

## **NOVAS METODOLOGIAS PARA AVALIAR A QUALIDADE DA CARNE - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CARNE E DERIVADOS PELA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR**

**Luiz A. Colnago<sup>1</sup>, Lucimara A. Forato<sup>1</sup>, Rymer R. Tullio<sup>2</sup>, Geraldo M. da Cruz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, <sup>2</sup>Embrapa Pecuária Sudeste  
colnago@cnpdia.embrapa.br

### **Introdução**

Neste trabalho, serão apresentadas as principais aplicações da ressonância magnética nuclear (RMN) na avaliação da qualidade de carne e de seus derivados. O fenômeno da RMN é observado em todos os materiais que contenham núcleos atômicos com número ímpar de prótons e/ou de nêutrons. Trata-se de isótopos que apresentam momento magnético e *spin* nuclear e que, quando colocados em um campo magnético (ímã), passam a precessionar com uma frequência característica (frequência de ressonância), que normalmente ocorre na faixa da onda de rádio ou de rádiofrequência. Assim, com a irradiação (excitação) da amostra com esta onda de rádio específica, a amostra passa a emitir o seu sinal de rádio, que é o sinal de RMN. A intensidade, a frequência e a duração do sinal são proporcionais à concentração, à composição química e à mobilidade do material, respectivamente.

Dentre os principais elementos componentes dos seres vivos, os isótopos de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e <sup>31</sup>P são os mais usados em estudos de qualidade de carne por RMN (BERTRAM, et al., 2001; BERTRAM, et al., 2004a; BERTRAM, et al., 2004b; BERTRAM, et al., 2005; BROWN, et al., 2000; LAURENT, et al., 2000; LEE, et al., 1992; MICKLANDER, et al., 2002; MONIN, 1998; PEARSON, et al., 1974; RENO, et al., 2003; TORNBERG, 1996), em razão da sua abundância natural e da sua sensibilidade. Esses isótopos estão presentes principalmente na água, nas gorduras, nas proteínas, nos carboidratos e nas substâncias químicas envolvidas no armazenamento e na geração da energia celular. As aplicações da RMN para avaliar a qualidade de carne e de derivados podem ser divididas em aplicações tomográficas ou espectroscópicas.

## **Tomografia por RMN**

A tomografia por RMN é baseada na dependência da frequência de ressonância com o campo magnético. Assim, quando se coloca a amostra em um campo magnético com variação linear, há uma relação direta entre a frequência de ressonância e a distribuição espacial dos principais componentes na amostra. Desta maneira, as imagens por RMN normalmente refletem a distribuição de água ou de gordura nos tecidos biológicos, com a análise do  $^1\text{H}$ .

Com a tomografia, assim como na área de diagnóstico médico por imagens, pode-se analisar o interior das amostras (carnes ou derivados), de maneira não-invasiva, e observar detalhes anatômicos, defeitos, como espaços vazios ou materiais sólidos, e distribuição e quantidade de gordura, entre muitas outras propriedades. Os estudos tomográficos estão sendo usados principalmente em pesquisas básicas, uma vez que o custo dos equipamentos e o longo tempo de medida (alguns minutos) inviabilizam seu uso rotineiro e em larga escala.

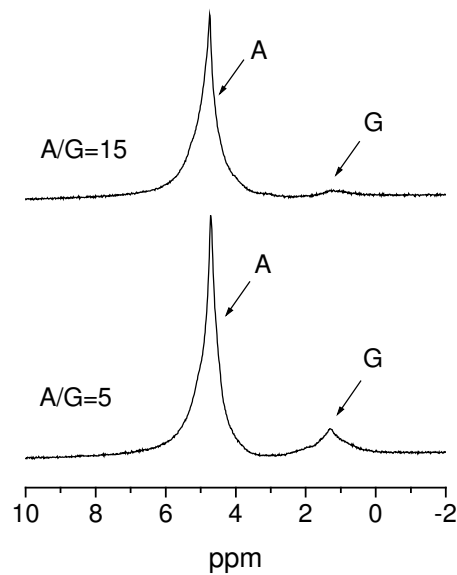
## **Espectroscopia por RMN.**

A espectroscopia de RMN pode ser dividida em espectroscopia de alta resolução (normalmente alto campo) ou de baixa resolução (baixo campo).

### **Espectroscopia de alta resolução**

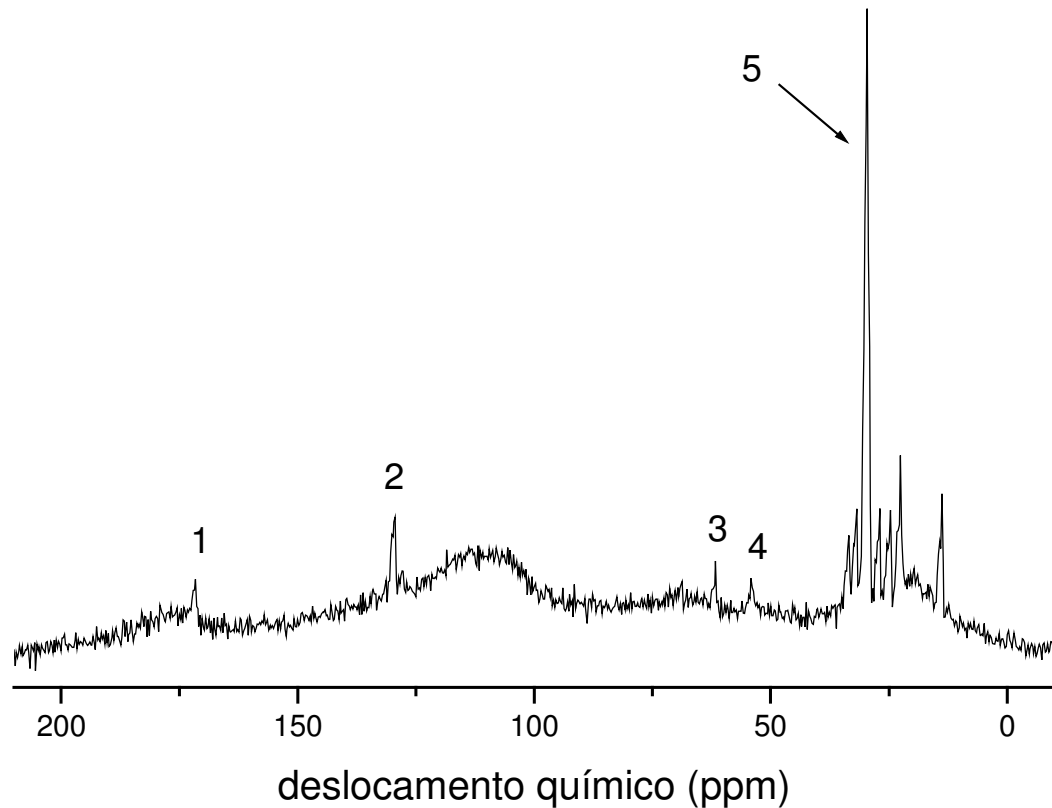
Na espectroscopia de alta resolução em alto campo, o principal parâmetro espectral usado é o deslocamento químico. Esse parâmetro reflete o ambiente químico em que o isótopo se encontra. Por exemplo, os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  podem ter um sinal para cada átomo desses elementos que sejam quimicamente diferentes. Por isso, a espectroscopia de alta resolução em alto campo é muito usada para determinar a estrutura de moléculas orgânicas e de moléculas biológicas.

Na Figura 1, estão representados dois espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de amostras de carne bovina com diferente teor de gordura. O sinal intenso em 4,7 ppm é devido à água (A) e em 1,2 ppm, à gordura (G). Assim, pode-se usar a razão das intensidades dos sinais A/G para saber o teor de gordura na carne (CORRÊA, et al., 2006).



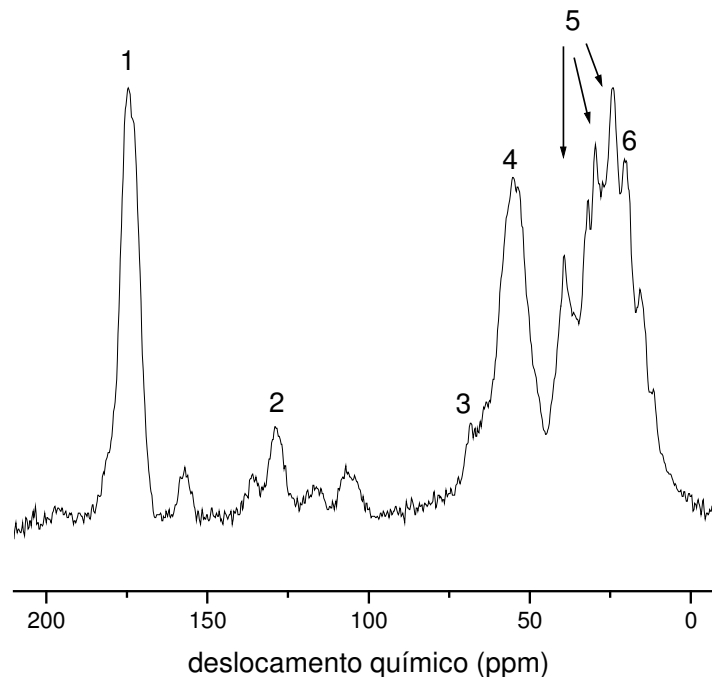
**Figura 1.** Espectros de  $^1\text{H}$  de duas amostras de contrafilé bovino com diferente teor de gordura. O espectro da amostra superior tem  $A/G = 15$  e o da inferior,  $A/G = 5$ , o que indica que esta tem mais gordura.

Na Figura 2, está representado um espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de uma amostra de carne bovina liofilizada. Neste espectro de  $^{13}\text{C}$ , usou-se uma técnica para detectar apenas substâncias com alta mobilidade, que são as gorduras (triacilglicerídeos). O sinal 1, em 172 ppm, é atribuído ao grupo carboxílico dos ácidos graxos; o sinal 2, em 130 ppm, aos carbonos de ligação dupla (principalmente ácido oléico); os sinais 3 e 4, em 70 e 60 ppm, ao glicerol; e o sinal 5 (abaixo de 40 ppm), aos carbonos alifáticos saturados. Com esse espectro, pode-se medir, por exemplo, a razão dos ácidos graxos saturados e dos insaturados, com a razão da intensidade do sinal intenso em 30 ppm (5) pelo sinal em 130 ppm (2).



**Figura 2.** Espectro de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  dos componentes de alta mobilidade de uma amostra de contrafilé bovino liofilizada.

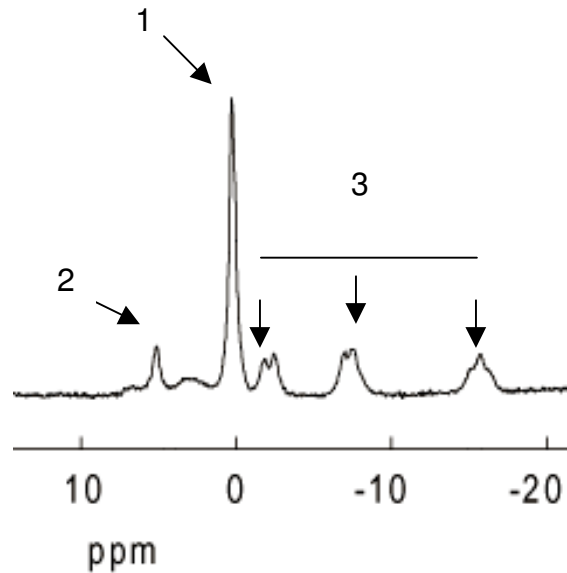
Na Figura 3, está representado um espectro de  $^{13}\text{C}$  de uma amostra de carne bovina liofilizada obtido com a técnica de RMN para detectar os componentes no estado sólido (proteínas e carboidratos). Neste espectro, os sinais 1, 4 e 5 são devidos às proteínas e este último também contém contribuições dos grupos metilênicos dos lipídeos; o sinal 2 é atribuído aos carbonos insaturados dos lipídeos; o sinal 3, aos carboidratos; e o sinal 6, ao ácido láctico.



**Figura 3.** Espectro de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido de contrafilé bovino liofilizado.

Com o  $^{31}\text{P}$  é possível analisar o metabolismo energético pós-morte e a mudança de pH. Na Figura 4, está representado um espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  de músculo. Os principais sinais dos espectros são devido à fosfocreatina, 1 (sinal intenso em 0 ppm), ao fosfato inorgânico, 2, (sinal em 5 ppm) e ao ATP e ao ADP, 3 (sinais abaixo de -1 ppm). A posição (deslocamento químico) do fosfato é sensível ao pH e tem correlação linear em valores de pH entre 5 e 7,5. A posição do sinal do fosfato tem sido usada para avaliar pH em carne e até mesmo em tecido vivo.

Apesar do enorme potencial de aplicação da RMN de alta resolução em estudos da qualidade de carnes, ela não tem aplicação direta nos sistemas produtivos, pois, assim como na tomografia, os equipamentos são muito caros e as análises são demoradas.



**Figura 4.** Espectro de ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}$  de músculo, com os sinais da fosfocreatina em 0 ppm, do fosfato inorgânico em 5 ppm e do ATP e do ADP abaixo de  $-1$  ppm.

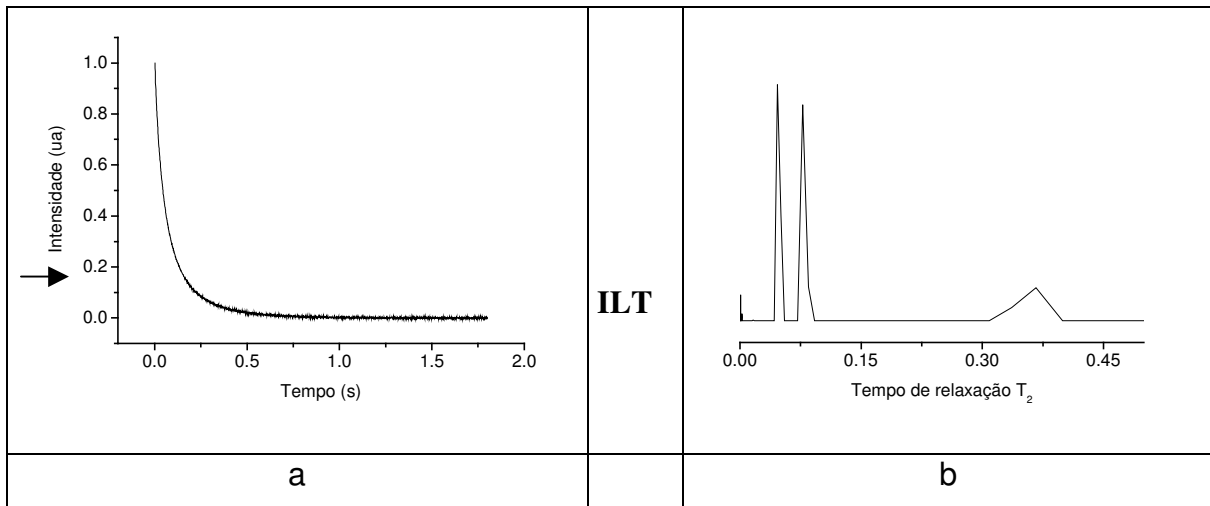
### Espectroscopia de baixa resolução

Na espectroscopia de baixa resolução, não se observa o deslocamento químico entre os vários componentes da amostra. Por exemplo, não se consegue diferenciar os sinais da água e da gordura, como na Figura 1.

A RMN de baixa resolução usa como parâmetro de análise da qualidade de carnes os tempos de relaxação denominados  $T_1$  e  $T_2$ . O  $T_2$  é o mais usado, pois pode ser obtido em menos de 1 seg e está mais diretamente relacionado com a mobilidade do sistema. Neste tipo de experimento, detecta-se o desaparecimento do sinal de RMN, que tem decaimento exponencial. O tempo de relaxação  $T_2$  é a constante de tempo da exponencial.

Para os componentes rígidos, de alta massa molecular, como as proteínas e os carboidratos, o tempo de relaxação é de alguns microsegundos. Para os componentes líquidos (água) ou semi-sólidos (gorduras), os tempos de relaxação podem variar de alguns milisegundos até cerca de um segundo.

Na Figura 5a, encontra-se o decaimento do sinal de RMN para uma amostra de carne bovina e na Figura 5b, o espectro de relaxação do sinal 'a', obtido pela transformada inversa de Laplace, em que se pode observar o comportamento multiexponencial, com três diferentes tempos de relaxação.



**Figura 5.** Decaimento do sinal de RMN e o respectivo espectro de relaxometria obtido com a transformada inversa de Laplace (ILT).

Bertram, et al. (2001) propuseram que o componente de relaxação mais rápido está associado a moléculas de água firmemente ligadas a macromoléculas; o componente intermediário, a moléculas dentro de estruturas protéicas altamente estruturadas; e o componente de relaxação mais lento, à água extramiofibrilar, que contém a fração protéica sarcoplasmática.

Independentemente da interpretação dos sinais de relaxação, vários autores têm usado os dados de relaxometria para estudos da qualidade de carne suína e de pescado. A análise dos sinais de relaxação com métodos de análise ou de regressão multivariada tem sido usada para avaliação do pH, da capacidade de retenção de água, da capacidade de ligação da água, do teor e da distribuição de gordura e da maciez, entre outros parâmetros físico-químicos que estão diretamente relacionados com a qualidade nutricional e sensorial da carne (BERTRAM et al., 2001; BERTRAM et al., 2004a; BERTRAM et al., 2004b; BERTRAM et al., 2005; BROWN et al., 2000; LAURENT et al., 2000; LEE et al.,

1992; MICKLANDER et al., 2002; MONIN, 1998; PEARSON et al., 1974; RENOUE et al., 2003; TORNBERG, 1996).

O baixo custo dos equipamentos de RMN de baixa resolução e a velocidade das medidas (alguns segundos) têm levado a estudos que indicam a viabilidade de uso desses equipamentos em frigoríficos, em distribuidores e em indústrias de transformação, como método rápido e não-invasivo de avaliação da qualidade da carne, *on-line*.

### Referências bibliográficas

LEE, J. R.; BAIANU, I. C.; BECHTEL, P. J. Hydration behavior of heart muscle studied by NMR relaxation. Changes with heat treatment in muscle hydration and water distribution in heart muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 2350-2355, 1992.

LAURENT, W.; BONNY, J. M.; RENOUE J. P. Muscle characterization by NMR imaging and spectroscopic techniques. **Food Chemistry**, v. 69, p. 419-426, 2000.

BERTRAM, H. C.; AASLYNG, M. D.; ANDERSEN, H. J. Elucidation of the relationship between cooking temperature, water distribution and sensory attributes of pork - a combined NMR and sensory study. **Meat Science**, v. 70, p. 75-81, 2005.

BERTRAM, H. C.; ENGELSEN, S. B.; BUSK, H.; KARLSSON, A. H.; ANDERSEN, H. J. **Meat Science**, v. 66, p. 437-446, 2004a.

BERTRAM, H. C.; KRISTENSEN, M.; ANDERSEN, H. J. Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment – a low-field NMR study. **Meat Science**, v. 68, p. 249-256, 2004b.

BERTRAM, H. N.; KARLSSON, A. H.; RASMUSSEN, M.; PEDERSEN, O. D.; DENSTRUP, S.; ANDERSEN, H. J. Origin of multiexponential T<sub>2</sub> relaxation in muscle myowater. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3092-3100, 2001.

BROWN, R. J. S.; CAPOZZI, F.; CAVANI, C.; CREMONINI, M. A.; PETRACCI, M.; PLACUCCI, G. Relationships between <sup>1</sup>H NMR relaxation data and some technological parameters of meat: A chemometric approach. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 147, p. 89-94, 2000.

CORRÊA, C. C.; FORATO, L. A.; VIZZOTTO, L.; RIBEIRO, F. Z.; CRUZ, G. M. da; TULLIO, R. R.; COLNAGO, L. A. Avaliação da relaxometria por RMN em baixa resolução para predição da qualidade de carne bovina. In: ENCONTRO DA AUREMN, 2006, Recife, PE. **Anais...** Recife: AUREMN, 2006. 1 CD ROM.

MICKLANDER, E.; PESHLOW, B.; PURSLOW, P. P.; ENGELSEN, B. NMR-cooking monitoring the changes in meat during cooking by low-field <sup>1</sup>H-NMR. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 341-346, 2002.



MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v. 49, p. 231-243, 1998.

PEARSON, R. T.; DUFF, I. D.; DERBISHYRE, W.; BLANSHARD, J. M. V. An NMR investigation of rigor in porcine muscle. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 362, p. 188-200, 1974.

RENOU, J. P.; FOUCAUT, L.; BONNY, J. M. Magnetic resonance imaging studies of water interactions in meat. **Food Chemistry**, v. 82, p. 35-39, 2003.

TORNBERG, E. Biophysical aspects of meat tenderness. **Meat Science**, v. 43, S175-S191, 1996.

**Agradecimentos:** CNPq, FAPESP e FINEP.