



ICBAS | INSTITUTO DE CIÊNCIAS
BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
**SCHOOL OF MEDICINE AND
BIOMEDICAL SCIENCES**

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

As carnes maturadas e os desafios à sua fiscalização

Margarida Pires da Silva Lopes

Orientador: Professor Doutor Paulo Martins da Costa

Coorientadora: Mestre Jacinta da Silva Ladeira

Porto, 2023



Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

As carnes maturadas e os desafios à sua fiscalização

Margarida Pires da Silva Lopes

Orientador: Professor Doutor Paulo Martins da Costa

Coorientadora: Mestre Jacinta da Silva Ladeira

Porto, 2023

RESUMO

A carne pode ser definida como o produto resultante do processo de maturação bioquímica que ocorre nos músculos após o abate. Existem três tipos de músculo, sendo o esquelético o mais abundante. A sua contração e relaxamento necessitam de energia obtida através da metabolização de hidratos de carbono, proteínas ou lípidos. Genericamente, a maturação sanitária define-se com o conjunto de alterações *post mortem* através das quais os músculos adquirirem as características típicas da carne, mediante o cumprimento de requisitos legais que garantam a qualidade higiénica e a segurança sanitária. O processo de maturação depende de fatores *ante mortem* e de procedimentos tecnológicos efetuados após o abate do animal. As carnes sujeitas a um longo período de maturação, sob temperaturas de refrigeração, com o objetivo de melhorar a sua palatabilidade denominam-se “carnes maturadas” ou, usando uma terminologia tecnicamente mais rigorosa, carnes com maturação comercial, sendo reconhecidos dois tipos: a seca e a húmida. A carne, mesmo quando refrigerada corretamente, sofre uma inexorável decomposição microbiana, resultando em alterações de cor, textura, odor, sabor, entre outras. Por este motivo, considera-se que a maturação por um período superior ao utilizado na maturação “normal” pode aumentar o risco sanitário. Não existe, atualmente, legislação específica para regular estes processos de maturação longa, sendo essencial a criação de condições adequadas e o controlo rigoroso dos parâmetros envolvidos nestes processos. Neste sentido, a harmonização de conceitos e de procedimentos traria benefícios para as autoridades competentes, operadores económicos e, em última análise, para a proteção da economia e da saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE:

Carne; Maturação comercial; Carne maturada; Microrganismos; Segurança alimentar.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial ao Prof. Paulo Martins da Costa pelo incansável apoio, compreensão, acompanhamento e pela disponibilidade permanente. Obrigada pelas palavras amigas e por me fazer ver que, por vezes, perdermo-nos um pouco do caminho principal pode levar-nos até destinos inesperados e mais bonitos do que os que pensávamos alcançar.

À Inspetora Chefe Jacinta da Silva Ladeira, por me dar a oportunidade de estagiar numa área que tanto gosto, e por me permitir desenvolver o meu relatório de estágio nesta matéria. Obrigada pela preocupação, paciência, conhecimentos transmitidos e por arranjar sempre um tempinho para mim.

A toda a equipa da ASAE, em particular aos inspetores Pedro, Mónica, Teresa, Diana, Jorge e Alexandra, pelos almoços, partilhas, ensinamentos, paciência e por me fazerem sentir parte da equipa. Ao inspetor Carlos, obrigada pela amizade e por me ensinar as mais “belas” expressões e músicas transmontanas.

Aos meus amigos “Inatingíveis”, João, Chico, Isa, Mariana, Filipa, Inês e Maria, pelas longas conversas, conselhos, risos, choros, stresses e apoio incondicional. Sem vocês, estes anos não teriam valido a pena.

À minha Mafs e à minha Telinho, as pessoas mais especiais que tive o prazer de conhecer. Obrigada por me mostrarem o verdadeiro significado da palavra “amizade”.

Aos meus amigos da vida, Inês, Bia, Marta, Chica e Jorge, que caminham comigo desde sempre e me amparam nos momentos mais difíceis.

Às minhas irmãs, pelo amor, brincadeiras e por permanecerem juntinho a mim em todos os momentos da minha vida. Ao meu irmão, pelos melhores mimos de sempre.

Aos meus avós, de quem tanto sinto falta e de quem tanto me orgulho.

Por fim, aos meus pais, por tudo e por mais alguma coisa. Pelas palavras no momento certo, o abraço quando mais preciso, o amor em todas as ocasiões. Agradeço do fundo do coração por sempre me terem permitido seguir o caminho que me faz mais feliz e por me apoiarem em todas as decisões. São e serão sempre o meu porto de abrigo.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. ANTES DA CARNE: O MÚSCULO	2
2.1. Composição Química	3
2.2. Estrutura	3
2.3. Histofisiologia muscular	5
3. MATURAÇÃO SANITÁRIA	7
3.1. Processo	7
3.1.1. Princípios da maturação	7
3.1.2. Condicionantes do processo	9
4. MATURAÇÕES ANORMAIS	13
4.1. Carne <i>Dry, Firm and Dark</i> – DFD	13
4.2. Carne <i>Pale, Soft and Exsudative</i> – PSE	14
4.3. Encurtamento pelo frio	15
4.4. Rigor de descongelação	15
5. MATURAÇÃO COMERCIAL – CARNES MATURADAS	16
5.1. Processos	17
5.1.1. Maturação seca (<i>Dry-ageing</i>)	17
5.1.2. Maturação húmida (<i>Wet-ageing</i>)	18
5.2. Decomposição microbiana	19
5.3. Tendências comerciais	21
5.4. Gestão do processo	22
5.4.1. Autoridades sanitárias	22
5.4.2. Operadores económicos	26
6. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do músculo esquelético	3
Figura 2. Estrutura da fibra muscular esquelética	4
Figura 3. Influência da velocidade e amplitude de diminuição do valor pH nas características da carne	14
Figura 4. Fluxograma genérico dos processos de maturação seca e húmida.	16
Figura 5. Esquema comparativo entre os processos de maturação sanitária e de maturação comercial e a evolução da população microbiana ao longo do tempo.	21

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais características dos tipos de músculo	2
Tabela 2. Composição química do músculo esquelético de mamíferos	3
Tabela 3. Efeitos da velocidade de refrigeração no processo de maturação.	12
Tabela 4. Parâmetros a controlar no processo de maturação seca e respetivos intervalos de valores reportados na literatura científica.....	17
Tabela 5. Parâmetros a controlar no processo de maturação húmida e respetivos intervalos de valores reportados na literatura científica.....	19
Tabela 6. Principais alterações de decomposição na carne e bactérias responsáveis. ...	20
Tabela 7. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico A	28
Tabela 8. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico B	29
Tabela 9. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico C	32

ABREVIATURAS

ADP	Adenosina-Difosfato
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
ATP	Adenosina-Trifosfato
BPF	Boas Práticas de Fabrico
BPH	Boas Práticas de Higiene
DGAV	Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
DFD	<i>Dark, Firm and Dry</i>
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (<i>European Food Safety Authority</i>)
e.g.	<i>Exempli gratia</i>
FM	Fibra(s) Muscular(es)
GA	Géneros Alimentícios
h	Horas
HACCP	Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (<i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i>)
HC	Hidratos de Carbono
HR	Humidade Relativa
i.e.	<i>Id est</i>
OESA	Operador(es) Económico(s) do Setor Alimentar
PCC	Ponto Crítico de Controlo
PSE	<i>Pale, Soft and Exsudative</i>
PPR	Programa de Pré-Requisitos
PPRo	Ponto Pré-Requisito Operacional
RS	Retículo Sarcoplasmático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
UE	União Europeia
UFC	Unidades Formadoras de Colónias

1. INTRODUÇÃO

A maturação engloba uma série de transformações bioquímicas e estruturais nos músculos do animal após o abate, permitindo a conversão do músculo em carne (Matarneh *et al.*, 2022). Sempre que este processo se prolonga para além do “normal”, com o objetivo de prolongar a ação enzimática no período *post mortem*, a carne passa a denominar-se “maturada”. Como resultado, obtém-se uma carne mais tenra e com um sabor e aroma únicos (EFSA, 2023). Nos últimos anos, tem havido um crescimento da procura por estas carnes, o que se tem refletido no aumento de operadores económicos do setor alimentar (OESA) a realizar estes processos de maturação comercial (MLA, 2018b; Pacheco, 2016).

A Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), enquanto autoridade competente em segurança alimentar, possui a função de fiscalizar os OESA, nomeadamente os estabelecimentos que produzem e comercializam carne “maturada”. Nas visitas de controlo a diversos OESA realizadas no âmbito deste estágio, verificou-se uma grande heterogeneidade nas condições de maturação comercial das carnes. Efetivamente, a ausência de regulamentação específica e a falta de uniformidade nos conceitos, dificulta a atuação das autoridades competentes. De facto, a maioria da informação disponível sobre a maturação comercial é encontrada em alguns artigos científicos e estudos experimentais dispersos, faltando a criação de um corpo de conhecimento e atuação coerente por parte das entidades com responsabilidade em segurança alimentar na União Europeia (UE).

Surgiu, assim, o interesse em compreender e reunir informação relevante relativa a este tema. Neste sentido, mostra-se importante diferenciar a maturação comercial de uma maturação “normal” (sanitária), assim como entender as condicionantes de ambos os processos. É fundamental, também, reconhecer a existência de uma linha ténue entre uma carne que sofre decomposição microbiana e uma carne “maturada”, pois tal reflete a pertinência da implementação de controlos rigorosos pelos OESA, de forma a assegurar a segurança do processo, principalmente em termos microbiológicos. Serão, ainda, referidas as ferramentas legais que as autoridades competentes têm à sua disposição para atuar. Por fim, será feita uma breve referência ao modo como é gerido o processo de maturação pelos OESA em Portugal, com recurso a exemplos práticos, bem como às conclusões e recomendações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), relativas à segurança microbiológica da carne “maturada”.

2. ANTES DA CARNE: O MÚSCULO

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004, que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios (GA) de origem animal, a “carne” define-se como as partes comestíveis dos animais (ungulados domésticos, aves de capoeira, lagomorfos, caça selvagem e caça de criação), incluindo o sangue. Biologicamente, a carne é maioritariamente composta por tecido muscular, embora outros tecidos façam parte da sua composição, nomeadamente, os tecidos conjuntivo, epitelial e nervoso (Aberle *et al.*, 2012). Para a ciência tecnológica alimentar, a carne é o produto resultante do processo de maturação bioquímica que ocorre nos músculos após o abate (Grigioni & Paschetta, 2012; Heinz & Hautzinger, 2007).

Para que o animal possa manter o seu corpo em funcionamento depende das funções de três tipos de músculo: liso, estriado cardíaco e estriado esquelético. As diferenças são resumidas na Tabela 1 (Mescher, 2018).

Tabela 1. Principais características dos tipos de músculo (Mescher, 2018).

Tipo de músculo	Localização	Função principal	Controlo	Contrações
Músculo liso	-Vasos sanguíneos -Trato respiratório -Trato digestivo -Bexiga -etc.	Regula: -Fluxo e pressão sanguínea; -Diâmetro dos bronquíolos; -Movimento do bolo alimentar; -Fluxo de urina -etc.	Involuntário	Lentas
Músculo estriado cardíaco	Coração	Batimentos cardíacos (sístole e diástole)	Involuntário	Vigorosas e rítmicas
Músculo estriado esquelético	Associado ao esqueleto	Movimento corporal	Voluntário	Rápidas e fortes

O músculo esquelético é o mais abundante dos três tipos de músculo, representando cerca de 35 a 60% do peso corporal total (Aberle *et al.*, 2012; Listrat *et al.*, 2016). Deste modo, a carne é predominantemente composta por músculo estriado esquelético e, por este motivo, é o que apresenta maior importância na indústria alimentar (Aberle *et al.*, 2012).

2.1. Composição Química

O músculo é composto por água, proteínas, lipídios, hidratos de carbono (HC) e compostos inorgânicos, conforme exposto na Tabela 2. As proteínas são o constituinte mais importante e podem ser classificadas em sarcoplasmáticas, miofibrilhares ou estromáticas (Aberle *et al.*, 2012). As proteínas sarcoplasmáticas incluem a mioglobina e as enzimas envolvidas na glicólise; as proteínas miofibrilhares podem-se subdividir em contráteis (miosina, actina e complexo troponina-tropomiosina), e citoesqueléticas; por fim, as proteínas estromáticas englobam as proteínas do tecido conjuntivo, tais como o colagénio, a elastina e a reticulina (Smulders *et al.*, 2014).

Tabela 2. Composição química do músculo esquelético de mamíferos. Adaptado de Aberle *et al.* (2012).

Constituinte	Porcentagem aproximada (%)
Água	65-80
Proteínas	16-22
Lípidos	1,5-3,0
Substâncias nitrogenadas não proteicas (aminoácidos, péptidos, creatina, fosfocreatina, creatinina, nucleótidos, etc.)	1,5
Hidratos de carbono	0,5-1,5
Compostos inorgânicos (vitaminas e minerais)	1,0

2.2. Estrutura

O músculo esquelético é composto por 75-92% de fibras musculares (FM), sendo o restante volume ocupado por tecido conjuntivo, tecido adiposo, vasos sanguíneos, fibras nervosas e fluido extracelular (Aberle *et al.*, 2012).

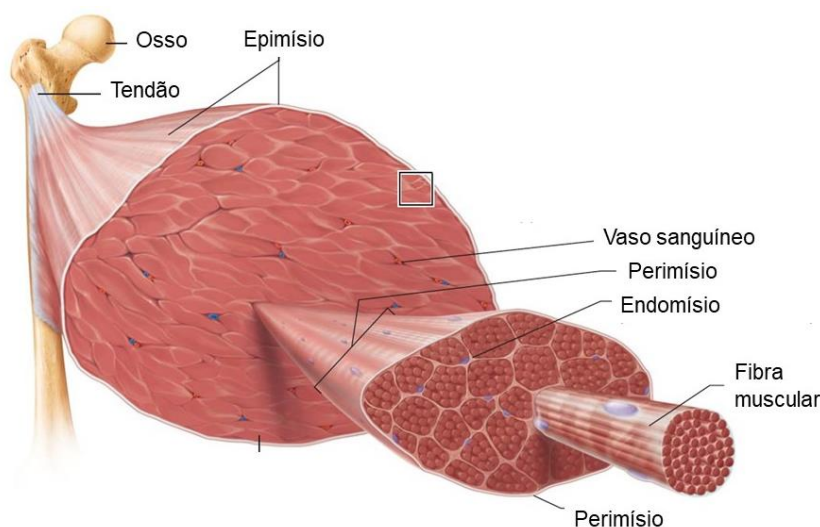


Figura 1. Estrutura do músculo esquelético. Adaptado de Marieb & Hoehn (2016).

As FM são células que se dispõem paralelamente umas às outras, dando lugar ao músculo (Prandl *et al.*, 1994). Cada FM é rodeada por uma camada fina de tecido conjuntivo, denominada de endomísio. Por sua vez, um grupo ou feixe de FM é envolvido por uma lâmina de tecido conjuntivo, o perimísio. Por fim, cada músculo é envolvido por uma grossa camada de tecido conjuntivo, o epimísio. É através do epimísio que o músculo se liga ao osso, por via da junção entre o músculo e o tendão, tal como é ilustrado na Figura 1 (Listrat *et al.*, 2016). Associado ao tecido conjuntivo, têm-se vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. Cada FM está unida a uma terminação nervosa, através da qual é realizado o controlo da contração muscular (Prandl *et al.*, 1994).

A nível microscópico, as células caracterizam-se por serem grandes, alongadas, multinucleadas e muito ricas em organelos intracelulares, sendo envolvidas por uma membrana plasmática: o sarcolema (Saladin, 2016). No seu interior contêm numerosas estruturas fibrilares proteicas, dispostas longitudinalmente (miofibrilhas) e imersas no sarcoplasma. O sarcoplasma contém grânulos de glicogénio, diversas proteínas solúveis (incluindo enzimas envolvidas na glicólise) e mioglobina, a qual transporta o oxigénio para as mitocôndrias e confere a cor vermelha ao músculo (Listrat *et al.*, 2016; Saladin, 2016). Entre as miofibrilhas adjacentes existem dois sistemas de membranas distintos e que estão envolvidos na contração muscular: os túbulos transversos (túbulos T) e o retículo sarcoplasmático - RS (Saladin, 2016), conforme ilustrado na Figura 2.

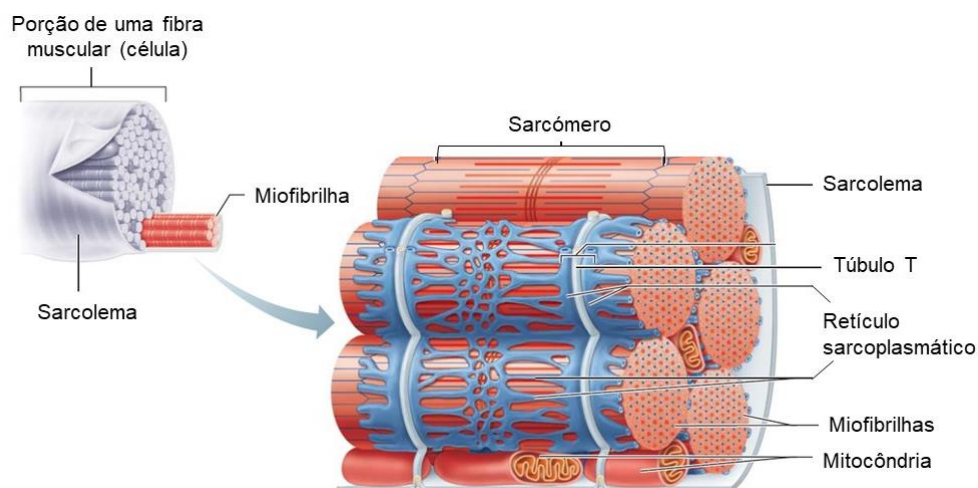


Figura 2. Estrutura da fibra muscular esquelética. Adaptado de Marieb & Hoehn (2016).

O sarcómero é a unidade funcional contrátil do músculo, sendo formado por proteínas contráteis - os miofilamentos. Os miofilamentos finos são principalmente constituídos por actina e contêm um local de ligação para a miosina. Os miofilamentos finos possuem, ainda, proteínas reguladoras importantes na contração muscular - tropomiosina e troponina. Os miofilamentos espessos consistem, essencialmente, em moléculas de

miosina, cujas extremidades possuem atividade de ATPase e um sítio de ligação para a actina, permitindo a formação do complexo actina-miosina aquando da contração (Saladin, 2016; Smulders *et al.*; 2014).

O sarcómero possui, também, proteínas que permitem o suporte e organização do músculo - proteínas citoesqueléticas - tais como a titina, miomesina, proteína C e nebulina (McCuller *et al.*, 2023).

2.3. Histofisiologia muscular

O músculo esquelético tem como principais funções a produção de movimento, a manutenção da postura, a estabilização de articulações e a manutenção da temperatura corporal, através de contrações musculares (Marieb & Hoehn, 2016; McCuller *et al.*, 2023).

A fim de executar as suas funções o músculo requer energia, que obtém através da degradação de adenosina-trifosfato - ATP (Prandl *et al.*, 1994). A produção de ATP pode resultar do metabolismo de HC, proteínas ou lípidos (Aberle *et al.*, 2012). No entanto, a fonte mais rápida de energia disponível no músculo é a fosfocreatina (Aberle *et al.*, 2012; Marieb & Hoehn, 2016).

Os HC são a principal fonte de energia, sendo o glicogénio o mais importante que existe no músculo. O glicogénio é um polissacarídeo, sintetizado a partir de moléculas de glucose obtidas através da dieta do animal, podendo ser metabolizado por via anaeróbica ou aeróbica, sendo esta última a mais eficiente em termos energéticos (Aberle *et al.*, 2012).

No sarcoplasma do músculo ocorre glicólise, processo no qual a glucose é convertida em ácido pirúvico, havendo produção de ATP e iões H^+ . Numa segunda fase, ao nível da mitocôndria e na presença de oxigénio, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, culminando na produção de dióxido de carbono e iões H^+ . A terceira fase - fosforilação oxidativa - ocorre na cadeia transportadora de eletrões, ao nível da membrana da mitocôndria. Aqui, os iões H^+ provenientes da glicólise e do ciclo de Krebs são combinados com uma molécula de oxigénio, formando-se água. Esta reação resulta na libertação de energia e posterior produção de ATP. Na ausência de oxigénio, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico, produzindo-se ATP em menor quantidade comparativamente com a via aeróbica (Aberle *et al.*, 2012).

Além dos HC, os lípidos fornecem uma quantidade significativa de energia, encontrando-se armazenados sob a forma de triglicerídeos. Em caso de necessidade, os ácidos gordos são libertados das moléculas de triglicerídeos e entram no ciclo de Krebs, havendo síntese de ATP (Cross & Singh, 2023). Adicionalmente, podem ser utilizados aminoácidos provenientes da degradação proteica. Tal como os ácidos gordos, entram no ciclo de Krebs e são convertidos em energia (Aberle *et al.*, 2012).

Revisto sumariamente o metabolismo energético do músculo, importa agora entender os mecanismos através dos quais este tecido cumpre as suas funções.

Contração e Relaxamento

Normalmente, uma contração inicia-se com um estímulo nervoso que tem origem no cérebro ou medula espinal. No caso do músculo esquelético, as fibras nervosas que transmitem este estímulo são denominadas de neurónios motores (Aberle *et al.*, 2012).

O neurónio motor gera um potencial de ação que leva à libertação de neurotransmissores de acetilcolina na junção neuromuscular que, sofrendo uma despolarização, transmite o potencial de ação à FM ao longo da membrana celular até aos túbulos T e, posteriormente, para o interior da FM. A despolarização causa a abertura de canais dependentes de voltagem nos túbulos T, os quais se encontram intimamente ligados ao RS. Tal leva à abertura de canais de cálcio presentes nas cisternas terminais ao nível do RS, o que resulta na libertação do cálcio aí armazenado para o sarcoplasma. O cálcio libertado liga-se à troponina do filamento fino, causando alteração de conformação do complexo troponina-tropomiosina. Como resultado, ocorre exposição dos sítios ativos no filamento de actina, que ficam livres para a ligação com as cabeças da miosina, possibilitando a formação de pontes cruzadas entre os filamentos de actina e miosina. De seguida, a ATPase da cabeça da miosina hidrolisa o ATP, alterando a sua conformação de forma a induzir o deslizamento entre os filamentos (McCuller *et al.*, 2023; Saladin, 2016) e o consequente encurtamento do sarcómero, gerando a contração muscular (McCuller *et al.*, 2023).

A contração termina assim que a transmissão de impulsos nervosos cessa, na medida em que a acetilcolina é continuamente hidrolisada pela acetilcolinesterase. Tal resulta na repolarização do sarcolema e dos túbulos T, regressando-se ao potencial de repouso. O excesso de cálcio presente no sarcoplasma é removido pelas membranas do RS, através da bomba de cálcio que recebe energia resultante da hidrólise de ATP. Posteriormente, este cálcio é transferido para as cisternas terminais, onde é armazenado até à emissão de um novo estímulo nervoso. À medida que a concentração de cálcio no sarcoplasma diminui, quebram-se as pontes cruzadas entre a actina e a miosina, e a troponina liberta o cálcio a ela ligado no início do processo de contração. Tal permite que a tropomiosina volte à sua posição original e bloqueie os sítios de ligação para a miosina, no filamento de actina. Assim que se desfazem as pontes cruzadas entre os filamentos de actina e de miosina, a FM relaxa (Aberle *et al.*, 2012; Saladin, 2016).

Mecanismo de reparação do tecido muscular

O músculo esquelético pode sofrer lesões motivadas por doença, exposição a agentes miotóxicos, trauma brusco ou forte, exposição a temperaturas extremas ou, ainda, devido à própria contração muscular excessiva ou prolongada (Karalaki *et al.*, 2009; Tidball, 2011). Independentemente da causa subjacente, a reparação muscular pode ser dividida em três fases sucessivas que se sobrepõem ao longo do tempo (Monsanto *et al.*, 2019).

Após a lesão muscular, tem-se uma primeira fase de destruição ou degeneração das FM. De um modo geral, esta fase compreende a rutura e subsequente necrose das miofibrilhas, formação de um hematoma no local de rutura muscular e ocorrência de reação inflamatória. A segunda fase - fase de reparação - caracteriza-se pela fagocitose do tecido necrosado e regeneração das miofibrilhas. Simultaneamente, forma-se tecido conjuntivo cicatricial e ocorre a angiogénese. A terceira fase é a de remodelação, período durante o qual se desenrola o processo de regeneração das miofibrilhas. Há, também, contração e reorganização do tecido cicatricial e recuperação da capacidade funcional do músculo (Järvinen *et al.*, 2005).

3. MATURAÇÃO SANITÁRIA

3.1. Processo

A maturação tem diversas definições. A maioria dos autores caracteriza-a como um processo natural de amaciamento da carne que tem início após o *rigor mortis* e progride até à autólise total, se não for retardado pela refrigeração, congelação, salga ou outro processamento tecnológico (Andrighetto *et al.*, 2006; Devine, 2014; Felício & Pflanzner, 2018; Smulders *et al.*, 2014). Outros autores definem-na como um processo que compreende uma série de transformações que se iniciam no músculo logo após o abate, e que proporcionam à carne as suas propriedades características no tocante à cor, tenrura, aroma e textura (Matarneh *et al.*, 2022).

De um modo geral, pode-se definir a maturação como sendo um processo *post mortem* que permite ao músculo adquirir as características típicas da carne (Casoli *et al.*, 2005; Matarneh *et al.*, 2022), devendo este processo (maturação sanitária) cumprir os requisitos internacionais e da legislação europeia e portuguesa aplicáveis, a fim de garantir a qualidade higiénica e sanitária da carne (Limoni *et al.*, 2019).

3.1.1. Princípios da maturação

A conversão do músculo em carne envolve alterações metabólicas, bioquímicas, físicas e estruturais no músculo esquelético (Matarneh *et al.*, 2022; Milhardas, 2015).

Após o abate, há interrupção da circulação sanguínea. Como tal, cessa o transporte de oxigénio para o músculo, deixando de ocorrer fosforilação oxidativa. No entanto, o músculo continua a sintetizar e a utilizar energia (ATP), numa tentativa de assegurar a homeostase celular (Matarneh *et al.*, 2022).

Numa primeira instância, a concentração de ATP é mantida através da utilização de fosfocreatina. Contudo, as reservas desta fonte são limitadas e, logo que estas se esgotam, a glicólise anaeróbica torna-se a principal via metabólica. O metabolismo anaeróbico é significativamente menos eficiente do que o metabolismo aeróbico. Como resultado, a velocidade de utilização de ATP excede largamente a velocidade a que este é produzido (Matarneh *et al.*, 2022). Não havendo ATP, o transporte ativo de cálcio deixa de ocorrer e, por conseguinte, as ligações formadas entre a actina e a miosina durante a contração mantêm-se, não ocorrendo relaxamento muscular. Estabelece-se, portanto, um crescendo de ligações que conduzirão a um estado de grande rigidez (*rigor mortis*) (Grigioni & Paschetta, 2012) e, conseqüentemente, à redução da extensibilidade e capacidade de retenção de água do músculo (Milhardas, 2015). O *rigor mortis* tem início cerca de 9-12 horas (h) após a morte do animal e atinge o seu máximo em 20-24 h. O tempo necessário para que este se estabeleça depende de fatores internos, principalmente das reservas de glicogénio e de ATP, e de fatores externos, como a temperatura de refrigeração (Gracey *et al.*, 1999).

A obtenção de energia pela via anaeróbica resulta na produção de ácido láctico que se vai acumulando na célula. Este evento, conjuntamente com os prótons derivados da glicólise e da hidrólise do ATP, reduzem o valor do pH celular de 7,0-7,2 para 5,4-5,8, cerca de 24 h após o início do processo (Grigioni & Paschetta, 2012; Matarneh *et al.*, 2022). Esta descida do valor do pH leva a que as proteínas alcancem o seu ponto isoelétrico e se agreguem, reduzindo a capacidade de retenção de água no músculo (Grigioni & Paschetta, 2012).

Posteriormente, a entrada em ação das endoproteases vai desencadear a hidrólise das proteínas musculares e, conseqüentemente, a resolução do *rigor mortis* (Grigioni & Paschetta, 2012). As calpaínas (I, II e III) são as principais enzimas responsáveis pela proteólise (Matarneh *et al.*, 2022). Estas proteases sarcoplasmáticas são ativadas pelo cálcio e a sua atividade é, também, dependente do valor de pH e da temperatura. De facto, as calpaínas I e II são ativadas quando se atinge um valor de pH próximo de 5,7 (Limoni *et al.*, 2019). Com esta descida do valor de pH, o RS perde a capacidade de sequestrar o cálcio, conduzindo ao aumento da concentração deste ião no sarcoplasma e conseqüente aumento da atividade da calpaína I (Matarneh *et al.*, 2022). Esta protease é a que possui maior importância na proteólise (Grigioni & Paschetta, 2012), e atua degradando proteínas

miofibrilhares específicas, nas quais se incluem a troponina, tropomiosina, proteína C, entre outras. A hidrólise da tropomiosina e troponina provoca a desestruturação e libertação dos filamentos de actina. Por outro lado, a degradação da proteína C causa a libertação dos filamentos de miosina. Estes acontecimentos conduzem ao enfraquecimento da estrutura miofibrilar e ao aumento da tenrura da carne (Andrighetto *et al.*, 2006).

A calpastatina é a enzima inibidora específica das calpaínas I e II, sendo responsável pela regulação da atividade proteolítica das calpaínas (Andrighetto *et al.*, 2006; Matarneh *et al.*, 2022). No entanto, a sua ação vai diminuindo ao longo da maturação, influenciando a velocidade da proteólise das miofibrilhas e, consequentemente, o amaciamento da carne (Devine, 2014).

Quando o pH atinge um valor inferior a 6,0, entram em ação as catepsinas, particularmente as B e D (capazes de hidrolisar as proteínas miofibrilhares: actina e miosina) e as B e L, que degradam proteínas do tecido conjuntivo, mais precisamente, o colagénio (Andrighetto *et al.*, 2006).

Todos estes eventos explicam a evolução do músculo após o abate que, partindo de uma aparência viscosa, com uma cor escura e sem capacidade de absorção de condimentos, passadas 24 h, se apresenta menos viscoso, com menor resistência elétrica e uma cor vermelho vivo, adquirindo as propriedades típicas da carne (Gracey *et al.*, 1999).

3.1.2. Condicionantes do processo

As transformações que ocorrem no músculo após o abate dependem de fatores *ante mortem* (Ferguson & Gerrard, 2014; Gracey *et al.*, 1999). De facto, existem vários fatores que determinam o início e a duração do *rigor mortis*, a velocidade e a amplitude da redução do valor de pH e as propriedades da carne (Roça, s.d.b). Existem, ainda, procedimentos tecnológicos realizados após o abate que vão interferir na maturação.

3.1.2.1. Saúde animal

Em animais saudáveis e repousados, as reservas de glicogénio são elevadas. Pelo contrário, os animais gravemente doentes ou febris possuem as suas reservas diminuídas. Deste modo, se um animal for abatido doente, o *rigor mortis* é ligeiro ou não se instala. Além disso, não havendo quantidade suficiente de glicogénio, a acidificação no músculo é insuficiente, comprometendo as etapas subsequentes da maturação (Ferguson & Gerrard, 2014; Gracey *et al.*, 1999).

3.1.2.2. Criação animal

Neste trabalho, serão abordados fatores que têm uma influência determinante na maturação da carne - espécie, raça, idade, modo de produção e alimentação -, ficando excluídos o efeito dos anabolizantes e medicamentos veterinários (Roça, s.d.a).

A velocidade da glicólise após o abate varia entre espécies, sendo maior em suínos e aves, comparativamente aos bovinos e ovinos. Assim, a velocidade de diminuição do valor do pH também vai variar na mesma medida: mais rápida nas aves e suínos (4-8 h) e mais lenta nos ovinos (12-24 h) e bovinos (15-36 h) (Obanor, 2002).

A raça tem uma influência menor do que a espécie, exceto nos suínos. Nestes animais, existe uma grande variabilidade entre raças associada a mutações genéticas, que se traduz em diferentes sensibilidades ao stress (Palma, 2017; Salas & Mingala, 2017). Nos bovinos, é possível encontrar diferenças entre raças ao nível da quantidade da enzima calpastatina (Matarneh *et al.*, 2022). A relação entre a atividade da calpaína e da calpastatina determina a velocidade e extensão do amaciamento da carne (Bridi, s.d.). Neste sentido, devido ao facto dos bovinos *Bos indicus* apresentarem maior atividade da calpastatina, estes possuem uma carne mais dura que os *Bos taurus* (Matarneh *et al.*, 2022).

A idade a que o animal é abatido influencia diretamente a composição da carcaça, devido à variação na razão entre o osso, carne e gordura. À medida que o animal envelhece, aumenta a gordura intramuscular (saturada). Há, também, um aumento da formação de ligações cruzadas entre moléculas de colagénio, tornando-as mais resistentes e insolúveis, o que se reflete no endurecimento da carne (Júnior, 2023).

Relativamente ao modo de produção, os animais mais ativos e que se exercitam mais possuem maiores reservas de glicogénio e fosfocreatina. Como resultado, o *rigor mortis* aparece mais tarde e a carne alcança um valor final de pH baixo (Ferguson & Gerrard, 2014; Gracey *et al.*, 1999).

Por fim, uma alimentação rica em HC permite ao animal assegurar maiores reservas de glicogénio, aumentando também a sua gordura intramuscular (Júnior, 2023). Por conseguinte, o *rigor mortis* estabelece-se mais tardiamente e o valor de pH final é baixo (Ferguson & Gerrard, 2014; Gracey *et al.*, 1999).

3.1.2.3. Maneio pré-abate

A fim de garantir os níveis de glicogénio essenciais a uma maturação normal, é fundamental que exista um período adequado de repouso, para que o animal recupere do

stress e fadiga causados pelo transporte. Além disso, é fundamental que se minimize o stress, medo e excitação no período pré-abate (Gracey *et al.*, 1999; Matarneh *et al.*, 2022).

Durante o período de repouso, que tem lugar na abegoaria, o animal é sujeito a um jejum (Matarneh *et al.*, 2022) que, quando demasiado longo, implica a perda de reservas de glicogénio muscular (Gracey *et al.*, 1999).

Durante os acontecimentos que ocorrem no período pré abate - transporte para o matadouro, permanência na abegoaria e encaminhamento para a linha de abate - é possível que o animal seja exposto a fatores stressantes, como o trauma físico, medo, excesso de barulho, sobredensidade, lutas hierárquicas, maus-tratos, calor e frio, entre outros (Birhanu, 2020; Gracey *et al.*, 1999).

Os animais podem ser sujeitos a stress por um curto período (minutos a horas) - stress agudo - ou por um longo período (dias, meses, anos) - stress crónico (Loudon *et al.*, 2019). Inicialmente, o animal tem uma reação imediata, que conduz à ativação do sistema nervoso simpático (SNS), resultando na libertação de catecolaminas. As catecolaminas estimulam a glicogenólise e induzem a vasoconstrição periférica, o aumento da frequência cardíaca, a dilatação brônquica e a paragem da digestão (Gracey *et al.*, 1999). Numa segunda fase, tem-se uma resposta mais prolongada no tempo, na qual ocorre ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo estimulada a síntese e libertação de glucocorticoides, havendo uma diminuição na síntese proteica e um acelerar da glicogenólise. O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal atua complementando o SNS: os glucocorticoides, principalmente o cortisol, promovem a mobilização de energia e amplificam as respostas mediadas pelas catecolaminas (Loudon *et al.*, 2019).

A depleção das reservas energéticas musculares, previamente ao abate, interfere na acidificação no período *post mortem* (por diminuição da produção de ácido láctico) e resulta no rápido estabelecimento do *rigor mortis* (Gracey *et al.*, 1999; Loudon *et al.*, 2019), na medida em que, conforme anteriormente revisto, a energia é essencial para o relaxamento muscular.

3.1.2.4. Processamento – Após o abate

3.1.2.4.1. Refrigeração

A temperatura a que a carcaça é submetida influencia a velocidade das reações bioquímicas que acontecem no músculo (Obanor, 2002). A temperaturas baixas, as reações decorrem a menor velocidade (Matarneh *et al.*, 2022) e o *rigor mortis* desenvolve-se mais lentamente (Savell, 2012). Além disso, a atividade das enzimas glicolíticas diminui, havendo um menor consumo de ATP e consequente redução da velocidade de declínio do valor do pH (Obanor, 2002). Pelo contrário, a temperaturas elevadas, aumenta a

velocidade do metabolismo e da depleção de ATP, resultando num rápido declínio do pH e rápido estabelecimento do *rigor mortis* (Matarneh *et al.*, 2022; Savell, 2012).

Imediatamente após o abate, a temperatura corporal ronda os 37- 39 °C, intervalo ideal para o crescimento de microrganismos patogénicos e de decomposição. Por isso, é importante efetuar uma refrigeração adequada e controlada que permita diminuir a temperatura da carcaça, possibilitando o controlo do crescimento de microrganismos indesejáveis na sua superfície (Xu *et al.*, 2012) e uma adequada maturação da carne (Palma, 2010). Como tal, é necessário ter em conta a velocidade a que se realiza a refrigeração (Tabela 3).

Tabela 3. Efeitos da velocidade de refrigeração no processo de maturação. Adaptado de Lovatt (2014), Matarneh *et al.* (2022), Prandl *et al.* (1994) e Savell (2012).

Eventos associados à maturação da carne (após o abate)	Impacto da velocidade de refrigeração nesses eventos	
	Rápida	Lenta
<i>Rigor mortis</i>	Atrasa o início do <i>rigor mortis</i> e diminui a intensidade do mesmo	Acelera o início do <i>rigor mortis</i> e aumenta a intensidade do mesmo
Processos metabólicos nos miócitos	Decorrem a menor velocidade	Decorrem a maior velocidade
Atividade das calpaínas e da catepsina	Reduzida	Intensificada
Declínio do pH	Lento	Rápido
Proliferação microbiana	Reduzida	Intensa

Sendo esta uma etapa crítica para a maturação, é fundamental o desenvolvimento de sistemas de refrigeração que tenham em conta a temperatura ideal da carne e a velocidade a que deve ocorrer a sua refrigeração. Assim sendo, o procedimento mais adequado seria, num primeiro momento, realizar uma redução rápida da temperatura de forma a impedir a multiplicação de microrganismos patogénicos ou a maturação para níveis indesejáveis (Lovatt, 2014). No entanto, a temperatura não deve descer abaixo dos 10 °C até que se complete o *rigor mortis*; *i.e.*, até que ocorra a acidificação e a hidrólise proteica (proteólise) e, na sequência da mesma, os músculos relaxem. Como tal, a temperatura deverá estabilizar durante um certo período, num valor próximo dos 10 °C, para que os processos bioquímicos que permitem a transformação do músculo em carne possam ocorrer (Cruz-Monterrosa & Guerrero-Legarreta, 2012; Honikel, 2014; Mao *et al.*, 2012). Posteriormente, deverá haver nova redução da temperatura de forma a cumprir os requisitos legais (Regulamento 853/2004), que estabelecem a obrigatoriedade de conservar a carne a uma temperatura uniforme não superior a 7 °C.

Para além dos fatores mencionados no ponto 3.1.2., existem outros que exercem influência na maturação, tais como o modo de suspensão da carcaça, a aplicação de choques elétricos na carcaça e a adição de agentes amaciadores (Hopkins, 2014; Hopkins & Bekhit, 2014). No entanto, tais fatores ultrapassam o âmbito deste trabalho.

4. MATURAÇÕES ANORMAIS

A maturação da carne pode ser condicionada por alterações fisiológicas ou por fatores externos ao animal, surgindo maturações anormais (Prandl *et al.*, 1994).

4.1. Carne *Dry, Firm and Dark* – DFD

Esta carne caracteriza-se pela sua cor escura (*dark*) e superfície dura (*firm*) e seca (*dry*), ocorrendo maioritariamente em bovinos. Advém, sobretudo, do stress prolongado previamente ao abate. Tal traduz-se na depleção das reservas de glicogénio em vida, sem que se consigam repor as mesmas (Miller, 2007). Uma quantidade inadequada de glicogénio resulta numa menor extensão do metabolismo no período *post mortem*, limitando a diminuição do valor do pH. De facto, o pH final permanece alto (Figura 3), com valores superiores a 6,0 ao fim de 24 h após o abate (Matarneh *et al.*, 2022).

A cor encontra-se diretamente relacionada com o valor de pH final. Deste modo, um valor de pH elevado minimiza a perda dos pigmentos naturais da carne (mioglobina) e a desnaturação proteica. Logo, a estrutura proteica permanece intacta e há uma maior absorção de luz (Smulders *et al.*, 2014). A respiração celular continua e, por isso, resta menos oxigénio para a formação de oximioglobina e, conseqüentemente, forma-se uma camada fina de oximioglobina e no restante tecido muscular predomina desoximioglobina, que confere uma cor vermelho-púrpura (Dobbelstein, 2005).

A subida do valor do pH conduz ao afastamento do ponto isoelétrico das proteínas. Por conseguinte, a capacidade de retenção de água no músculo aumenta e a quantidade de água livre no espaço extracelular é menor (Matarneh *et al.*, 2022). Este facto explica a consistência dura e, novamente, a cor escura, por menor reflexão da luz que incide na superfície da carne (Smulders *et al.*, 2014). Ainda, a elevada quantidade de água e o valor de pH alto favorecem a proliferação microbiana (Dobbelstein, 2005; Matarneh *et al.*, 2022). Além destas modificações, verifica-se a alteração do sabor e do odor. Nestas circunstâncias, a carne adquire um sabor insípido (Smulders *et al.*, 2014).

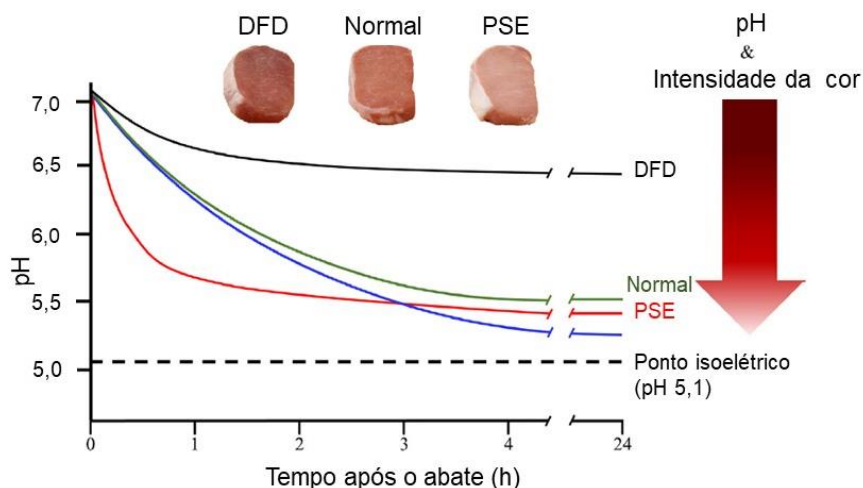


Figura 3. Influência da velocidade e amplitude de diminuição do valor pH nas características da carne. Adaptado de Matarneh *et al.* (2022).

4.2. Carne *Pale, Soft and Exsudative* – PSE

A carne PSE possui uma cor pálida (*pale*), textura mole (*soft*) e é exsudativa (*exsudative*). O seu desenvolvimento está associado, principalmente, a fatores genéticos (mutações genéticas em suínos) e a stress agudo prévio ao abate (Feiner, 2006; Matarneh *et al.*, 2022). É resultado da ocorrência simultânea de um valor de pH baixo, que atinge um valor próximo de 5,8 cerca de 1 h após abate (Figura 3), e uma temperatura corporal elevada (superior a 37 °C). O ácido lático produzido a partir da metabolização anaeróbica do glicogénio, enquanto o animal ainda está vivo, juntamente com uma glicólise rápida no período *post mortem*, traduz-se no rápido declínio do valor do pH (Feiner, 2006).

Estas condições conduzem à desnaturação extrema das proteínas miofibrilares e, consequentemente, a carne adquire uma textura mole. O valor do pH encontra-se muito próximo do ponto isoeletrico e, portanto, as proteínas vão possuir igual quantidade de cargas negativas e positivas. Como resultado, os miofilamentos aproximam-se, reduzindo o espaço entre eles e impossibilitando a ligação da água às proteínas, conduzindo à diminuição da capacidade de retenção de água. Assim, a destruição da componente proteica e a estrutura fechada das restantes proteínas resultam na exsudação (Feiner, 2006; Mantese, 2002).

A cor pálida advém da estrutura proteica fechada e da elevada quantidade de água presente no espaço extracelular, que impedem a penetração de luz na carne, causando a sua reflexão (Feiner, 2006; Mantese, 2002). Adicionalmente, a mioglobina encontra-se parcialmente desnaturada, não sendo capaz de absorver a luz, o que contribui para a palidez da carne (Feiner, 2006).

4.3. Encurtamento pelo frio

O encurtamento pelo frio decorre do arrefecimento demasiado rápido da carcaça após o abate (Feiner, 2006). O músculo submetido a temperaturas de refrigeração (inferiores a 10-15 °C) antes do estabelecimento do *rigor mortis*, e perante um valor de pH ainda elevado (6,0-6,4), sofre uma contração muito intensa. Tal deve-se à forte interação entre a actina e a miosina, que resulta numa redução significativa do comprimento das FM e, portanto, no encurtamento do músculo (Matarneh *et al.*, 2022).

Esta condição pode ser explicada pelo facto de a temperaturas inferiores a 15 °C haver uma libertação massiva de cálcio pelo RS e ativação da ATPase da miosina, enzima envolvida na contração muscular. Adicionalmente, a temperaturas baixas, verifica-se a redução ou inibição da bomba de cálcio do RS e, conseqüentemente, ocorre acumulação de cálcio no sarcoplasma, sucedendo-se uma série de eventos que culminam na formação de pontes entre a actina e a miosina (Matarneh *et al.*, 2022). Também, há redução da atividade das enzimas proteolíticas e, como tal, as estruturas musculares mantêm-se íntegras (Silva *et al.*, 2011). Como resultado, a carne apresenta-se extremamente dura (Monin & Santé-Lhoutellier, 2014).

4.4. Rigor de descongelação

Este processo ocorre em carcaças que são rapidamente congeladas num estado de *pré rigor* muscular. Durante a congelação, há interrupção dos processos bioquímicos que conduzem ao *rigor mortis*. Além disso, formam-se cristais de gelo no músculo, que previnem a ocorrência de encurtamento pelo frio (Monin & Santé-Lhoutellier, 2014). Quando se procede ao descongelamento da carne, verifica-se uma intensa e repentina libertação de iões de cálcio, assim como uma elevada atividade ATPásica. Como consequência, ocorre uma forte contração muscular, com encurtamento exagerado das FM (até 50% do comprimento do sarcómero em repouso) e perda de líquidos (até 30-40%). Com a contração, os cristais de gelo formados provocam a desintegração das membranas do RS e das membranas celulares, contribuindo para a perda de fluidos (Honikel, 2014). Como consequência, obtém-se uma carne muito dura (Rodrigues & Silva, 2016).

5. MATURAÇÃO COMERCIAL – CARNES MATURADAS

A maturação comercial realiza-se mantendo a carne fresca em câmaras de frio durante um longo período após o estabelecimento do *rigor mortis*, ocorrendo alterações enzimáticas e físico-químicas que conferem à carne propriedades típicas, bastante distintas das resultantes da maturação sanitária (EFSA, 2023).

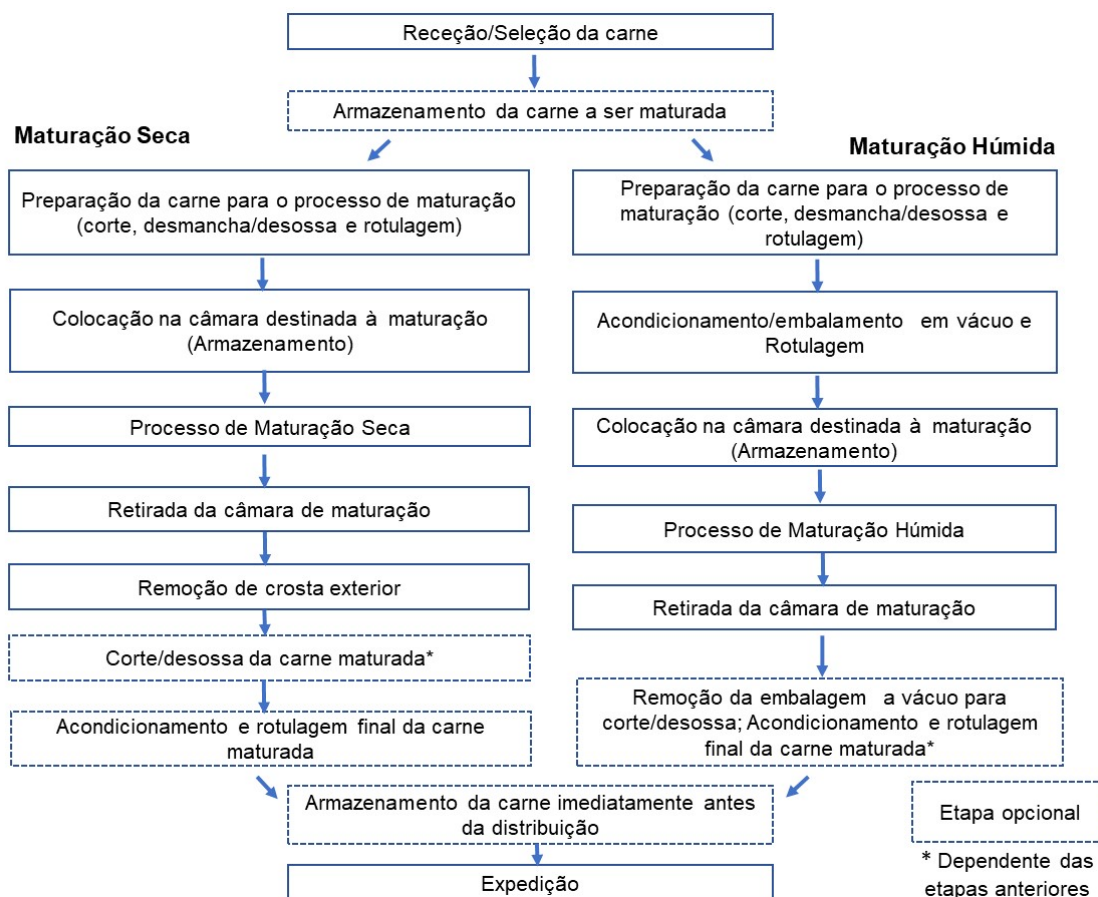


Figura 4. Fluxograma genérico dos processos de maturação seca e húmida. Adaptado de EFSA (2023).

O tempo de maturação é variável sendo normalmente considerado necessário um período mínimo de 14 dias, a fim de obter as características típicas de uma carne “maturada” (EFSA, 2023).

No geral, existem dois tipos de técnicas de maturação comercial (Figura 4) - maturação seca e maturação húmida - que têm como objetivo melhorar a palatabilidade da carne de acordo com as expectativas do consumidor, particularmente relativamente à tenrura e sabor (EFSA, 2023).

5.1. Processos

5.1.1. Maturação seca (*Dry-ageing*)

Consiste em manter, durante semanas ou meses, carcaças ou peças não embaladas (em ambiente aeróbico) sob climatização (Tabela 4); *i.e.*, condições controladas de temperatura, HR e fluxo de ar (EFSA, 2023). Este processo, conhecido como *dry-ageing*, pratica-se mais frequentemente em carne de bovino, mas qualquer outra espécie pode ser tratada (EFSA, 2023).

Tabela 4. Parâmetros a controlar no processo de maturação seca e respetivos intervalos de valores reportados na literatura científica. Adaptado de EFSA (2023).

Parâmetro	Intervalo de variação	Intervalo de valores mais frequentes
Tempo de maturação	7 a 120 dias	14 a 35 dias
Temperatura	-0,6 a 8 °C	0 a 4 °C
Humidade relativa	50 a 100%	70 a 85 %
Fluxo de ar	0 a 5 m/s	0,5 a 2,5 m/s

Tempo de maturação

A duração da maturação exerce grande influência no sabor, tenrura e suculência da carne. A determinação do número de dias de maturação baseia-se, maioritariamente, na preferência do OESA e não tanto em estudos científicos. Estes últimos, por sua vez, são por vezes contraditórios. No entanto, é geralmente aceite que é necessário um período mínimo de 14 dias, podendo ser estendido até aos 35 dias (EFSA, 2023).

Temperatura

Devem ser utilizadas temperaturas suficientemente altas que permitam a ocorrência dos processos enzimáticos necessários ao aumento da tenrura e desenvolvimento dos sabores pretendidos, mas que sejam baixas o suficiente de modo a inibir o crescimento de microrganismos perigosos, bem como dos responsáveis pelo surgimento de odores e sabores indesejáveis. Neste sentido, normalmente são utilizadas temperaturas entre os 0 e os 4 °C (EFSA, 2023).

Humidade relativa

Este parâmetro afeta a taxa de evaporação da água da superfície da carne, o rendimento da carcaça e/ou peça de carne e o crescimento microbiano. Se a HR for demasiado elevada, a atividade da água da superfície da carne irá aumentar, favorecendo a multiplicação bacteriana. Por outro lado, se a HR for demasiado baixa irá potenciar a evaporação e a consequente perda de rendimento (EFSA, 2023).

Fluxo de ar

O fluxo de ar afeta a taxa de evaporação da água da carne. Neste sentido, fluxos elevados favorecem uma evaporação mais rápida da água e uma maior concentração dos compostos que conferem sabor. É essencial que a evaporação seja uniforme ao longo do processo, a fim de minimizar a decomposição e consequente desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis. Além disso, deve-se assegurar que toda a superfície da carne é exposta ao ar. No entanto, importa referir que a maioria dos estudos científicos não avalia a influência do fluxo de ar (EFSA, 2023).

Durante este processo, a água movimenta-se do interior da carne para a superfície e evapora. Simultaneamente, decorrem reações enzimáticas que, juntamente com a evaporação, contribuem para o sabor intenso e para a formação de compostos aromáticos. A intensidade do sabor e aroma deve-se à libertação de compostos, tais como nucleótidos, açúcares, produtos resultantes da oxidação lipídica e compostos voláteis, como aldeídos e cetonas (EFSA, 2023).

O aumento da tenrura decorre da degradação das proteínas citoesqueléticas, miofibrilhas e do tecido conjuntivo da carne. A extensão da proteólise, e consequente amaciamento, depende das condições ambientais e de características inerentes à própria carne (EFSA, 2023).

5.1.2. Maturação húmida (*Wet-ageing*)

A maturação húmida é um processo no qual a carne embalada a vácuo é submetida a condições de temperatura controladas (EFSA, 2023). A embalagem em vácuo foi introduzida na década de 1960 com o objetivo de proteger a carne da contaminação microbiana e impedir a evaporação da água (“secagem”) aquando do seu armazenamento em ambiente refrigerado (Dashdorj *et al.*, 2016; EFSA, 2023). Este acondicionamento favorece, ainda, o crescimento de bactérias ácido-láticas, as quais, em virtude do seu metabolismo, reduzem o pH e produzem substâncias com ação antimicrobiana, retardando a decomposição microbiana da carne. Deste modo, o produto final possui uma maior capacidade de conservação e, por isso, um prazo de validade superior (Utsunomiya, 2020).

Atualmente, a maioria da carne produzida é embalada a vácuo ou é sujeita a maturação húmida. A maturação húmida é uma prática comum na indústria, visto que requer menos tempo, menor investimento e comporta menos perdas de produto, comparativamente com a maturação seca. Tal deve-se ao facto de haver maior retenção de água na carne (por ausência de evaporação) e não ser necessário remover a crosta exterior que, tipicamente, se forma na carne *dry-aged*. No entanto, importa controlar o tempo de maturação e a temperatura, conforme descrito na Tabela 5 (EFSA, 2023).

Tabela 5. Parâmetros a controlar no processo de maturação húmida e respetivos intervalos de valores reportados na literatura científica. Adaptado de EFSA (2023).

Parâmetro	Intervalo de variação	Intervalo de valores mais frequentes	
Tempo de maturação	7 a 60 dias	Bovinos	21 a 35 dias
		Suínos	1 a 28 dias
		Ovinos	4 a 21 dias
Temperatura	-0,6 a 4 °C	0 a 4 °C	

As características organoléticas finais são semelhantes às desenvolvidas na maturação seca (Utsunomiya, 2020). No entanto, o sabor conferido não é tão intenso e único (EFSA, 2023). Além disso, devido à proliferação de bactérias ácido-láticas, estas carnes possuem um sabor mais ácido (Utsunomiya, 2020).

5.2. Decomposição microbiana

Segundo o Regulamento 853/2004, “a inspeção *post mortem* deve ser imediatamente seguida de uma refrigeração no matadouro que garanta uma temperatura uniforme da carne não superior [...] a 7 °C, segundo uma curva de refrigeração que assegure uma diminuição contínua da temperatura”. Ainda, o mesmo regulamento refere que a carne deve atingir a temperatura previamente especificada e que esta deve ser mantida durante a armazenagem.

A carne, mesmo quando refrigerada corretamente, sofre decomposição por microrganismos psicotróficos e psicrófilos (EFSA, 2016). Independentemente de o ambiente ser aeróbico ou anaeróbico, os organismos irão utilizar os glúcidos como substrato para o seu crescimento. Quando esta matriz orgânica se esgota, inicia-se o catabolismo de aminoácidos e outros compostos nitrogenados. É esta alteração de fonte energética, juntamente com a ocorrência de outras reações metabólicas secundárias, que resulta em alterações organoléticas e, subsequentemente, na decomposição da carne (Nychas & Drosinos, 2014). De acordo com Mead (2004), este evento ocorre quando a população microbiana (log) presente na carne é superior a 10^7 Unidades Formadoras de Colónias (UFC)/g, momento em que as bactérias passam a utilizar o lactato e os aminoácidos presentes na carne como substrato, formando-se compostos com odor desagradável, tais como sulfuretos, esteres e aminas. Simultaneamente, verifica-se um aumento do valor de pH (Matthews *et al.*, 2017). Havendo um prolongamento da ação microbiana, os microrganismos lipolíticos, nomeadamente leveduras e espécies bacterianas dos géneros *Pseudomonas* e *Achromobacter*, atuam sobre a carne. Como consequência da lipólise e da oxidação de ácidos gordos, surgem compostos de odor desagradável, como aldeídos/cetonas e ácidos orgânicos (Chatterjee & Abraham, 2018;

Matthews *et al.*, 2017). A evolução temporal do tipo de microrganismos encontra-se representada na Figura 5.

Da proliferação dos microrganismos resultam alterações da cor da carne, bem como da sua textura, odor e sabor, entre outras propriedades (Matthews *et al.*, 2017; Nychas & Drosinos, 2014). De acordo com a EFSA (2016), a carne considera-se em decomposição se apresentar descoloração, odores desagradáveis e/ou textura viscosa, sendo as bactérias o principal agente causal das alterações (Tabela 6).

Tabela 6. Principais alterações de decomposição na carne e bactérias responsáveis. Adaptado de EFSA (2023).

Alteração	Ambiente atmosférico	Principais bactérias
Textura viscosa	Aeróbico	<i>Pseudomonas</i> , Bactérias ácido-láticas, <i>Enterococci</i> , <i>Weissella spp.</i> e <i>Brochothrix spp.</i>
Cor verde (resultante da libertação de peróxido de hidrogénio)	Aeróbico	<i>Weissella spp.</i> , <i>Leuconostoc spp.</i> , <i>Enterococci</i> e <i>Lactobacilli</i> .
Cor verde (resultante da libertação de sulfureto de hidrogénio)	Anaeróbico	<i>Shewanella spp.</i> e <i>Clostridium spp.</i>
Cheiro pútrido	Anaeróbico	<i>Clostridium spp.</i> e <i>Hafnia spp.</i>
Odor a “queijo”	Anaeróbico	<i>Brochothrix thermosphacta</i>
Acidificação	Anaeróbico	Bactérias ácido-láticas, <i>Enterococci</i> , <i>Micrococci</i> , <i>Bacilli</i> e <i>Clostridium spp.</i>

A decomposição microbiana é fortemente influenciada pelas interações entre diferentes espécies de microrganismos. Segundo Nychas & Drosinos (2014), estas interações, que podem sofrer variações ao longo do tempo, são influenciadas por fatores:

- i. Associados às características físico-químicas e estruturais da carne (pH, atividade da água, capacidade tampão, presença de componentes antimicrobianos, potencial redox) e à disponibilidade de nutrientes, em particular, da glucose;
- ii. Relacionados com o processamento da carne;
- iii. Extrínsecos (temperatura, HR, composição de gases atmosféricos a que a carne é exposta);
- iv. Intrínsecos (características fisiológicas de cada microrganismo que permitem a estes criar condições que favoreçam o seu crescimento e inibam o de outros).

Tendo em conta que a carne fresca pode sofrer decomposição bacteriana, assim como ser contaminada por fungos ou outros microrganismos patogénicos (MLA, 2018a), considera-se que a maturação da carne por um período superior ao utilizado na maturação sanitária pode ter impacto em termos de perigos microbiológicos, tal como

demonstrado nos modelos preditivos realizados pela EFSA (EFSA, 2023). Assim, devem-se estabelecer condições adequadas para a realização da maturação comercial, sendo aconselhado um controlo rigoroso de todos os parâmetros envolvidos no processo (MLA, 2018a).

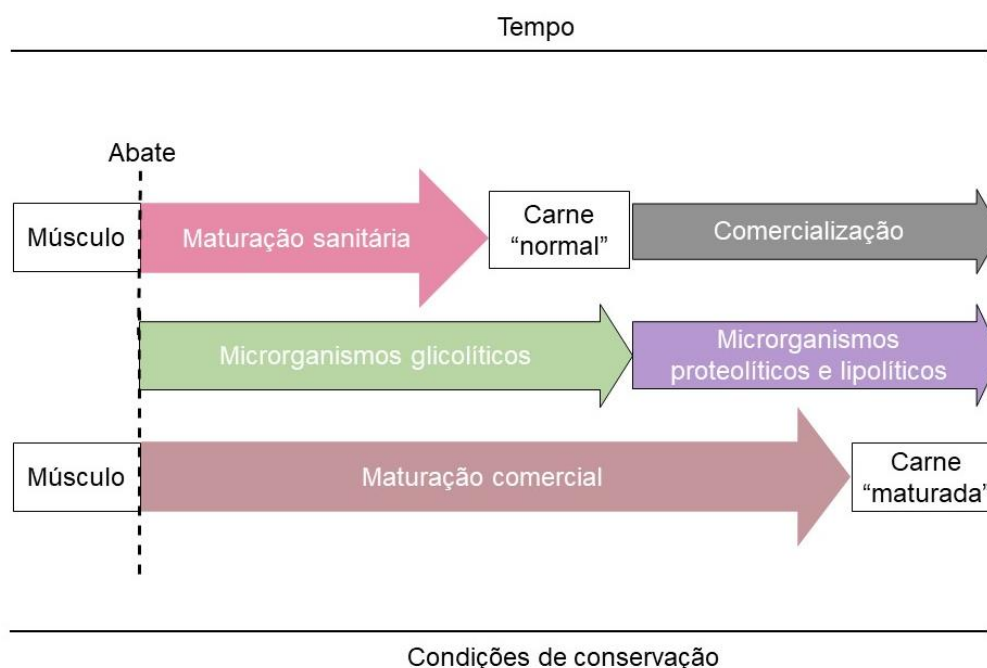


Figura 5. Esquema comparativo entre os processos de maturação sanitária e de maturação comercial e a evolução da população microbiana ao longo do tempo.

5.3. Tendências comerciais

Nos últimos anos, tem surgido um maior interesse pelo modo como os alimentos eram outrora preparados e cozinhados. Tal conduziu ao reaparecimento do processo de maturação seca da carne (*dry-ageing*), o qual tem vindo a adquirir popularidade crescente. O especial interesse pela carne "maturada" é justificado pelas suas características organoléticas únicas (Ortez *et al.*, 2022).

Ambos os processos de maturação comercial proporcionam aos apreciadores uma experiência organolética singular. No entanto, existem diferenças entre os dois processos, o que se reflete no rendimento, valor de mercado e palatabilidade do produto final (Ortez *et al.*, 2022). As carnes *dry-aged* possuem um sabor descrito como sendo amanteigado, amendoado, torrado, adocicado e/ou semelhante ao sabor de um caldo de carne, atributos estes considerados superiores aos de uma carne *wet-aged*. Além disso, a carne é tenra e succulenta. Em virtude destas características, tem-se verificado um aumento da procura deste tipo de produtos pelos consumidores, a nível global (MLA, 2018b; Ortez *et al.*, 2022).

Em Portugal, tem-se verificado, igualmente, um aumento da procura, tendo a oferta vindo a aumentar no mesmo sentido (Pacheco, 2016).

A comercialização, particularmente das carnes *dry-aged*, encontra-se direcionada para um nicho de mercado nos Estados Unidos da América e na Europa (García-Galicia *et al.*, 2022), sendo tipicamente comercializada em restaurantes de luxo e locais ou mercados de venda de produtos tradicionais e *gourmet* (Ortez *et al.*, 2022). O seu preço excede em aproximadamente 2,5 vezes o da carne “normal” (MLA, 2018b). Atualmente, a carne “maturada” é consumida um pouco por todo o mundo, correspondendo a menos de 10% do consumo geral de carne (Kim *et al.*, 2021).

5.4. Gestão do processo

5.4.1. Autoridades sanitárias

Em Portugal, as autoridades competentes em matéria de segurança alimentar são a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e a ASAE. Dado que ao longo do período de estágio tive a oportunidade de acompanhar fiscalizações realizadas pela ASAE, será dado ênfase ao papel desta entidade.

A ASAE é a autoridade competente encarregue de fiscalizar o cumprimento da legislação que rege a atividade do setor agroalimentar, onde se incluem a produção primária, transformação, embalamento, armazenamento, transporte, distribuição e venda. (ASAE, s.d.). Neste sentido, esta entidade desempenha um papel fundamental na fiscalização de OESA, onde se incluem operadores que produzem e/ou comercializam carnes “maturadas”. No entanto, existe algum vazio legal no que toca às carnes “maturadas”, na medida em que não existe legislação específica nesta matéria. Do mesmo modo, não existe qualquer regulamento que proíba esta prática. Aplica-se, assim, a legislação estabelecida para a “carne fresca”, tal como será explanado mais à frente neste subcapítulo. Assim sendo, existem regulamentos que devem, igualmente, ser aplicados pelos OESA de forma a assegurar a higiene e segurança alimentar no processo de maturação e manuseamento da carne.

De seguida, serão abordados os regulamentos de maior relevância para este trabalho. Estes regulamentos são salientados no parecer científico emitido pela EFSA, relativo à segurança microbiológica de carnes “maturadas”.

O Regulamento 853/2004 define carne fresca como sendo “carne não submetida a qualquer processo de preservação que não a refrigeração, a congelação ou a ultracongelação, incluindo carne embalada em vácuo ou em atmosfera controlada”. Este também estipula que, no caso da carne de ungulados domésticos, a “inspeção *post mortem*

deve ser imediatamente seguida de uma refrigeração no matadouro que garanta uma temperatura uniforme da carne [...] não superior a 7 °C". Contudo, a UE não impõe um limite máximo de tempo para este procedimento, deixando esse critério à responsabilidade do OESA (EFSA, 2023). Existem, no entanto, determinados produtos cárneos - carne picada e carne separada mecanicamente - cuja matéria-prima utilizada, se refrigerada previamente, possui limite de tempo de refrigeração. Relativamente à carne picada preparada a partir de carne refrigerada, esta deve ser preparada no máximo até seis dias após o abate de ungulados, ou até 15 dias, no caso de carne de bovino desossada e embalada no vácuo. De igual modo, a matéria-prima utilizada na produção de carne separada mecanicamente não deve ter mais de sete dias, se proveniente de um matadouro situado no local, ou mais de cinco dias, no caso de ser proveniente de outro matadouro (Regulamento 853/2004). Assim, sendo realizada maturação comercial destes produtos, o tempo de maturação não poderá ultrapassar o estabelecido na legislação (EFSA, 2023).

De facto, não existe definição europeia para carne "maturada". De igual modo, não existe qualquer base legislativa que diferencie carne fresca "normal" de carne "maturada". Tal como definido anteriormente (subcapítulo 5.1.), a carne que passa por um processo de maturação seca ou húmida é submetida a temperaturas de refrigeração durante semanas ou meses. Desta forma, e tendo em conta as definições constantes do Regulamento 853/2004, a carne "maturada" é considerada carne fresca, devendo a legislação ser aplicada de maneira uniforme (EFSA, 2023).

Tal como referido no subcapítulo 5.3., nos últimos anos tem-se verificado uma procura crescente por carne "maturada". Com efeito, tem-se verificado um aumento da oferta no mercado, havendo diversos OESA a produzir e/ou a comercializar estes produtos.

O artigo 4º do Regulamento 853/2004 refere que "os operadores das empresas do sector alimentar só podem colocar no mercado produtos de origem animal fabricados na Comunidade que tenham sido preparados e manipulados exclusivamente em estabelecimentos que [...] tenham sido registados pela autoridade competente ou por ela aprovados", excetuando-se os "estabelecimentos que efetuem apenas produção primária, operações de transporte, armazenamento de produtos que não exijam condições de armazenagem a temperatura controlada ou operações de comércio retalhista diferentes daquelas a que se aplica o presente regulamento nos termos da alínea b) do n.º 5 do artigo 1.º". Esta última alínea enuncia que o Regulamento também se aplica ao comércio retalhista "quando as operações se destinarem ao fornecimento de géneros alimentícios de origem animal a outro estabelecimento, exceto se: [...] essas operações consistirem exclusivamente na armazenagem ou no transporte [...] ou se o fornecimento [...] consistir numa atividade marginal, localizada e restrita". Deste modo, os estabelecimentos que

manipulam GA de origem animal, como a carne “maturada”, carecem de aprovação se estes produtos se destinarem à venda a outros OESA.

Através do acompanhamento das ações de fiscalização, foi possível constatar que esta atividade não se limitava a estabelecimentos de indústria alimentar, como matadouros e salas de desmancha. De facto, a maturação “comercial” era, também, efetuada em estabelecimentos de talho e de restauração. Estes últimos são estabelecimentos retalhistas e, como tal, requerem um licenciamento diferente, não necessitando de aprovação prévia por parte da autoridade competente (entidade Coordenadora de Licenciamento - DGAV) para entrar em funcionamento (DGAV, s.d.), a não ser que realizem a sua comercialização para outros OESA, tal como refere o regulamento previamente citado.

Ora, os requisitos aplicáveis a estabelecimentos de carne e produtos cárneos encontram-se definidos no Anexo II do Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios, e no Anexo III do Regulamento 853/2004. Os matadouros e salas de desmancha devem cumprir o exigido em ambos os regulamentos. Dado que “os requisitos do Regulamento 852/2004, em geral, bastam para garantir a segurança dos géneros alimentícios nos estabelecimentos de comércio retalhista que implicam a venda ou o fornecimento de géneros alimentícios de origem animal diretamente ao consumidor final”, os talhos estão apenas obrigados a cumprir esse regulamento, a não ser que se verifiquem as exceções referidas no artigo 4º (Regulamento 853/2004). Relativamente aos estabelecimentos de restauração, aplica-se, igualmente, o disposto no Regulamento 852/2004.

De acordo com a EFSA (2023), a segurança das carnes “maturadas” pode ser assegurada através do desenvolvimento e implementação de um sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP) e do estabelecimento de um Programa de Pré-Requisitos (PPR), onde se incluem Boas Práticas de Higiene (BPH) e Boas Práticas de Fabrico (BPF), entre outras boas práticas. O PPR permite o controlo dos perigos associados ao meio envolvente ao processo de produção do GA, enquanto o sistema HACCP controla os perigos associados ao processo de produção (ASAE, 2007). Mais especificamente, o plano HACCP permite identificar, avaliar e controlar perigos específicos para a segurança alimentar (EFSA, s.d.). Efetivamente, o artigo 4º do Regulamento 852/2004 impõe requisitos gerais e específicos de higiene aos OESA. No seu ponto 2 remete para o Anexo II onde se encontram estabelecidos os requisitos gerais de higiene, os quais englobam BPH e BPF, aplicáveis a OESA que se dedicam à produção, transformação e distribuição de GA. Ainda, o artigo 5.º do Regulamento 852/2004 estipula

que os mesmos OESA devem criar, aplicar e manter um processo ou processos permanentes baseados nos princípios HACCP. O Regulamento 853/2004 estabelece, igualmente, boas práticas aplicáveis aos GA de origem animal. Deste modo, o sistema HACCP e o PPR devem ser aplicados em todas as etapas da cadeia de produção de carne e produtos cárneos, incluindo o abate, desmancha e desossa, refrigeração, maturação comercial (maturação seca e maturação húmida) e armazenamento (EFSA, 2023).

O Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão de 15 de novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, estabelece nas suas disposições iniciais que “os géneros alimentícios não devem conter microrganismos nem as suas toxinas em quantidades que representem um risco inaceitável para a saúde humana”. No seu preâmbulo (ponto 3) recorda o estabelecido pelo Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro de 2002 que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios: “não devem ser colocados no mercado géneros alimentícios que não sejam seguros”. Refere, ainda, que “a fim de contribuir para a proteção da saúde pública e evitar interpretações divergentes, é necessário estabelecer critérios de segurança harmonizados em matéria de aceitabilidade dos alimentos, designadamente no que se refere à presença de certos microrganismos patogénicos”. Neste seguimento, o Regulamento 2073/2005 determina os critérios de segurança e os critérios de higiene dos processos que devem ser cumpridos pelos OESA, e que se aplicam, também, para as carnes “maturadas” (EFSA, 2023):

- Critério de segurança de GA: não detetar *Salmonella* em 25 g de carne picada e carne separada mecanicamente. Este critério aplica-se a produtos colocados no mercado, durante o seu período de vida útil.
- Critério de higiene dos processos: são definidos limites microbiológicos para *Salmonella*, *Enterobacteriaceae* e para o número de colónias aeróbias em carcaças de ungulados domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, suínos). Este critério aplica-se nas carcaças após a preparação, mas antes da refrigeração.
- Critério de higiene dos processos: são definidos limites microbiológicos para *E. coli* e para o número de colónias aeróbias em carne picada e em carne separada mecanicamente. Este critério aplica-se no fim do processo de fabrico.

A carne utilizada nos processos de maturação seca ou húmida deve provir de carcaças que são consideradas seguras para consumo humano, após as inspeções *ante mortem* e *post mortem*. No entanto, é importante referir que estas inspeções, por vezes,

não detetam perigos microbiológicos com importância em termos de saúde pública. Estes perigos microbiológicos presentes na carne “maturada” podem ter origem em microrganismos já presentes na carne, mas que não são evidenciados pela inspeção. Podem, também, ser resultado de contaminação externa durante o processo de maturação comercial (EFSA, 2023).

As condições a que a carne é sujeita durante a maturação seca podem influenciar a sobrevivência e o crescimento de microrganismos e, consequentemente, a segurança da carne “maturada”. Além disso, existe preocupação acrescida por parte das autoridades competentes pelo facto de o processo de maturação não ser apenas realizado por OESA. De facto, existe um interesse crescente por parte dos consumidores neste tipo de produto, verificando-se a existência de vídeos/tutoriais e orientações gerais de como realizar a maturação seca da carne em casa. Adicionalmente, os equipamentos de refrigeração específicos para maturar a carne são disponibilizados, tanto para uso doméstico, como para uso comercial. Tal levanta questões acerca dos possíveis riscos associados à realização deste processo sem qualquer equipamento profissional, assim como a ausência de formação alimentar específica nesta matéria (existem etapas que podem ter um risco superior em termos de segurança alimentar), entre outros. Com efeito, o consumidor comum pode não entender os riscos associados (EFSA, 2023).

A ASAE pode atuar tendo por base estes regulamentos e assegurar, dentro do possível, a segurança desta tipologia de produtos. Existem outros regulamentos que não serão citados no presente trabalho, mas que se aplicam à carne fresca e, por esse motivo, são também aplicáveis à carne “maturada”. No entanto, se se considerar que a carne “maturada” não possui as características da carne fresca, mas sim de outro tipo de produtos cárneos, tais como preparados de carne, existem outras disposições regulamentares a ter em conta.

5.4.2. Operadores económicos

Por compromisso de confidencialidade, as ações de fiscalização efetuadas por brigadas da ASAE a estabelecimentos que realizavam maturação comercial não podem ser identificadas neste relatório. Deste modo, as denominações sociais dos OESA em questão serão substituídas pelas letras A, B e C.

Tal como referido previamente neste relatório, os principais fatores a considerar aquando da realização da maturação seca são o tempo de maturação, a temperatura, a HR e o fluxo de ar. Além disso, a maturação da carne por um período superior ao utilizado na maturação sanitária pode ter impacto em termos de perigos microbiológicos e

crescimento microbiano. Assim sendo, importava verificar de que modo estes parâmetros eram controlados.

O estabelecimento do OESA A consistia num matadouro, cuja atividade se encontrava devidamente licenciada. Aquando da sua fiscalização, constatou-se que era produzida carne “maturada”, através do método de maturação seca. Este produto era comercializado para entrepostos frigoríficos, hipermercados e restaurantes, sendo também vendido diretamente ao consumidor final.

A maturação era realizada numa câmara de maturação específica para o efeito, com uma temperatura que variava entre os 0 e os 3 °C e HR de 65 ou 85% (consoante o produto final que se pretendia obter). A matéria-prima utilizada no processo consistia em carcaças de bovino refrigeradas de animais abatidos no mesmo estabelecimento. As carcaças eram sujeitas a corte, do qual resultavam peças grosseiras. Estas podiam, ainda, ser submetidas a cortes específicos. Posteriormente eram colocadas na câmara de maturação, dispostas em prateleiras de inox perfuradas, onde permaneciam entre 30 e 90 dias. Assim que o processo de maturação estivesse finalizado, era realizada a limpeza e fatiagem das peças, seguidas do seu acondicionamento a vácuo. Procedia-se, depois, à passagem dos produtos por um detetor de metais e, estando conforme, realizava-se a pesagem e rotulagem da carne. Por fim, eram acondicionadas numa embalagem secundária (caixa) e armazenadas refrigeradas ou congeladas.

Relativamente a medidas de higiene e segurança alimentar, o OESA desenvolveu um plano HACCP específico para o seu processo de maturação seca (Tabela 7). O controlo da temperatura era efetuado através de um aparelho digital, que fazia também o registo ao longo do dia, possibilitando a sua monitorização constante. A HR era controlada diariamente por um funcionário, com recurso a um aparelho medidor de humidade portátil. No entanto, não foi possível constatar a existência de registos deste parâmetro. No que toca ao controlo microbiológico, este era feito por forma a controlar a higiene da carne e envolvia a análise microbiológica de uma amostra de carne “maturada” no final do processo produtivo. Esta análise avaliava os seguintes parâmetros: contagem de colónias aeróbias, contagem de *E. coli* e pesquisa de *Salmonella*.

O estabelecimento do OESA B procedia ao reacondicionamento e reembalamento de carne e produtos cárneos, sem possuir licenciamento para exercer esta atividade. Além disso, durante a fiscalização verificou-se que o mesmo realizava maturação comercial, dispondo de três câmaras de maturação para o efeito, sendo duas delas destinadas ao processo de maturação seca e a terceira ao processo de maturação húmida. Os produtos finais - carne *dry-aged* e carne *wet-aged* - eram comercializados para restaurantes e clientes particulares.

Tabela 7. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico A. A informação apresentada baseou-se no documentado no sistema de gestão de segurança alimentar do operador económico.

Etapa	Perigo	Medidas preventivas	PCC/PPRo
Corte em peças	Microbiológico (crescimento microbiano)	-Controlo de temperaturas nas instalações; -Higienização na expedição de carcaças; -Monitorização das temperaturas na expedição.	-
Armazenamento (câmara de maturação)	Químico (reações de oxidação da gordura)	-Controlo do tempo, temperatura e HR da câmara; -Câmara fechada.	-
	Microbiológico (crescimento microbiano)	-Limpeza e aparagem da carne antes de embalar; -Inspeção visual do produto final.	PPRo
Limpeza e fatiamento	Microbiológico (contaminação do interior da peça)	-Limpeza eficaz da carne “maturada”; -Boas práticas de manipulação da carne “maturada”; -Higienização do material utilizado; -Controlo microbiológico.	PPRo
Expedição e transporte	Microbiológico (crescimento microbiano)	-Expedição de carcaças; -Controlo de temperatura nas instalações; -Monitorização temperatura durante o transporte; -Temperatura do transporte antes do carregamento; -Monitorização da temperatura das carcaças antes da expedição.	PPRo
	Físico (fragmentos metálicos resultantes da limpeza e fatiamento)	-Controlo das operações; -Selecionar os fornecedores; -Controlar as lâminas quebradas.	-

A maturação tinha uma duração de cerca de 35 dias, período que poderia ser estendido a pedido do cliente. O processo era efetuado a temperaturas compreendidas entre 1,5 e 3 °C e com valores de HR entre 60 e 90%, sendo a carne colocada em ganchos de via aérea ou prateleiras em material inalterável. Como matéria-prima, o OESA utilizava carne de bovino refrigerada adquirida em matadouros ou estabelecimentos de comercialização de carne fresca. Posteriormente, estas peças de carne podiam ou não ser cortadas em peças mais pequenas, dependendo do produto final.

Relativamente a medidas de higiene e segurança alimentar, o OE adaptou o seu plano de HACCP aplicado ao processo de produção de carne fresca, partindo do princípio de que a matéria-prima utilizada na maturação consistia em carne fresca (Tabela 8).

As câmaras de maturação possuíam geradores de ozono, os quais eram responsáveis pela eliminação de substâncias orgânicas produtoras de odores e pela destruição de bactérias presentes no ar. A temperatura das câmaras era monitorizada diariamente (duas vezes por dia: manhã e tarde) e registada, por escrito, após inspeção visual do mostrador do equipamento de refrigeração. Não eram efetuados controlos de outros parâmetros, tais como a HR, fluxo de ar e microrganismos. Era, também, possível um controlo visual das peças a partir do exterior da câmara.

Tabela 8. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico B. A informação apresentada baseou-se no documentado no sistema de gestão de segurança alimentar do operador económico.

Etapa	Perigo	Medidas preventivas	PCC
Receção da matéria-prima	Microbiológico (crescimento microbiano)	-Selecionar fornecedores; -Controlo na receção da matéria-prima; -Inspeção visual.	-
	Químico (resíduos de limpeza no veículo de transporte)		
Armazenamento (0 a 3 °C)	Microbiológico (contaminação microbiológica)	-BPH; -Formação do pessoal; -Manutenção das instalações e equipamentos.	-
	Microbiológico (crescimento bacteriano)	-Selecionar fornecedores; -Controlo na receção da matéria-prima; -Inspeção visual; -BPH; -Manutenção das instalações e equipamentos.	PCC
Desmancha e/ou corte	Microbiológico (contaminação microbiológica)	-BPH; -Formação do pessoal; -Plano de higienização; -Inspeção visual.	-
	Microbiológico (crescimento bacteriano)	-BPH; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Inspeção visual.	
	Físico (pedaços de osso)	-Informação ao consumidor; -Procedimentos corretos de desmancha e corte.	
Armazenamento (condições ambientais controladas)	Microbiológico (contaminação microbiológica)	-BPH; -Formação do pessoal; -Plano de higienização; -Inspeção visual; -Controlo de pragas; -Procedimentos de armazenamento.	-
	Microbiológico (crescimento bacteriano)	-Inspeção visual; -BPH; -Manutenção das instalações e equipamentos.	PCC
	Contaminação química	-Seleção de fornecedores; -Inspeção visual; -Controlo na receção da matéria-prima.	-
Expedição e transporte	Microbiológico (contaminação microbiológica)	-BPH; -Formação do pessoal; -Plano de higienização; -Inspeção visual.	-
	Microbiológico (crescimento microbiano)	-BPH; -Informação ao consumidor/cliente	-

O **estabelecimento do OESA C** consistia numa sala de desmancha, cuja atividade se encontrava devidamente licenciada. Além disso, possuía uma certificação de produção de carne “maturada” por parte de um organismo de controlo (CERTIS). De facto, o estabelecimento em questão realizava maturação seca de carne por um período de 30, 45, 60, 90 dias ou mais, dependendo do requerido pelo cliente.

No processo de maturação utilizava-se como matéria-prima carcaças e peças refrigeradas ou congeladas, provenientes de bovinos adquiridas em matadouros ou salas

de desmancha. Após a receção, procedia-se ao seu armazenamento a temperaturas de refrigeração. As peças com mais de sete dias passavam a ser consideradas “maturadas”, passando o armazenamento em refrigeração a ser considerado como maturação. A partir daqui as peças “maturadas” poderiam seguir uma das seguintes opções:

- (1) Ser destinadas ao processo produtivo, sofrendo desmancha/desossa;
- (2) Ser destinadas ao processo produtivo, sendo sujeitas a corte fino;
- (3) Ser expedidas, sendo, por isso, acondicionadas em pano e passadas por um detetor de metais. Eram, ainda, pesadas e rotuladas antes da expedição.

Caso tivesse sido seguida a opção (1), a etapa seguinte consistia na comercialização ou colocação das peças de carne numa nova câmara de maturação com condições ambientais distintas da inicial. Se tivesse sido seguida a opção (2), o passo seguinte seria a comercialização, depois da realização, ou não, de um corte fino das peças e posterior acondicionamento a vácuo ou a granel (em pano). Seguidamente, o produto passava por um detetor de metais e depois era pesado e rotulado. Posteriormente, a carne era armazenada sob temperaturas de refrigeração ou sofria congelação, consoante o pretendido. A embalagem em caixas de cartão ocorria apenas aquando da preparação das encomendas para os clientes: hipermercados, restaurantes ou vendida diretamente ao consumidor final.

Em termos de instalações, o estabelecimento dispunha de cinco câmaras de maturação: duas destinadas a peças maiores armazenadas por via aérea (C1 e C2), uma de apoio à sala de desmancha/desossa com peças que eram trabalhadas semanalmente (C3) e duas destinadas a peças grandes e peças desmanchadas dispostas em prateleiras perfuradas e compostas por material inalterável (C4 e C5). As câmaras possuíam diferentes condições de temperatura e HR:

- Na câmara C1, C2 e C3, a temperatura variava entre 0 e 2 °C e a HR entre 75 e 85%;
- Na câmara C4 e C5, a temperatura oscilava entre 2 e 4 °C e a HR entre 55 e 65%.

No que toca às medidas de higiene e segurança alimentar, o OESA desenvolveu um plano HACCP específico para o seu processo de maturação seca (Tabela 9).

Estas câmaras dispunham de reguladores de HR e de geradores com libertação de ozono para “desinfetar” as carcaças ou peças aquando da sua chegada às instalações.

O OESA tinha como procedimento habitual o controlo na receção da matéria-prima, sendo verificada a higiene e integridade, características organoléticas, temperatura, pH e rotulagem. O controlo da temperatura e HR era efetuado diariamente (duas vezes por dia: manhã e tarde), através da inspeção visual do mostrador do equipamento, sendo

posteriormente feito o seu registo por escrito. As carnes “maturadas” eram sujeitas a análises microbiológicas, químicas e nutricionais. Estas análises eram efetuadas com uma frequência bimestral. Relativamente às análises microbiológicas de carne “maturada”, avaliavam-se os seguintes parâmetros: contagem de microrganismos a 30 °C, contagem de *Enterobacteriaceae*, contagem de *E. coli*, pesquisa de *Salmonella* e pesquisa de *L. monocytogenes*. Além disso, realizavam-se análises que permitiam monitorizar a composição química da carne, sendo avaliados parâmetros como a humidade, gordura, proteína, cinzas e HC, assim como o seu valor energético.

Seguidamente, proceder-se-á a uma análise comparativa do processo de maturação efetuado pelos OESA A, B e C com as conclusões e recomendações divulgadas pela EFSA no seu parecer científico relativo à segurança microbiológica das carnes “maturadas” (2023). A EFSA conduziu uma análise preditiva no sentido de averiguar quais as condições de produção, manuseamento e armazenamento de carne “maturada” que permitem cumprir os requisitos exigíveis na carne fresca “normal” no final do seu prazo de validade, relativamente a: contagem de microrganismos patogénicos, bactérias de decomposição e, eventualmente, micotoxinas produzidas por certas espécies fúngicas (EFSA, 2023).

Tendo em conta parâmetros intrínsecos (pH e atividade da água), parâmetros extrínsecos (temperatura) e o tempo de maturação, foram desenvolvidos modelos preditivos, a fim de estimar o potencial de crescimento (log) de bactérias patogénicas e degradativas durante a preparação de carne fresca “normal” e de carne “maturada”. Tendo por base os resultados obtidos na carne “maturada”, considerou-se como principal perigo microbiológico em todos os tipos de carne (bovino, suíno e ovino) a bactéria *L. monocytogenes*, e para a carne de suíno a bactéria *Y. enterocolitica*. Tal deveu-se ao facto de estas serem as únicas estirpes capazes de crescer no intervalo de temperaturas situado entre os 0 e os 4 °C, intervalo este tipicamente utilizado durante a maturação. Ainda, considerou-se que as bactérias ácido-láticas seriam as principais responsáveis pela decomposição da carne, embora, no caso da maturação seca, o género *Pseudomonas* também contribuía significativamente (EFSA, 2023).

Relativamente à carne *dry-aged*, concluiu-se, com 80-90% de certeza, que a maturação de carne de bovino a uma temperatura de 3 °C durante 35 dias não resultaria numa contaminação por *L. monocytogenes* superior à prevista para a carne fresca “normal”. No respeitante à carne *wet-aged*, foi concluído, com 66-90% de certeza, que a maturação de carne de bovino durante 10 dias, a uma temperatura de 2 °C, não resultaria numa concentração de *L. monocytogenes* superior à prevista para a carne fresca “normal”, sendo, assim, igualmente segura se realizada sob estas condições (EFSA, 2023).

Tabela 9. Análise de riscos e controlo de pontos críticos do operador económico C. A informação apresentada baseou-se no documentado no sistema de gestão de segurança alimentar do operador económico.

Etapa	Medidas de controlo	PCC
Receção da matéria-prima	-Avaliação das condições de higiene e verificação da temperatura da viatura de transporte; -Controlo na receção da matéria-prima (higiene e integridade, características organoléticas, temperatura, pH e rotulagem das carcaças/peças); -Solicitação do boletim de análises (microbiológicas e químicas) ao fornecedor; -BPH e BPF.	-
Maturação	-BPH; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Controlo da temperatura; -Controlo da HR; -Boas práticas de armazenamento; -Controlo analítico: 1) Microbiológico (realizado à carne, superfícies, manipuladores e ar); 2) Químico; 3) Humidade, gordura, proteína, cinzas, hidratos de carbono e valor energético.	-
Desmancha/ Desossa	-BPH e BPF; -Cumprimento das especificações; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Controlo da temperatura; -Controlo analítico: 1) Microbiológico (realizado às superfícies, manipuladores, fardamento e ar); 2) Químico.	-
Corte fino	-BPH e BPF; -Cumprimento das especificações; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Controlo da temperatura; -Controlo analítico: 1) Microbiológico (realizado às superfícies, manipuladores, fardamento e ar); 2) Químico.	-
Acondicionamento a vácuo	-BPH e BPF; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Controlo da temperatura; -Controlo dos fornecedores (embalagem).	PCC
Acondicionamento a granel	BPH e BPF	-
Detetor de metais	Controlos que garantam o bom funcionamento do equipamento.	PCC
Pesagem e rotulagem	-BPH e BPF; -Controlo da rotulagem; -Controlo da temperatura.	-
Congelação	-BPH e BPF; -Controlo da temperatura.	-
Refrigeração	-BPH E BPF; -Manutenção das instalações e equipamentos; -Controlo da temperatura; -Boas práticas de armazenamento.	-
Embalamento final	-BPH e BPF; -Controlo da rotulagem; -Controlo da temperatura.	-
Expedição e transporte	-BPH e BPF; -Avaliação dos fornecedores; -Monitorização da temperatura durante o transporte.	-

A preparação de carne fresca e de carne *wet-aged* difere apenas no tempo de maturação. Deste modo, a higiene e segurança alimentar da maturação húmida pode ser assegurada através das mesmas medidas de higiene e controlo aplicadas para a carne fresca (EFSA, 2023). Por outro lado, a carne *dry-aged* é submetida a condições ambientais diferentes (ambiente aeróbico), o que implica que se efetuem adaptações em termos de medidas de higiene e segurança alimentar. Apesar da informação disponível ser limitada, existem determinadas práticas indicadas pela EFSA (2023) que, sendo aplicadas pelos OESA, contribuem para que o processo seja realizado sob condições higiénicas, tais como:

- Utilização de carne de boa qualidade, em termos microbiológicos. Assim, não deve ser utilizada carne DFD, visto que o seu pH elevado iria favorecer o crescimento microbiano durante a maturação. O pH das peças deve ser verificado previamente ao início do processo para assegurar que se encontra dentro do intervalo normal;
- Construção de uma sala ou câmara com as especificações necessárias ao processo de maturação, e de forma que seja evitada a contaminação cruzada com outras carnes ou produtos cárneos;
- Não colocar a carne na câmara de maturação até que se atinja a temperatura e HR requeridas (para minimizar o crescimento de microrganismos patogénicos). Os parâmetros específicos de tempo, temperatura, HR e fluxo de ar devem ser rigorosamente aplicados e continuamente monitorizados;
- Quando colocadas em ganchos de via aérea, as peças devem ser penduradas pelo osso (para prevenir a contaminação interna da carne), e deve existir uma separação entre elas, de modo que o ar circule facilmente. Se dispostas em prateleiras, é importante que estas sejam perfuradas para permitir a circulação de ar; além disso, é recomendada a alteração regular da posição das peças;
- Aplicação de um fluxo de ar mais intenso no início do processo, a fim de facilitar o desenvolvimento da crosta inicial e reduzir a atividade da água na superfície da carne, restringindo, assim, o crescimento microbiano. É aconselhado que a duração da maturação seja a menor possível que permita que a carne desenvolva os atributos organoléticos desejados, uma vez que um armazenamento muito longo propicia o crescimento de bactérias patogénicas e de decomposição;
- Limpeza e desinfeção adequada da câmara de maturação entre a saída e entrada de novos lotes. Recomenda-se que esta se encontre vazia durante a limpeza, no sentido de evitar contaminações cruzadas (com contaminantes químicos e físicos);
- Utilização de um sistema de refrigeração cujos componentes sejam passíveis de ser limpos e desinfetados eficazmente;

- Calibração regular dos equipamentos utilizados no controlo da temperatura, HR e outros parâmetros necessários;
- Filtração ou tratamento ultravioleta do ar da câmara de maturação;
- Proceder à remoção da crosta, *i.e.*, à limpeza da carne de modo higiénico e evitando a perfuração da carne por baixo da crosta. Esta etapa deve ocorrer numa área separada das utilizadas na preparação da carne fresca. Além disso, o local em questão necessita de impedir a circulação de ar entre diferentes espaços e possuir equipamento cuja utilização esteja apenas destinada a este procedimento. A crosta ou material resultante da limpeza não deve ser utilizado na preparação de outros produtos, visto que contém grande parte da população microbiana patogénica (a menos que seja sujeita a um tratamento que a permita eliminar).

Tendo em conta o acima exposto e a Tabela 4, constata-se que os valores dos parâmetros - tempo de maturação, temperatura e HR - utilizados pelo **OESA A** se encontram dentro do intervalo de variação de valores reportados na literatura científica para a maturação seca. Relativamente aos controlos microbiológicos realizados, não era efetuada a testagem dos microrganismos salientados no parecer científico, tais como a *L. monocytogenes*, bactérias ácido-láticas e *Pseudomonas*. Adicionalmente, verifica-se que algumas das medidas de controlo adicionais recomendadas pela EFSA, e que incluem BPH, BPF e PCC's, não eram seguidas. De facto, o pH das carcaças ou peças utilizadas como matéria-prima não era verificado. Além disso, a câmara de maturação não possuía as especificações necessárias, visto que não continha um aparelho de medição de HR que permitisse um controlo mais regular; em termos de localização, esta câmara era contígua com uma câmara de refrigeração (armazenamento) de carne fresca "normal", sendo possível o acesso entre as duas, o que se poderia traduzir em contaminações cruzadas. No que toca aos parâmetros relevantes no processo de maturação, a HR não era monitorizada de modo contínuo, e a ventilação não era controlada. Também, não possuíam sistema de filtração ou tratamento do ar circulante no interior da câmara.

O **OESA B** realizava maturação seca e húmida, assim como o reacondicionamento e reembalamento, não possuindo licenciamento para esta última atividade. No que toca aos parâmetros de tempo de maturação, temperatura e HR, estes situam-se dentro do intervalo de valores reportados na literatura científica para ambos os processos de maturação (Tabelas 4 e 5). Tal como o OESA anterior, algumas das medidas de controlo adicionais recomendadas pela EFSA não eram aplicadas. Mais especificamente, não era realizada medição do pH da matéria-prima adquirida. No que diz respeito ao controlo dos parâmetros variáveis, não era efetuada qualquer monitorização da HR, não existindo,

igualmente, aparelhos de medição destinados a esse fim. Relativamente ao local onde se procedia à desmancha e/ou corte, *i.e.*, o local designado para a limpeza e fatiamento das peças de carne, o mesmo não possuía as condições mais adequadas a esta operação. Efetivamente, tratava-se de uma área separada das outras. Contudo, era um local de passagem entre duas câmaras alocadas ao armazenamento de carne “maturada” e carne fresca “normal”; o equipamento era, também, utilizado em outros procedimentos além dos relacionados com a preparação de carnes “maturadas”; o espaço era partilhado com uma cozinha onde, por vezes, eram confeccionados outros alimentos; ainda, o material de limpeza deste local não era o mais apropriado. Além disso, não eram realizadas análises microbiológicas da matéria-prima, da carne ao longo do processo de maturação ou do produto final. Com efeito, o controlo microbiológico assentava apenas em BPH, formação do pessoal, inspeção visual da carne, manutenção das instalações e controlo de pragas.

Contrariamente aos outros operadores, o **OESA C** cumpria praticamente todas as recomendações adicionais de BPH, BPF e PCC's elaboradas pela EFSA. Efetivamente, apenas não era realizado controlo da ventilação. Em relação à maturação, a temperatura e HR aplicados encontram-se de acordo com os valores reportados na literatura científica (Tabela 4). O tempo de maturação da carne era bastante variável (30, 45, 60, 90 dias ou mais), no entanto situava-se, igualmente, dentro do intervalo de tempo referido na Tabela 4. Relativamente ao controlo microbiológico, apesar de não serem efetuadas análises para deteção de *Pseudomonas* e bactérias ácido-láticas, era testada uma vasta gama de microrganismos com importância em termos de segurança alimentar na maturação seca.

6. CONCLUSÃO

As carnes “maturadas” são um produto com características organoléticas únicas e diferenciadoras, sendo cada vez mais procuradas por alguns restaurantes e por determinado tipo de consumidores que se dispõe a pagar um preço elevado pela experiência sensorial associada. O desenvolvimento destas características deve-se, em parte, ao crescimento de bactérias e/ou fungos, *i.e.*, à ação de microrganismos glicolíticos, proteolíticos e lipolíticos na carne. Deve, também, ser tido em consideração o facto de a maturação seca envolver outros parâmetros - humidade e ventilação - para além dos considerados na maturação húmida ou na maturação sanitária, nas quais apenas importa o tempo de maturação e temperatura. Além disso, a maturação seca pressupõe a realização de outro tipo de procedimentos (como a limpeza e fatiagem da carne, com remoção da crosta exterior) que comportam riscos microbiológicos, caso não sejam realizados por pessoas com formação adequada e segundo normas de higiene

apropriadas. Todos estes fatores implicam que haja um controlo rigoroso dos procedimentos e que sejam aplicadas medidas preventivas adequadas na produção de carnes “maturadas”, a fim de se assegurar um produto final seguro.

Como foi possível verificar através das fiscalizações acompanhadas durante o estágio, existem OESA cujas instalações e cujas BPH e BPF não são as mais adequadas e que não têm em conta determinados fatores que seriam importantes controlar, em termos de higiene e segurança alimentar. Por outro lado, há OESA que implementam práticas que, não sendo obrigatórias por lei, permitem um melhor controlo da segurança do produto final. Efetivamente, a maturação comercial é realizada por vários tipos de OESA, como restaurantes, talhos e estabelecimentos de indústria alimentar. No entanto, os restaurantes e talhos não necessitam de cumprir certos regulamentos, desde que a sua atividade seja marginal, localizada ou restrita. Tal traduz-se em diferentes condições de armazenamento e manipulação de alimentos, comparativamente com os estabelecimentos de indústria.

A questão que se coloca após a realização deste trabalho diz respeito ao modo como as autoridades competentes em matéria de segurança alimentar, como a ASAE, podem assegurar que a produção de carnes “maturadas” ocorre sem que se desenvolvam microrganismos que consubstanciem perigo microbiológico para o consumidor. De facto, a UE já manifestou preocupação nesta matéria, tendo, por isso, solicitado um parecer científico relativo à segurança microbiológica das carnes “maturadas”. Os peritos da EFSA referem que não existem riscos adicionais, desde que a combinação específica de tempo e temperatura identificada no parecer seja aplicada. No entanto, tal como se verificou nos OESA fiscalizados, o tempo de maturação utilizado é superior ao mencionado no parecer, e a temperatura é variável, levantando questões acerca da segurança do processo.

Com efeito, há que considerar que as leis permitem a uniformização de conceitos e procedimentos, fornecendo uma base regulamentar para que os organismos responsáveis pelas inspeções/fiscalizações possam atuar em conformidade. Apesar de a UE dispor de regulamentação bastante completa com o intuito de garantir a proteção dos consumidores em relação à segurança alimentar, continua a existir um vazio legal em certas questões. Assim, como ponto de partida poderia ser desenvolvida e/ou criada uma definição para carne “maturada” (maturação comercial) e, ainda, proceder-se à definição e/ou clarificação de requisitos específicos necessários à laboração e a ser aplicados pelos OESA que pretendam produzir este produto alimentar.

As autoridades competentes beneficiariam de clarificação nesta temática. De igual modo, existem OESA que manifestam interesse em realizar a maturação comercial sob condições de higiene e segurança alimentar, e que pretendem assegurar a satisfação do consumidor. Por fim, mas não menos importante, os consumidores ao adquirirem e/ou

consumirem carne “maturada” estão a depositar a sua confiança no produto que lhes é apresentado e, por conseguinte, nas entidades responsáveis pela segurança dos alimentos. Neste sentido, legislar sobre a produção de carnes “maturadas” traduzir-se-ia em vantagens tanto para o consumidor como para o OESA, pois iria resultar numa maior garantia de segurança do produto, promovendo, assim, o seu consumo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aberle, E., Forrest, J., Gerard, D., Mills, E. (2012). Principles of meat science (5th Ed., pp. 1-74). Iowa: Kendall Hunt Publishing Company.
- Andrighetto, C., Jorge, AM., Roça, RO., Sartori, D. da R., Bianchini, W. (2006). Maturação da carne bovina. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, Vol II, (pp.1–6). Consultado em: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612666003.pdf>
- ASAE. (2007). HACCP. Consultado em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/haccp.aspx>, acedido a 3 de junho de 2023.
- ASAE. (s.d.). Área Alimentar. Consultado em: <https://www.asae.gov.pt/inspecao-fiscalizacao/plano-de-inspecao-da-asae-pif/area-alimentar.aspx>, acedido a 1 de junho de 2023.
- Astruc, T. (2014). Muscle Fiber Types and Meat Quality. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), Encyclopedia of Meat Sciences (2nd Ed., Vol. 2, pp. 442–445). United Kingdom: Academic Press.
- Birhanu, AF. (2020). Pre-Slaughter Stress, Management of Stress and Its Effect on Meat and Carcass Quality. International Journal of Food Science and Agriculture, 4(1), 30–37.
- Bridi, AM. (s.d.). Importância dos Aspectos Físicos e Químicos na Qualidade da Carne. Consultado em: <http://www.uel.br/pessoal/ambриди/Carnesecarcacasarquivos/Aspectos.pdf>
- Casoli, C., Duranti, E., Cambiotti, F., Avellini, P. (2005). Wild Ungulate Slaughtering and Meat Inspection. Veterinary Research Communications, 29(2), 89–95.
- Chatterjee, A., Abraham, J. (2018). Microbial Contamination, Prevention, and Early Detection in Food Industry. In A. M. Holban & A. M. Grumezescu (Eds.), Microbial Contamination and Food Degradation (1st Ed., pp. 21–47). United Kingdom: Academic Press.
- Cross, HR and Singh, RP. "meat processing". Consultado em: <https://www.britannica.com/technology/meat-processing>, acedido a 29 de março de 2023.
- Cruz-Monterrosa, R., Guerrero-Legarreta, I. (2012). Postmortem Handling. In Y. H. Hui (Ed.), Handbook of Meat and Meat Processing (2nd Ed., p. 316). New York: CRC Press.
- Dashdorj, D., Tripathi, VK., Cho, S., Kim, Y., Hwang, I. (2016). Dry aging of beef; Review. Journal of Animal Science and Technology, 58(1), 20.
- Devine, CE. (2014). Conversion of Muscle to Meat - Aging. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), Encyclopedia of Meat Sciences (2nd Ed., Vol. 1, pp. 329–331). United Kingdom: Academic Press.
- DGAV. (s.d.). Licenciamento. Consultado em: <https://www.dgav.pt/alimentos/conteudo/generos-alimenticios/iniciar-uma-empresa-alimentar/licenciamento/>, acedido a 5 de junho de 2023.
- Dobbelstein, S. (2005). Relationship between beef colour and myoglobin. (Dissertação de mestrado, Wageningen University, Wageningen). Consultado em: <https://edepot.wur.nl/346180>
- EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards). (2023). Microbiological safety of aged meat. EFSA Journal, 21(1).
- EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards). (2016). Scientific opinion on the growth of spoilage bacteria during storage and transport of meat. EFSA Journal; 14(6):4523.
- EFSA. (s.d.). HACCP. Consultado em: <https://www.efsa.europa.eu/pt/glossary/haccp>, acedido a 6 de junho de 2023.
- Feiner, G. (2006). Definitions of terms used in meat science and technology. Meat Products Handbook: Practical science and technology (1st Ed., pp. 46-57). New York: CRC Press.
- Felício, P., Pflanzner, S. (2018). Maturação da Carne Bovina. Revista Bovinos (Associação Brasileira do Tabanel, Campo Grande, MS), 12, 42-48.
- Ferguson, DM., Gerrard, DE. (2014). Regulation of post-mortem glycolysis in ruminant muscle. Animal Production Science, 54(4), 464–481.
- García-Galicia, IA., Estepp, C., Huerta-Jiménez, M., Melchor-Ramírez, MF., Carrillo-López, LM., Vargas-Bello-Pérez, E., Alarcón-Rojo, AD. (2022). Physicochemical Properties and Young Adult Consumer Preference of Dry-Aged Beef after High-Intensity Ultrasonication. Processes, 10(10).
- Gracey, J., Collins, DS., Huey, RJ. (1999). Anatomy, Meat Composition and Quality. Meat Hygiene (10th Ed., pp 61-64). London: W.B.Sauders Company Ltd.
- Grigioni, G., Paschetta, MF. (2012). Herramientas Tecnológicas Aplicadas a Calidad y Diferenciación de Carne. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (pp. 24–26). Consultado em: https://www.procisur.org.uy/adjuntos/procisur_documentos-herramientas-tecnologicas-aplicadas-a-calidad-y-diferenciacion-de-carne_0f5.pdf

- Heinz, G., Hautzinger, P. (2007). Meat Processing Technology - For small to medium scale producers. Consultado em: <https://www.fao.org/3/ai407e/ai407e.pdf>
- Honikel, KO. (2014). Conversion of Muscle to Meat - Rigor Mortis, Cold, and Rigor Shortening. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2nd Ed., Vol. 1, pp. 362–363). United Kingdom: Academic Press.
- Hopkins, DL (2014). Tenderizing Mechanisms - Mechanical. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2nd Ed., Vol. 3, pp. 443–451). United Kingdom: Academic Press.
- Hopkins, DL., Bekhit, AEDA. (2014). Tenderizing Mechanisms - Chemical. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2nd Ed., Vol. 3, pp. 431–437). United Kingdom: Academic Press.
- Järvinen, T., Järvinen, T., Kääriäinen, M., Kalimo, H., Järvinen, M. (2005). Muscle injuries: biology and treatment. *The American Journal of Sports Medicine*, 33(5), 745–764.
- Júnior, R. (2023). Fatores intrínsecos extrínsecos que influenciam da carne bovina. In E. Ramalho (Ed.), *Temas de Ciências Biológicas Agrárias*. Vol 2 (pp. 9–21). Belém: Home Editora.
- Kahraman, H., Gurbuz, U. (2015). Evaluation of consumer's tendency to dry aged beef meats. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 19(10), 149-153
- Karalaki, M., Fili, S., Philippou, A., Koutsilieris, M. (2009). Muscle Regeneration: cellular and molecular events. *In Vivo* (Athens, Greece). 23(5), 779 – 796.
- Kim, S., Kim, JC., Park, S., Kim, J., Yoon, Y., Lee, H. (2021). Identification of Microbial Flora in Dry Aged Beef to Evaluate the Rancidity during Dry Aging. *Processes*, 9(11), 2049.
- Limoni, B., Gomes, M., Duarte, M., Mery, L., Surita, A., Gabriele, L., Williani, M., Pereira, F. (2019). Carne bovina: diferentes tipos de maturação e seu impacto nos atributos da qualidade da carne. XII Mostra Científica FAMEZ & I Mostra Regional de Ciências Agrárias Campo Grande, MS, 2019, (pp. 1–6).
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B., Bugeon, J. (2016). How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *The Scientific World Journal*.
- Loudon, K., Tarr, G., Pethick, DW., Lean, IJ., Polkinghorne, R., Mason, M., Dunshea, FR., Gardner, GE., McGilchrist, P. (2019). The use of biochemical measurements to identify pre-slaughter stress in pasture finished beef cattle. *Animals*, 9(8).
- Lovatt, SJ. (2014). Refrigeration and Freezing Technology - Applications. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2nd Ed., Vol. 3, pp. 182). United Kingdom: Academic Press.
- Mantese, F. (2002). Transformação do Musculo em Carne. *Seminário Do Programa de Pós Graduação Em Ciências Veterinárias Da UFRGS*, 1–15.
- Mao, Y., Zhang, Y., Liang, R., Ren, L., Zhu, H., Li, K., Zhu, L., Luo, X. (2012). Effect of Rapid Chilling on Beef Quality and Cytoskeletal Protein Degradation in *M. longissimus* of Chinese Yellow Crossbred Bulls. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(8), 1197–1204.
- Marieb, EN., Hoehn, K. (2016). *Muscles and Muscle Tissue*. Human Anatomy & Physiology (10th Ed., pp 278-320). San Francisco: Pearson.
- Matarneh, SK., Scheffler, TL., Gerrard, DE. (2022). The conversion of muscle to meat. In Fi. Toldrá (Ed.), *Lawrie's Meat Science* (9th Ed., pp. 159–194). United Kingdom: Woodhead Publishing.
- Matthews, K., Kniel, K., Montville T. (2017). Spoilage Organisms. *Food microbiology: an introduction* (4th Ed., pp. 343-350). Washington DC: ASM Press.
- McCuller, C., Jessu, R., & Callahan, AL. (2023). *Physiology, Skeletal Muscle*. StatPearls; StatPearls Publishing. Consultado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725824/>
- Mescher, AL. (2018). *Muscle Tissue*. Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas (15th Ed.). McGraw-Hill Education. Consultado em: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1160661979>
- Milhardas, N. (2015). Efeito Da Maturação E Da Suplementação Da Dieta Com Vitamina E Sobre a Tenrura E a Estabilidade Colorimétrica Da Carne De Bovino. (Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Lisboa). Consultado em: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/10275/1/Efeito_da_maturação_e_da_suplementação_da_dieta_com_vitamina_E_sobre_a_tenrura_e_a_estabilidade_colorimétrica_da_carne_de_bovino.pdf.
- Miller, M. (2007). Dark, Firm and Dry Beef. *Cattlemen's Beef Board*. Consultado em: <https://fyi.extension.wisc.edu/wbic/files/2011/04/Dark-Firm-and-Dry-Beef.pdf>
- MLA (Meat & Livestock Australia). (2018a). Assessment of the mycological hazards associated with the dry ageing of red meat. Consultado em: https://www.mla.com.au/contentassets/958f7dd52609450590aa6b35a96eb726/v.mfs.0426_-_final_report.pdf
- MLA (Meat & Livestock Australia). (2018b). Evaluation of dry ageing beef in transit to Europe. Consultado em: <https://www.mla.com.au/globalassets/mla-corporate/research-and-development/final-reports/2018/p.psh.0708-final-report.pdf>

- Monin, G., Santé-Lhoutellier, V. (2014). Conversion of Muscle to Meat - Color and Texture Deviations. In M. Dikeman & C. Devine (Eds.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (2nd Ed., Vol. 1, pp. 339–345). United Kingdom: Academic Press.
- Nychas, G., Drosinos, EH. (2014). Meat and Poultry | Spoilage of Meat. In C. A. Batt & M. Lou Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Ed., Vol. 2, pp. 514–519). United Kingdom: Academic Press.
- Obanor, FO. (2002). Biochemical basis of the effect of pre-slaughter stress and post-slaughter processing conditions on meat tenderness (Dissertação de mestrado, Lincoln University, Lincoln). Consultado em: https://researcharchive.lincoln.ac.nz/bitstream/handle/10182/3098/obanor_msc.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- Ortez, M., Widmar, NO., Thompson, NM., Kim, Y. (2022). Valuation of dry and wet aged beef by U.S. consumers. *Q Open*, 2(1).
- Pacheco, E. (2016). Gastronomia: O requinte da carne velha. *Jornal de Negócios*. Consultado em: <https://www.jornaldenegocios.pt/weekend/detalhe/gastronomia-o-requinte-da-carne-velha>, acessado a 1 de junho de 2023.
- Palma, D. (2010). Os pré-requisitos para a implementação de um HACCP num matadouro de ungulados domésticos. (Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa). Consultado em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/2268/4/OS%20PRE%20REQUISITOS%20PARA%20A%20IMPLEMENTA%C3%A7%C3%A3o%20DE%20UM%20HACCP%20NUM%20MATADOURO%20DE%20UNGULADOS%20DOMESTICOS.pdf>
- Palma, SF. (2017). Transformação do músculo em carne, Influência na qualidade da carne. (Lição apresentada no âmbito das Provas Públicas de Avaliação de Competência Pedagógica e Técnico-Científica na área disciplinar de Ciência e Tecnologia da Carne, área CNAEF das Indústrias Alimentares, para efeitos de admissão à categoria de Professor Coordenador, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja, Beja). Consultado em: <https://repositorio.ipbeja.pt/bitstream/20.500.12207/4548/1/Ferro%20Palma%2C%20S.%20%282017%29%20Li%C3%A7%C3%A3o.pdf>
- Prandl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., Al, E. (1994). *Tecnología e higiene de la carne*. Zaragoza: Acribia.
- Regulamento (CE) n.º 178/2002 de 28 de janeiro, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão de 15 de novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Roça, R. (s.d.a). Composição química da carne. Consultado em: <https://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca102.pdf>
- Roça, R. (s.d.b). Modificações Postmortem. Consultado em: <https://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca105>
- Rodrigues, TP., Silva, T. (2016). Caracterização do processo de rigor mortis e qualidade da carne de animais abatidos no Brasil. *Arquivos de Pesquisa Animal*, 1(1), 1–20.
- Saladin, K. (2016). *Muscular Tissue. Anatomy and Physiology: The Unity of Form and Function* (8th Ed., pp. 397-406). New York: McGraw-Hill.
- Salas, R., Mingala, CN. (2017). Genetic Factors Affecting Pork Quality: Halothane and Rendement Napole Genes. *Animal Biotechnology*, 28(2), 148–155.
- Savell, JW. (2012). Beef Carcass Chilling: Current Understanding, Future Challenges. Consultado em: https://animalscience.tamu.edu/wp-content/uploads/sites/14/2012/04/BeefCarcassChilling_White_Paper_final.pdf
- Silva, M., Dantas, A., Pilan, G., Oliveira, A., Fernandes, S. (2011). Efeitos do resfriamento sobre a qualidade da carne. Comunicação apresentada no VII Simpósio de Ciências da UNESP- Dracena - VIII Encontro de Zootecnia - UNESPA-Dracena.
- Smulders, F., Hofbauer, P., Geesink, G. (2014). The Conversion of Muscle to Meat. *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse* (1st Ed., pp. 399–420). New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd.
- Tidball, JG. (2011). Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration. *Comprehensive Physiology*, 1(4), 2029–2062.
- Utsunomiya, MN. (2020). Metodologias utilizadas na maturação de carne de bovino (Dissertação de mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa). Consultado em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/119701/1/Utsunomiya_2021.pdf
- Xu, Y., Huang, JC., Huang, M., Xu, BC., Zhou, GH. (2012). The Effects of Different Chilling Methods on Meat Quality and Calpain Activity of Pork Muscle Longissimus Dorsi. *Journal of Food Science*, 77(1), C27–C32.