

Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro

**Determinação de gordura intramuscular de carne de bovino por
métodos não destrutivos**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Ana Rita Nave Alves

Orientador: Professor Doutor Severiano José Cruz da Rocha e Silva

Co-orientador: Professor Doutor José Manuel de Melo Henriques de Almeida



Vila Real, janeiro de 2018

Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro

**Determinação de gordura intramuscular de carne de bovino por
métodos não destrutivos**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Ana Rita Nave Alves

Orientador: Professor Doutor Severiano José Cruz da Rocha e Silva

Co-orientador: Professor Doutor José Manuel de Melo Henriques de Almeida

Composição do Júri:

Vila Real, janeiro, 2018

Declaração

Declaro que esta dissertação de mestrado é o resultado da minha pesquisa e consequente trabalho pessoal sob orientação do meu supervisor. O conteúdo deste trabalho é original e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas quer no texto quer na parte final da bibliografia. Declaro ainda que este trabalho não foi apresentado em nenhuma outra instituição para obtenção de qualquer grau académico.

Having a dream is what keeps you alive.

Overcoming the challenges makes life worth living.

Mary Tyler Moore

Agradecimentos

No final de mais uma etapa da minha vida acadêmica gostaria de agradecer a todos que de alguma forma contribuíram para que fosse possível atingir esta meta:

Ao meu orientador, Professor Doutor Severiano José Cruz da Rocha e Silva pela excelente orientação, ensinamento conjunto, paciência e dedicação. Serei eternamente grata pela disponibilidade demonstrada sempre que alguma dúvida surgia. Muito obrigado.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor José Manuel de Melo Henriques de Almeida, expresso o meu muito obrigado pela disponibilidade em acompanhar o meu trabalho. Obrigado pela receptividade, apoio e orientação.

Aos meus pais, por nunca me deixarem desistir, por sempre me incentivarem a ser melhor. Um obrigado do tamanho do Mundo por estarem sempre ao meu lado em tudo o que precisei, pelo apoio incondicional. Sem vocês nada disto seria possível.

A todos os meus colegas e amigos, dentro e fora da Universidade, dentro e fora de Vila Real, quero agradecer por todo o apoio e incentivo.

Abstract

The evaluation method and the criteria used to assess the quality of beef have been growing in many countries. Marbling is one of the main indicators of meat quality and according to the industry standard for "Meat Quality Classification", it can be divided into four levels, among them "very rich", "rich", "marbling medium" and "little rich" spacing each level with 0.5 points. It is in this panorama that the present work is framed and in which the technique of video image analysis (VIA) applied to the estimation of the intramuscular fat of the Longissimus thoracis and lumborum muscle (IMF_LTL) and the establishment of its relation to the color and pH of the meat. This paper is organized in three parts. The first part elaborated an introduction on the extensive content of the work. In the second part, a brief bibliographical review on the structure and development of intramuscular fat, the effect of marbling on the sensorial characteristics of the meat, the use of intramuscular fat in the carcass classification and finally the methods for the determination of the IMF by analysis of image and spectral image.

In part three we present the experimental work developed based on all the literature review. In order to estimate the IMF and its relation with the color and pH of the meat, physicochemical parameters such as the percentage of IMF, L^* , a^* and b^* values were determined as well as the parameters of the image analysis as the number (mm^2), the area of the particles (mm^2), the fraction of the area (%), the perimeter of the particles (mm), the largest axis of the particles (mm), the smallest axis of the particles particle size (mm), particle thickness (mm), particle thickness (mm), particle thickness (mm) and percentage of IMF estimated by image analysis. The determination correlation coefficients were established among the variables obtained by the image analysis system.

To evaluate the relationship between the beef color values, in the CIELab space, 85 samples of the LTL muscle of cattle were used. The colorimetric characteristics L^* (brightness), a^* (red) and b^* (yellow) were measured using a Minolta CR-10 colorimeter. The results observed in this thesis suggest that the image analysis is an accurate tool to estimate the chemical IMF of the LTL muscle without destroying the chop, and that the results involving the image system support the conclusions of other studies on the system's ability to estimate the primary sections, the composition of the carcass in tissues and the intramuscular fat.

Keywords: video image analysis, carcass, meat, intramuscular fat

Resumo

O método de avaliação e os critérios utilizados para avaliar a qualidade da carne bovina têm tido um crescente desenvolvimento em muitos países. O marmoreado é um dos principais indicadores da qualidade da carne referente à “Classificação da Qualidade da Carne”, este pode ser dividido em quatro níveis, entre eles o “muito rico”, “rico”, “marmoreado médio” e “pouco rico” espaçando cada nível com 0,5 pontos. É neste panorama que se enquadra o presente trabalho e no qual será dado destaque à técnica de análise de imagem vídeo (do inglês *video image analysis* - VIA) aplicada à estimativa da gordura intramuscular do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (IMF_LTL) e de determinação da sua relação com a cor e o pH da carne. O presente trabalho está organizado em três partes. Na primeira parte foi elaborada uma introdução sobre o conteúdo do trabalho. Na segunda parte foi elaborada uma breve revisão bibliográfica sobre a estrutura e o desenvolvimento da gordura intramuscular, o efeito do marmoreado nas características sensoriais da carne, a utilização da gordura intramuscular na classificação das carcaças e por fim os métodos para a determinação da IMF por análise de imagem e imagem espectral.

Na parte três apresenta-se o trabalho experimental desenvolvido com base na revisão bibliográfica realizada. Para estimar a IMF e a relação desta com a cor e com o pH da carne foram determinados parâmetros físico-químicos como a percentagem de IMF, os valores de L^* , a^* e b^* bem como os parâmetros da análise de imagem como o número de partículas, a área total de partículas (mm^2), a área média das partículas (mm^2), a fração da área (%), o perímetro das partículas (mm), o maior eixo das partículas (mm), o menor eixo das partículas (mm), a circularidade, a solidez, a espessura das partículas (mm), a espessura mínima das partículas (mm), a espessura máxima das partículas (mm) e a percentagem de IMF que foi estimada por análise de imagem. Os coeficientes de correlação de determinação foram estabelecidos entre as variáveis obtidas pelo sistema de análise de imagem.

Para avaliar a relação entre os valores de cor da carne de bovino, no espaço CIELab foram utilizadas 85 amostras do músculo LTL de bovinos. As características colorimétricas L^* (luminosidade), a^* (vermelho) e b^* (amarelo) foram medidas através de um colorímetro Minolta CR-10. Os resultados observados nesta tese sugerem que a análise de imagem é uma ferramenta precisa para estimar a IMF química do músculo LTL sem destruir a costeleta, e que os resultados envolvendo o sistema de imagem sustentam as conclusões de outros trabalhos sobre a capacidade

do sistema em estimar os cortes da carcaça, a composição da carcaça em tecidos e a gordura intramuscular.

Palavras – chave: análise de imagem vídeo, carcaça, carne, gordura intramuscular

Índice

Declaração	i
Abstract	iv
Resumo	v
Índice de Quadros	xi
Lista de Abreviaturas	xii
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. Estrutura e desenvolvimento da gordura intramuscular	3
2.2. Efeito do marmoreado nas características sensoriais da carne	6
2.3. Efeito do marmoreado nas características físico-químicas da carne	8
2.4. Utilização da IMF na classificação das carcaças	11
2.5. Métodos para determinação da IMF por análise de imagem e análise espectral	15
3. Trabalho experimental	23
3.1. Material e métodos	23
3.1.1. Origem e preparação das amostras	23
3.1.2. Obtenção e análise das imagens	23

3.1.3. Gordura intramuscular, pH e cor	25
3.2. Análise estatística	25
3.3. Resultados e discussão	26
4. Considerações finais	33
5. Bibliografia	34

Índice de Figuras

Figura 1 - Imagem microscópica de um grupo de células de gordura intramuscular (branco), tecido conjuntivo (azul) e fibras musculares (cor-de-laranja) visualizada numa amplitude de, aproximadamente, 200x	3
Figura 2 - Imagem microscópica de pequenas manchas de marmoreado. Barra de escala = 100 m	4
Figura 3 - Imagens histológicas do marmoreado na estrutura da gordura de marmoreado nas ampliações de 0.5x, 1x, 4x, 70x e 300x	6
Figura 4 - Efeito do aumento da gordura intramuscular (IMF) em escalas para vários atributos..	7
Figura 5 - Janela de aceitabilidade para o teor de gordura da carne	8
Figura 6 - Relação entre o teor de marmoreado, maturidade, grau de rendimento da carcaça	12
Figura 7 - Graus de marmoreado de acordo com o sistema de classificação do grau de qualidade USDA	13
Figura 8 – Padrão fotográfico do sistema MSA.....	13
Figura 9 – Padrão fotográfico para avaliação de marmoreado na escala Japonesa	14
Figura 10 - Processo de hidrólise ácida.....	15
Figura 11 - Procedimento para análise do teor de gordura utilizando o equipamento automático Soxhlet.....	16
Figura 12 - Perfil espectral dos pixels do músculo e da gordura de uma amostra	17
Figura 13 - Ilustração de três sistemas NIRS	18
Figura 14 - Esquema de um sistema HSI para amostras de carne	19

Figura 15 - Demonstração da técnica de Raman num sistema portátil com aplicação direta numa amostra de carne.....	19
Figura 16 - Imagem original da peça da 4 ^a vértebra lombar	23
Figura 17 - Análise das partículas de IMF utilizando o programa Fiji-ImageJ	24
Figura 18 - Valores medidos versus estimados da IMF usando os parâmetros resultantes da análise de imagem após a validação com <i>k-fold</i>	32

Índice de Quadros

Quadro 1 - Efeito de diferentes níveis de gordura intramuscular (baixa, média e alta) na carne de bovino sobre as características da capacidade de retenção de água, o teor de aminoácidos importantes para o sabor	9
Quadro 2 - Diferenças na composição de ácidos gordos (distribuições percentuais) na gordura subcutânea e marmoreado de bovinos da raça Angus e cruzados de Angus com Wagyu	10
Quadro 3 - Métodos e padrões para avaliação de marmoreado na carne de bovino.....	12
Quadro 4 - Média, desvio padrão (dp), mínimo, máximo e coeficiente de variação (CV) para o peso da carcaça, parâmetros físico-químicos e parâmetros obtidos por análise de imagem.....	26
Quadro 5 - Coeficientes de correlação entre os parâmetros físico-químicos e parâmetros obtidos por análise de imagem.....	29
Quadro 6 - Variáveis independentes que entraram nos modelos de estimativa dos parâmetros físico-químicos (variáveis dependentes)	31

Lista de Abreviaturas

AUS-MEAT: Padrões estabelecidos para a produção de carne (limites)

CieLab: Espaço de cores de laboratório (Lab color space)

CV: Coeficiente de variação

DFD: Carnes escuras, firmes e secas

Dp: Desvio padrão

EUROP: Sistema Europeu de classificação de carcaças

HSI: Imagem hiperespectral

HU: Unidades Hounsfield

IMCT: Tecido conjuntivo

IMF: Gordura intramuscular

IMF-LTL: Gordura intramuscular no músculo *Longissimus Thoracis et Lumborum*

kg: Quilogramas

LM: Músculo *Longissimus*

LTL: Músculo *Longissimus Thoracis et Lumborum*

mg/kg: Miligramas por kilogramas

MSA: Meat Standards Austrália

MSA-MB: Sistema de pontuação Australiano para análise do marmoreado

m: Metros

mm: Milímetros

mm²: Milímetros quadrados

NIRS: Espectroscopia de infravermelho próximo

pH: Potencial hidrogeniônico

R²: Coeficiente de determinação

RMSE: Desvio padrão dos resíduos

ROI: Region of interest

RTU: Ultrassonografia em tempo real

TC: Tomografia computadorizada

USA: United States of America

USDA: Departamento de Agricultura dos EUA

VIA: Análise de imagem vídeo

1. Introdução

A percepção e seleção dos alimentos é um processo multifatorial nos aspectos fisiológicos. Estes aspectos podem influenciar as preferências do consumidor e conduzir à aceitação ou rejeição de um alimento (Morales *et al.*, 2013). As expectativas aparecem frequentemente no dia-a-dia das pessoas, afetando as suas atitudes de compra sobre um produto alimentar. A expectativa pode ser criada pela publicidade, conversas com amigos, experiências anteriores, etc. (Morales *et al.*, 2013). Os consumidores mostram um crescente interesse pela qualidade da carne, pelo modo como foi produzida e como é apresentada e embalada (Pethick *et al.*, 2015). Há também um interesse crescente sobre a sustentabilidade da produção em termos de ambiente e de bem-estar dos animais (Nardone *et al.*, 2010). A satisfação dos consumidores com a qualidade da carne é um dos maiores desafios para toda a cadeia de produção de carne de bovino (Verbeke *et al.*, 2010). As características de qualidade da carne são identificadas como influenciadoras do gosto dos consumidores e do preço final de mercado (Przybylak *et al.*, 2016). Características sensoriais e físico-químicas têm sido estudadas e incluídas nos sistemas de classificação da qualidade da carne (para uma revisão ler Pethick *et al.*, 2015). Uma das características da carne de bovino que tem merecido amplo destaque é a gordura intramuscular (do inglês *intramuscular fat* - IMF) e o marmoreado (do inglês *marbling*). Esta característica favorece algumas propriedades sensoriais da carne como a suculência, o sabor e o flavor que são atributos valorizados pelos consumidores (Killinger *et al.*, 2004; Wood *et al.*, 2008; Pethick *et al.*, 2015). É neste contexto, que o marmoreado é um dos critérios mais importantes para a avaliação da qualidade da carne nos sistemas de classificação (Ziadi *et al.*, 2009).

A produção de carne de bovino com marmoreado é muito cara já que exige um controlo rigoroso em cada estado do seu processo, incluindo a seleção dos animais, as práticas de criação, os extensos programas de alimentação e de transporte com um mínimo de stresse dos animais para o matadouro (Tume, 2004). Além disso, excluindo algumas raças, a gordura intramuscular (%) aumenta de forma relativamente lenta até que a gordura de carcaça atinja cerca de 30-35% (Silva *et al.*, 2015). Portanto, é necessário chegar a um peso relativamente elevado das carcaças para satisfazer a procura dos consumidores por conteúdos da IMF (aproximadamente 5,0%). O montante

mínimo da IMF para satisfação dos consumidores é de 3% a 4% para a carne bovina (Silva *et al.*, 2015).

Acresce que em muitos mercados o valor global de cada carcaça dependerá, quase inteiramente da sua pontuação de marmoreado, desde que não existam problemas que prejudiquem a qualidade da carne, como o problema designado DFD (do inglês *dark, firm and dry*). Portanto, para maximizar os rendimentos do produto, é essencial que cada carcaça seja avaliada em condições que maximizem a aparência do marmoreado (Tume, 2004). Dada a relevância da IMF para a qualidade da carne têm sido propostas várias abordagens para a sua determinação e/ou estimativa utilizando técnicas não destrutivas. Nos últimos anos tem sido dada importância a técnicas de imagem para resolver este desafio e em que a distribuição das manchas de marmoreado são avaliadas como características de rugosidade e textura para a avaliação da qualidade da carne (Silva *et al.*, 2015).

Neste contexto é objetivo deste trabalho estimar a gordura intramuscular do músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (IMF) por VIA e ainda estabelecer a sua relação com a cor e o pH da carne.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Estrutura e desenvolvimento da gordura intramuscular

A distribuição e a quantidade dos depósitos de gordura influenciam o valor comercial da carcaça e da carne. Os depósitos de gordura corporal podem dividir-se em depósitos de gordura visceral ou interna e depósitos de gordura associados à carcaça. Os depósitos de gordura visceral envolvem as vísceras, podendo destacar-se a gordura peri-renal e pélvica, a gordura omental e a gordura mesentérica (Rouse e Wilson, 2001). Os vários depósitos associados à carcaça são a gordura subcutânea, localizada sob a pele, a gordura intermuscular, localizada entre os músculos e a gordura intramuscular ou marmoreado (Rouse e Wilson, 2001; Albrecht *et al.*, 2006). A gordura intramuscular está localizada dentro do músculo, dentro dos feixes de tecido conjuntivo que envolvem as fibras musculares, em proximidade da rede de capilares sanguíneos (figura 1) (Rouse e Wilson, 2001; Albrecht *et al.*, 2006). O marmoreado descreve as pequenas manchas de gordura visível depositadas entre os feixes de fibras musculares (Frank *et al.*, 2016).

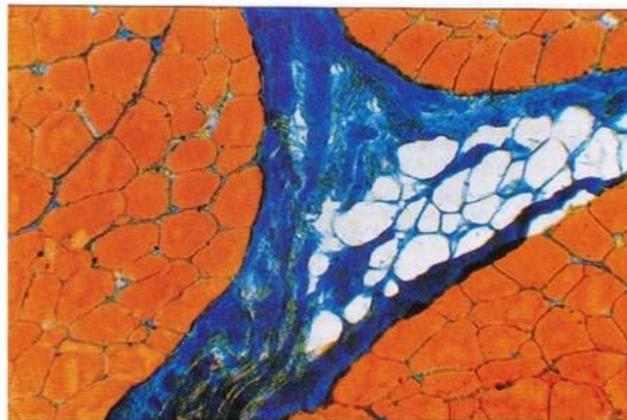


Figura 1 - Imagem microscópica de um grupo de células de gordura intramuscular (branco), tecido conjuntivo (azul) e fibras musculares (cor-de-laranja) visualizada numa amplitude de, aproximadamente, 200X (Albrecht *et al.*, 1996).

A gordura interna e a gordura intermuscular são consideradas *waste fat*, visto serem gorduras não desejadas na carcaça, e a gordura intramuscular é considerada *taste fat*, visto ser uma gordura apreciada pelo consumidor já que contribui para a qualidade sensorial da carne (Rouse e Wilson, 2001; Baker, 2002).

A gordura intramuscular consiste na acumulação de 1 a mais de 1000 adipócitos (Albrecht *et al.*, 1996). Um adipócito no seu estado maduro tem um diâmetro de, aproximadamente, 0,1 mm, sendo o seu espaço celular preenchido quase na totalidade por triglicéridos, encontrando-se o núcleo e o citoplasma limitados a uma pequena camada junto à membrana celular, resultando no teor de água muito baixo deste tecido (Swatland, 1995). Os adipócitos são mantidos em grupo, num depósito, por fibras reticulares que formam septos de tecido conjuntivo fibroso que divide os depósitos em lóbulos (Swatland, 1995). Para a avaliação do tamanho dos adipócitos intramusculares, a maioria dos estudos apresenta diferenças no tamanho do adipócito entre a gordura intramuscular e outros depósitos de gordura ou entre animais com diferentes marmoreados (Yang *et al.*, 2014). O tamanho do adipócito varia entre grandes e pequenas manchas de marmoreado ou entre as manchas de marmoreado localizadas em diferentes posições. A substância química da gordura intramuscular é dependente do peso, mas a proporção de manchas de marmoreado é dependente da área.

Gordura com o mesmo peso ocupa mais área em comparação ao músculo. Além disso, a gordura é armazenada em células que são rodeadas por tecido conjuntivo, portanto as áreas marmoreadas incluem áreas de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e outros (figura 2) (Yang *et al.*, 2014).

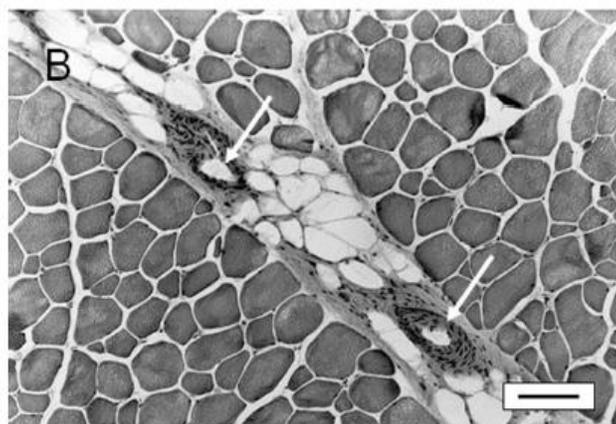


Figura 2 - Imagem microscópica de pequenas manchas de marmoreado. As fibras musculares são acinzentadas, mas bem delineadas, os adipócitos são esbranquiçados, o tecido conjuntivo é acinzentado e os vasos sanguíneos são indicados pelas setas. Barra de escala = 100 m (Yang *et al.*, 2014).

É aceite que a deposição de gordura em bovinos ocorre em três fases: a primeira fase, em que a gordura é depositada envolvendo as vísceras e os rins; a segunda fase, em que a gordura é depositada subcutaneamente e intermuscularmente, e a terceira e última fase, onde a gordura é depositada intramuscularmente (Swatland, 1995). No entanto, não se verifica uma separação cronológica destas fases nos bovinos, visto que a deposição relativa dos diferentes depósitos de gordura da carcaça pode variar com a dieta, a raça e o sexo (Swatland, 1995; Scanes, 2003).

A gordura intramuscular, assim como os restantes depósitos de gordura corporal, é depositada de modo crescente ao longo da vida do animal (Gaden, 2004). Durante o crescimento, a distribuição do marmoreado fica mais regular com a idade do animal em todas as raças, e as diferenças entre raças diminuem (Albrecht *et al.*, 2006). A quantidade e composição da gordura corporal depositada nos animais pode ser manipulada pela dieta, ainda que o local de deposição e eficiência do processo sejam dependentes do animal, da sua raça, precocidade, idade e sexo (Williams e Bennett, 1995; Zembayashi *et al.*, 1995; Kazala *et al.*, 1999; French *et al.*, 2000).

Ainda que estudos adicionais devam ser realizados para avaliar a dinâmica de deposição da gordura intramuscular, a generalidade dos estudos realizados demonstra que a gordura intramuscular do músculo LTL não é, necessariamente, de desenvolvimento tardio (Pethick *et al.*, 2004). Numa revisão sobre este assunto Silva *et al.* (2015) aponta coeficientes de alometria numa regressão logarítmica da gordura subcutânea, gordura intermuscular e peso do IMF no peso total de gordura são normalmente 1,01; 0,97 e 0,91, respetivamente (Silva *et al.*, 2015).

O marmoreado é um verdadeiro tecido adiposo, pelo fato de ser composto por adipócitos localizados numa matriz de tecido conjuntivo. Os adipócitos de marmoreados maduros são células esféricas, com diâmetros de 40-90 μ m. As células podem ser menores, em média, do que os adipócitos de outros depósitos de gordura do animal, embora o tamanho das células varie amplamente (Harper e Pethick, 2004). Neste momento, não está claro se a diferença de tamanho celular se reflete nas características do músculo em que essas células se desenvolvem. Os adipócitos de marmoreado aparecem normalmente em «ilhas». Estas ilhas tornam-se visíveis macroscopicamente quando contêm entre 10 e 15 células. Quando visualizado histologicamente

(figura 3), é possível encontrar ilhas de adipócitos contendo centenas de células, agrupadas em torno de capilares bem desenvolvidos (Harper e Pethick, 2004).

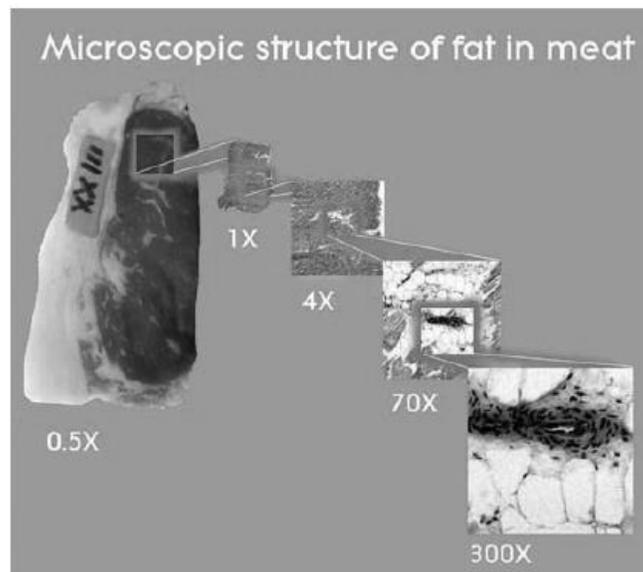


Figura 3 - Imagens histológicas do marmoreado na estrutura da gordura de marmoreado nas ampliações de 0.5x, 1x, 4x, 70x e 300x. As imagens demonstram distribuição de adipócitos nas paredes do tecido conjuntivo e nos capilares. A imagem composta foi reduzida cerca de 5 vezes para a apresentação (Harper e Pethick, 2004).

2.2. Efeito do marmoreado nas características sensoriais da carne

Na indústria de carne de bovino, a gordura intramuscular (IMF) é altamente valorizada, pois confere propriedades organolépticas desejáveis de sabor, suculência e tenura que controlam os preços dessa carne. De facto, a gordura é o principal elemento para o sabor da carne, e a presença de gordura intramuscular é indispensável para uma elevada qualidade da carne (Silva *et al.*, 2010; Du *et al.*, 2010). A gordura facilita o processamento, lubrificação de partículas de alimentos, aumenta a viscosidade da saliva e atua como ligante auxiliando na formação de um bolo sólido em preparação para deglutição (Frank *et al.*, 2016). A gordura também pode aumentar a produção de saliva, talvez através da influência dos ácidos gordos, aumentando a suculência (Frank *et al.*, 2016). À medida que o nível de gordura aumenta há menos fibra muscular e colagénio por unidade de volume de carne, o que leva a uma maior suculência da carne (Frank *et al.*, 2016). É notório que

outros fatores contribuem para a tenrura da carne, como a quantidade de colagénio (Frank *et al.*, 2016). A percentagem de gordura desempenha um papel importante nos três fatores da palatabilidade devido às inter-relações inerentes entre tenrura, suculência e sabor (Corbin *et al.*, 2015). Além da gordura intramuscular, o tecido conjuntivo (IMCT) e as miofibrilhas são componentes importantes da carne que influenciam a tenrura da mesma. De acordo com Li *et al.* (2006), o desenvolvimento da gordura intramuscular contribui para a tenrura de carne altamente marmoreada, desorganizando assim a estrutura do IMCT. A tenrura é considerada a característica de qualidade alimentar mais importante na carne de bovino (Nogalski *et al.*, 2017). Pesquisas revelaram que as opiniões dos consumidores podem diferir entre várias categorias de tenrura, e estes estão dispostos a pagar diversos preços pela carne de bovino. A tenrura e as outras propriedades sensoriais da carne são determinadas principalmente por via da gordura intramuscular (IMF) (Nogalski *et al.*, 2017). Vários estudos têm sido conduzidos com o objetivo de estabelecer um limiar de tenrura para os consumidores (Corbin *et al.*, 2015).

A gordura atua tanto como um substrato, como um reservatório para o sabor e também afeta a liberação temporal do aroma. A figura 4 ilustra bem que níveis crescentes de marmoreado correspondem a um sabor aceitável, suculência e gosto geral.

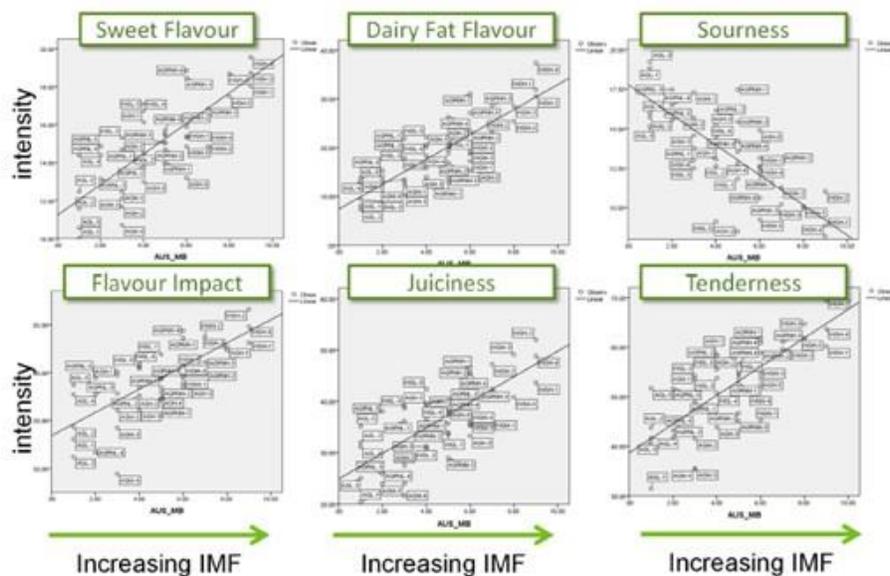


Figura 4 - Efeito do aumento da gordura intramuscular (IMF) em escalas para vários atributos (Frank *et al.*, 2016).

A contribuição do teor de gordura da carne para a palatabilidade foi estabelecida há muito tempo (Smith e Johnson, 2015). Smith e Johnson (2015) estabeleceram uma "Janela de aceitabilidade" para carne bovina (figura 5), indicando que a palatabilidade geral da carne é ideal entre 3 e 7,5% de lípidos intramusculares. O músculo desprovido de marmoreado contém aproximadamente 1% de lípidos intramusculares, de modo a que qualquer aumento de lípidos intramusculares acima de 1% esteja associado à diferenciação de adipócitos de marmoreado (Smith e Johnson, 2015).

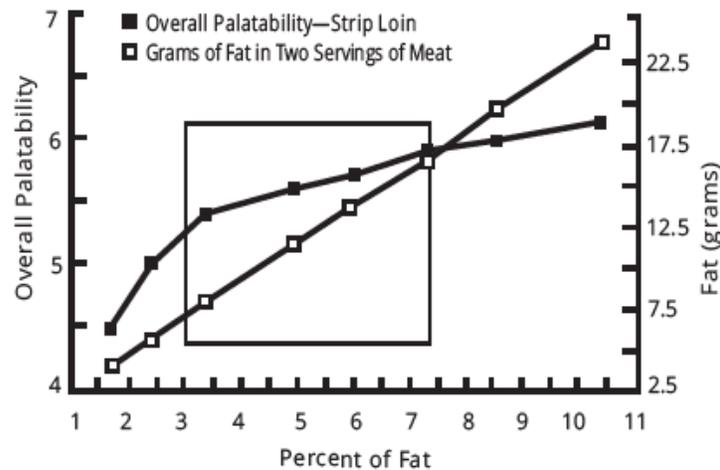


Figura 5 - Janela de aceitabilidade para o teor de gordura da carne. A janela é baseada numa percentagem de gordura de 3,0 a 7,5% (Smith e Johnson, 2015).

2.3. Efeito do marmoreado nas características físico-químicas da carne

A capacidade de retenção de água da carne é um atributo desejável, pois há menor perda de peso, aumenta o rendimento e diminui a perda de nutrientes. A capacidade de retenção de água e a composição química da carne são influenciadas pela gordura intramuscular (quadro 1). Conforme ilustrado no quadro 1, conclui-se que um maior teor de gordura na carne também resulta numa maior suculência inicial.

Quadro 1 - Efeito de diferentes níveis de gordura intramuscular (baixa, média e alta) na carne de bovino sobre as características da capacidade de retenção de água, o teor de aminoácidos importantes para o sabor. A média do IMF (%) para o grupo encontra-se entre parênteses para cada característica e nível de IMF (Adaptado de Frank *et al.*, 2016).

	IMF baixo	IMF médio	IMF elevado
Sabor – químico e sensorial			
Aminoácidos doces (mg/kg)	70 ^a (7,63)	94 ^b (12,65)	
Ácido aspártico (mg/kg)	0,80 ^a (7,63)	1,14 ^b (12,65)	
Impacto geral do painel treinado (escala 0=100)	60,39 ^a (7,8)	60,87 ^a (10,9)	63,95 ^b (17,5)
Suculência/Água – Aspetos químicos e sensoriais			
Humidade (%)	73,68 ^a (6,6)	69,45 ^b (11,02)	60,93 ^c (21,48)
Perdas por gotejamento (%)	6,26 ^a (6,13)	4,53 ^b (9,87)	
Perdas após a carne ser cozinhada (%)	27,0 ^b (5,2)	25,8 ^b (10,2)	23,6 ^a (17,5)
Suculência da carne definida pelo painel treinado após 3 mastigações (escala 0=100)	41,12 ^b (7,8)	43,5 ^b (10,9)	53,08 ^a (17,5)
Suculência da carne definida pelo painel treinado após 10 mastigações (escala 0=100)	36,24 ^b (7,8)	38,4 ^b (10,9)	46,82 ^a (17,5)

^{a,b} Médias dentro da mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Outro fator importante para a avaliação da qualidade da carne é a sua cor, que, na carne fresca, é determinada pela proporção e distribuição de duas mioglobinas, a oximioglobina e a metamioglobina, sendo a oximioglobina vermelha, após a exposição do músculo ao oxigênio, e responsável pelo aspeto fresco da carne. A cor é a primeira impressão que o consumidor tem de qualquer produto (Menegol *et al.*, 2010), e é usada pelos consumidores como um indicador de frescura da carne (Killinger *et al.*, 2004).

Como o marmoreado se refere à aparência de manchas brancas de tecido adiposo entre os feixes de fibras musculares, a cor branca e a opacidade da gordura são importantes para a avaliação

visual do marmoreado e são dependentes da cristalização dos triacilgliceróis dentro das células de gordura. No animal vivo, a gordura está em estado líquido (Tume, 2004). Com o abate baixa a temperatura e os triacilgliceróis sofrem alterações de fase (solidificam) e tornam-se opacos. A temperatura a que isso ocorre é em grande parte dependente dos pontos de fusão dos ácidos gordos. O ácido esteárico de alto ponto de fusão pode variar significativamente em conteúdo e em grupos de animais e tem uma grande influência nas propriedades físicas e na aparência visual da gordura do marmoreado (Tume, 2004). Nos estados iniciais do desenvolvimento do marmoreado, os diâmetros das células de gordura geralmente são pequenos (aproximadamente 40-60 µm) e para que o marmoreado se torne visível podem vir a ser necessários 10 a 15 grupos de células (Tume, 2004). As variações na composição da gordura podem afetar a aparência do marmoreado (Tume, 2004). Geralmente, a composição da gordura de marmoreado é semelhante à gordura subcutânea do animal, mas a gordura do marmoreado contém uma maior percentagem de ácidos gordos saturados, tais como o ácido esteárico (quadro 2) (Tume, 2004).

Quadro 2 - Diferenças na composição de ácidos gordos (distribuições percentuais) na gordura subcutânea e marmoreado de bovinos da raça Angus e cruzados de Angus com Wagyu (Adaptado de Tume, 2004).

Ácidos gordos		Angus		Angus-Wagyu	
		Gordura Subcutânea	Marmoreado	Gordura Subcutânea	Marmoreado
Mirístico	C14:0	2,7	2,8	3,0	3,0
Palmítico	C16:0	25,7	25,6	26,5	25,8
Palmitoleico	C16:1	3,5	2,7	4,5	3,2
Esteárico	C18:0	12,1	15,8	10,1	13,7
Oleico	C18:1,	48,2	46,1	47,7	46,4
Linoleico	C18:2	1,4	1,3	1,3	1,3
Total de ácidos saturados		43,1	46,6	42,2	44,9

Total de ácidos mono-insaturados	53,6	50,3	54,5	51,2
Total de ácidos poli-insaturados	1,7	1,5	1,7	1,4

A IMF está significativamente correlacionada com a força de corte Warner-Bratzler (Batista, 2017). Por exemplo, Aass *et al.* (2009) relataram correlações significativas entre a IMF e a força de corte Warner-Bratzler em carne de bovinos (entre -0,57 e -0,69; $P < 0.01$), o que sustenta a relação favorável entre esses parâmetros.

O pH final do músculo interage com o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares influenciando o seu estado físico e a reflexão da luz da superfície muscular em bovinos (Júnior *et al.*, 2011). Quando o glicogénio muscular é utilizado durante o manejo e transporte pré-abate há pouco ácido láctico no músculo, dando origem a carnes DFD (Júnior *et al.*, 2011).

2.4. Utilização da IMF na classificação das carcaças

Prever a composição da carcaça do animal ajuda a determinar o seu valor e características para fins de marketing, otimização da produção, estudos nutricionais ou programas de melhoramento e, por isso, é uma medida importante para a indústria de carne e para as empresas de melhoramento (Font-i-Furnols *et al.*, 2014). Atualmente na União Europeia é feita uma classificação e avaliação pós-abate de carcaças de bovinos e é realizada de acordo com o sistema EUROP (Allen, 2005). Este sistema não incorpora informação relacionada com a qualidade da carne e com o grau de marmoreado, o que limita a sua utilidade quando se pretende valorizar as carcaças por estes atributos (Craigie *et al.*, 2012). Há, todavia, vários países que incorporam o marmoreado nos sistemas de avaliação das carcaças (quadro 3).

Quadro 3 - Métodos e padrões para avaliação de marmoreado na carne de bovino (Adaptado de Cheng *et al.*, 2015).

País	Método	Posição	Número total de notas	Notas (altas e baixas)	Referência
U.S.A.	Avaliação visual	Da 12 ^a à 13 ^a costela	10	Muito abundante, abundante, moderadamente abundante, pouco abundante, alguns vestígios de marmoreado, desprovido de marmoreado	USDA (1997)
Japão	Avaliação visual	Da 6 ^a à 7 ^a costela	12	Padrão de marmoreado de carne bovina nº 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1	JMGA (1988)
Austrália	Avaliação visual	Da 5 ^a à 13 ^a costela	9	Padrão de marmoreado de carne bovina nº 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1	AUS – MEAT (2005)

Nos USA, a qualidade da carne é definida pelo USDA (*United States Department of Agriculture*) e o grau de marmoreado é aplicado em atributos que variam do desprovido de marmoreado até ao marmoreado muito abundante (figura 6). Utilizam-se padrões fotográficos com esses atributos (figura 7).

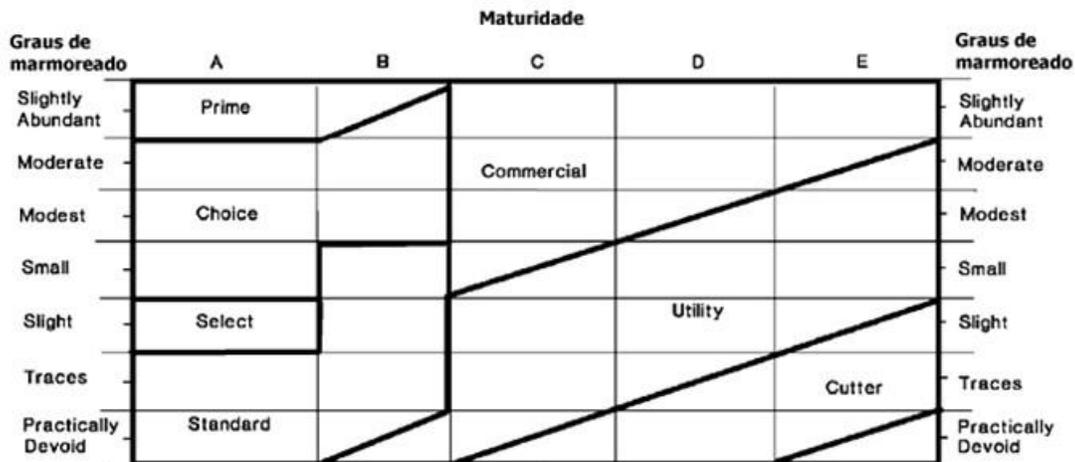


Figura 6 - Relação entre o teor de marmoreado, maturidade, grau de rendimento da carcaça, em que a maturidade aumenta de A a E (USDA, 1996).

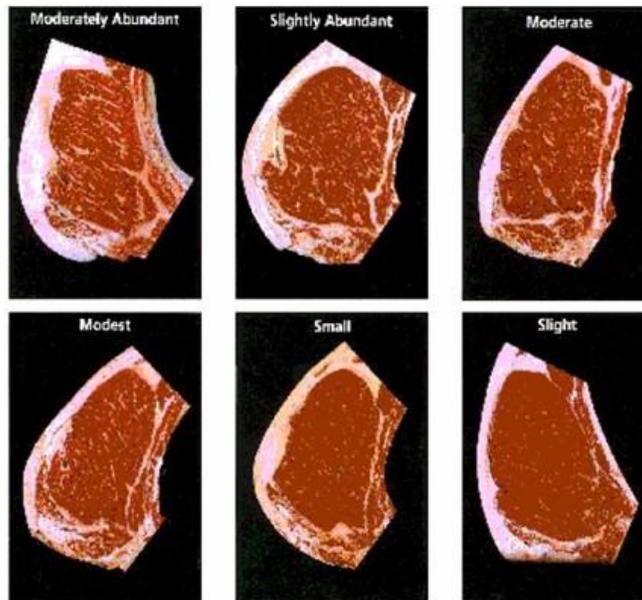


Figura 7 - Graus de marmoreado de acordo com o sistema de classificação do grau de qualidade USDA (Sainz e Araujo, 2001).

A Meat Standards Austrália (MSA) usa uma pontuação de marmoreado, baseada em padrões fotográficos. O sistema MSA-MB oferece uma escala fina para medições precisas do marmoreado da carne, o sistema de pontuação varia de 300 para 1100 (figura 8).

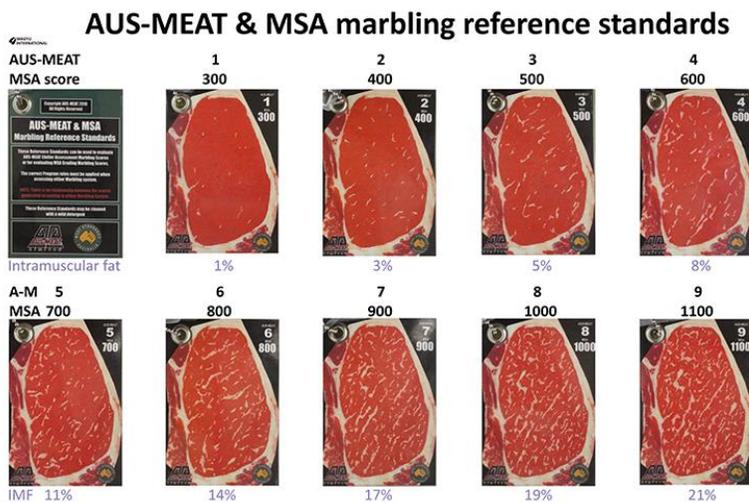


Figura 8 – Padrão fotográfico do sistema MSA (Wagyu International, 2013).

A carne com elevada percentagem de marmoreado é considerada um produto premium no Japão (Frank *et al.*, 2016). Neste país também se utilizam padrões fotográficos para o marmoreado (figura 9). Estes padrões são considerados uma ferramenta útil para melhorar a avaliação de todas as carcaças o que afeta positivamente o preço da carcaça. A avaliação da pontuação de marmoreado é atribuída por um avaliador oficial (Maeda *et al.*, 2013).

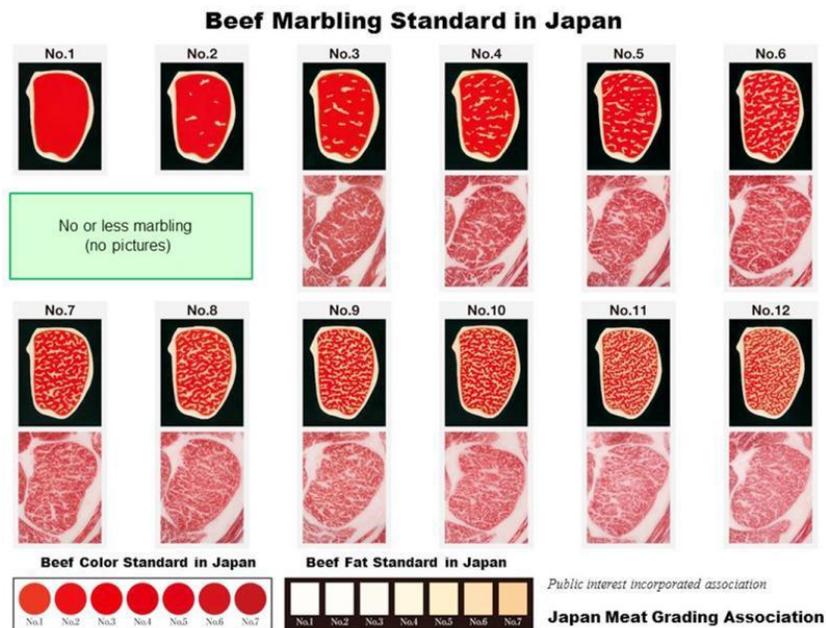


Figura 9 – Padrão fotográfico para avaliação de marmoreado na escala Japonesa (Gotoh *et al.*, 2014).

Independentemente do tipo de padrão utilizado para a medição do marmoreado, os resultados são dependentes de vários fatores, tais como (Silva *et al.*, 2015):

- O operador é um fator chave e a precisão de classificação dependem do treino e da habilidade do operador;
- O tamanho da amostra, que, se for muito pequena, pode dificultar a percepção correta do marmoreado;
- O tamanho e a forma das manchas, que podem modificar a percepção do marmoreado, especialmente se parecerem diferentes daqueles da escala de referência utilizada;

- A luz utilizada para a avaliação, pois pode afetar a visualização das manchas;
- A posição anatômica do corte, pode influenciar as medições porque o marmoreado varia entre e dentro dos músculos e também depende da direção do corte.

2.5. Métodos para determinação da IMF por análise de imagem e análise espectral

Os métodos que vimos anteriormente são suportados por sistemas de pontuação, o que introduz subjetividade na avaliação. Uma das formas comprovadas de avaliação objetiva do nível do IMF é por uma análise química (para uma revisão ler Silva *et al.*, 2015). O método designado por Soxhlet, utiliza um solvente não polar como o éter de petróleo, que extrai a maior parte do triacilglicerol e colesterol, mas apenas uma fração de fosfolípidos e lipoproteínas. Se os fosfolípidos forem incluídos na análise, então uma hidrólise ácida anterior deve ser realizada com ácido clorídrico (figura 10).



Figura 10 - Processo de hidrólise ácida (Silva *et al.*, 2015).

Tanto o éter como o clorofórmio / metanol podem ser utilizados para extrair a IMF. O valor obtido utilizando éter é menor do que usando o clorofórmio / metanol, mas o resultado deste último é influenciado pela presença de fosfolípidos e componentes não-lipídicos interferentes (Du *et al.*, 2008). Hoje em dia há alguns equipamentos que permitem uma extração mais automática de gordura (figura 11). Apesar disso este método como facilmente se compreende é destrutivo e muito

trabalhoso. Para além disso não é aplicável numa linha de desmancha o que limita o seu valor prático (Silva *et al.*, 2015). Têm sido por isso desenvolvidos vários métodos baseados em técnicas espectroscópicas, imagem hiper-espectral, e técnicas de imagem para a determinação da IMF (Ferguson, 2004; Cheng *et al.*, 2005).



Figura 11 - Procedimento para análise do teor de gordura utilizando o equipamento automático Soxhlet. **a-** amostra; **b-** colocação da amostra no equipamento; **c-** introdução dos tubos e preparação do éter de petróleo; **d-** introdução da extração com o éter de petróleo ao equipamento; **e-** abertura da conexão para permitir a recirculação do éter de petróleo; **f-** processo de extração. (Silva *et al.*, 2015).

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) é uma técnica que tem ganho muita notoriedade já que é muito versátil e pode ser utilizada de forma simples numa linha de desmancha. Esta técnica é baseada na quantidade de luz infravermelha que é refletida ou transmitida através de um composto que está diretamente relacionado com a sua composição química. A técnica NIRS foi utilizada com sucesso para estimar a composição de gordura e a humidade de carne (Ferguson, 2004; Cheng *et al.*, 2015). Mais recentemente, avaliou-se a sua capacidade de prever características físicas e químicas e propriedades sensoriais, de textura do músculo e também de IMF da carne de bovino (Ferguson, 2004). Têm sido desenvolvidas experiências para a sua aplicação on-line num

matadouro através do desenvolvimento de sondas NIRS, que utilizam uma tecnologia de fibra ótica e tornam a sua utilização muito mais flexível em ambiente de matadouro (Ferguson, 2004).

Está demonstrado que com o uso da espectroscopia de infravermelho próximo no modo de transmissão, é possível detetar a IMF não só na superfície, como em métodos tradicionais, mas também sob a superfície (Ziadi *et al.*, 2009). Ao combinar a análise da IMF dos dois lados de uma amostra de carne, é possível estimar o volume da IMF (Ziadi *et al.*, 2009).

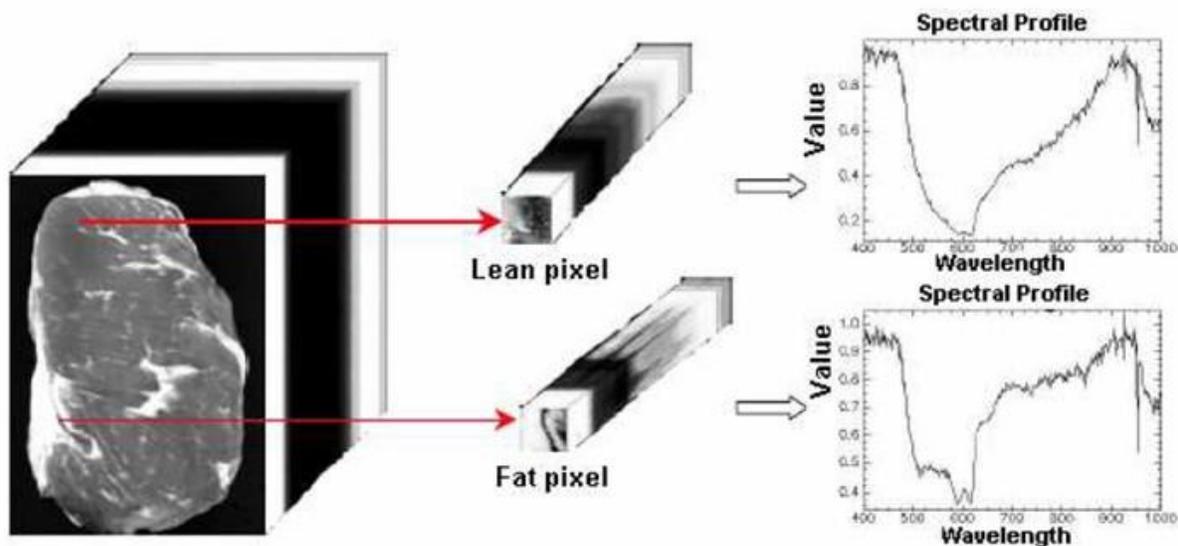


Figura 12 - Perfil espectral dos pixels do músculo e da gordura de uma amostra (Ziadi *et al.*, 2009).

A utilização de NIRS tem tido avanços muito significativos nos últimos anos com desenvolvimento de equipamentos específicos para utilização em ambiente de matadouro (Maltin *et al.*, 2015). Na figura 13 mostra-se a utilização de três equipamentos NIRS em matadouro para obtenção de informação sobre características da carcaça entre as quais a IMF (Maltin *et al.*, 2015).



Figura 13. Ilustração de três sistemas NIRS a serem testados num ensaio piloto num matadouro de bovinos (Maltin *et al.*, 2015).

Nos últimos anos a utilização de imagens hiper-espectrais (HSI), que combinam espectroscopia e a imagem digital ou visão computacional, tem permitido obter tanto informações espectrais como espaciais de um objeto (figura 14). As características espaciais do HSI permitem a caracterização de uma amostra heterogénea complexa como é a carne (Lohumi *et al.*, 2016). Cada imagem HSI contém informações sobre o espaço da distribuição de constituintes químicos no objeto, bem como informações para cada pixel em centenas de bandas espectrais, o que possibilita análises da composição química mais fiáveis do que a utilização apenas da refletância espectral ou mesmo da visão (Lohumi *et al.*, 2016). Recentemente, a HSI recebeu considerável atenção no setor agroalimentar para a análise da qualidade de alimentos (Lohumi *et al.*, 2016), e também para a análise de IMF da carne de bovinos (Velásquez *et al.*, 2017; Aredo *et al.*, 2017).

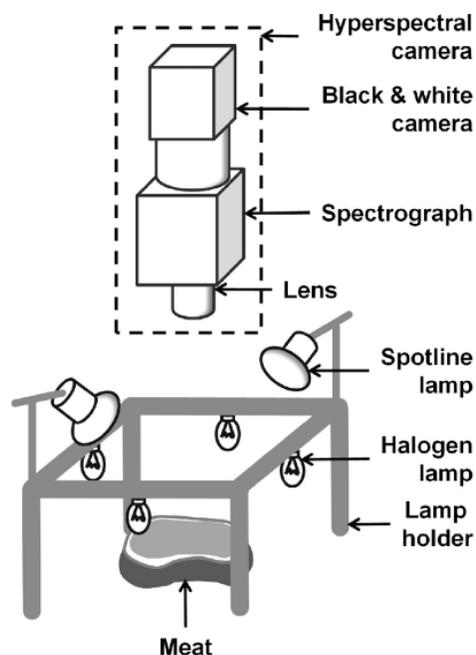


Figura 14. Esquema de um sistema HSI para amostras de carne (Sanz *et al.*, 2016).

A técnica de espectroscopia Raman (do inglês *Raman spectroscopy*) apresenta um elevado potencial para ser utilizada de forma versátil em amostras de carne ou de carcaças (figura 15). Esta técnica tem sido testada em ambiente de matadouro com resultados muito encorajadores e Craigie *et al.* (2015) aponta-a como uma das técnicas de espectroscopia para o futuro. Esta técnica foi aplicada com sucesso por Fowler *et al.* (2015) para a determinação da IMF de ovinos.



Figura 15. Demonstração da técnica de Raman num sistema portátil com aplicação direta numa amostra de carne (Maltin *et al.*, 2015).

Outra técnica que tem merecido muita atenção nos últimos anos é a tomografia computadorizada de raios-X (TC). É uma tecnologia não destrutiva que pode ser usada para estimar a composição corporal *in vivo*, na carcaça ou em peças. Foi utilizada em ovinos, suínos, bovinos e coelhos entre outras espécies (Font-i-Furnols *et al.*, 2014; Scholz *et al.*, 2015).

A tomografia computadorizada contém um tubo que emite raios-X e tem detectores que medem o enfraquecimento deste feixe de raios-X no percurso através de um objeto. Este enfraquecimento depende da densidade tecidual e é medida em unidades de Hounsfield (HU), que expressam a diferença em cada enfraquecimento de cada tecido em relação à água (HU = 0) (Font-i-Furnols *et al.*, 2014). Uma imagem 3D é obtida numa escala de cinza por meio de reconstrução de algoritmos a partir dos valores do enfraquecimento referido anteriormente. Tecidos de menor densidade, como a gordura, apresentam valores de enfraquecimento de HU mais baixos e cores mais escuras que os tecidos de maior densidade, como tecido magro e o osso (Font-i-Furnols *et al.*, 2014). Uma imagem (3D) é composta por voxels que podem ser classificados em gordura, músculo ou osso de acordo com o valor de HU (Font-i-Furnols *et al.*, 2014).

Em relação à carne bovina há vários trabalhos em que se estudam peças uma vez que há dificuldade em avaliar a carcaça inteira ou animais vivos num scanner comercial de TC por causa do seu tamanho (Font-i-Furnols *et al.*, 2014). Estes autores estudaram a composição e a IMF em peças da região torácica (9^a a 11^a vértebras torácicas) de carcaças de bovinos. Com este trabalho foi possível estimar a IMF e os melhores resultados foram obtidos quando se considerou a totalidade da peça do que apenas uma secção correspondente à 10^a vértebra torácica. Também Prieto *et al.* (2010) verificaram a capacidade da TC para estimar a IMF em bovinos. Estes autores estudaram peças da 11^a à 12^a vértebra torácica de novilhos Angus e Limousin e verificaram que a TC era uma mais valia para estimar características da carcaça incluindo IMF.

Embora haja diferentes metodologias não-invasivas para a quantificação do IMF os ultrassons têm sido uma técnica largamente utilizada quer para obter informação *in vivo* quer para obter informação *post-mortem* para a IMF (Segura *et al.*, 2015; Silva, 2017). A técnica mais utilizada é a ultrassonografia em tempo real (RTU).

A RTU é um método de diagnóstico não invasivo, que emprega o fenômeno de propagação e reflexão das ondas de ultrassons. A tecnologia RTU permite a obtenção de imagens digitais dos tecidos dos animais e a informação gráfica daí resultante é usada para identificar o nível de marmoreado (Peña *et al.*, 2014).

Os resultados globais com RTU para prever a IMF têm sido realizados com precisão elevada e aceitável, o que permite pensar na sua utilização como ferramenta de seleção da qualidade da carne e de determinação de um ponto ótimo de abate (Harper e Pethick, 2004; Aass *et al.*, 2009; Silva e Cadavez, 2012). Estudos europeus recentes da predição do IMF através de RTU em bovinos revelaram sucesso variável. Todavia Aass *et al.* (2009) que investigaram a precisão da previsão do IMF por RTU em bovinos muito magros (IMF menor que 2%) obtiveram resultados promissores.

Há um grande número de fatores que podem influenciar a precisão e a repetibilidade das medições de RTU. É aceite que a qualidade das imagens depende do tipo de equipamento de ultrassom, do processo de digitalização de imagem utilizada e da frequência da sonda (Silva *et al.*, 2010). Nos últimos anos, os esforços centraram-se em sistemas de análise de imagens (Silva *et al.*, 2010). Estes sistemas reduzem os erros de aquisição e de medição de imagem (Silva, 2017). De um ponto de vista prático, o ultrassom é adequado para a avaliação das características de marmoreado e é bastante simples de executar e tem um custo baixo em comparação com outras técnicas de imagem. Finalmente, com o avanço da tecnologia ultrassónica, pode-se esperar que o uso desta metodologia possa vir a ser utilizada para quantificar a IMF e a sua distribuição nos músculos (Silva *et al.*, 2010).

Finalmente uma das técnicas mais utilizadas para estimar a IMF e a sua distribuição numa amostra de carne é a análise de imagem por computador, geralmente designada em inglês por *video image analysis* (VIA). A técnica VIA oferece uma avaliação consideravelmente fiável dado que a tecnologia desenvolve essencialmente o que um avaliador treinado faz. Por outras palavras, a câmara atua como o olho e os algoritmos computacionais simulam a maneira como o cérebro processa a imagem para obter uma pontuação. A aplicação de VIA na avaliação da carcaça de bovino teve o primeiro relatório desenvolvido na década de 1980 (Ferguson, 2004). Os sistemas VIA são importantes para a avaliação da qualidade da carne, desde a classificação até ao momento

da compra pelos consumidores. As características do marmoreado são obtidas através da análise de imagens, o que é possível graças à diferença de nível de cinzento entre as partículas da gordura visível no músculo (Yang *et al.*, 2014). A técnica VIA tem sido aplicada a carcaças (para uma revisão ler Allen, 2005; Craigie *et al.*, 2012; Craigie *et al.*, 2013) mas também tem sido utilizada para a análise de peças (Jackman *et al.*, 2009; Sun, 2012) e em planos de corte das carcaças como forma de estabelecer um sistema de valorização diferenciada das carcaças (Vote *et al.*, 2009; Valous *et al.*, 2016). É esta técnica que constitui o alvo desta dissertação e como veremos adiante será aplicada a peças da região lombar de novilhos.

3. Trabalho experimental

3.1. Material e métodos

3.1.1. Origem e preparação das amostras

Para este trabalho foram utilizadas 85 peças de carne retiradas da 4ª vértebra da região lombar de novilhos cruzados com um peso de carcaça de 204 ± 17 kg de raças com aptidão carne. Estas peças resultam de carcaças de animais que foram abatidos num matadouro comercial de acordo com as normas europeias de bem-estar e proteção animal e foram adquiridas num talho comercial. Todas as peças foram transportadas para o laboratório, identificadas e refrigeradas a 4°C.

3.1.2. Obtenção e análise das imagens

As peças foram colocadas sobre um fundo preto opaco e não refletor, com uma escala de 5 cm (figura 16). As fotografias foram obtidas com recurso a uma câmara digital Nikon D3100. Para manter a câmara sempre a uma distância fixa da amostra foi utilizado um tripé. Todo o trabalho decorreu em condições de luz uniforme. Todas as fotografias foram gravadas em formato JPEG. A aquisição das imagens foi feita apenas por um operador.



Figura 16 - Imagem original da peça da 4ª vértebra lombar. No lado esquerdo da imagem é apresentada a escala.

Para a análise das imagens foi utilizado o programa Fiji (ImageJ 1.49u), seguindo vários passos. No primeiro passo foi selecionada e isolada a área de interesse (ROI – do inglês *region of interest*) do LTL a ser analisada (figura 17a) e no segundo passo foi aplicada uma transformação para 8 bits e determinado o nível de cinzento (*threshold*) correspondente à IMF. Para obter este *threshold* foi feito um aumento da imagem em 300% e foram obtidos histogramas do nível de cinzento de várias amostras de partículas, que macroscopicamente foram consideradas IMF. O *threshold* representa o valor médio do nível de cinzento (figura 17b). No terceiro passo foi aplicado o *threshold* e isoladas as partículas que estão associadas à IMF (figura 17c). Por último e considerando o quarto passo, foi feita a análise da imagem e determinados os parâmetros associados a essas partículas de IMF (figura 17d).

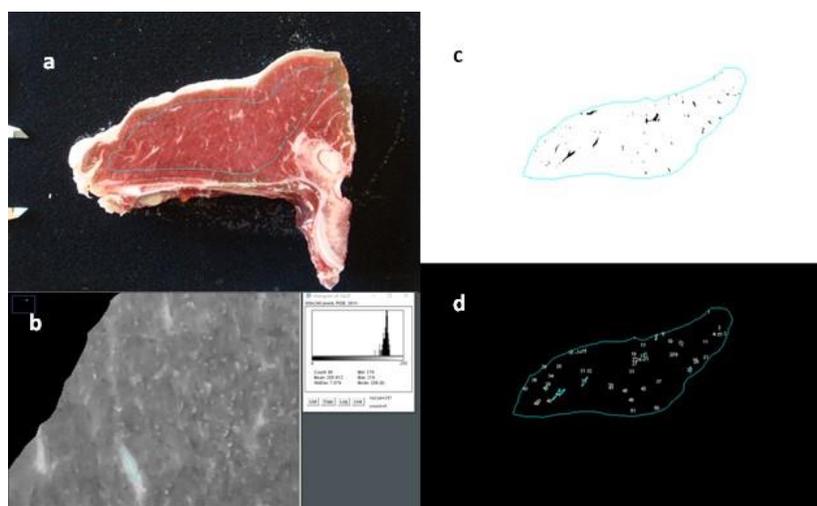


Figura 17 - Análise das partículas de IMF utilizando o programa Fiji-ImageJ. **a**- Segmentação do músculo LM e obtenção da área de interesse (ROI – do inglês *region of interest*); **b** - transformação numa imagem de 8 bits e determinação o nível de cinzento (*threshold*) correspondente à IMF; **c** - Aplicação do *threshold* seguido de isolamento das partículas que estão associadas à IMF; **d** - Determinação dos parâmetros associados às partículas de IMF.

Como resultado da análise das imagens foram determinados os seguintes parâmetros: número de partículas; área total de partículas (mm^2); área média das partículas (mm^2); fração da área (mm^2); perímetro das partículas (mm); maior eixo das partículas (mm); menor eixo das partículas (mm); circularidade (relação entre o perímetro da circunferência das partículas equivalente às áreas projetadas das partículas e os seus perímetros); solidez (dureza/firmeza das partículas da carne);

espessura das partículas (mm); espessura mínima das partículas (mm); espessura máxima das partículas (mm); área mínima das partículas (mm²); área máxima das partículas (mm²) e a relação área das partículas/área do músculo LTL (%).

3.1.3. Gordura intramuscular, pH e cor

Para a determinação da percentagem de gordura intramuscular das amostras foi isolado o músculo LM, tendo sempre o cuidado de não incluir qualquer porção de gordura subcutânea ou intermuscular. Estas amostras de LM foram moídas e seguidamente foi realizada a análise de gordura por extração em éter de petróleo de acordo com o descrito por Silva *et al.* (2015).

Os parâmetros L* - luminosidade; a* - índice de vermelho; e b* - índice de amarelo foram determinados com um colorímetro Minolta CR-10. A cor foi medida de forma aleatória em três posições do LM e considerados os valores médios. Para a determinação do pH foram realizadas três leituras diretamente no músculo LM com um medidor de pH Hanna HI 9025. Quer a cor quer o pH foram determinados imediatamente após a obtenção das imagens.

3.2. Análise estatística

Para todas as variáveis foi realizada uma estatística descritiva com a determinação da média, desvio padrão, máximo, mínimo e coeficiente de variação (CV). Para a análise da relação entre os parâmetros obtidos por análise de imagem e para a IMF, os parâmetros de cor (L, a, b) e o pH foi realizada uma análise de correlação. Para estimar a IMF, os parâmetros de cor (L, a, b) e o pH a partir dos parâmetros da análise de imagem foram realizados modelos de regressão múltipla por *stepwise*. A regressão *stepwise* foi combinada com a validação cruzada com *k-folds* para avaliar o desempenho dos modelos. A avaliação dos modelos foi baseada no coeficiente de determinação (R²) e no desvio padrão dos resíduos (RMSE). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa JMP (versão 13; SAS Institute, Cary, NC, EUA).

3.3. Resultados e discussão

Foi observada uma grande variação para as variáveis associadas às partículas de IMF obtidas por análise de imagem CV entre 20,5% e 50,5%. O valor médio obtido para a composição química do músculo em relação à gordura intramuscular neste trabalho foi de 3,18% como uma variação próxima do máximo valor observado naquele intervalo (CV =50,3%) (quadro 4).

Quadro 4 - Média, desvio padrão (dp), mínimo, máximo e coeficiente de variação (CV) para o peso da carcaça, parâmetros físico-químicos e parâmetros obtidos por análise de imagem.

	Média	dp	Mínimo	Máximo	CV (%)
Peso da carcaça (kg)	204,46	16,67	166,36	242,46	8,2
Parâmetros físico-químicos					
IMF (%)	3,18	1,60	0,71	8,92	50,3
L*	38,71	3,47	29,13	49,20	9,0
a*	12,74	2,37	8,85	18,93	18,6
b*	8,54	1,09	6,55	10,90	12,7
pH	5,77	0,23	5,53	6,50	4,0
Parâmetros da análise de imagem					
Número de partículas	37,33	13,02	10,00	62,00	34,9
Área total de partículas (mm ²)	105,64	53,39	15,03	264,27	50,5
Área média das partículas (mm ²)	2,93	1,20	1,05	5,92	40,9
Fração da área (%)	3,06	1,13	1,12	5,73	37,0
Perímetro das partículas (mm)	8,00	1,89	3,73	13,31	23,6
Maior eixo das partículas (mm)	3,00	1,18	0,84	6,47	39,2
Menor eixo das partículas (mm)	2,04	0,60	0,94	3,75	29,2
Circularidade	0,74	0,15	0,39	0,99	20,5
Solidez	0,97	0,44	0,55	1,81	45,1
Espessura das partículas (mm)	3,00	0,68	1,60	4,65	22,6
Espessura mínima das partículas (mm)	1,29	0,45	0,58	2,18	34,7
Espessura máxima das partículas (mm)	10,99	4,75	2,84	21,96	43,2
IMF estimada por análise de imagem (%)	2,12	0,88	0,35	3,63	41,3

A percentagem de IMF é semelhante ao valor médio obtido por vários autores (Albrecht *et al.*, 1996; Chambaz *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2006) para animais da raça Holstein, Charolesa e cruzados Charolês×Holstein, respectivamente, com diferente peso ao abate, tendo os resultados obtidos por estes autores variado entre 2,18 e 3,27%. Outros autores, para animais de diferentes raças ou cruzamentos e com diferente peso ao abate registaram valores de percentagem de IMF semelhantes, a variar entre 0,27 e 5,6% (Shackelford *et al.*, 1994a; Albrecht *et al.*, 1996; Stelzleni *et al.*, 2002; Chambaz *et al.*, 2003; Serra *et al.*, 2004; Tait *et al.*, 2004; Sañudo *et al.*, 2007). Este valor é próximo ao valor referido por Mello (2007), para as percentagens mínimas de IMF exigidas na Austrália, Coreia e Japão (2,1%, 2,6% e 3,3%, respectivamente). Este valores aproximam-se dos observados no presente trabalho e estão em linha com o apontado por Savell e Cross (1988) como o adequado para se obter satisfação do consumidor, que de acordo com aqueles autores varia entre 3% e 4%.

Relativamente às medidas obtidas nos parâmetros analisados com a análise de imagem verifica-se que a área total das partículas, medida em mm², é a medida que exhibe maior variação (CV=50,5%) e que a circularidade e espessura das partículas, medida em mm, apresentam uma variação mais reduzida. O valor encontrado para a medida de espessura das partículas de gordura intramuscular encontra-se dentro do intervalo (2 a 36 mm) observado por outros autores (Greiner *et al.*, 2003; Steiner *et al.*, 2003; Tait *et al.*, 2005). Esta diferença pode encontrar explicação na diferente posição anatómica em que se realizaram as medidas quer do LTL quer da gordura intramuscular. De fato nestes trabalhos as medidas foram obtidas ao nível da 12^a vértebra torácica enquanto no presente trabalho foram realizadas ao nível da 4^a vértebra lombar, havendo por esta razão variações crânio-caudais na dimensão do músculo LTL e também há diferenças na dimensão e área das partículas de IMF (Simm, 1983). A área do LTL das secções lombares é de maior dimensão do que a observada nas secções torácicas (Silva *et al.*, 2007b).

O número de partículas de IMF dá uma indicação importante da "qualidade do marmoreado": quanto mais e mais dispersas no músculo estiverem, melhor. O tamanho de cada partícula de IMF deve ser tão pequeno quanto possível. Isto está intimamente relacionado com a proporção das maiores áreas de gordura em comparação com a área total de gordura. Quanto maior esse valor, mais a aparência é marcada por um aspeto de marmoreado (Albrecht *et al.*, 1996).

No quadro 4 podemos verificar, em relação à variação da cor da carne, que as amostras analisadas apresentam uma luminosidade de 38,71 numa escala de 0 a 100, em que o valor 0 corresponde à cor preta e o valor 100 à cor branca. O valor de L* encontrado na amostra (38,71) foi mais elevado que o relatado por Loxton (1993) (34,85) para novilhos cruzados *Bos taurus indicus*. Como há vários fatores que influenciam este indicador, as comparações com outros trabalhos devem ser feitas com cuidado. Esta diferença de valores encontrados no presente trabalho e no trabalho mencionado pode dever-se ao facto de os animais utilizados para o presente trabalho serem mais jovens do que os utilizados no trabalho de Loxton (1993) uma vez que a carne de animais jovens é mais clara que a de novilhos /novilhas. Os valores de a* e b* apresentam uma variação de 18.6 e 12.7% o que os aproxima de outros trabalhos feitos com bovinos de peso semelhante (Loxton, 1993).

Em relação ao pH final das amostras verifica-se que o valor médio apresentado foi 5,77 variando entre 5,53 e 6,50. Valores de pH final entre 5,40 e 5,60 são considerados “normais”, ou típicos, para carne bovina. Como as amostras analisadas apresentaram um pH superior a este intervalo pode concluir-se que tiveram uma maior retenção de água comparadas com o valor médio de 5,57, obtido por Felício *et al.* (1998). O pH final máximo aceitável para carne de bovino com garantia de qualidade, é de 5,70, sendo que o pH final da carne de um animal em ausência de condições de stresse e bem alimentado é de 5,5 (Jeremiah, 1996; MLA, s.d.). Segundo a classificação em grupos de qualidade de acordo com o pH final das amostras de LTL seguida por Silva *et al.* (1999) o pH final verificado neste trabalho corresponde a pH de carnes com DFD moderado. Segundo Dransfield (1994), a intensidade de declínio do pH é um dos fatores mais importantes na maciez da carne pós-abate, pois alteram a estrutura do músculo, a libertação de cálcio e a atividade das enzimas cálcio-dependentes.

No quadro 5 são apresentados os coeficientes de correlação entre os parâmetros físico-químicos e parâmetros obtidos por análise de imagem. Verificou-se que há um efeito significativo bastante elevado ($P < 0,01$) de todos parâmetros físico-químicos na percentagem de IMF obtida por análise de imagem, o que significa que a alteração de qualquer um destes parâmetros influenciou positiva ou negativamente a percentagem de IMF calculada.

Quadro 5 - Coeficientes de correlação entre os parâmetros físico-químicos e parâmetros obtidos por análise de imagem.

	IMF	L	A	B	pH
Número de partículas	0,39**	0,38**	0,22*	0,03 ^{ns}	0,18 ^{ns}
Área total de partículas (mm²)	0,70**	0,37**	0,43**	0,22*	0,06 ^{ns}
Área média das partículas (mm²)	0,59**	-0,16 ^{ns}	0,39**	0,29**	-0,06 ^{ns}
Fração da área (%)	0,83**	-0,11 ^{ns}	0,31**	0,27*	-0,16 ^{ns}
Perímetro das partículas (mm)	0,37**	-0,45**	0,34**	0,16 ^{ns}	0,36**
Maior eixo das partículas (mm)	0,84**	-0,19 ^{ns}	0,23*	0,12 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
Menor eixo das partículas (mm)	0,64**	0,45**	-0,13 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,48**
Circularidade	0,31**	0,56**	-0,24*	-0,03 ^{ns}	-0,55**
Solidez	0,73**	0,10 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,24*
Espessura das partículas (mm)	0,55**	-0,39**	0,35**	0,16 ^{ns}	0,22*
Espessura mínima das partículas (mm)	0,63**	-0,13 ^{ns}	0,25*	0,23*	0,03 ^{ns}
Espessura máxima das partículas (mm)	0,70**	-0,23*	0,31**	0,13 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
IMF estimada por análise de imagem (%)	0,75**	-0,32**	0,31**	0,16 ^{ns}	0,01 ^{ns}

^{ns} valores de r inferiores a 0,221 são não significativos; * valores de r entre 0,222 e 0,287 são significativos para P<0,05; ** valores de r superiores a 0,288 são significativos para P<0,01.

Verificou-se que o número de partículas está positivamente correlacionado com a percentagem de IMF encontrada ($r = 0,39$; $P < 0,05$), com a cor da carne no que diz respeito aos valores de L* ($r = 0,38$; $P < 0,05$) e a* ($r = 0,22$; $P < 0,01$). Estes resultados sugerem que o número de partículas de marmoreado tem um papel mais importante na determinação da percentagem da IMF do que propriamente na alteração da cor da carne enquanto que em relação ao valor de b* e pH o número de partículas não tem um efeito significativo sobre estas características ($r = 0,03$; $r = 0,18$, respetivamente). Relativamente à correlação entre o número de partículas de marmoreado e a percentagem de IMF, o valor obtido neste trabalho ($r = 0,39$) foi superior ao verificado no trabalho de Yang *et al.* (2006), tendo estes autores reportado um coeficiente de correlação entre as duas medidas de 0,34, embora os valores sejam relativamente semelhantes.

No geral a correlação encontrada entre as medidas das partículas obtidas por análise de imagem e a IMF é positiva e significativa (r entre 0,31 e 0,84; $P < 0,01$). Pelo contrário e de uma forma geral

não se observaram correlações significativas consistentes entre as medidas das partículas e as medidas de cor e pH. De qualquer forma verificou-se correlação positiva significativa ($P < 0,01$), entre a percentagem de IMF, o valor de L^* e o valor de a^* e a área total de partículas medida em mm^2 ($r = 0,70$; $r = 0,37$; $r = 0,43$; $P < 0,01$, respetivamente), em relação a esta correlação com o valor de b^* verificou-se uma correlação positiva baixa ($r = 0,22$; $P < 0,05$). O valor obtido para a correlação deste parâmetro com o valor de IMF foi superior ao relatado por Yang *et al.* (2006).

Em relação à fração da área, é apresentada uma correlação positiva elevada com o valor de IMF ($r = 0,83$; $P < 0,01$) e uma correlação positiva mais baixa com o valor de a^* e b^* ($r = 0,31$; $P < 0,01$ e $r = 0,27$; $P < 0,05$, respetivamente), já com o valor de L^* e com o pH não tem nenhum efeito significativo. Segundo Yang *et al.* (2006) a correlação verificada entre a fração da área e a percentagem de IMF foi de 0,52, um valor muito inferior ao verificado no presente trabalho. Por outro lado, no trabalho de Albrecht *et al.* (2006), verifica-se uma correlação idêntica à apresentada no presente trabalho, para a percentagem de fração da área, para animais com aproximadamente 12 anos e pertencentes à raça Belgian Blue ($r = 0,58$). Verificou-se uma correlação positiva moderada entre o perímetro das partículas e o valor de IMF, a^* e pH ($r = 0,37$; $r = 0,34$; $r = 0,36$; $P < 0,01$, respetivamente) e uma correlação negativa moderada entre o perímetro das partículas e o valor de L^* ($r = -0,45$; $P < 0,01$), já em relação ao valor de b^* , este parâmetro físico-químico não tem efeito significativo neste valor. No trabalho de Yang *et al.* (2006) a correlação entre o perímetro das partículas e o valor de IMF ($r = 0,40$) foi semelhante à obtida no presente trabalho ($r = 0,37$). Segundo Albrecht *et al.* (2006), a correlação apresentada para o perímetro das partículas e o valor de IMF é idêntica a animais com 2 anos de idade e da raça Galloway ($r = 0,36$).

A percentagem de IMF apresenta uma correlação positiva elevada com o parâmetro da solidez ($r = 0,73$; $P < 0,01$) e uma correlação positiva mas não tão elevada com a circularidade ($r = 0,31$; $P < 0,01$). Estes indicadores e outros que possam estar relacionados com a textura da carne devem merecer particular atenção em trabalho futuro.

Analisando o quadro como um todo, podemos verificar que de todos os parâmetros o que influencia mais significativamente o valor da percentagem de IMF é o maior eixo das partículas ($r = 0,84$; $P < 0,01$), relativamente ao valor de L^* , é mais correlacionado e alterado positivamente

pela circularidade ($r= 0,56$; $P<0,01$). O valor de a^* aumenta progressivamente se a área total das partículas oscilar ($r= 0,43$; $P<0,01$) enquanto que o valor de b^* se modifica com a modificação do valor da área média das partículas ($r= 0,29$; $P<0,01$). No valor do pH quase todos os parâmetros apresentam um efeito não significativo, mas o perímetro das partículas apresenta uma maior correlação com o mesmo em relação aos poucos parâmetros que o influenciam ($r= 0,36$; $P<0,01$).

No quadro 6 podemos observar as variáveis independentes que contribuíram para a estimativa dos parâmetros físico-químicos. A equação que estima a IMF mostra que é possível explicar 91% da sua variação com medidas obtidas por análise de imagem. As estimativas de todos os outros parâmetros físico-químicos obtiveram um R^2 (precisão) bastante baixo, o que indica que as variáveis independentes que contribuíram para a estimativa não foram suficientes para que os valores de L^* , a^* , b^* e pH fossem estimados com certeza.

Quadro 6 - Variáveis independentes que entraram nos modelos de estimativa dos parâmetros físico-químicos (variáveis dependentes).

Variáveis independentes	Variáveis dependentes				
	IMF	L^*	a^*	b^*	pH
Número de partículas					
Área total de partículas (mm ²)	•		•		
Área média das partículas (mm ²)			•	•	
Fração da área (%)	•				•
Perímetro das partículas (mm)					•
Maior eixo das partículas (mm)	•	•			
Menor eixo das partículas (mm)		•			
Circularidade	•				•
Solidez					
Espessura das partículas (mm)	•				
Espessura mínima das partículas (mm)		•			
Espessura máxima das partículas (mm)					
IMF estimada por análise de imagem (%)					
RMSE	0,499	2,588	2,153	1,047	0,179
R^2	0,91	0,46	0,20	0,09	0,42
P	0,001	0,001	0,001	0,006	0,001

Para cada variável dependente, o símbolo • indica as variáveis que entraram na equação múltipla resultante do processo *stepwise* com validação por *k-folds*.

Como se pode verificar no gráfico representado na figura 18 há um bom ajustamento entre a IMF observada e a IMF estimada. Este resultado mostra de forma evidente que os valores encontrados para a IMF obtida por análise de imagem podem ser utilizados para a estimativa de IMF de forma não destrutiva.

Sabe-se que o R^2 indica a precisão do modelo, variando de 0 a 1, que quando tem um valor $\geq 0,70$ indica que o modelo está bem ajustado. O valor de R^2 encontrado para a previsão de IMF através da análise de imagem encontra-se acima das expectativas ($R^2= 0,91$ com $RMSE= 0,4999$), ou seja, a aceitação do modelo foi elevada. O modelo aplicado encaixa-se na perfeição, visto que o grau de imprecisão é quase nulo.

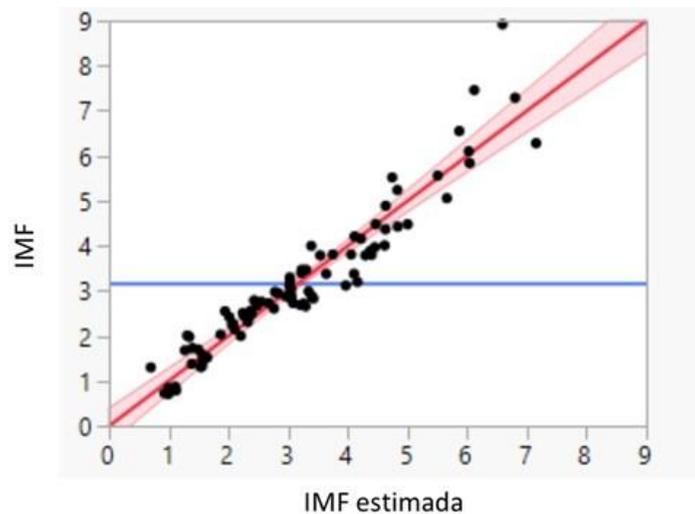


Figura 18 - Valores medidos versus estimados da IMF usando os parâmetros resultantes da análise de imagem após a validação com *k-fold* ($RMSE=0,4999$; $R^2=0,91$; $P < 0,0001$).

4. Considerações finais

Com este trabalho verificou-se que a análise de imagem das partículas de marmoreado é útil para estimar de forma não destrutiva a gordura intramuscular do músculo *Longíssimus thoracis et lumborum*. Verificou-se também que as partículas de marmoreado não permitem estimar as características de cor L^* , a^* e b^* nem o pH. Em trabalho futuro deve ser dada atenção à distribuição das partículas para que possa haver uma indicação da textura e ainda que possa ser estudada a relação entre a IMF e outras características físico-química ou sensoriais da carne de forma a potenciar a técnica abordada neste trabalho como uma ferramenta não destrutiva para avaliar a qualidade da carne.

Os sistemas de análise de imagem mostram ser uma ferramenta muito útil para estimar as características da carcaça de forma não destrutiva e rápida. Para além disto é possível com os sistemas VIA obter informação sobre características relevantes da carcaça como são exemplo a percentagem de carne magra e a percentagem de carne comercializável. Este facto permite introduzir mais transparência na avaliação das carcaças o que permite um pagamento mais consistente e mais justo. Para além disso, com esta informação, é possível obter uma valorização diferenciada da carcaça, introduzindo valor na cadeia de produção de carne. O facto dos sistemas VIA apresentarem um custo reduzido, também permitirem explicar a variação das características das carcaças torna exequível a sua introdução em unidade de abate de reduzida dimensão.

5. Bibliografia

- Aass, L., Fristedt, C. G., Gresham, J. D. (2009). Ultrasound prediction of intramuscular fat content in lean cattle. *Livestock Science* 125: 177-186.
- Albrecht, E., Wegner, J., Ender, K. (1996). A new technique for objective evaluation of marbling in beef. *Fleischwirtschaft* 76(11): 1145-1148.
- Albrecht, E., Teuscher, F., Ender, K., Wegner, J. (2006). Growth and breed-related changes of marbling characteristics in cattle. *Journal of Animal Science* 84: 1067-1975.
- Allen, P. (2005). Evaluating Video Image Analysis (VIA) systems for beef carcass classification. *In: 8th Annual Langford Food Industry Conference. University of Bristol, Bristol* 9–11.
- Aredo, V., Velásquez, L., Siche, R. (2017). Prediction of beef marbling using Hyperspectral Imaging (HSI) and Partial Least Squares Regression (PLSR). *Scientia Agropecuaria*, 8(2): 169-174.
- Baker, M. (2002). Beef cattle comments. *11* (2).
- Batista, A. C. S. (2017). Avaliação da composição e da qualidade da carcaça e da carne de animais de produção: utilização de metodologias não invasivas e não destrutivas. *Tese de doutoramento, UTAD, Vila Real*.
- Chambaz, A., Scheeder, M, Kreuzer, M., Dufey, P. (2003). Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Science* 63: 491-500.
- Cheng, W., Cheng, J., Sun, D., Pu, H. (2015). Marbling analysis for evaluating meat quality: Methods and Techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14.

- Corbin, C. H., O'Quinn, T. H., Garmyn, A. J., Legako, J. F., Hunt, M. R., Dinh, T. T. N., Rathmann, R. J., Brooks, J. C., Miller, M. F. (2015). Sensory evaluation of tender beef strip loin steaks of varying marbling levels and quality treatments. *Meat Science 100*: 24-31.
- Craigie, C. R., Navajas, E. A., Purchas, R. W., Maltin, C. A., Bünge, L., Hoskin, S. O., Ross, D. W., Morris, S. T., Roehe, R. (2012). A review of the development and use of Video Image Analysis (VIA) for beef carcass evaluation as an alternative to the current EUROP system and other subjective systems. *Meat Science 92*: 307–318.
- Craigie, C. R., Bunge, L., Roehe, R., Morris, S. T., Purchas, R. W., Ross, D. W., Maltin, C. A. (2013). Video Image Analysis for meat yield - opportunities and challenges for value-based marketing of sheep and beef carcasses. *In: 64th EAAP Annual Meeting. Nantes 1–40*.
- Craigie, C. R., Fowler, S., Knight, M., Stuart, A., Hopkins, D., Reis, M. M. (2015). Spectral Imaging. techniques for predicting meat quality – an Australasian perspective. *In FAIM Farm Animal Imaging, Edinburgh 2015. SRUC, Edinburgh. 75-79*.
- Dransfield, E. (1994). Optimisation of tenderness, ageing and tenderness. *Meat Science 36(1)*: 105-121.
- Du, C., Sun, D., Jackman, P., Allen, P. (2008). Development of a hybrid image processing algorithm for automatic evaluation of intramuscular fat content in beef m. longissimus dorsi. *Meat Science 80*: 1231-1237.
- Du, M., Yin, J., Zhu, M. J. (2010). Cellular signaling pathways regulating the initial stage of adipogenesis and marbling of skeletal muscle. *Meat Science 86*:103-109.
- Felício, P. E., Rocha, C. E., Abularach, M. L. S. (1998). Características de qualidade do contrafilé (m. l. dorsi) de touros jovens da raça Nelore. *Food Science and Technology (Campinas) 18(2)*.

- Ferguson, D. M. (2004). Objective on-line assessment of marbling: a brief review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 681-685.
- Font-i-Furnols, M., Brun, A., Marti, S., Realini, C. E., Pérez-Juan, M., Gonzalez, J., Devant, M. (2014). Composition and intramuscular fat estimation of Holstein bull and steer rib sections by using one or more Computed Tomography cross-sectional images. *Livestock Science* 170: 210-218.
- Fowler, S. M., Ponnampalam, E. N., Schmidt, H., Wynn, P., Hopkins, D. L. (2015). Prediction of intramuscular fat content and major fatty acid groups of lamb m. longissimus lumborum using Raman spectroscopy. *Meat Science* 110: 70-75.
- Frank, D., Joo, S., Warner, R. (2016). Consumer acceptability of intramuscular fat. *Korean Society for Food Science of Animal Resources* 36(6): 699-708.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E., Monahan, F., Caffrey, P., Moloney, A. (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science* 78: 2849-2855.
- Gaden, B. (2004). J 8.1 Marbling – an overview (measurement; factors influencing deposition; selection for marbling). Summarising a meeting of CRC research officers and extension staff from NSW, Queensland and Victoria, in May 2004. The meeting pulled together the understanding of marbling and distilled the following messages for the wider industry.
- Gotoh, T., Takahashi, H., Nishimura, T., Kuchida, K., Mannen, H. (2014). Meat produced by Japanese Black cattle and Wagyu. *Animal Frontiers* 4: 46–54.
- Greiner, S., Rouse, G., Wilson, D., Cundiff, L., Wheeler, T. (2003). The relationship between Ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. *Journal of Animal Science* 81: 676-682.

- Harper, G. S., Pethick, D. W. (2004). How might marbling begin? *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 653-662.
- Jackman, P., Sun, D., Allen, P. (2009). Automatic segmentation of beef longissimus dorsi muscle and marbling by an adaptable algorithm. *Meat Science* 83: 187-194.
- Jeremiah, L. E. (1996). The influence of subcutaneous fat thickness and marbling on beef: palatability and consumer acceptability. *Food Research International*, 29(5-6): 513-520.
- Jeremiah, L. (1996). Freezing effects on food quality. *CRC Press*.
- Júnior, D. M. L., Rangel, A. H. N., Urbano, S. A., Maciel, M. V., Amaro, L. P. A. (2011). Alguns aspectos qualitativos da carne bovina: uma revisão. *Acta Veterinaria Brasilica* 5(4): 351-358.
- Kazala, E., Lozeman, F., Mir, P., Laroche, A., bailey, D., Weselake, R. (1999). Relationship of fatty acid composition to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. *Journal of Animal Science* 77: 1717-1725.
- Killinger, K. M., Calkins, C. R., Umberger, W. J., Feuz, D. M., Eskridge, K. M. (2004). Consumer visual preference and value for beef steaks differing in marbling level and color. *Journal of Animal Science* 82: 3288-3293.
- Killinger, K. M., Calkins, C. R., Umberger, W. J., Feuz, D. M., Eskridge, K. M. (2004). Consumer sensory acceptance and value for beef steaks of similar tenderness, but differing in marbling level. *Journal of Animal Science* 82: 3294-3301.
- Lee, S., Cho, Y., Lee, S., Kim, B., Kim, N., Choy, Y., Kim, K., Yoon, D., Im, S., Oh, S., Park, E. (2008). Identification of marbling-related candidate genes in m. longissimus dorsi of high- and low marbled Hanwoo (Korean Native Cattle) steers. *BMB Reports* 41(12): 846-851.
- Li, C., Zhou, G., Xu, X., Zhang, J., Xu, S., Ji, Y. (2006). Effects of marbling on meat quality characteristics and intramuscular connective tissue of beef longissimus muscle. *Journal of Animal Science* 19(12): 1799-1808.

- Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., Kim, M. S., Lee, W., Cho, B. (2016). Application of Hyperspectral Imaging for characterization of intramuscular fat distribution in beef. *Infrared Physics & Technology* 74: 1-10.
- Loxton, I. D., Shorthose, W. R., Holroyd, R. G., Blight, G. W., James, T. A., Jeffery, M. R., Neill, A. R., Martin, P. R., Fordyce, G., Lindsay, J. A., Clarke, M. R. (1993). The influence of animal nutrition on the quality of meat from *Bos indicus* cross-bred steers in Northern Australia. *In: The Australian meat industry research conference. Anais, CSIRO, Austràlia* 1-13.
- Maeda, S., Grose, J., Kato, K., Kuchida, K. (2013). Comparing AUS-MEAT marbling scores using image analysis traits to estimate genetic parameters for marbling of Japanese Black cattle in Australia. *Animal Production Science*.
- Maltin, C., Craigie, C. R., Bungler, L. (2015). Introduction from the Editors. COST Action FA1102 “Optimising and standardising non-destructive imaging and Spectroscopic methods to improve the determination of body composition and meat quality in farm animals”. *In FAIM Farm Animal Imaging, Edinburgh 2015. SRUC, Edinburgh* 3-15.
- Mello, R. (2007). Eficiência produtiva e econômica, características da carcaça e qualidade da carne de bovinos mestiços confinados e abatidos com diferentes pesos corporais. Tese de Doutorado. *Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. Brasil*.
- Menegol, M., Fabrine, F., Furian, A. D. (2010). Fatores determinantes na qualidade da carne bovina.
- MLA. s.d. The effect of pH on beef eating quality. Tips & Tools. Meat standards Australia. Meat & Livestock Australia.
- Morales, R., Aguiar, A. P. S., Subiabre, I., Realini, C. E. (2013). Beef acceptability and consumer expectations associated with production systems and marbling. *Food Quality and Preference* 29: 166-173.

- Nardone, A., Ronchi, B., Lacetera, N., Ranieri, M. S., Bernabucci, U. (2010). Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science*, 130(1): 57-69.
- Nogalski, Z., Pogorzelska-Przybyłek, P., Białobrzewski, I., Modzelewska-Kapituła, M., Sobczuk-Szul, M., Purwin, C. (2017). Estimation of the intramuscular fat content of m. longissimus thoracis in crossbred beef cattle based on live animal measurements. *Meat Science* 125: 121-127.
- Peña, F., Santos, R., Juárez, M., Avilés, C., Domenech, V., González, A., Martínez, A., Molina, A. (2014). The use of Ultrasound scanning at different times of the finishing period in lean cattle. *Livestock Science* 167: 381-391.
- Pethick, D., Harper, G., Oddy, V. (2004). Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44 (7): 705-715.
- Pethick, D. W., Thompson, J., Polkinghorne, R., Bonny, S., Tarr, G., Treford, P., Duncan, S., Frette, F., Wierzbicki, J., Crowley, M., Gardner, G., Allen, P., Nishimura, T., McGilchrist, P., Farmer, L., Meng, Q., Scollan, N., Duhem, K., Hocquette, J. F. (2015). Beef and lamb carcass grading to underpin consumer satisfaction. *Viandes & Produits Carnés* 1–17.
- Prieto, N., Navajas, E. A., Richardson, R. I., Ross, D. W., Hyslop, J. J., Simm, G., Roehe, R. (2010). Predicting beef cut composition and meat quality traits by Spiral Computed Tomography. *Advances in Animal Biosciences*, 1(1): 284.
- Przybylak, A., Boniecki, P., Koszela, K., Ludwiczak, A., Zaborowicz, M., Lisiak, D., Stanisiz, M., Slòsarz, P. (2016). Estimation of intramuscular level of marbling among whiteheaded mutton sheep lambs. *Journal of Food Engineering* 168: 199-204.
- Rouse, G., Wilson, D. (2001). Managing fat - The future of the beef industry. Iowa State University. *Rhodes Research and Demonstration Farm*.

- Sainz, R., Araujo, F. (2001). Tipificação de carcaças de bovinos e suínos. *I Congresso Brasileiro de Ciencia e Tecnologia de Carne, São Pedro, SP.*
- Sañudo, C., Olleta, J. L., Campo, M. M., Panea, B., Renand, G., Turin, F., Jabet, S., Osoro, K., Olivàn, C., Noval, G., García, M. J., Oliver, M. A., Gil, M., Gispert, M., Serra, X., Guerrero, L., Espejo, M., García, S., López, M., Izquierdo, M., Quintanilla, R., Martín, M., Piedrafita, J. (2007). Meat quality of ten cattle breeds of the southwest of Europe. *FAIR1 CT95 0702-Final Report.*
- Sanz, J. A., Fernandes, A. M., Barrenechea, E., Silva, S. R., Santos, V., Gonçalves, N., Paternain, D., Jurio, A., Melo-Pinto, P. (2016). Lamb muscle discrimination using Hyperspectral Imaging: Comparison of various machine learning algorithms. *Journal of Food Engineering 174*: 92-100.
- Savell, J. W., Cross, H. R. (1988). The role of fat in the palatability of beef, pork, and lamb. *In: Designing Foods: Animal Product Options in the Diet.*
- Serra, X., Gil, M., Gispert, M., Guerrero, L., Oliver, M., Sanudo, C., Campo, M., B. Panea, M., Olleta, J., Quintanilla, R., Piedrafita, J. (2004). Characterisation of young bulls of the Bruna dels Pirineus cattle breed (selected from old Brown Swiss) in relation to carcass, meat quality and biochemical traits. *Meat Science 66*: 425-436.
- Scanes, C. (2003). Biology of growth of domestic animals. *First edition. Iowa State Press.*
- Scholz, M., Bünger, L., Kongsro, J., Baulain, U., Mitchell, D. (2015). Non-invasive methods for the determination of body and carcass composition in livestock: Dual-energy X-ray Absorptiometry, Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and Ultrasound: invited review. *Animal 9*: 1250–1264.
- Segura, J., Calvo, L., Óvilo, C., González-Bulnes, A., Olivares, A., Cambero, M. I., López-Bote, C. J. (2015). Alternative method for intramuscular fat analysis using common laboratory equipment. *Meat Science 103*: 24-27.

- Shackelford, S., Koohmaraie, M., Cundiff, L., Gregory, K., Rohrer, G., Savell, J. (1994a). Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *Journal of Animal Science* 72: 857-863.
- Silva, J., Patarata, P., Martins, C. (1999). Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science* 52: 453-459.
- Silva, S., Guedes, C., Santos, V., Lourenço, A., Azevedo, J., Dias-da-Silva, A. (2007b). Sheep carcass composition estimated from longissimus thoracis et lumborum muscle volume measured by in vivo Real-time Ultrasonography. *Meat Science* 76: 708-714.
- Silva, S. R., Patrício, M., Guedes, C. M., Mena, E., Silva, A., Santos, V., Jorge, A. (2010). Assessment of muscle longissimus thoracis et lumborum intramuscular fat by Ultrasonography and Image Analysis. *Foodsim'2010 6th International Conference on Simulation and Modelling in the Food and Bio-industry* 211-215.
- Silva, S. R., Cadavez, V. (2012). Real-time ultrasound (RTU) imaging methods for quality control of meats. In *Computer vision technology in the food and beverage industries*. Ed. Da-Wen Sun. Woodhead Publishing, Cambridge, UK 277-329.
- Silva, S., Teixeira, A., Font-i-Furnols, M. (2015). Intramuscular fat and marbling. *European Cooperation in Science and Technology*.
- Silva, S. R. (2017). Use of Ultrasonographic examination for in vivo evaluation of body composition and for prediction of carcass quality of sheep. *Small Ruminant Research* 152: 144–157.
- Simm, G. (1983). The use of Ultrasound to predict the carcass composition of live cattle—a review. *Animal Breeding Abstracts* 51: 853-875.
- Smith, S. B., Johnson, B. J. (2015). Marbling: management of cattle to maximize the deposition of intramuscular adipose tissue. *Beef Research*.

- Steiner, R., Vote, D., Belk, K., Scanga, J., Wise, J., Tatum, J., Smith, G. (2003). Accuracy and repeatability of beef carcass longissimus muscle area measurements. *Journal of Animal Science* 81: 1980-1988.
- Stelzleni, A., Perkins, T., Brown, A., Jr., Pohlman, F., Johnson, Z., Sandelin, B. (2002). Genetic parameter estimates of yearling live animal ultrasonic measurements in Brangus cattle. *Journal of Animal Science* 80: 3150-3153.
- Sun, D. W. (2012). Computer Vision Technology in the food and beverage industries. *Woodhead Publishing, Cambridge, UK*.
- Swatland, H. (1995). Growth & structure of meat animals. *Department of Animal and Poultry Science. University of Guelph. Canada*.
- Tait, R., Lukavsky, C., Rouse, G. Wilson, D., Hassen, A. (2004). Influence of hide thickness on the ability to predict percent intramuscular fat with Real-time Ultrasound in beef cattle. *Iowa State University Animal Industry Report 2004: Beef, A.S. Leaflet R1873*.
- Tait, R., Wilson, D., Rouse, G. (2005). Prediction of retail product and trimmable fat yields from the four primal cuts in beef cattle using Ultrasound or carcass data. *Journal of Animal Science* 83: 1353-1360.
- Tume, R. K. (2004). The effects of environmental factors on fatty acid composition and the assessment of marbling in beef cattle: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 663-668.
- USDA (1996). Official United States Standards for grades of beef carcasses. *Agricultural Marketing Service, USDA, Washington, DC*.
- Valous, N., Zheng, L., Sun, D., Tan, J. (2016). Quality evaluation of meat cuts. In: Sun, D. W. (Ed.), *Computer Vision Technology for Food Quality Evaluation. Elsevier Inc.* 175–193.

- Velásquez, L., Cruz-Tirado, J. P., Siche, R., Quevedo, R. (2017). An application based on the decision tree to classify the marbling of beef by hyperspectral imaging. *Meat Science* 133: 43-50.
- Verbeke, W., Van Wezemael, L., de Barcellos, M. D., Kugler, J. O., Hocquette, J. F., Ueland, O., Grunert, K. G. (2010). European beef consumers' interest in a beef eating-quality guarantee Insights from a qualitative study in four EU countries. *Appetite* 54: 289-296.
- Vote, D. J., Bowling, M. B., Cunha, B. C. N., Belk, K. E., Tatum, J. D., Montossi, F., Smith, G. C. (2009). Video Image Analysis as a potential grading system for Uruguayan beef carcasses. *Journal of Animal Science* 87: 2376–2390.
- Wagyu International (2013). Wagyu around the World – Australia: marbling grade and Wagyu. Disponível em: http://www.wagyuinternational.com/global_Australia.php. Acesso em setembro de 2017.
- Williams, C., Bennett, G. (1995). Application of a computer model to predict optimum slaughter end points for different biological types of feeder cattle. *Journal of Animal Science* 73: 2903-2915.
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. *Meat Science* 78: 343-358.
- Yang, X., Albrecht, E., Ender, K., Zhao, R., Wegner, J. (2006). Computer Image Analysis of intramuscular fat adipocytes and marbling in the longissimus muscle of cattle. *Journal of Animal Science* 84: 3251-3258.
- Yang, X. J., Albrecht, E., Ender, K., Zhao, R. Q., Wegner, J. (2014). Computer Image Analysis of intramuscular adipocytes and marbling in the longissimus muscle of cattle. *Journal of Animal Science* 84: 3251-3258.

Zembayashi, M., Nishimura, K., Lunt, D., Smith, S. (1995). Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers. *Journal of Food Science* 73: 3325-3332.

Ziadi, A., Maldague, X., Saucier, L. (2009). Near-infrared light transmission in beef meat and qualitative marbling evaluation using Image Analysis. *Sciences of Electronic Technologies of Information and Telecommunications* 22-26.