were classified in four different fastening periods. Reactivity was classified accordingly to a scale ranging from zero (0) to five (5), the lesser reactive being attributed 0 and the most reactive being attributed 5. Blood samples were collected to determine glucose and cortisol levels. Samples of chilled *Longissimus dorsi* muscle were obtained 24 h after slaughter, to determine final meat quality through the characteristics of colour, water retention capacity (CRA) softness and pH. Data were analyzed by statistical multivariate analysis with grouping test and ordination by the method of component analysis (PCA). Levels of cortisol and glucose showed simultaneous increase. The most reactive animals presented higher blood levels of glucose and cortisol, as well as meat final pH. Less reactive animals showed best meat characteristics for softness, coloration, pH and CRA. Pre-slaughter fastening did not affect the biochemical parameters and meat quality characteristics. Glucose may be used as physiological stress indicator.

Key Words: Humanitarian slaughter. Bovines. Cortisol. pH.

Lista de Figuras

- Figura 1 – Dendrograma de agrupamento dos animais de acordo com as variáveis. O primeiro número refere-se ao grupo de jejum e o segundo à repetição. A linha tracejada indica os grupos considerados nítidos.....36
- Figura 2 – Diagrama de dispersão das unidades amostrais nos eixos 1 e 2 obtidos por PCA, a partir da correlação entre variáveis (anexo 2)..... 37
- Figura 3 – Níveis de glicose sanguínea no momento da chegada dos animais ao abatedouro, nos momentos pré-abate e após a sangria.....40

Lista de abreviaturas e Siglas

a* - teor de vermelho

ACTH- adrenocorticotropina

ADP- adenosina difosfato

ATP- adenosina trifosfato

b* - teor de amarelo

°C – graus Celsius

CK- creatina fosfoquinase

CRA- capacidade de retenção de água

CRH- corticotropina

DFD- Dark, Firm and Dry – carne escura, firme e seca

ECLIA – eletroquimioluminescência

Fe+2 – ferro ferroso

g- grama

h- horas

3-HBA – betahidroxibutirato

HPA - eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

Kg- quilograma

L*- luminosidade, brilho ou reflectância

LD- *Longissimus dorsi*

m²- metros quadrados

MB – mioglobina

MBO₂ – Oximioglobina

MetaMB – metamioglobina

mg- miligramas

ml- mililitros

nm- nanômetro

PCA – Análise de Componentes Principais

pH- potencial hidrogênio iônico

pH24h - pH 24 horas

S- segundos

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

VGA – ácidos graxos voláteis

SUMÁRIO

1. Introdução.....	9
2. Revisão de literatura.....	12
2.1 Comportamento e Reatividade animal	12
2.2 Estresse Animal.....	14
2.3 Jejum pré-abate.....	21
2.4 Bem- estar animal e Abate Humanitário.....	24
2.5 Qualidade da Carne.....	26
3. Material e Métodos.....	30
3.1 Local e período.....	30
3.2 Unidades experimentais.....	30
3.3 Avaliações bioquímicas.....	31
3.4 Avaliação comportamental.....	31
3.5 Análises qualitativas da carne.....	32
3.6 Análise Estatística.....	33
4. Resultados e Discussão.....	35
5. Conclusões.....	41
6. Referências.....	42
7. Anexos.....	51
7.1 Anexo 1.....	51
7.2 Anexo 2.....	52
7.3 Anexo 3.....	53

INTRODUÇÃO

Mudanças no comportamento dos animais foram observadas por seres humanos desde a domesticação de animais selvagens a milhares de anos atrás. O processo de domesticação levou a uma diminuição da valorização das influências ambientais sobre os animais e uma maior tolerância psicogênica de estímulos estressantes (HEMMER, 1990). O comportamento é uma das propriedades mais importantes da vida animal, pois tem um papel fundamental nas adaptações das funções biológicas (PAJOR; RUSHEN; PASSILÉ 2000).

Um dos aspectos do comportamento bovino que despertou interesse foi a reatividade, avaliada pelas reações dos animais a diferentes situações de manejo, sendo tais reações associadas a estímulos ocasionados pela presença humana (BOIVIN et al., 1992).

Alta reatividade tem efeito potencializador sobre a resposta comportamental tornando-a mais intensa quanto mais reativo for o animal (MAFFEI, 2009). Devido a isto, animais mais reativos têm menor capacidade adaptativa às mudanças ambientais e são mais susceptíveis aos agentes estressantes, logo ao desencadeamento e desenvolvimento do processo de estresse (GRANDIN, 1997; PRAYAGA, 2003, 2005, 2006).

A terminologia estresse foi definida por Selye (1973), como sendo uma resposta não específica do organismo para qualquer exigência sobre este, em que o indivíduo responde com uma resposta homeostática estereotipada. Nesta definição a palavra estresse descreve uma resposta, mas também é usada como sinônimo de agente ou estímulo stressogênico.

Cockram e Corley (1991), afirmam que o manejo pré-abate é descrito como o procedimento mais estressante infligido aos animais domésticos, ocorrendo nos bovinos aumento das tentativas de fuga, vocalização, defecação e micção quando confinados no corredor de acesso a sala de abate.

Outro fator passível de estresse pré-abate é o período de jejum a que os animais são submetidos. Warriss (1992) afirma que este exerce um efeito direto sobre o bem-estar e indireto sobre a qualidade da carne. No entanto, poucos estudos são esclarecedores em relação ao efeito dos períodos de jejum pré-abate sobre o bem-estar e conseqüências na qualidade da carne.

Muito pouco é conhecido sobre os efeitos específicos do estresse pré-abate sobre as mudanças biofísicas no músculo e os conseqüentes efeitos sobre as características de qualidade da carne, não estando inteiramente claro se a variabilidade entre animais em resposta ao estresse pode explicar a diferença em características como maciez. Diante disso, tem havido uma maior ênfase na quantificação do impacto do estresse pré-abate e exploração de estratégias para atenuar o estresse, mediada por perdas no rendimento e na qualidade da carne (FERGUSON; WARNER, 2008). Estudos de Smith et al. (2004) reforçam que para avaliar o bem-estar animal durante o manejo e transporte devem ser levadas em consideração as medidas comportamentais e fisiológicas.

Animais expostos ao estresse pré-abate geralmente apresentam um defeito na qualidade da carne conhecido como DFD (Dark, Firm, Dry), caracterizada pela cor escura na superfície de corte do músculo, o que leva a consideráveis prejuízos na indústria da carne (WEGLARZ, 2010).

Para identificar as situações adversas a que os animais são submetidos, além das alterações clínicas evidentes, os indicadores fisiológicos de estresse podem ser ferramentas importantes, permitindo uma avaliação mais precisa das reações expressas pelo organismo com o objetivo de manter a homeostasia, sendo a concentração de cortisol, conhecido como hormônio do estresse, uma das medidas mais utilizadas para verificar a resposta ao estresse.

Segundo Dickson (1996), o estresse provoca um aumento dos níveis de cortisol livre no plasma sanguíneo, cujas concentrações plasmáticas variam amplamente, porém, o estímulo da hipófise e adrenal estão associados ao aumento dos níveis de cortisol, glicose e ácidos graxos livres no plasma.

Assim, é importante ressaltar que alterações do estado fisiológico ou comportamental do animal poderão comprometer o seu bem-estar e prejudicar toda a cadeia produtiva por meio de desagregação de qualidade da carne ao consumidor final (MOLENTO, 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes períodos de jejum pré-abate sobre a reatividade animal, indicadores fisiológicos de estresse e qualidade final da carne, considerando a glicose como potencial indicador de estresse.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Comportamento e Reatividade animal

Por definição, Kandel (1976) caracterizou o comportamento como toda resposta muscular ou secretória, observada por mudanças no ambiente interno e externo dos animais, se caracteriza como um fenótipo, produto da ação de genes e do ambiente, além da interação entre ambos.

O comportamento é uma das propriedades mais importantes da vida animal, pois tem um papel fundamental nas adaptações das funções biológicas. No caso das ações humanas serem aversivas, há uma tendência de aumentar o nível de medo dos animais pelos humanos (PAJOR; RUSHEN; PASSILÉ, 2000).

Segundo Costa (2000), o estudo do comportamento animal (Etologia) assume uma função importante para a compreensão das necessidades do bovino, bem como dos seres humanos e as relações com esses animais.

Mudanças no comportamento dos animais foram observadas por seres humanos desde a domesticação de animais selvagens a milhares de anos atrás. O processo de domesticação levou a uma diminuição da valorização das influências ambientais sobre os animais e uma maior tolerância psicogênica de estímulos estressantes (HEMMER, 1990). Em suma, os animais domésticos evoluíram para tolerar a interação humana e, portanto, seu padrão de comportamento mudou (OLIPHINT, 2006).

Os bovinos são animais herbívoros de manada, como os cavalos e ovelhas, sendo considerados animais de presa (GRANDIN, 1997). Em vida livre, vivem em áreas de pasto, sem um território fixo e com comportamento de grupo fortemente desenvolvido (GREGORY, 2003).

De acordo com Barbosa Silveira (2005), com o crescimento da população mundial a partir do século XX, a utilização de animais aumentou significativamente, tornando as criações mais intensivas, alterando substancialmente o ambiente disponível para os animais. No entanto, a intensificação das criações exigiu adaptações fisiológicas e comportamentais dos animais, as quais devem ser levadas em consideração para avaliar o sistema de manejo (LE NEINDRE; BOIVIN; BOISSY, 1996).

Peters et al. (2010) considera que um bom tratador sempre deverá estar atento ao comportamento e às necessidades fisiológicas, de segurança e comportamentais dos animais sob sua responsabilidade.

Um dos aspectos do comportamento bovino que despertou interesse foi a reatividade, avaliada pelas reações dos animais a diferentes situações de manejo, sendo tais reações invariavelmente associadas a estímulos ocasionados pela presença humana (BOIVIN et al., 1992).

A reatividade é um dos aspectos do temperamento e define-se pela qualidade ou estado daquele que protesta ou luta, sendo sua expressão dependente de vários componentes como, por exemplo, a intensidade do estímulo e o significado do estímulo para o indivíduo, a motivação e a intensidade de resposta (PIOVEZAN, 1998).

Segundo Peters et al. (2010), vacas manejadas de forma aversiva são mais reativas e agitadas, podendo resultar em dificuldades no manejo de ordenha, bem como produzir menos leite. Os animais mais reativos tendem a ingerir menos alimento e são propensos a ganhar menos peso do que os calmos (BARBOSA SILVEIRA, 2005).

Breuer, Hemsworth e Coleman (2003), investigando os efeitos do manejo positivo e negativo no estresse e comportamento de novilhas não-lactantes encontraram que o manejo negativo aumentou as concentrações de cortisol 5, 10 e 15 minutos após a exposição ao humano, bem como as concentrações de cortisol livre, quando comparado ao manejo positivo das novilhas. Observaram ainda que o manejo negativo resulta em uma resposta de estresse agudo na presença de humanos e também pode levar a um estresse crônico, pois a resposta comportamental dos animais pode se estender a outros humanos pelo processo de generalização do estímulo.

Contatos regulares e em longo prazo também podem ter efeitos sobre as respostas de estresse crônico. Hemsworth, Price e Borgwardt (1996) encontraram pesos elevados das adrenais, considerado como um sinal de estresse crônico, em suínos que receberam contatos "negativos". Em estudo desenvolvido por Bouissou (1972), animais subordinados tinham supra-renais significativamente mais pesadas do que os dominantes, indicando maior produção dos hormônios do estresse (os corticosteróides). Desta forma, o nível do estresse depende não só do agente estressor, mas também da posição social que o animal ocupa no rebanho, podendo causar efeitos ainda mais negativos na produtividade e bem-estar animal.

2.2 Estresse Animal

Selye (1973) definiu o estresse como sendo uma resposta não específica do organismo para qualquer exigência sobre este, em que o indivíduo responde com uma resposta homeostática estereotipada. Fatores indutores de estresse podem ter origem física como a privação de alimentos, fadiga ou inadequada temperatura ambiente, mas também podem ter origem psicológica como perturbação do grupo social, presença de seres humanos ou exposição a ambientes novos (TERLOUW et al., 2008).

As alterações comportamentais de estresse são rápidas, especialmente em situações agudas que revelam medo e refletem o sentimento dos animais para evitar o agente estressor (PASSILLÉ, 1995). A ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em resposta a estímulos externos é um importante mecanismo de sobrevivência para manter a homeostase dos organismos (KING et al., 2006).

Estudos feitos por Ferguson e Warner (2008) descrevem que, em situações de estresse os animais podem ter também taquicardia, redistribuição sanguínea de vísceras a músculos esqueléticos e cérebro, respostas comportamentais como estados de alerta, imobilização, agressões e fuga são evidentes.

Dessa forma, o estresse pode ser medido e monitorado em termos de alterações fisiológicas e comportamentais, podendo ser um indicativo para o estado de bem-estar do indivíduo. A resposta ao estresse requer uma progressão de eventos que começam com a detecção e sinalização de vários mecanismos biológicos ameaçando a existência do animal. Estes eventos são seguidos pela

ativação de mecanismos neurofisiológicos para resistir e evitar danos maiores ao organismo (EWING; LAY; VON BORELL, 1999).

O medo pode elevar os hormônios associados com o estresse a níveis mais altos que muitos fatores físicos adversos, como as instalações. Isto ocorre devido à elevação nas concentrações basais do cortisol (hormônio do estresse) ou ampliação das glândulas adrenais, junto com depreciação o crescimento e queda no desempenho reprodutivo e produtivo (HEMSWORTH e COLEMAN, 1998).

Quando o gado se agita durante o manejo, isto se deve ao medo, fator altamente estressante e, para os animais os sons, locais e visões, agem como indutores do sinal de perigo quando os animais são confrontados com o desconhecido (GRANDIN, 2000).

2.2.1. Classificação do estresse

Considerando ser o estresse uma resposta homeostática estereotipada do organismo para qualquer exigência sobre este, o estresse foi classificado por Selye (1955 apud BARBOSA SILVEIRA, 2005), em três estágios, reação de alarme, estágio de resistência e estágio de exaustão.

2.2.1.1. Reação de alarme ou mobilização das defesas

Neste estágio iniciam-se as modificações dos processos fisiológicos visando à normalidade orgânica. O estímulo primário da área hipotalâmica do cérebro é transmitido por vias do sistema nervoso simpático aos órgãos e a medula da adrenal. A secreção de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) é aumentada e eleva os efeitos simpáticos diretos do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), que incluem: aumento da frequência cardíaca, aumento da pressão sanguínea (devido a vasoconstrição), redução do tônus da musculatura lisa dos brônquios, as pupilas se dilatam, aumento do estado de alerta devido a ação estimulante das catecolaminas, aumento do nível plasmático de glicose e de ácidos graxos livres e aumento do consumo de energia. O resultado da reação de alarme será uma resposta motora voluntária, incluindo a fuga, luta, esforço de escape, corrida, postura defensiva, vocalização e comportamento agonístico (FOWLER, 1986; GUYTON e HALL, 2002).

2.2.1.2. Estágio de resistência

O estágio de resistência também considerado como o estresse crônico – as respostas adrenérgicas da reação de alarme desaparecem, apesar do sistema adaptar-se ao estressor, a córtex da adrenal continua sendo estimulada e torna-se hipertrofiada, mantendo uma alta produção de glicocorticóides. Esta estimulação contínua da córtex da adrenal e a subsequente produção excessiva de glicocorticóides (cortisol, cortisona e corticosterona) e mineralocorticóides (aldosterona) podem causar muitas respostas adversas, tanto psicológicas como físicas. As mudanças de comportamento incluem o aumento da agressividade e tendência anti-social (FOWLER, 1986; GUYTON e HALL, 2002).

2.2.1.3. Estágio de exaustão

O estágio de exaustão caracteriza uma situação limite de estresse, onde suas reservas de glicocorticóides serão insuficientes para responder a uma elevação do estresse, devido tanto a uma intensificação da situação preexistente ou do acúmulo de novos estímulos. O córtex adrenal torna-se exaurido e a produção de glicocorticóides e mineralocorticóides cessa. A morte por insuficiência do córtex adrenal ocorre como um evento súbito ou seguido de um período de estupor que pode durar cinco dias, sendo resultado de: redução da gliconeogênese e glicogenólise, sinais gastrointestinais como anorexia, incapacidade renal de excretar uma sobrecarga aquosa e reduzida sensibilidade vascular às catecolaminas (FOWLER, 1986; GUYTON e HALL, 2002).

O modelo de estresse animal desenvolvido por Moberg (2000) sugere uma resposta biológica ao estresse, a partir de três estágios gerais:

- 1) reconhecimento de um estímulo estressante;
- 2) defesa biológica contra o estímulo estressante;
- 3) conseqüências da resposta ao estresse.

A resposta ao estresse começa com a percepção de uma ameaça potencial (estímulo estressante) à homeostase pelo sistema nervoso central. Percebida a ameaça, o organismo desenvolve uma resposta biológica ou defesa, consistindo em uma combinação de quatro respostas gerais: resposta do comportamento, do sistema nervoso autônomo, do sistema neuroendócrino e imunológica. O conjunto

das respostas de defesa do organismo causa mudanças biológicas significantes no animal para aliviar a ameaça percebida. O último estágio de resposta ao estímulo é que determinará se o animal está sofrendo de estresse ou meramente experimentando um episódio breve em sua vida sem nenhum impacto significativo ao bem-estar.

2.2.2. Respostas do estresse

2.2.2.1. Resposta do Sistema Nervoso Autônomo

O sistema nervoso parassimpático mantém a homeostase, sendo o principal responsável pela conservação de energia e relaxamento durante o estresse, as atividades parassimpáticas são hostilizadas pela atividade simpática que mobilizam a energia durante o estresse (PORGES, 1995).

Numa situação de estresse, a estimulação simpática faz com que sejam liberadas as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) pela medulas das glândulas supra-renais na circulação, as quais irão estimular todas as células que tiverem receptores adrenérgicos, preparando o organismo do animal para lutar ou fugir (GUYTON e HALL, 2002).

De modo geral, o sistema nervoso simpático afeta diversos sistemas biológicos, incluindo o sistema cardiovascular, o sistema gastrintestinal e as glândulas exócrinas, provocando alteração na atividade cardíaca, pressão sanguínea, diminuição do peristaltismo e secreções, diminuindo a excreção de urina, regulação da secreção pancreática, sudorese, aumento da concentração de glicose sanguínea, entre outros efeitos (GUYTON e HALL, 2002).

2.2.2.2. Resposta do sistema neuroendócrino

Em contraste aos efeitos do SNA, os hormônios secretados no sistema neuroendócrino (hipotálamo-hipófise) têm um efeito duradouro no organismo. A secreção destes hormônios é alterada direta ou indiretamente durante o estresse (MATTERI; CARROL; DYER, 2000).

A resposta neuroendócrina ao estresse mais conhecida e consistente é a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, iniciando com a liberação do hormônio

liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, o qual estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, que estimulará o córtex da glândula supra-renal a liberar os hormônios glicocorticóides, poucos minutos após sua estimulação (VALE et al., 1981).

O cortisol (hormônio glicocorticóide) apresenta um efeito de retro estimulação negativo no hipotálamo, onde diminui a formação de CRH, e também sobre a hipófise para diminuir a formação de ACTH. Estes efeitos auxiliam no controle e regulação da concentração plasmática do cortisol, ou seja, quando a concentração se eleva, os efeitos de retro estimulação automaticamente reduzem o ACTH a um nível normal de controle. A resposta do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao estresse promove a síntese e liberação de glicocorticóides pelo córtex adrenal, que em conjunto com as catecolaminas da medula da adrenal, induzem a glicólise, lipólise e catabolismo de proteínas. Assim, estas alterações metabólicas proporcionam ao organismo condições de restabelecer o seu equilíbrio (homeostase), por intermédio da produção e mobilização dos substratos energéticos durante o estresse (GUYTON e HALL, 2002).

2.2.2.3. Resposta do Sistema Imunológico

Na reação simpática da fase de alarme do estresse é onde ocorre maior secreção de hormônios antiinflamatórios, como por exemplo, um dos corticosteróides, a desoxicorticosterona. Este corticóide produz um aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial, bem como um aumento da frequência respiratória e dilatação dos brônquios, permitindo assim maior circulação de sangue e maior oxigenação dos tecidos. De acordo com Dukes (1993), os glicocorticóides promovem a lise do tecido linfóide e redução dos linfócitos e eosinófilos circulantes. Assim, o aumento da incidência de doenças em animais devido ao estresse pode ser atribuído à supressão do sistema imunológico (DUNN, 1989).

Quando quantidades muito grandes de cortisol são secretadas pelo organismo, o hormônio exerce dois efeitos antiinflamatórios básicos: primeiro bloqueando os estágios iniciais do processo inflamatório, segundo causa rápida resolução do processo, aumentando a velocidade de cicatrização.

Efeitos do cortisol no sistema imune incluem estabilização das membranas lisossômicas; diminuição da permeabilidade capilar; supressão do sistema

imunológico e baixa a febre, que reduz a vasodilatação (BARBOSA SILVEIRA, 2005). De modo geral, podemos dizer que, num primeiro momento, as supra-renais aumentam a secreção de noradrenalina, preparando o organismo para a ação, em seguida passa a liberar a adrenalina e, por fim o cortisol. É nessa fase do cortisol que já podemos antever uma possível exaustão geral.

2.2.3 Marcadores Metabólicos do Estresse

As maiores alterações de estresse envolvem secreção de glicocorticóides e aumento da atividade do sistema nervoso simpático. O controle sincronizado do hipotálamo, hormônios liberadores de ACTH e de catecolaminas resulta em manifestações bioquímicas e fisiológicas de estresse (NOCKELS, 1990).

A principal função do córtex supra-renal consiste em produzir hormônios glicocorticóides e mineralocorticóides, dos quais o cortisol e a aldosterona tem grande importância no processo de estresse. O estresse provoca um aumento dos níveis de cortisol livre no plasma sanguíneo, cujas concentrações plasmáticas variam amplamente, porém, o estímulo da hipófise e adrenal estão associados ao aumento dos níveis de cortisol, glicose e ácidos graxos livres no plasma (DICKSON, 1996). Podendo ocorrer ainda aumento de neutrófilos e diminuição de linfócitos, eosinófilos e monócitos (GRIGOR *et al.*, 1999, KNOWLES, 1999, GRANDIN, 2000).

A concentração de cortisol tem sido uma medida de resposta de estresse em humanos e animais. Temperamentos negativos ou indesejáveis têm sido associados com aumento das concentrações séricas de cortisol em bovinos (STAHRINGER; RANDEL; NEUENDORFF, 1990; CURLEY *et al.*, 2006). A liberação de cortisol pelo córtex adrenal está associada com estímulos de estresse e tem impacto negativo significativo sobre o desempenho animal, a imunidade, qualidade da carne e maciez da carne (LACOURT; TARRANT, 1985; FELL *et al.*, 1999, VOISINET *et al.*, 1997; KING *et al.*, 2006).

Em resposta a uma situação estressante, a liberação de cortisol resulta em uma concentração elevada de glicose no plasma através de uma maior glicogenólise hepática e gliconeogênese aumentando o catabolismo (SHAW; TUME, 1992).

A glicose é o único açúcar do sangue, seus níveis sanguíneos são mantidos através dos hormônios insulina e "glucagon" que a remove e a libera, respectivamente, na circulação sanguínea. O metabolismo do ruminante se

caracteriza por elevada demanda de glicose, razão porque os principais distúrbios ligados à glicose são caracterizados por hipoglicemia como na cetose e toxemia. Entretanto, em situações de estresse, excitação, transporte e lesões pancreáticas, ocorre hiperglicemia (COLES, 1984) em decorrência da liberação de catecolaminas e glicocorticóides endógenos (DAYREL et al., 1973).

O armazenamento da glicose se dá na forma de glicogênio que possui papel fundamental na formação do ácido láctico no processo de transformação do músculo em carne. Nas circunstâncias de luta ou fuga, em resposta aos agentes estressores, há um aumento considerável na exigência de energia para o trabalho muscular, com isso, o organismo passa a gastar a glicose anaerobicamente e o glicogênio. Logo o estoque de glicogênio muscular começa a se esgotar, com isso não haverá formação de ácido láctico suficiente para a diminuição do pH post mortem, resultando em uma carne com qualidade inferior, portanto, o declínio no pH depende da habilidade para formação de lactato, a partir do glicogênio disponível (BENDALL, 1973 apud LUDTKE, 2008).

Segundo Moberg (1996), mudanças fisiológicas associadas ao estresse estão relacionadas com mudanças nas concentrações sanguíneas de cortisol, glicose, ácidos graxos voláteis (β -Hidroxiacetato) e hematócrito, além de indicadores enzimáticos como a creatinafosfoquinase (CK).

Os hormônios relacionados ao estresse podem alterar funções metabólicas no tecido adiposo e no fígado. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) é uma das vias endócrinas que promove lipólise aumentando os níveis de ácidos graxos livres (AGL) no sangue, além de indiretamente causar hiperglicemia. Assim, a lipólise e, conseqüentemente, os níveis de AGL e de glicose podem ser considerados marcadores confiáveis para a resposta individual a diferentes tipos de estresse. (MELLO, 2007).

2.3 Jejum pré-abate

Dentre os agentes estressores presentes no manejo pré-abate dos animais podemos citar o tempo de jejum. Alguns autores como Lyon, Papa e Wilson (1990), Apple et al. (1993), Warriss et al. (1994) afirmam que, em aves, ovinos e suínos as privações de alimentos por mais de 24 horas tem ação estressora.

De acordo com Warriss (1992) os tempos de jejum pré-abate exercem um efeito direto sobre o bem-estar animal e indireto sobre a qualidade da carne. Lister, Gregory e Warriss (1981) afirmam que períodos de jejum de até três dias diminuem os lipídios e glicogênio hepático.

O tempo prolongado de privação de alimento, além de afetar os indicadores sanguíneos de estresse, pode provocar perdas de peso e também alterações na qualidade da carne (GALLO; GATICA, 1995; GALLO et al., 2003).

Em ruminantes o jejum geralmente tem menos efeitos do que em outras espécies, porque o rúmen funciona como um reservatório de nutrientes e ácidos graxos voláteis (WARRISS, 1990). No entanto, a diminuição das reservas de energia pode levar a depleção do glicogênio hepático e muscular, o que facilita o aparecimento de problemas na qualidade da carne, como os cortes escuros.

Galyean, Wagner e Owens (1981) encontraram que a resposta ao estresse do jejum somente difere, significativamente, considerando jejum associado ao transporte, já que este último impõe efeitos adicionais detectáveis na bioquímica sanguínea.

Em estudo realizado por Tadich et al., (2005) com animais transportados por 3 e 16 horas, e em seguida, mantidos em jejum por 3, 6, 12 e 24 h, foi identificado que aqueles animais submetidos a um curto período de transporte não apresentavam diferenças entre eles em relação ao tempo de jejum ao qual foram submetidos. Entretanto, aqueles que tiveram um transporte longo (16 h), apresentaram diferenças em relação ao tempo maior de jejum, ocorrendo um aumento significativo das concentrações de betahidroxibutirato (3-HBA) e uma diminuição significativa da glicose naqueles animais com jejum de 24 h em relação aos outros tempos de jejum. Aparentemente, o jejum nos ruminantes, quando não excede as 12 h não apresenta maiores mudanças nas variáveis sanguíneas, mas este jejum pode estar influenciado pelo transporte prévio dos animais e as condições (ambientais e físicas) em que estes se mantêm no período pré-abate.

Cockram e Corley (1991) também encontraram que aqueles animais que permaneciam por maior tempo nos currais de espera apresentaram maiores alterações nas variáveis sanguíneas. No entanto, eles acreditam que as alterações podem ser atribuídas, além do jejum, a qualidade do manejo dos animais durante o período de descanso pré-abate.

Horton et al. (1996) também investigaram o efeito do transporte associado ao jejum frente ao jejum somente em ovinos, encontrando que as concentrações de cortisol sanguíneo foram mais altas nos animais que sofreram transporte e jejum em comparação com os que somente jejuaram, o que estaria indicando um estresse adicional do transporte.

Resultados similares foram encontrados por Tadich et al. (2003) em bovinos, registrando maiores aumentos das concentrações de VGA, glicose e creatinafosfoquinase (CK) em novilhos sem alimento e transportados em caminhão do que naqueles confinados em currais isoladamente privados de alimento por igual tempo.

Desta forma, pode ser observado que o jejum prolongado por si só (nos currais, sem transporte) não tem efeito significativo em ruminantes, entretanto, o jejum combinado com transporte prolongado resulta em efeito prejudicial para o bem-estar animal, devido a mudanças consideráveis identificadas nas concentrações de variáveis sanguíneas indicadoras de estresse em animais destinados ao abate (TADICH et al., 2003).

No Brasil, em conformidade com o artigo 110º do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitário de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, o gado tem de ser submetido a um período de descanso, jejum e dieta hídrica no abatedouro por 24 h, podendo esse tempo ser reduzido em função da distância percorrida (BRASIL, 1997). No entanto, há poucos estudos que justifiquem essa cláusula.

2.4 Bem-estar animal e Abate Humanitário

O bem-estar animal é uma área em expansão que produz e divulga informações sobre a biologia dos animais, especialmente, sobre sua capacidade de percepção, necessidades, preferências e respostas comportamentais perante determinadas formas de tratamento, havendo uma associação direta do manejo pré-abate, seja na propriedade, transporte dos animais, ou no frigorífico com a qualidade da carne (MENDEL, 1998).

Conforme Grandin (1996) há basicamente cinco causas de problemas com o bem-estar animal nos matadouros-frigoríficos:

a) estresse provocado por equipamentos e métodos impróprios que proporcionam excitação, estresse e contusões;

- b) transtornos que impedem o movimento natural do animal, como reflexo da água no piso, brilho de metais e ruídos de alta frequência;
- c) falta de treinamento de pessoal;
- d) falta de manutenção de equipamentos, como conservação de pisos e corredores;
- e) condições precárias pelas quais os animais chegam ao estabelecimento, principalmente devido ao transporte.

O reconhecimento destes indicadores de bem-estar animal não é tão simples, por nem sempre estarem evidentes em uma mera observação, com isso, frequentemente, seu diagnóstico é tardio, sendo identificado através de contusões na carcaça e problemas de qualidade da carne, percebidos após a morte do animal. Assim, é importante considerar que os indicadores de bem-estar animal devem ser definidos com oportunidade, objetividade e exeqüibilidade (BARBALHO, 2007).

Produzir uma carne de qualidade envolve diversos setores, desde a criação do animal conforme a fisiologia do seu padrão racial, passando pelo tipo de alimentação, manejo e as práticas utilizadas durante o processo de abate. De acordo com Santos et al. (2002), sistemas de controle sanitário do rebanho e de classificação de carcaça, que atestam a qualidade da carne, têm sido adotados para cumprir exigências legais e agregar maior valor comercial aos produtos.

Os países importadores de proteína animal, principalmente os países com maior capital, em especial a União Européia, seguido pelo Canadá e Estados Unidos da América, também estão exigindo melhores condições de produção, transportes e abate, a fim promover o bem-estar animal (ZANELLA, 2007) (informação verbal)¹.

Assim, é importante ressaltar que algum tipo de alteração do estado fisiológico ou comportamental do animal poderá comprometer o seu bem-estar e prejudicar toda a cadeia produtiva por meio de implicações negativas ao consumidor final pela qualidade da carne (MOLENTO, 2005). Luchiari Filho (2000) afirmou que todo e qualquer estresse imposto ao animal na fase *ante mortem* terá efeito na qualidade da carne.

De acordo com Warriss (2000), as pessoas desejam comer carne com “qualidade ética”, isto é, carne de animais que tenham sido criados, tratados e

¹ ZANELLA, Adroaldo J. Tendências e desafios relacionados ao bem estar animal, Seminário. Concórdia, 2007.

abatidos em sistemas que promovam o bem-estar, mas que também sejam sustentáveis e ambientalmente corretos.

Devido a estas constatações, identificar parâmetros que assegurem o bem-estar dos animais tornou-se uma necessidade, assim como o desenvolvimento de melhorias nos procedimentos de abate, caracterizando o Abate Humanitário como forma de certificar estes processos. As indústrias por sua vez, encontram dificuldades em estabelecer alguns critérios referentes a estas avaliações devido a insuficiente disponibilidade de informações a respeito do metabolismo do estresse e seus efeitos na qualidade da carne.

Segundo Roça (2001) o abate humanitário pode ser definido como o conjunto de procedimentos técnicos e científicos que garantem o bem-estar dos animais desde o embarque na propriedade rural até a operação de sangria no abatedouro. Reforça ainda que as condições humanitárias não devem prevalecer somente no ato de abater o animal e sim nos momentos precedentes ao abate (GRACEY e COLLINS, 1992 apud ROÇA, 2002).

Em 17 de janeiro de 2000 foi aprovada a Instrução Normativa Nº 3 – Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização Para o Abate Humanitário de Animais de Açougue, que tornou obrigatório o uso dos métodos de Abate Humanitário e regulamentou as condições mínimas a serem exigidas em um estabelecimento de abate visando o bem estar e conforto para evitar dor e sofrimento dos animais (BRASIL, 2000).

As etapas de transporte, descarga, descanso, movimentação, insensibilização e sangria dos animais são de fundamental importância para o processo de abate dos animais, devendo-se evitar todo o sofrimento desnecessário. Neste sentido, o treinamento, a capacitação e a sensibilidade dos indivíduos envolvidos nestes procedimentos são fundamentais (CORTESI, 1994).

Quedas ou escorregões dos animais durante o manejo são indicativos de instalações deficientes e/ou de um manejo ruim. Em instalações adequadas, apenas 1% dos animais podem cair e 3% escorregar (GRANDIN, 2001).

Estudos de Grandin (1998) revelam que as vocalizações dos animais durante a condução ao chuveiro e ao boxe de atordoamento, bem como durante o manejo de atordoamento, têm alta correlação com eventos aversivos. Das vocalizações durante a condução, 98% estiveram associadas ao uso do bastão

elétrico, falhas no atordoamento, escorregões, quedas ou pressão excessiva de um dispositivo de contenção.

Métodos adequados de insensibilização são imprescindíveis para garantir o sucesso do abate humanitário, nesta etapa os pontos mais importantes são o correto funcionamento do equipamento e a precisão da execução da tarefa pelo atordoador.

Para Ludtke et al. (2010) é necessário avaliar se os bovinos apresentam os seguintes sinais de uma insensibilização eficiente logo depois do disparo da pistola: queda imediata, ausência de vocalização, ausência de reflexo de endireitamento (tentativa de levantar), ausência de reflexo corneal e palpebral, pupila dilatada, olhar fixo e vidrado, ausência de respiração rítmica (movimentos coordenados no flanco ou focinho), relaxamento da mandíbula e exposição da língua, membros dianteiros estendidos (estaqueamento) e membros traseiros em algumas situações se movimentam de forma não coordenada (pedaleio).

Em suma, o atordoamento consiste em colocar o animal em um estado de inconsciência, que perdure até o fim da sangria, não causando sofrimento desnecessário e promovendo uma sangria tão completa quanto possível (GIL; DURÃO, 1985).

A operação de sangria deve ser iniciada logo após a insensibilização do animal, de modo a provocar um rápido, profuso e mais completo possível escoamento do sangue, antes que o animal recupere a sensibilidade. A operação de sangria é realizada pela secção dos grandes vasos do pescoço, no máximo um minuto após a insensibilização (BRASIL, 2000).

2.5 Qualidade da Carne

A qualidade dos alimentos apresenta fundamental importância para o sucesso das empresas. O mercado consumidor mostra-se cada vez mais exigente por produtos de qualidade, em carnes o cenário não é diferente.

A partir da procura por melhor qualidade de carne pelos mercados nacionais, internacionais e a competitividade com outras fontes de proteína, fez-se necessário o estudo de novas maneiras de se obter qualidade de carne com níveis aceitáveis de maciez, palatabilidade e suculência (MORAES; SANTOS, 2008).

Para atender a demanda de um consumidor moderno e muito seletivo, é necessário a adaptação da cadeia produtiva de modo a obter maior valor nutritivo, sanidade e características organolépticas (FELICIO, 1999).

Segundo Lawrie (2005) a parada da circulação sanguínea, no momento da morte, inicia uma complexa série de mudanças no tecido muscular. O músculo passa a utilizar a via anaeróbica, com o objetivo de obter energia para um processo contrátil desorganizado; com isso há transformação de glicogênio em glicose, e como a glicólise é anaeróbica, gera lactato e verifica-se a queda do pH (BENDALL, 1973). Esse processo inicia-se logo após o abate e quando ocorre deficiência de glicogênio no músculo, o pH final não se apresenta dentro dos padrões de qualidade. Níveis de pH acima de 5,9 tendem a produzir carnes mais escuras, firmes e seca (D.F.D. – *dark, firm and dry*), reduzindo drasticamente o tempo de vida útil do produto (CHIQUITELLI NETO, 2004).

Costa et al. (2002) definiram que as etapas pelas quais o consumidor costuma avaliar a qualidade da carne são, em princípio, a cor do músculo e da gordura de cobertura, seguidas por aspectos envolvidos no processamento, como perda de líquidos no descongelamento e na cocção e, finalmente, são avaliadas as características de palatabilidade, suculência e a principal, que é a maciez.

A cor da carne reflete a quantidade e o estado químico do seu principal pigmento, a mioglobina (Mb). A quantidade de Mb num determinado corte de carne bovina varia principalmente com a atividade física dos músculos que o compõem e a maturidade fisiológica do animal ao abate. Alguns músculos são mais solicitados do que outros e, como conseqüência, apresentam grande proporção de fibras (células) vermelhas entre as fibras brancas, essas últimas sempre em maior número. Os bovinos terminados a pasto exercitam-se mais e, geralmente, são abatidos com maior idade; assim, por exercício e maturidade, sua carne tem maior concentração de Mb e, conseqüentemente, maior saturação da cor vermelha do que a dos confinados. A carne de touros também tem maior concentração de Mb, quando comparada à de novilhos e novilhas.

O estado químico da Mb depende da valência do íon ferro localizado no interior do heme (anel de porfirina). Quando o íon ferro se encontra no estado reduzido (ferroso, Fe⁺²), ele pode se ligar a uma molécula de água ou de oxigênio molecular. Na ausência de oxigênio molecular, como ocorre no interior das peças ou nas carnes à vácuo, decorridas 8 – 12 horas do fechamento da embalagem, o íon

Fe+2 combina-se com a água, a Mb torna-se desoxi-Mb e adquire uma coloração vermelho-escura, de baixa luminosidade; mas quando o ion Fe+2 se liga ao oxigênio do ar, nas situações de exposição em embalagem permeável aos gases, ou ainda nas atmosferas controladas, a Mb transforma-se em oxi-Mb (MbO₂) e a carne bovina adquire uma atraente coloração vermelho-cereja, de maior luminosidade.

Por outro lado, quando o íon ferro do heme se oxida (estado férrico, Fe+3) sob baixa tensão de oxigênio, que se verifica em embalagem semipermeável e nas situações em que nem a ausência nem a presença de oxigênio é total, a Mb transforma-se em metamioglobina (meta-Mb) marrom, indesejável do ponto de vista comercial. A meta-Mb assim formada ainda pode ser revertida a desoxi-Mb e, em seguida, oxigenada. Entretanto, no caso da meta-Mb formar-se por exposição prolongada à luz e ao oxigênio, a redução de Fe+3 a Fe+2 já não será possível (FELÍCIO, 1999).

Outra característica importante na qualidade da carne é a capacidade de retenção de água (CRA) definida como a capacidade da carne reter sua água durante a aplicação de forças externas, tais como, cortes, aquecimento, trituração e prensagem. Diversos fatores aumentam a CRA, como pH elevado, glicólise post mortem lenta (degradação do ATP), resfriamento rápido da carcaça antes da instalação do rigor mortis, armazenamento a temperatura próxima a 0°C, mínima superfície de corte, corte ao longo das fibras, pouca pressão das películas que envolvem as carnes quando empacotadas e músculos com mais gordura intramuscular podem ter uma maior CRA. É possível que a gordura intracelular se perca até a microestrutura, permitindo desta forma a retenção de uma maior quantidade de água (LAWRIE, 2005).

De acordo com Paz e Luchiari Filho (2000), dentre as características de qualidade da carne bovina, a maciez assume posição de destaque, sendo considerada como a característica organoléptica de maior influência na aceitação da carne por parte dos consumidores.

Os fatores e os mecanismos responsáveis pelas modificações que ocorrem durante a maturação da carne são ainda desconhecidos e por isso, geram muita controvérsia (KOOHMARAIE; GEESINK, 2006).

Têm sido sugeridos fatores e mecanismos de natureza muito variada para o processo de maturação da carne, tais como fatores físico-químicos (pH, pressão osmótica, íons cálcio e processos oxidativos), enzimas sem atividade peptidásica

(enzimas glicolíticas, ATPases e glicosidasas) e peptidases (catepsinas, calpaínas, complexo endopeptidásico multicatalítico e outras endopeptidases musculares (KOOHMARAIE, 1994).

Os fatores que podem afetar a maciez da carne têm duas origens:

- Fatores *ante-mortem*: idade, sexo, nutrição, exercício, estresse antes do abate, presença de tecido conjuntivo, espessura e comprimento do sarcômero;
- Fatores *post-mortem*: estimulação elétrica, *rigor mortis*, esfriamento da carcaça, maturação, método e temperatura de cozimento, e pH final.

Smulders et al. (1992) destaca que após 24 h *post-mortem* é observado um aumento na maciez em consequência da degradação enzimática do tecido muscular. A temperatura de armazenamento pode afetar esta degradação enzimática, porém outros fatores incluindo o pH, o tipo de fibra muscular, a quantidade e o grau de ligações cruzadas e espécie animal também são importantes a essa degradação causada por enzimas proteolíticas.

Outro fator determinante na maciez da carne é a raça do animal, exercendo grande influência sobre o sabor e maciez da carne. Koohmaraie, Kent e Shackelford (2002) afirmam que a atividade catalítica das enzimas proteolíticas é inibida pela calpastatina, cuja atividade em músculos de animais *Bos indicus*, é mais intensa que em *Bos taurus* (RUBENSAM; FELICIO; TERMIGNONI, 1998).

Além disso, o temperamento natural da raça e o seu manejo têm influência direta sobre a maciez da carne. Estudos feitos por Barbosa Silveira, Fischer e Soares (2006) comprovam que o gado mais calmo produz carne de melhor qualidade em relação ao gado mais agitado.

Portanto, não basta ter a melhor genética, uma alta produtividade, uma nutrição equilibrada e de boa qualidade, se o manejo com os animais for incorreto (OLIVEIRA; BORTOL; BARCELLOS, 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e período

O experimento foi realizado no abatedouro frigorífico Famile sob Inspeção Estadual da Coordenadoria de Inspeção Sanitária de produtos de origem animal (CISPOA) localizado na cidade de Pelotas – RS, em condições comerciais. O estabelecimento possui capacidade de abate de 150 animais dia, comercializando seus produtos, desossados, congelados ou resfriados e embalados em todo estado do RS.

O trabalho foi desenvolvido no período de novembro de 2009 a maio de 2010.

3.2 Unidades experimentais

Foram utilizados 33 novilhos castrados, cruzas Aberdeen Angus com 24 meses de idade e peso médio de 450 kg com procedência, tempo e condições de viagem semelhantes. Os animais foram aleatoriamente separados de acordo com o período de jejum pré-abate em quatro grupos, assim denominados:

- Grupo 1 (n=5): 48 horas
- Grupo 2 (n=8): 18 horas
- Grupo 3 (n=10): 24 horas
- Grupo 4 (n=10): 12 horas

3.3 Avaliações bioquímicas

Para a avaliação dos indicadores fisiológicos de estresse, foram realizadas coletas de sangue, em tubo de ensaio contendo fluoreto de sódio para a análise de glicose, e em tubos sem adição de anticoagulantes para extração de soro, com o objetivo de analisar os níveis de cortisol, em três momentos.

Os animais foram contidos em bretes para efetuar a coleta do sangue da veia caudal, a atividade foi realizada pela mesma pessoa, utilizando as mesmas instalações para todos os animais de forma a desencadear a menor reação de estresse possível.

Este procedimento foi realizado no momento da chegada dos animais ao abatedouro, avaliando-se o efeito do estresse da viagem, e repetido após o período de jejum, momentos antes do abate, para obtenção do perfil metabólico dos animais neste momento. E, por último, foi realizada uma coleta no momento da sangria, após a secção dos grandes vasos para avaliar o estresse no momento da insensibilização.

Os tubos contendo sangue foram centrifugados para a extração do soro, as amostras foram congeladas a -80°C , e posteriormente enviadas ao laboratório para análise dos níveis de cortisol através do método de eletroquimioluminescência (ECLIA) com a utilização dos analisadores Elecsys Roche[®].

Os tubos contendo sangue com adição de fluoreto de sódio foram centrifugados para a obtenção do plasma, com posterior determinação dos níveis de glicose através de Kits comerciais Labtest[®], pelo método da Glicose Oxidase (Glicose PAP Liquiform – Labtest Diagnóstica S.A., Brasil).

3.4 Avaliação comportamental

O embarque e transporte dos animais foram avaliados através de planilha específica preenchida pelos motoristas dos caminhões, com descrição completa da viagem (Anexo 1), com o objetivo de homogeneizar os animais posteriormente avaliados, bem como foi acompanhada a chegada, o desembarque e permanência dos animais nos currais de espera.

As avaliações individuais de reatividade dos animais foram feitas de acordo com a metodologia descrita por Hearnshaw e Morris (1984), verificando o

temperamento através do teste de aproximação utilizando uma escala de zero a cinco, onde:

- 0= animal estático, muito quieto, sem apresentar resistência a aproximação;
- 1= geralmente quieto, com alguma resistência e movimentação constante;
- 2= agitado com movimentos levemente excitados, tentativa de afastamento;
- 3= excitado com movimentos vigorosos, tentativa de fuga;
- 4= muito agitado, amedrontado, movimentos selvagens, pulando muito;
- 5= totalmente resistente à aproximação, intratável e perigoso.

Os animais foram dirigidos individualmente a um curral com aproximadamente 75 m² e permaneceram os primeiros 10 segundos sozinhos, após o avaliador entrou e tentou aproximar-se do animal, anotando o escore correspondente ao comportamento apresentado.

3.5 Análises qualitativas da carne

A leitura do pH foi realizada 24 horas após abate, com o medidor de pH portátil Analion Mod. PM 602, no músculo Longissimus dorsi entre a 12 e 13 costela. O aparelho foi calibrado momentos antes da realização das medidas no local da coleta. A medição foi feita no momento da saída das carcaças da câmara fria, sendo que estas foram serradas na região medial às costelas, neste momento foram coletados 400 gramas do músculo *Longissimus Dorsi* para as avaliações de coloração, capacidade de retenção de água e maciez.

Para avaliar a coloração, foi utilizado o aparelho colorímetro Minolta (Minolta Chroma Meter CR-300, Minolta Corp., Ramsey, NJ), estimando-se os valores de L*, a*, b*, do sistema CIELab, onde L* é o croma associado à luminosidade (L* =0 preto, 100 branco), a* é o croma que varia do verde (-) ao vermelho (+), e b*, que varia do azul (-) ao amarelo (+) (HOUBEM e. al., 2000). Para a leitura no colorímetro, as amostras foram deixadas em repouso, com a superfície exposta ao ambiente, por 30 minutos, para a oxigenação da mioglobina (ABULARACH; ROCHA; FELÍCIO, 1998). As medidas foram realizadas em três regiões diferentes, na superfície de interesse, tomando-se a média como valor determinado.

A avaliação da capacidade de retenção de água (CRA) foi realizada pelo método de pressão segundo a técnica modificada por Sierra (1973). Utilizando-se 5 gramas do músculo "longissimus dorsi", 24 horas pós-abate, as quais foram picadas

finamente e colocadas entre dois papéis filtro Albert 238 de 12,5 cm de diâmetro, separando-se a parte superior da inferior com placas de Petri e colocando-se em cima um peso de 2,250 kg durante 5 minutos. Posteriormente as amostras foram novamente pesadas e a diferença de pesos foi traduzida como a quantidade de “água” não retida pela carne.

A maciez foi avaliada através da Força de Cisalhamento, conforme metodologia descrita por Chaib (1973). As amostras do músculo *Longissimus dorsi* foram assadas até atingirem temperatura interna de 71°C, após foram resfriadas a uma temperatura de 20°C, sendo realizada neste momento a medição da força, através do equipamento Warner-Bratzler shear.

3.6 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise multivariada com auxílio do aplicativo MULTIV (PILLAR, 2006) a fim de detectar padrões relacionados ao efeito da reatividade e dos marcadores metabólicos de estresse sobre a qualidade da carne.

Os animais foram considerados como unidades amostrais e os parâmetros mensurados, como variáveis foram reatividade, pH 24 h (pH), capacidade de retenção de água (CRA), L, A, B, maciez (Mac), glicose na chegada (GChe), glicose no pré-abate (GPre), glicose na sangria (GSa), cortisol na chegada (CoChe), cortisol no pré-abate (CoPre) e cortisol na sangria (CoSa). Foram realizadas análises exploratórias de agrupamento e ordenação, na seqüência apresentadas e discutidas.

3.6.1 Análises de Agrupamento

Para análise de agrupamento das unidades amostrais utilizou-se o critério de variância mínima (soma de quadrados), com base na distância euclidiana com os dados previamente padronizados pelo total ou centralizados e normalizados, dentro de variáveis. A transformação dentro de variáveis fez-se necessária, uma vez que os dados são quantitativos de unidades diferentes. A análise de significância dos grupos formados foi obtida através de autoreamostragem ('bootstrap').

3.6.2 Análises de Ordenação

Para análise de ordenação das unidades amostrais utilizou-se o método de análise de componentes principais (PCA) aplicando-se a matriz de semelhança de correlação entre as variáveis previamente centralizadas e normalizadas.

A transformação dentro de variáveis fez-se necessária, uma vez que os dados são quantitativos de unidades diferentes. A análise de significância dos eixos formados foi obtida através de autreamostragem ('bootstrap').

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de agrupamento demonstrou a existência de três grupos nítidos ($P \leq 0,10$) de animais (unidades amostrais), conforme Figura 1. A dispersão destas unidades amostrais em relação aos períodos de jejum e às variáveis analisadas podem ser verificadas no diagrama de ordenação (Figura 2).

Observou-se que os grupos formados não estão relacionados com o jejum pré-abate, tendo em vista o fato de estarem presentes em todos os grupos animais submetidos a diferentes períodos de jejum. Assim, se pode inferir que os períodos não exerceram influência sobre a reatividade, indicadores fisiológicos de estresse e as características de qualidade de carne, as quais determinaram a formação dos grupos.

Estes resultados estão de acordo com os verificados por Leheska et al. (2003) que também não constataram efeito do jejum sobre a concentração de glicose no sangue. Da mesma forma que animais submetidos a curto período de transporte associado a jejum de até 24 horas não apresentaram alterações significativas de glicose e betahidroxibutirato (Tadich et al., 2005). Há, porém, relatos de alterações dos indicadores fisiológicos de estresse por efeito do jejum, como os de Cockram e Corley (1991), no entanto estes autores acreditam que tais alterações podem ser atribuídas a qualidade do manejo dos animais durante o período de descanso pré-abate. Portanto, pode ser considerada a afirmação de que, em ruminantes, o jejum geralmente tem menos efeitos sobre o metabolismo do que em outras espécies, já que o rúmen funciona como um reservatório de nutrientes e ácidos graxos voláteis (WARRISS, 1990).

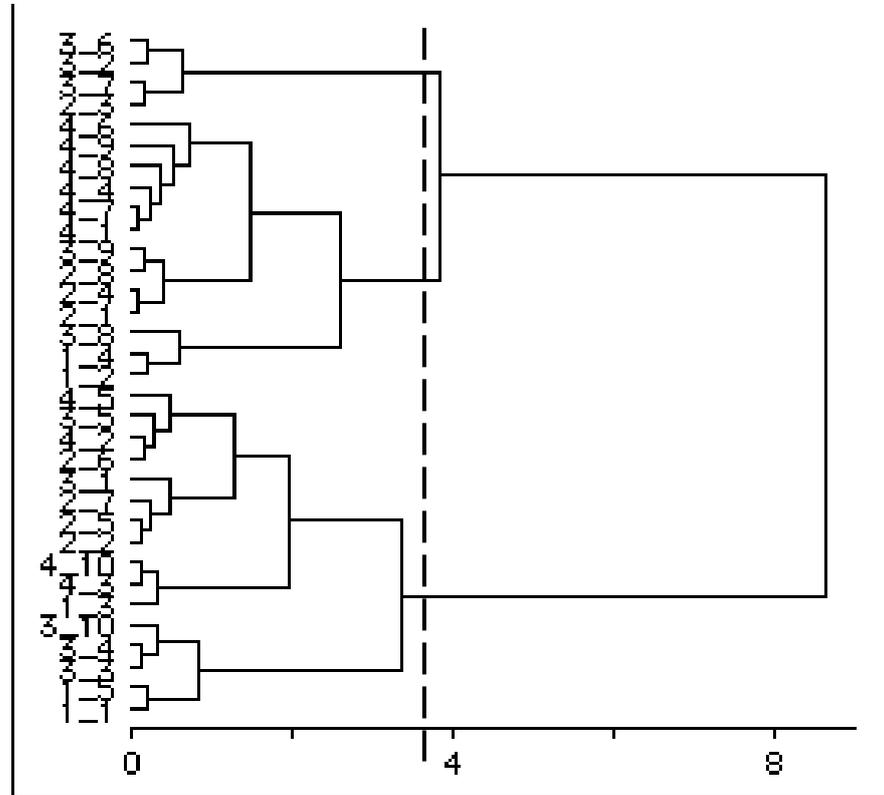


Figura 1: Dendrograma de agrupamento dos animais de acordo com as variáveis. O primeiro numero refere-se ao grupo de jejum e o segundo à repetição. A linha tracejada indica os grupos considerados nítidos.

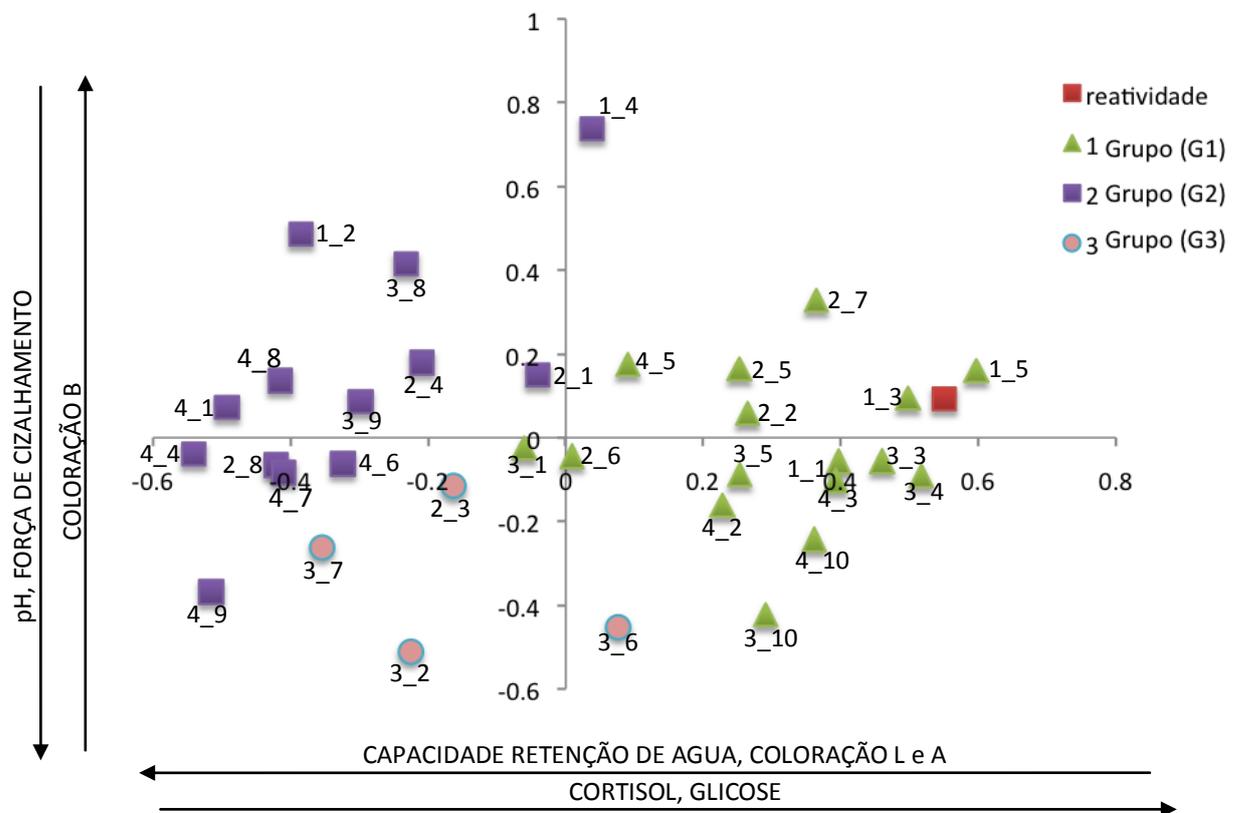


Figura 2: Diagrama de dispersão das unidades amostrais nos eixos 1 e 2 obtidos por PCA, a partir da correlação entre variáveis (anexo 2).

Dentre os grupos formados, foi possível observar um grupo (G1) que apresenta os maiores níveis de cortisol, glicose e reatividade (Figura 2), sendo esta responsável por 52,12% da variação entre os animais, e consequente formação dos grupos. Esta resposta fisiológica de aumento expressivo e simultâneo dos níveis de cortisol e glicose, provavelmente tenha ocorrido devido à mudança de ambiente e rotina habitual, sendo que os animais mais reativos apresentam maior susceptibilidade ao estresse (GRANDIN, 1997, 1998; HENSHALL E PRAYAGA, 2005), bem como quanto mais reativo for o animal maior será sua concentração plasmática de cortisol (MAFFEI, 2009),

As medidas de reatividade foram condizentes com as respostas fisiológicas dos animais nos momentos de estresse, representadas por substâncias como a glicose e o cortisol, podendo ser utilizados ambos os métodos para a quantificação do estresse, concordando com as afirmações feitas por Shaw e Tume (1992) de

haver pelo menos dois métodos de quantificação do estresse em animais, sendo as respostas comportamentais e as medições de componentes em fluidos extraídos de animais vivos.

Portanto, os métodos de avaliação do estresse segundo escalas de comportamento e medidas de indicadores fisiológicos de estresse, podem ser considerados bastante precisos, com isso, destaca-se a possibilidade de incorporar estas avaliações na rotina dos abatedouros.

Quanto às características de qualidade de carne neste grupo (G1) houve uma resposta menos satisfatória, quando comparados com o grupo 2 (G2) o pH apresentou valores mais elevados em relação ao G2, maciez, coloração e CRA, não apresentaram um resultado plenamente claro, o que pode ser atribuído a questões relacionadas a idade dos animais e padrão racial.

O segundo grupo formado representa os animais com melhores resultados em relação a qualidade da carne (Figura 2) nos parâmetros pH, coloração e CRA, apresentando também menores escores de reatividade e níveis de cortisol e glicose mais baixos, estando de acordo com estudos feitos por Barbosa Silveira, Fischer e Soares (2006) comprovando que o gado mais calmo produz carne de melhor qualidade em relação ao gado mais agitado.

Embora as características ligadas a coloração da carne e CRA não tenham apresentado diferenças consideráveis entre os grupos, de acordo com o dendrograma, é possível verificar que neste grupo (G2) o pH se manteve de acordo com os padrões requeridos, inferior a 5,8, o que representa uma diferença substancial, devido a este parâmetro ser limitante no que se refere à rotina de abatedouros exportadores de carne. Estes estabelecimentos consideram o limite de pH =5,8 para exportação da carne, caso contrário essa carne é considerada de pior qualidade, segundo Chiquitelli Neto (2004), níveis de pH acima de 5,9 tendem a produzir carnes mais escuras, firmes e seca (D.F.D. – *dark, firm and dry*), reduzindo drasticamente o tempo de vida útil do produto, com isso a carne sofre uma considerável perda de seu valor comercial, devido a características indesejáveis e principalmente à susceptibilidade a deterioração microbiana, sendo um fator de impacto significativo para a indústria frigorífica.

Os testes de coloração não apresentaram diferenças entre os grupos, sendo que os valores (Anexo 2) foram semelhantes aqueles encontrados por Felício (1999) em carne bovina, 38,75, 11,00 e 5,07 para L* a* b*, respectivamente. Zapata et al.

(2000) encontrou valores similares em carne ovina, com valores de L* (luminosidade) variando de 36,67 a 37,70, valores de a* (intensidade de vermelho) se situaram entre 14,85 e 15,54, porém os valores b* (intensidade de amarelo), mantiveram-se mais baixos, entre 0,83 e 1,37. A avaliação da capacidade de retenção de água (CRA) também não apresentou diferença entre os grupos.

Deve-se levar em conta, que estes atributos são diretamente afetados por características como idade do animal, raça e dieta, o que pode ter contribuído neste estudo para que os resultados se mantivessem equilibrados entre os animais, pois eram novilhos jovens com padrão racial que favorece estas características.

O terceiro grupo formado (G3) (Figura 2) foi composto por indivíduos que apresentaram pH acima de 6,0 e os maiores valores de força de cisalhamento (FC), caracterizando corte escuro e de pouca maciez. Embora hajam evidências de que o principal fator de indução do aparecimento da carne DFD seja o manejo inadequado antes do abate, conduzindo à exaustão física do animal (ROÇA; SERRANO, 1994), este grupo contemplou animais de diferentes escores de reatividade e níveis dos indicadores de estresse, o que pode ser atribuído à variabilidade individual.

Os resultados em relação aos níveis de glicose e cortisol, indicaram que estes apresentam uma correlação positiva, considerando a hipótese de que a glicose seja um potencial indicador fisiológico de estresse, podemos verificar que os valores desta se mantiveram acima do limite máximo, em relação aos fisiológicos de 45 a 75 mg/dl (KANEKO, 1997), provavelmente em função da mudança de ambiente, sendo que a glicose no momento da chegada dos animais, em geral, apresentou-se com níveis mais baixos em relação ao pós abate (Figura 3), os valores tiveram uma diferença considerável entre os animais devido aos escores de reatividades apresentados, demonstrando com isso o comportamento da glicose em relação aos escores de reatividade dos animais no momento do abate.

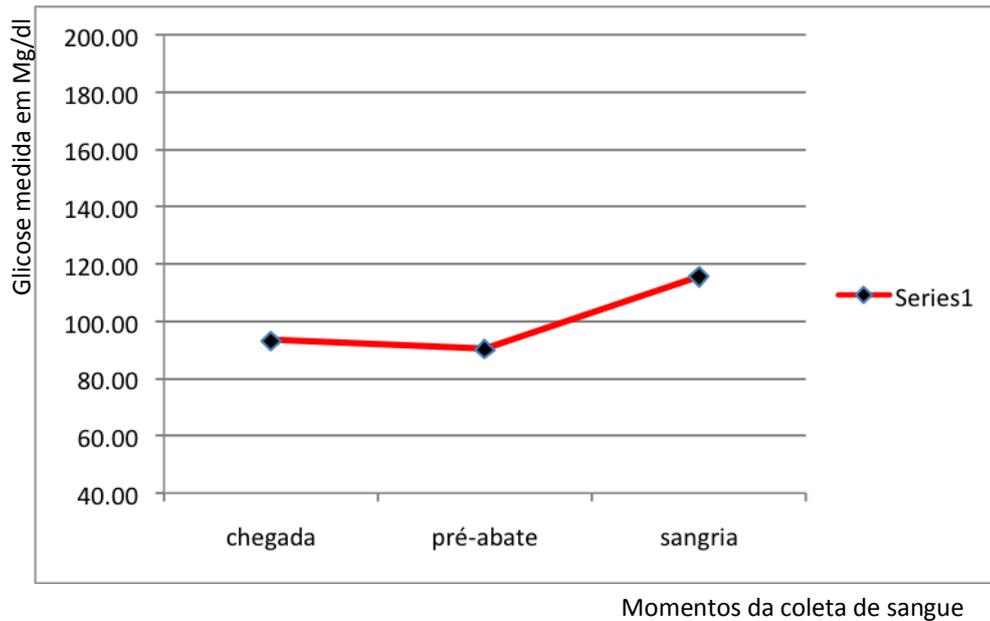


Figura 3: Níveis de glicose sanguínea no momento da chegada dos animais ao abatedouro, nos momentos pré-abate e após a sangria.

Em relação aos níveis de cortisol, os valores mínimos encontrados (entre 1,55 e 3,28) – Anexo 2 – apresentaram-se, semelhantes àqueles citados por outros autores, como 3,16 a 3,68 (REIS et al., 2006) em experimento com zebuínos ou 3,29 (VASQUEZ; HERRERA, 2003) avaliando vacas durante a estação de monta. Porém o cortisol apresentou níveis entre 17,22 e 20,27 em animais com reatividade entre 3 e 5, o que pode ser atribuído ao estresse sofrido pelos animais nos processos de abate, envolvendo maior secreção de glicocorticóides e aumentando a atividade do sistema nervoso simpático (NOCKELS, 1990) em resposta a uma situação estressante, a liberação de cortisol resulta em uma concentração elevada de glicose no plasma através da glicogenólise e gliconeogênese aumentada associada com aumento do catabolismo protéico (SHAW; TUME, 1992).

De acordo com os resultados deste estudo, a glicose pode representar um indicador fisiológico de estresse. E por se tratar de um teste simples e barato, com grande possibilidade de ser utilizado em abatedouros na identificação de lotes em possíveis situações de estresse.

5 CONCLUSÕES

Em bovinos, o aumento do tempo de jejum pré-abate parece não exercer grande influencia em relação ao estresse pré-abate ou atributos da carcaça, entretanto este tema requer mais estudos.

A reatividade demonstrou afinidade com os indicadores fisiológicos de estresse, animais mais reativos apresentaram níveis sanguíneos de cortisol e glicose elevados, bem como o pH final da carne, causando problemas relevantes em relação à qualidade da carne. A glicose pode representar um indicador fisiológico de estresse.

Os animais menos reativos apresentaram melhores características de maciez, coloração, pH e CRA da carne.

6 REFERÊNCIAS

ABULARACH, M.L.S.; ROCHA, C. E.; FELÍCIO, P.E., Características de qualidade do contrafilé (músculo "longissimus dorsi") de touros jovens da raça Nelore. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.2, p.205-210. 1998.

APPLE, J. K.; UNRUH, J. A.; MINTON, J. E.; BARTLETT, J. L. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on carcass quality and muscle electrolyte content of sheep. **Meat Science**, v. 35, p. 191-203, 1993.

BARBALHO, P. C. Avaliação de Programas de Treinamento em manejo Racional de bovinos em frigoríficos para melhoria do Bem-estar Animal. 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo.

BARBOSA SILVEIRA, I. D. **Influência da genética bovina na suscetibilidade ao estresse durante o manejo e seus efeitos na qualidade da carne**. 2005. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

BARBOSA SILVEIRA, I. D.; FISCHER, V.; SOARES, G. J. D. Relação entre o genótipo e o temperamento de novilhos em pastejo e seu efeito na qualidade da carne. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 2, p. 519-526, 2006.

BENDALL, J.R. Postmortem changes in muscle. In: BOURNE, G.H. (Ed.). *The structure and function of muscle*. **New York: Academic Press**. v. 2. p. 244-309, 1973.

BOIVIN, X.; LE NEINDRE, P.; CHUPIN, J. M.; GAREL, J. P.; TRILLAT, G. Influence of breed and early management on ease of handling and open-field behaviour of cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 32, n. 4 p. 313- 323, 1992.

BOUISSOU, M.F. Influence on body-weight and presence of horns on social rank in domestic cattle. **Animal Behaviour**, v.20, n.3, p.474-477, 1972.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29/03/52, alterado pelo decreto nº 2244 de 04/06/97. Diário Oficial da União, Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº. 3, de 17 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.14-16, 2000.

BREUER, K. HEMSWORTH, P.H. COLEMAN, G.J. The effect of positive or negative handling on the behavioural and physiological responses of nonlactating heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, v.84, p. 3-22, 2003.

CHAIB, M.A. **Métodos de avaliação de textura da carne**. Campinas, 1973. 97p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1973.

CHIQUITELLI NETO, M. A importância do bem estar na fazenda. **Gestão Competitiva para a pecuária**. Jaboticabal, SP, 2º ed., p. 149-166, 2004.

COCKRAM, M. S.; CORLEY, K.T.T. Effect of preslaughter handling on the behavior of beef cattle. **British Veterinary Journal**, v. 147, n. 5, p. 444-454, 1991.

COLES, E.H. Função hepática. In: COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3.Ed. São Paulo: Editora Manole, p.185-219. 1984.

CORTESI, M.L. Slaughterhouses and humane treatment. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.13, n.1, p.171-193, 1994.

COSTA; M. J. R. P. Racionalização do manejo de bovinos de corte: Bases Biológicas para o planejamento. **Associação brasileira do novilho precoce**. 2000.

COSTA, E. C.; RESTLE, J.; BRONDANI, I. L.; PEROTTONI, J.; FATURI, C.; MENEZES, L. F. G. Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e Conteúdo de Colesterol no Músculo *Longissimus dorsi* de Novilhos Red Angus Superprecoces, Terminados em Confinamento e Abatidos com Diferentes Pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.417-428, 2002.

CURLEY, K. O.; JR., PASCHAL, J. C.; WELSH, T. H.; JR.; RANDEL, R. D. Technical note: Exit velocity as a measure of cattle temperament is repeatable and associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls. **Journal of Animal Science** v. 84 p. 3100–3103, 2006.

DICKSON, W. M. Endocrinologia, reprodução e lactação. Glândulas endócrinas. In: SWENSON, M. J. **Dukes: fisiologia dois animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 571-602.

DUKES, H.H. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1993. p. 163-165.

DUNN, A.J. 1989. Psychoneuroimmunology for the psychoneuroendocrinologist: a review of animal studies of nervous system-immune system interaction. **Psychoneuroendocrinology**, p. 14-251.

EWING, S. A.; LAY, D. C.; VON BORELL, E. **Farm animal well-being – stress physiology, animal behavior, and environmental design**. Upper Saddle River, new jersey: Prentice Hall. 1999. 357p.

FELÍCIO, P. E. de. Qualidade da carne bovina: Características físicas e organolépticas. In: XXXVI Reunião Anual da SBZ, , **Anais Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1999.

FERGUSON, D. M. WARNER, R. D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, vol. 80, p. 12–19, 2008.

FOWLER, M.E. **Stress**. In: Fowler, M. E. Zoo. & wild animal medicine 2^a ed., W. B., 1986.

GALLO, C.; GATICA, C. Efectos de tiempo de ayuno sobre el peso vivo, de la canal y de algunos órganos en novillos. **Archivos de Medicina Veterinaria** v. 27, p. 69-77, 1995.

GALLO, C.; TADICH, N. TRANSPORTE TERRESTRE DE BOVINOS: EFECTOS SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL Y LA CALIDAD DE LA CARNE. **Agro-Ciencia** 21(2):37-49. 2005.

GALYEAN, M.L., WAGNER, D.G., OWENS, F.N. Dry matter and starch disappearance of corn and sorghum as influenced by particle size and processing. **Journal Dairy Science**, v. 64 p. 1804-1809, 1981.

GIL, J.I., DURÃO, J.C. **Manual de inspeção sanitária de carnes**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1985. 563p.

GRANDIN, T. Factors that impede animal movement at slaughter plants. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.209, n.4, p.757-759, 1996.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v.75, p.249-257, 1997.

GRANDIN, T.; DEESING, D. **Genetics and behavioural of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1998. 378p.

GRANDIN, T. Livestock Handling and Transport. **CABI Publishing**, Wasllingford, Oxon (Reino Unido), 2000, cap. 5, p. 63-85.

GRANDIN, T. Manejo y Bienestar del ganado en los rastros. Disponível em: <<http://www.grandin.com/spanish/tgbook.ch19.htm>> Acesso em: 08 de novembro de 2010.

GRANDIN, T. **Cattle slaughter audit form (updated October 2001) based on American Meat Institute Guidelines**. 2001. Disponível em: <<http://www.grandin.com/cattle.audit.form.html>>. Acesso em: 2 dez. 2010.

GREGORY, N.G. **Animal Welfare and Meat Science**. 1. ed. Cambridge: CABI Publishing, 2003. 298 p.

GRIGOR, P.N., GODDARD, P.J., LITTLEWOOD, C.A., WARRISS, P.D., BROWN, S.N. Effects of preslaughter handling on the behaviour, blood biochemistry and carcasses of farmed red deer. **Veterinary Record**, v.144, p.223-227, 1999.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HEARNshaw, H.; MORRIS, C. A. Genetic and environmental effects on a temperament score in beef cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 35, p. 723-733, 1984.

HEMMER, H. Domestication: The decline of environmental appreciation. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. Disponível em: <http://www.messybeast.com/retro-1800behaviour.htm> Acesso em: 07 de novembro de 2010.

HEMSWORTH, P. H.; COLEMAN, G. J. Human-livestock interactions: the stockperson and the productivity and welfare of intensively farmed animals. London: CAB International, 1998. 140p.

HEMSWORTH, P. H.; PRICE, E.O.; BORGWARDT, R.. Behavioural responses of domestic pigs and cattle to humans and novel stimuli. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 50, p. 43-56, 1996.

HORTON, G.M.J.; BALDWIN, J.A.; EMANUELE, S.M.; WOHLT, J.E.; MCDOWELL, L.R. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. **Animal Science**. v. 62 p. 49-56, 1996.

KANDEL, E.R. **Cellular basis of behavior**. W.H. Freeman & Company Publishers: San Francisco, 1976.

KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, p. 932, 1997.

KING D.A., SCHUEHLE PFEIFFER C.E., RANDEL R.D., WELSH JR.T.H., OLIPHINT R.A., BAIRD B.E., CURLEY JR.K.O., VANN R.C., HALE D.S., SAVELL J.W. Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. **Meat Science** v. 74, p. 546–556, 2006.

KNOWLES, T.G. A review of the road transport of cattle. **Veterinary Record**, London, v.144, n.8, p.197-201, 1999.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n. 3, p. 93-104, 1994.

KOOHMARAIE, M.; KENT, M.P.; SHACKEIFORD, S.D. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? **Meat Science**, v.62, p.345-352, 2002.

KOOHMARAIE, M.; GEESINK, G.H. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. **Meat Science**, v. 74, p. 34-43, 2006.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora. 2005. 384 p.

LE NEINDRE, P.; BOIVIN, X.; BOISSY, A. Handling of extensively kept animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v.49, p.73-81, 1996.

LEHESKA, J.M.; WULF D. M.; MADDOCK R. J. Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. **Journal Animal Science**, v.81, p.3194-3202, 2003.

LISTER, D.; GREGORY N. G., WARRISS P. D.. Developments in meat science. Applied Science Publishers. London, England. 1981.

LUDTKE, B. L. **Bem-estar animal no transporte e a influencia na qualidade da carne suína**. 2008 p. 68 Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

LUDTKE C., BARBALHO P., CIOCCA J. R., DANDIN T. Estratégias para avaliar Bem-estar Animal – Auditorias em Frigorífico. **Ciência veterinária nos trópicos**. v. 13, suplemento 1, p. 12-19, 2010.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: Luchiari Filho, 2000. 135p.

LYON, C. E., PAPA, C. M. & WILSON, R. L. Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. **Poultry Science**, v. 70, p. 1020-1025, 1990.

MAFFEI, W. E. Reatividade animal, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.81-92, 2009.

MATTERI, R.L.; CARROLL, J.A.; DYER C.J. Neuroendocrine responses to stress. In: Moberg, G.P. and Mench, J.A. (eds) The biology of animal for stress: basic principles and implications for animal welfare. **CABI Publishing**, 43-76, 2000.

MELLO, D.M.S. **Marcadores Bioquímicos da Ansiedade e do Estresse Envolvimento do receptor neurocinérgico nk1**. Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina. 2007.

MENDEL, M. Assessment of animal welfare. In N. Becoff & C.A. Meaney (eds.), **Encyclopedia of animal rights and animal welfare**.; Connecticut: Greenwood Press, Westport, p. 57-58, 1998.

MOBERG, G.P. Suffering from stress: an approach for evaluating the welfare of an animal. In: Sandoe, P. and Hurnik, T. (eds) Proceedings of welfare of Domestic

Animals Concepts, Theories and Methods of Measurement. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Sect. A. Animal Science (Suppl.27), 46-49, 1996.

MOBERG, G.P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: Moberg, G.P. and Mench, J.A. (eds) The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. **CABI Publishing**, p.1-22, 2000.

MOLENTO, C.F.M. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos – revisão, **Revista Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1., Paraná 1-11, 2005.

MORAES, G. J. SANTOS T. A. B. Qualidade de carne bovina. **Pubvet**, V. 2, N. 27, Ed. 38, Art. 423, ISSN 1982-1263, 2008.

NOCKELS, CF Mineral alterations associated with stress, trauma, and infection and the effect on immunity. **Cont Education Practices Veterinarian** v.12 p. 1133-1139, 1990.

OLIPHINT, R. A. Evaluation of the Inter-relationships of temperament, Stress Responsiveness and Immune Function in Beef Calves. 2006. Tese. Texas A&M University.

OLIVEIRA, C. B.; BORTOL, E. C.; BARCELLOS, J. O. J. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 38, n.7, p. 2092-2096, 2008.

PAJOR, E. A.; RUSHEN, J.; De PASSILÉ, A. M. B. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. **Applied Animal Behaviour Science** v. 69, p.89-102, 2000.

PASSILLE, A. M. The impact of the nonpeptide corticotrophin-releasing hormone antagonist antalarmin on behavioral and endocrine responses to stress. **Endocrinology**, v.149, p.79-86, 1995.

PAZ, C.C.P.; LUCHIARI FILHO, A. Melhoramento genético e diferenças de raças com relação à qualidade da carne bovina. **Pecuária de Corte**, n.101, p. 58-63, 2000.

PETERS, M.D.P, BARBOSA SILVEIRA, I.D., PINHEIRO MACHADO FILHO, L.C, MACHADO, A.A E PEREIRA, L.M.R Manejo Aversivo em Bovinos Leiteiros e Efeitos no Bem-estar, Comportamento e Aspectos Produtivos. **Archivos de Zootecnia** v.59 (227) p. 435-442. 2010

PILLAR, V. D. MULTIV; Multivariate Exploratory Analysis, Randomization Testing and Bootstrap Resampling. User's Guide v. 2.4. 51p., 2006.

PIOVEZAN, U. Análise de fatores genéticos e ambientais na reatividade de quatro raças de bovinos de corte ao manejo. 1998, 42f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do campus de Jaboticabal – UNESP, Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

PORGES, S. W. Cardiac vagal tone: A physiological index of stress. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** v. 19 p.225–233, 1995.

PRAYAGA, K.C. Evaluation of beef cattle genotypes and estimation of direct and maternal genetic effects in a tropical environment. 2. Adaptive and temperament traits. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.54, n.10, p.1027-1038, 2003.

PRAYAGA, K.C.; HENSHALL, J.M. Adaptability in tropical beef cattle: genetic parameters of growth, adaptive and temperament traits in a crossbred population. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.45, n.7/8, p.971-983, 2005.

PRAYAGA, K.C.; BARENDSE, W.; BURROW, H.M. Genetics of tropical adaptation. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, v. 8., Belo Horizonte: Instituto Prociência, 2006.

REIS, L. S. L. S.; PARDO P. E.; OBA E.; KRONKA, S. N.; FRAZATTI-GALLINA, N. M. Matricaria chamomilla CH₁₂ decreases handling stress in Nelore calves **Journal Veterinary Science**, v. 7, p. 189-192, 2006.

ROÇA, R.O. Abate humanitário: manejo ante-mortem. **Revista TeC Carnes** Campinas, SP, v.3, n.1, p.7-12, 2001.

ROÇA, R.O.; SERRANO, A.M. Abate de bovinos: Conversão do músculo em carne. Higiene alimentar, São Paulo **Revista Nacional da Carne**, v.19, n. 212, p.87-94, 1994.

RUBENSAM, J.M.; FELICIO, P.E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina e na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p.405-409, 1998.

SANTOS, E. D. G., PAULINO, M. F., LANA, R. P., VALADARES FILHO, S. C., QUEIROZ, D. S. Influência da Suplementação com Concentrados nas Características de Carcaça de Bovinos F1 Limousin - Nelore, Não-Castrados, durante a Seca, em Pastagens de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1823-1832, 2002.

SELYE, H. (1973): Stress aerospace medicine. **Aerospace Medicine** 44: 1 -193.

SHAW, F. D., TUME, R. K. The Assessment of Pre-slaughter and Slaughter Treatments of Livestock by Measurement of Plasma Constituents--A Review of Recent Work. **Meat Science** v.32 p. 311-329, 1992.

SIERRA, I. Producción de cordero joven y pesado em lar aza. Raza Argoneza. I.E.P.G.E. n. 18, 28p, 1973.

SMITH G. C.; GRANDIN T.; FRIEND T. H.; DON LAY, JR., SWANSON J. C. Effect of Transport on Meat Quality and Animal Welfare of Cattle, Pigs, Sheep, Horses, Deer, and Poultry. <http://www.grandin.com/behaviour/effect.of.transport.html>, 2004. Acesso em 03 de janeiro de 2010.

SMULDERS, F. J. M., TOLDRÁ, F., FLORES, J., PRIETO, M. New Technologies for meat and meat products Utrecht, **The Netherlands: Audet Tijdschriften**, p. 182, 186-188, 1992.

STHRINGER, R. C., RANDEL, R. D., & NEUENDORFF, D. A. Effects of naloxone and animal temperament on serum luteinizing-hormone and cortisol concentrations in seasonally anestrous Brahman heifers. **Theriogenology** 34:393–406, 1990.

TADICH N., GALLO C.; ECHEVERRIA R.; SCHAIK G. v. Efecto del ayuno durante dos tiempos de confinamiento y de transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos. **Archivos de Medicina Veterinaria** v.35, n. 2, 2003.

TADICH, N; GALLO, C; BUSTAMANTE, C.H.; SCHWERTER, M.; VAN SCHAIK, G. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. **Livestock Production Science**, v.93, p. 223-233, 2005.

TERLOUW, E.M.C.; ARNOULD, C.; AUPERIN, B.; BERRI, C.; LE BIHAN-DUVAL, E.; DEISS, V.; LEFE` VRE, F.; LENSINK, B. J.; MOUNIER L. Pre-slaughter conditions, animal stress and welfare: current status and possible future research. *Animal*, v. 2, n.10, p. 1501–151, 2008.

VÁSQUEZ, E. F. A; HERRERA, A. P. N., Concentração plasmática de cortisol, uréia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. **Ciência Rural**, v.33 n.4, 2003.

VOISINET, BD, T GRANDIN, F O'CONNOR, JD TATUM, MJ DEESING. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science** v.46, p.367-377, 1997.

WARRISS, P.D. The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. **Applied Animal Behaviour Science** v.28 p. 171-186, 1990.

WARRISS, P. D. Animal Welfare. Handling animals before slaughter and the consequences for welfare and product quality. **Meat Focus International**, p. 135-138, 1992.

WARRISS, P. D.; BRROWN, S. N.; ADAMS, S. J. M.; CORLETT, I.K. Relationship between subjective and objective assessment so stress at slaughter and meat quality in pigs. **Meat Science**, v. 38, p. 329-340, 1994.

WARRISS, P. D. **Meat Science: an introductory text**. (Chapters 1 and 10). Wallingford: *CABI Publishing*, 2000. 310 p.

WEGLARZ, A. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n.12 p. 548–556, 2010.

WOLINSKY, I.; HICKSON, J. F. **Nutrition in exercise and sport**. 2. ed. Texas: CRC Press, Inc. 1994. p. 29-31.

ZANELLA, A. J. Tendências e desafios relacionados ao bem estar animal, Concordia, 2007. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/wahumano/palestras/Zanella_Tendenciasedesafiosparaobemestaranimal.pdf Acesso em: 22 de dezembro de 2010.

ZAPATA, J. F. F.; SEABRA, L. M. J.; NOGUEIRA, C. M.; BARROS, N. Estudo da qualidade da carne ovina no Nordeste Brasileiro: propriedades físicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 274-277, 2000.

7 ANEXOS

7.1 Anexo 1

Planilha de carregamento de animais

	Planilha de Controle ABATE HUMANITÁRIO	Cód.: PLC 2- POP8
		Versão: 2.0 / 2009
		Página: 144 de 174

FORMULARIO DO CARREGAMENTO DE GADO

DATA DO EMBARQUE: _____ / _____ / _____
 Nome do Proprietario: _____ NFP: _____ GTA: _____
 Localização: _____
 Cidade: _____ Placa do Veículo _____
 Hora da Chegada na Fazenda: _____ h
 Hora da saída da Fazenda: _____ h

	MACHOS	FEMEAS	TOTAL
Nº DE CABEÇAS			
	BOA	REGULAR	RUIM
Cond. das Mangueiras da Fazenda			
Cond. do Manejo na Fazenda			
Condições das Estradas			
Condições do Tempo			
Comportamento do Gado na Viagem			
O carregamento aconteceu em:	01 carregador	mais de um carregador	
Paradas para Vistoriar o Gado:	01 vez	02 vezes	03 vezes
Hora da Chegada no Frigorífico: _____ H Desembarque do Gado: _____	Normal	Houve alterações	

Nome do Comprador do Gado: _____
 No caso de quedas no Transporte, quais as providências? _____

Ass. Motorista _____

RECEPÇÃO			
Quantidade de Animal por Curral	CURRAL 1	CURRAL 2	CURRAL 3
	CURRAL 4	CURRAL 5	CURRAL 6
	CURRAL 7	CURRAL 8	CURRAL 9

OBS.: _____

ASS. DO RESP. PELA RECEPÇÃO DO GADO: _____

n Animal e repetição	Grupo	Reatividade	pH	CRA	L	A	B	Maciez	GCh	GPre	GSa	CoChe	CoPre	CoSa
1_1	G1	5	6.4	0.32	30.31	16.19	6.44	9.43	88.33	79.18	129.34	9.32	16.15	15.03
1_2	G1	2	5.0	0.58	38.52	23.01	9.66	9.7	94.95	93.70	134.70	4.88	8.13	7.16
1_3	G1	4	5.5	0.3	26.1	12.93	1.84	7.8	104.73	108.45	104.42	8.92	12.43	11.52
1_4	G1	3	5.3	0.58	38.9	18.95	10.67	6.75	106.94	125.94	194.74	7.73	11.32	8.63
1_5	G1	5	6.4	0.43	30.25	18.77	4.37	8.25	121.71	149.82	136.59	12.94	16.9	13.87
2_1	G2	3	5.6	0.72	31.6	16.93	3.65	8.3	95.65	86.87	106.87	4,22	10,93	5,89
2_2	G2	3	5.7	0.65	32.3	17.31	3.86	8.93	125.46	91.87	113.44	11,78	12,18	10,75
2_3	G2	4	6,3	0.83	39.8	21.5	4.1	9.1	102.79	75.31	75.31	10,24	13,99	8,09
2_4	G2	2	5.5	0.66	33.2	19.32	3.6	7.56	93.79	78.44	95.06	4,45	9,12	4,47
2_5	G2	4	5.9	0.59	35.24	18.47	3.96	8.33	131.99	96.25	142.5	8,94	12,7	11,95
2_6	G2	2	6.0	0.75	37.56	17.6	3.51	10.36	104.04	102,4	99.06	8,1	9,31	11,66
2_7	G2	2	5,3	0.6	35.04	18.13	2.44	6.97	137.89	119.06	154.69	11,8	13,58	11,68
2_8	G2	3	5.5	0.71	34.38	20.03	3.65	8.94	57.14	64.06	60.62	5,86	7,25	6,27
3_1	G3	3	6.0	1.4	35.02	19.22	3.53	7.53	121.07	75.39	128.04	8,99	5,96	13,07
3_2	G3	2	6.4	1.2	34.43	20.8	3.71	11.35	59.75	54,83	63.24	11,31	11,53	13,49
3_3	G3	2	6.0	0.6	34.27	18.86	3.24	10.97	119.50	101.58	169.16	15,07	15,74	15,41
3_4	G3	5	6.1	0.8	34.35	18.53	4.4	10.95	120.75	78.50	199.69	15,91	19,02	16,54
3_5	G3	2	6.3	0.5	35.5	18.14	3.01	11.45	85.53	116.82	152.96	12,66	12,06	11,49
3_6	G3	2	6.9	1.1	32.66	17.35	3.63	12.73	74.53	94.70	103.43	14,19	9,3	9,87
3_7	G3	2	6.2	0.8	39.79	19.83	3.52	11.45	76.97	85.22	22.43	11,44	12,6	1,55
3_8	G3	4	5.8	1.2	40.76	21.83	4.68	7.7	77.67	148.29	145.17	6,21	20,27	0,85
3_9	G3	2	5.9	0.9	37.16	19.71	3.45	7.48	60.53	91.14	107.16	6,22	11,53	4,41
3_10	G3	4	6.9	0.7	36.13	20.58	4.72	12.5	86.48	80.06	120.25	15,36	19,96	16,51
4_1	G4	1	5.5	0.96	38.98	21.08	4.05	9.07	68.52	83.12	91.97	3,28	7,15	8,13
4_2	G4	2	6.3	0.48	33.26	16.81	1.98	11.23	103.09	90.7	120.99	6,59	11,95	12,66
4_3	G4	1	5.7	0.62	32.05	15.53	1.13	10.37	109.57	95.68	130.55	10,28	14,51	14,56
4_4	G4	1	5.3	0.96	41.49	22.74	4.01	10.53	62.96	76.54	81.17	6,42	9,71	9,57
4_5	G4	2	5.6	0.77	35.03	17.57	2.3	9.5	74.38	141.05	146.30	5,16	12,82	12,15
4_6	G4	2	5.4	0.42	35.69	20.5	3.65	12.3	78.39	66.97	100	4,32	4,6	9,7
4_7	G4	1	5.6	0.72	38.85	21	3.4	11.2	78.39	66.05	86.11	4,35	8,73	8,11
4_8	G4	1	5.4	0.93	39.31	20.73	4	10.17	79.63	107.10	104.63	6,86	5,29	5,65
4_9	G4	2	5.6	0.99	41.45	21.59	3.22	16.87	66.97	72.83	97.22	6,07	6,66	11,2
4_10	G4	3	5.7	0.48	31.59	14.81	1.19	13.2	108.64	99.38	96.30	7,28	13,45	17,22

7.3 Anexo 3

Tabela 1: Coeficientes de correlação entre descritores originais e eixos da ordenação.

Variáveis	Eixo 1	Eixo 2
pH	0.3931	-0.63472
CRA	-0.52598	-0.21229
L	-0.73461	0.10519
A	-0.74494	0.063902
B	-0.19242	0.53028
Maciez	-0.13517	-0.74038
Glicose chegada	0.72843	0.31044
Glicose pré-abate	0.41492	0.57166
Glicose sangria	0.58584	0.50425
Cortisol chegada	0.65467	-0.36258
Cortisol pré-abate	0.65688	0.0020053
Cortisol sangria	0.69789	-0.36968