

## ESTUDO DA TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE EM MODELO ANIMAL: EFEITO DO ESTRESSE ANTE-MORTEM EM RATOS WISTAR

BRUNA DRABER<sup>1</sup>; SANDRA VIEIRA DE MOURA<sup>2</sup>; IURI VLADIMIR PIOLY MARMITT<sup>3</sup>; LEONARDO MARINS<sup>1</sup>; NATHIÉLI BELTRAN SCHIAVI<sup>4</sup>; ÉVERTON FAGONDE DA SILVA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduandos em Veterinária da UFPEL - bruna\_draber@hotmail.com; lndmarins@gmail.com

<sup>2</sup>Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal –RS - sanvimoura@gmail.com

<sup>3</sup>Pós-Graduando do PPGB da UFPEL - iurihrs@hotmail.com

<sup>4</sup>Plant Biology PhD's Student at Dalhousie University - Canada - nathielischiavi@gmail.com

<sup>5</sup>Professor da Faculdade de Veterinária da UFPEL - fagondee@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O estresse é um tema de relevante importância tanto para a área humana quanto animal. As suas consequências podem ser observadas no esporte, no comportamento, na criação de animais e na qualidade dos alimentos. Por esse motivo, o interesse no controle do bem-estar dos animais domésticos vem se expandindo na área veterinária nos últimos anos (CAPOREALE et al. 2005). Estudos anteriores demonstraram que animais submetidos a situações de estresse como a mudança de ambiente, superlotação no alojamento e a privação de alimentos, apresentam alterações orgânicas importantes. Embora o estresse possa afetar negativamente na resistência dos animais a doenças, na qualidade de alimentos e na sua reprodução, poucos métodos confiáveis, de fácil execução e não invasivos para detectar estresse em animais foram padronizados até o momento (MUNETTA et al. 2009).

Nas primeiras 24 horas após o abate, quando o músculo transforma-se em carne, ocorrem importantes eventos bioquímicos e estruturais (LAWRIE, 2005). Esta transformação do músculo em carne exerce um forte impacto no pH e consequentemente na maciez e cor da carne (SAVELL et al. 2005). Bovinos expostos ao estresse pré-abate geralmente apresentam uma alteração na qualidade da carne conhecida como *Dark Firm Dry* (DFD), caracterizada pela cor escura na superfície de corte do músculo, seca e dura, o que leva a consideráveis prejuízos na indústria da carne (WEGLARZ, 2010). Em suínos a carne *Pale Soft Exudative* (PSE) representa o principal problema de qualidade na indústria da carne, apresentando-se com baixa capacidade de retenção de água, textura flácida e cor pálida que levam a consideráveis perdas de água durante o processamento (MAGANHINI, 2007). Estas alterações podem ser detectadas de maneira simples, através da medição do pH no período *post-mortem*.

A utilização de ratos como modelo experimental é uma prática recorrente em várias áreas da ciência (DAMATTA, 2010). Estudos sobre fibras musculares que utilizam o rato como modelo animal, principalmente relacionados ao exercício físico, demonstram a similaridade no metabolismo músculo esquelético destes animais com os demais mamíferos (LEE et al. 2010). Sobre o limiar anaeróbio em ratos, VOLTARELLI et al. (2004) estudaram a influência do jejum na depleção dos estoques de glicogênio muscular e o seu efeito no condicionamento físico dos animais, evidenciando também uma queda do lactato sanguíneo. No entanto, ainda não estão disponíveis trabalhos que utilizem ratos como modelo para a detecção de alterações na transformação de músculo em carne. Neste contexto, o objetivo do estudo foi de determinar se o estresse causado pela contenção dos ratos no período *ante-mortem* causa alterações qualitativas na carne e se afeta o

tempo e os valores de pH necessários para a transformação do músculo em carne.

## 2. METODOLOGIA

**2.1. Teste de estresse por contenção.** Para simular uma situação de estresse comum em animais de produção, foi realizada uma contenção forçada dos animais com o objetivo de verificar alterações na curva normal do pH. A escolha pelo método de contenção se deu pelo fato de o mesmo ser um fator estressante para várias espécies comerciais e experimentais e ser relatado como uma das causas de morte súbita em animais (CARRAMENHA & CARREGARO, 2012). Neste experimento foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar, com seis semanas de idade, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foram realizados dois experimentos independentes com seis animais cada. Os animais foram eutanasiados através do uso de guilhotina, sendo realizada de imediato a evisceração e esfola da carcaça. No pré-abate, seis ratos foram retirados da gaiola e submetidos ao tratamento de contenção, onde permaneceram individualmente contidos durante 1 hora em tubos plásticos de aproximadamente 25x7cm. Para o procedimento de contenção, os tubos foram selados com fita em uma das pontas, para que os animais permanecessem imóveis e presos, enquanto a outra extremidade permaneceu aberta para que os animais pudessem respirar normalmente (ELY et al. 1997). Os outros seis ratos permaneceram na gaiola como grupo controle, sem nenhum tratamento até o momento da eutanásia. Após a eutanásia, a avaliação do pH foi aferida nos músculos *Biceps femoris*, *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii* com o medidor de pH portátil Analion Mod. PM 602. O aparelho foi calibrado momentos antes da realização das medidas no local da coleta. As carcaças foram mantidas em resfriamento (4°C), e as aferições foram feitas no interior da câmara. O resultado das aferições foi registrado em planilha para posterior determinação da curva de pH muscular.

**2.2. Análise estatística.** Para a análise de pH utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado numa estrutura em parcela subdividida no tempo. Cada rato foi considerado como uma repetição, onde o grupo Controle do abate com contenção (CONTROLE) e o Grupo tratado com Contenção (CONTENÇÃO) contaram com 6 repetições cada. Para a análise das médias de pH em cada momento foi realizada a transformação dos dados de pH em  $\log(x+10)$  e os dados foram analisados através da Análise de Variância (AOV) do pacote estatístico Statistix 9,0 e a comparação das médias foi realizada através do Teste de Tukey com Intervalo de confiança de (IC) de 95%.

**2.3. Aspectos Éticos.** Todos os procedimentos dos ensaios supracitados foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEa/UFPeL), com parecer número 5236.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas comparações das médias do pH de três diferentes músculos dos ratos eutanasiados sob condições normais oriundos do segundo lote (CONTROLE), não foram encontradas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) com as médias de pH dos ratos do primeiro lote (CONTENÇÃO) demonstrando a repetibilidade da intensidade e velocidade da queda do pH muscular *post-mortem* em ratos e padronizando-a para comparações com outras condições de eutanásia.

As médias de pH dos ratos do segundo lote submetidos ao estresse pré-eutanásia (Contenção) e a comparação com as médias da curva normal de pH

*post-mortem* em todos os períodos avaliados estão expressos na tabela 1. As quedas das médias de pH *post-mortem* da hora 0 até a hora 6 foram de 0,71 pontos de pH no grupo Contenção e no grupo Controle foi de 0,58. A velocidade de queda de pH por hora foi de 0,12 para o grupo Contenção e 0,9 para o controle.

Tabela 3. Média  $\pm$  Desvio padrão (DP), valores mínimo (m) e máximo (M) de pH *post-mortem* de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e ratos submetidos a estresse por contenção.

Período <i>post-mortem</i>	Grupo Controle		Grupo Contenção	
	pH $\pm$ DP	m – M	pH $\pm$ DP	m – M
Hora 0	6,73 $\pm$ 0,23 Aa <sup>1*</sup>	6,40 – 7,30	6,80 $\pm$ 0,20 Aa	6,40 – 7,10
Hora 1	6,60 $\pm$ 0,21 Aa	6,20 – 7,00	6,64 $\pm$ 0,20 Aab	6,40 – 7,00
Hora 2	6,38 $\pm$ 0,24 Ab	5,70 – 6,80	6,38 $\pm$ 0,18 Abc	6,10 – 6,70
Hora 4	6,29 $\pm$ 0,21 Abc	5,80 – 6,70	6,20 $\pm$ 0,14 Acd	6,00 – 6,50
Hora 6	6,17 $\pm$ 0,19 Ac	5,80 – 6,50	6,09 $\pm$ 0,17 Ad	5,80 – 6,50
Hora 24	6,18 $\pm$ 0,30 Ac	5,70 – 6,70	6,10 $\pm$ 0,18 Ad	5,70 – 6,50

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) na linha. Médias seguidas por letras minúsculas indicam diferença significativa na coluna. Análise de Variância e comparação das médias através do Teste de Tukey com IC de 95%.

A curva de pH dos ratos eutanasiados sob condições normais apresentou padrão de queda com diferenças significativas da hora 0 após 2 horas *post-mortem* e após as 6 horas o valor mínimo de pH muscular é atingido. Após isso a manutenção dos valores atingidos ocorre até as 24 horas ou com discreta elevação nos valores de pH das 6 as 24 horas. Esta curva assemelha-se com as descritas na maioria das espécies de abate comercial nos quesitos de intensidade de queda e tempo de queda de pH em horas (BRESSAN et al. 2001; DALLA COSTA et al. 2010). De acordo com o trabalho de SOUZA et al. (2004) a curva de pH em cordeiros mostra que ocorre maior velocidade de declínio do pH nos três primeiros horários e tendência à estabilização a partir de 12 horas. Essa queda de pH é resultado da utilização das reservas de glicogênio via glicólise *post-mortem* que tem como produto final o ácido lático.

Os ratos abatidos sob estresse por contenção não apresentaram valores de pH significativamente diferentes do que o grupo Controle, porém os valores de pH inicial dos ratos estressados são mais altos e os animais deste grupo apresentaram queda maior e mais rápida de pH nas primeiras 6 horas. Este resultado pode ser atribuído ao fato de que ratos são considerados animais bastante susceptíveis ao estresse e com isso, podem ter apresentado um maior gasto de energia nos momentos que antecedem a eutanásia, resultando em depleção do glicogênio muscular o que invariavelmente acarreta um alto pH final (MAGANHINI et al. 2007). BELTRÁN et al. (1997), afirmam que o pH final mostra uma relação direta com o estresse *ante-mortem*, o estresse acarreta modificações importantes na bioquímica *post-mortem* do músculo e qualidade da carne.

#### 4. CONCLUSÕES

Ratos eutanasiados em condições de stress por contenção não apresentam diferenças nas médias de pH em cada período *post-mortem*. Porém, a velocidade de queda do pH muscular é superior a queda na curva de pH *post-mortem* dos ratos controle. O uso dos ratos como modelo de estudo para detectar alterações *post-mortem* é promissor e inédito, tendo em vista que as alterações de queda de

pH seguem os valores e tempo de queda semelhantes as espécies comerciais. Novos projetos serão realizados utilizando o modelo animal padronizado neste estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELTRÁN, J. A., JAIME, I., SANTOLARIA, P., SANUDO, C., ALBERTI, P., & RONCALÉS, P. Effect of stress-induced high post mortem pH on protease activity and tenderness of beef. **Meat Science**, v 45, p.201–207, 1997.
- BRESSAN, M.C., PRADO, O.V., PÉREZ, J.R.O., LEMOS, A.L.S.C., BONAGURIO, A. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v 21, p.293-303, 2001.
- CAPORALE, V., ALESSANDRINI, B., DALLA VILLA, P. and DEL PAPA, S. Global perspectives on animal welfare: Europe. **Rev. Sci. Tech.** 24: 567–577, 2005.
- CARRAMENHA, C. P., CARREGARO, A. B. Estresse e morte súbita em Medicina Veterinária. **Ars Veterinária**, v 28, p.090-099, 2012.
- DALLA COSTA, O. A., LUDKE, J. V., COSTA, M. J. R. P., FAUCITANO, L., PELOSO, J. V., DALLA ROZA, D. Efeito das condições pré-abate sobre a qualidade de suínos pesados. **Archivos de zootecnia**, v 227, p.391-402, 2010.
- DAMATTA, R. A. Animal models in biomedical research. **Scientia Medica**, Porto Alegre. v. 20, n. 3, p. 210 – 211, 2010.
- ELY, D. R., DAPPER, V., MARASCA, J.; CORRÊA, A J. B., GAMARO, G. D., XAVIER, M. H., MICHALOWSKI, M. B., CATELLI, D.; ROSAT, R., FERREIRA, M. B. C., DALMAZ, C. Effect of Restraint Stress on Feeding Behavior of Rats. **Physiology & Behavior**, v 61, p.395–398, 1997.
- LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora. 384 p, 2005.
- LEE, S.H., JOO, S.T., RYU, Y.C. Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. **Meat Science**, v 86, p.166–170, 2010.
- MAGANHINI, M. B., MARIANO B., SOARES, A. L., GUARNIERI, P. D., SHIMOKOMAKI, M., IDA, E. I. Carnes PSE e DFD em lombo suíno numa linha de abate industrial. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v 27, p.69-72, 2007.
- MUNETTA, Y., YOSHIKAWA, T., MINAGAWA, Y., SHIBAHARA, T., MAEDA, R., OMATA, Y. NATER, U. M. and ROHLER, N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. **Psychoneuroendocrinology** v 34, p.486 – 496, 2009.
- SAVELL, J.W., MUELLER, S.L., BAIRD, B.E. The chilling of carcasses. **Meat Science**, v 70, p.449-459, 2005.
- SOUZA, X. R., BRESSAN, M. C., PÉREZ, J. R. O., KABEYA, D. M. Efeitos do grupo genético, sexo e peso ao abate sobre a qualidade de carne de cordeiros em crescimento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v 24, p.543-549, 2004.
- VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M. A. R.; GOBETTO, C. A. Limiar anaeróbio determinado pelo teste do lactato mínimo em ratos: efeito dos estoques de glicogênio muscular e do treinamento físico. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v 4, p.16–25, 2004.
- WEGLARZ, A. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. **Czech Journal of Animal Science**, v 55, p. 548–556, 2010.