PROCESSO SELETIVO 02 / 2021

PROVA ESCRITA - QUESTÕES DISSERTATIVAS

Abaixo apresentamos as questões dissertativas elaboradas pela banca a serem respondidas pelo candidato RG nº _____ conforme a Área de Conhecimento Produção Animal.

Questão 1: Discorra sobre os efeitos do estresse pré-abate e sua influência na qualidade da carne.

Na produção de carne não basta ter a melhor genética, a alta produtividade, a nutrição equilibrada e de boa qualidade, se o manejo com os animais está sendo incorreto. O bem estar animal exerce impacto direto e indireto na segurança e qualidade dos alimentos, tendo como exemplo deste fato, o transporte animal, da propriedade rural ao frigorífico, que, uma vez conduzido segundo práticas adequadas, diminui seus problemas referentes ao stress animal, hematomas e fraturas, proporcionando ao frigorífico um produto qualidade e ainda fortalecendo a imagem de seus produtos. Fatores como rampas inadequadas, frequentemente escorregadias, muito inclinadas e sem grades de proteção laterais; o veículo de transporte pode não oferecer segurança adequada, como piso escorregadio ou quebrado ou com proteções laterais comprometidas, conduzem a acidentes como contusões graves, luxações de articulações ou até fraturas dos membros. Além disso, em alguns países da União Europeia que são importadores de carne solicitam que o transporte de animais vivos seja limitado a um período de no máximo oito horas. Na propriedade, o estresse social devido a manejos inadequados pode influenciar negativamente a qualidade da carne, o ganho de peso e a reprodução. Pode também aumentar a incidência de doenças e do canibalismo. A liberação do cortisol estimulada pela liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) atua sobre o metabolismo orgânico, aumentando o catabolismo protéico, a gliconeogênese no fígado, inibe a absorção e a oxidação da glicose, além de estimular o catabolismo de triglicerídeos no tecido adiposo.

O estresse origina um desajuste generalizado nas diferentes funções fisiológicas. Quando os animais são expostos a situações potencialmente adversas, apresenta liberação prolongada de cortisol, o que modificará os processos bioquímicos do músculo até carne. E também influirá no tempo necessário para o estabelecimento do rigor mortis. Um declínio rápido de pH e aumento de temperatura muscular logo após a morte do animal é indicativo de maior atividade e talvez estresse psicológico antes do abate, e que podem ter efeitos nocivos sobre a qualidade

da carne. No bovino vivo, o pH muscular encontra-se entre 6,9-7,2 e, após o abate decresce gradativamente estabilizando-se em torno de 5,4 a 6,2 que é quando se esgotam as reservas de glicogênio e se estabelece o *rigor mortis*. Dependendo das condições a que os bovinos são submetidos antes do abate, o pH final afetará qualidade da carne. O esgotamento de reservas de glicogênio muscular em bovinos resulta na formação de carne DFD (dark, firm, dry – escura dura e seca), caracterizada por um pH igual ou superior a 6,0. Durante o estresse existe elevada atividade do hipotálamo, na hipófise-adrenal e no sistema nervoso simpático, modificando a utilização de carboidratos e lipídios e que levam o catabolismo, aumentado do glicogênio no músculo e uma mudança na energia de metabólitos do sangue. O estresse pode levar a diferentes respostas na carne que se aproximam da carne DFD ou PSE (pale, soft, exudative - pálida, mole e exsudativa). Na década de 1960, por exigência do consumidor, houve o direcionamento da produção de suínos para um aumento na produção de carne magra acarretando modificações substanciais tanto na composição proximal como nas características bioquímicas do músculo. Posteriormente, constataram-se que essas alterações foram provocadas por uma mutação genética na proteína reguladora do fluxo de cálcio, rianodina, provocando o surgimento do PSS (sigla inglesa de Pork Stress Syndrome) ou Síndrome do Estresse Suíno com o conseqüente comprometimento na qualidade pela formação das carnes PSE (sigla inglesa de Pale, Soft e Exudative), o que significa Pálida, Macia e Exsudativa. Estas carnes apresentam variações em suas colorações e alterações de suas propriedades funcionais, sendo um dos maiores problemas enfrentados pela indústria processadora, com conseqüentes perdas econômicas. Além disso, animais cansados produzem carne com menor tempo de conservação, em virtude do desenvolvimento incompleto da acidez muscular e consequente invasão precoce da flora microbiana. Essa carne mostra-se com coloração indesejada, pouco brilhante, dando a impressão de uma sangria deficiente, esta coloração é atribuída às alterações físico-químicas do músculo e decréscimos da oxigenação da hemoglobina. Ainda preconizando o bem estar dos animais, de acordo com a legislação brasileira, chegando ao frigorífico os bovinos devem permanecer em descanso, com jejum de sólidos e dieta hídrica à vontade nos currais de espera por um período mínimo de 6 a 24 horas, dependendo do tempo de transporte.

Questão 2: Explique por que pode ocorrer o rigor do descongelamento e o encurtamento pelo frio e sua influência na maciez da carne.

O rigor mortis começa a aparecer em torno de 9 a 12 horas após a morte (sangria), atingindo um máximo em 20 a 24 horas, para, então, sofrer um progressivo declínio. Em suínos, o rigor começa a ocorrer em 3 a 4 horas pós-abate. Muitas vezes o rigor mortis a queda do pH

acontecem dentro de uma hora após o abate. Nestes animais, a resolução do rigor pode ocorrer em 12 horas. Quando o rigor mortis está completo (momento que coincide com o esgotamento do ATP), começa a haver ruptura da linha Z e de outras proteínas do citoesqueleto. A estrutura miofibrilar também começa a sofrer uma progressiva degradação, porém sem que se desfaçam as pontes de actomiosina. Esta degradação é diferente entre as espécies animais de açougue e pode ser responsável pelas diferenças de qualidade da carne das mesmas A resolução ou final do rigor mortis é indicada pelo amaciamento das massas musculares e resulta de alterações causadas por degradação da ultraestrutura da fibra muscular. Até este momento, dois fenômenos são de extrema importância na transformação do músculo em carne: a queda do pH muscular e a resolução do rigor mortis. Do ponto de vista tecnológico, considera-se carne o músculo que tenha passado pelo rigor mortis. A temperatura de armazenamento das carcaças de animais recém-abatidos também pode determinar alterações significativas na velocidade das reações químicas post-mortem. O congelamento das carcaças em pré-rigor interrompe os processos bioquímicos do músculo post mortem. O rigor de descongelamento (*thaw rigor*) traduz-se por um tipo de *rigor mortis*, que se desenvolve no ato do processo de descongelamento do músculo no estado pré-rigor, podendo a contração resultar em um encurtamento físico de até 80% do comprimento inicial do músculo, porém esse grau de redução limita-se a 60%. A contração do músculo é causada por uma rápida liberação de cálcio para o sarcoplasma. Essa pode ser a causa do encurtamento dos músculos. Ainda, esse processo é acompanhado da liberação de exsudado e conseqüente endurecimento desses músculos.

Algumas alternativas para evitar esse fenômeno, tais como, descongelamento rápido, poderiam minimizar o movimento do fluxo de sal, dentro dos espaços intercelulares. Além disso, o congelamento das carnes somente após ter atingido o rigor pleno seria outra forma de prevenção do rigor de descongelamento.

Por outro lado, temperaturas dos músculos superiores a 0ºC, antes do processo de rigor, porém com temperaturas abaixo de 15 a 16ºC, resultam em um fenômeno denominado “encurtamento pelo frio” (*cold shortening*).

De acordo com Luchiari (2000) e Hanna (2001) carcaças, que atingissem durante o resfriamento temperaturas inferiores a 10ºC no centro do músculo do coxão mole, em tempo inferior a 10 horas, poderiam apresentar este encurtamento. A queda rápida da temperatura pós-morte, ainda no estado pré-rigor acarreta em um aumento na concentração de cálcio no sarcoplasma, ao redor de 30 a 40 vezes a concentração de íons em torno das miofibrilas. Em contrapartida, o encurtamento pelo frio não ocorre em músculos suficientemente providos de oxigênio. Assim, supõe-se, que o maior número de mitocôndrias presentes em fibras vermelhas, em relação às

brancas tenha essa relação com o encurtamento. Em condições anaeróbicas, pós-morte, os íons cálcio procedentes das mitocôndrias e do retículo sarcoplasmático, se acumulam no sarcoplasma devido à bomba de cálcio perder a capacidade para reter os íons cálcio liberados a baixas temperaturas. Além disso, a relação é inversamente proporcional à maciez dos músculos e carnes endurecidas por encurtamento pelo frio não sofrem os efeitos do processo de maturação.

Quando a temperatura no início do rigor situa-se entre 15 e 20o C, o encurtamento é mínimo (aproximadamente 10% do comprimento muscular). Entre 20 e 40o C, ocorre cerca de 30% e, entre 14 e 0o C, 50% de encurtamento. Se a sobreposição dos miofilamentos resulta num encurtamento superior a 20%, ocorre prejuízo perceptível da maciez. Esse efeito de endurecimento aumenta até um pico em torno de 40% de encurtamento. A eficiência das câmaras de resfriamento é uma preocupação das indústrias do setor, pela necessidade de acelerar o processamento, de reduzir perdas e de inibir o crescimento microbiano. Com isso, o encurtamento pelo frio tem papel de destaque na textura da carne. Sabe-se que o fenômeno ocorre com maior intensidade nas fibras com atividade predominantemente oxidativa, ou fibras vermelhas músculos, que sofreram encurtamento celular podem ter a maciez reduzida 4 a 5 vezes. Carcaças pequenas e /ou com pouca cobertura de gordura, câmaras de resfriamento com temperaturas muito baixas e/ou com altas velocidades de resfriamento são alguns fatores que aumentam a incidência de encurtamento pelo frio.

Questão 3: Explique as etapas necessárias para o beneficiamento do leite pasteurizado desde a recepção da matéria prima pela indústria.

Segundo as normativas em vigor (IN 76 e 77), a temperatura máxima de recepção pela industria deverá ser de 7º C. No laticinio, diversos são os ensaios analíticos que objetivam verificar a qualidade do leite e seus derivados. A variação natural na concentração de componentes do leite e atitudes fraudulentas resultam, cada vez mais, em um número maior de análises. As seguintes analises deverão ser realizadas:

- Temperatura (exceto para latões entregues sem refrigeração);
- Teste do álcool/alizarol na concentração mínima de 72% v;
- Acidez titulável;
- Índice crioscópico;

- Densidade relativa a 15 ºC ;
- Teor de gordura, sólidos totais e não gordurosos;
- Pesquisas de neutralizantes de acidez;
- Pesquisas de reconstituintes de densidade ou do índice crioscópico;
- Pesquisas de substâncias conservadoras;
- Resíduos de ATB.
- Composição físico-quimica

O processamento do leite após a seleção e a recepção em qualquer estabelecimento compreende, entre outros processos aprovados pelo DIPOA (departamento de inspeção de produtos de origem animal), o pré-beneficiamento do leite, as etapas de filtração sob pressão, clarificação, bactofugação, microfiltração, padronização do teor de gordura, termização, homogeneização e refrigeração; já o beneficiamento do leite, além do já descrito para o pré-beneficiamento, inclui os tratamentos térmicos de pasteurização, ultra alta temperatura (UAT) ou esterilização e etapa de envase.

De acordo com o artigo 252 do RIISPOA (BRASIL, 2017), a filtração é a retirada de impurezas do leite por processo mecânico, mediante passagem sob pressão por material filtrante apropriado. Deve ser a primeira operação realizada no leite cuja finalidade seja a destinação ao consumo, antes de qualquer medida de beneficiamento. Os filtros são constituídos de aço inoxidável ou plástico. A filtração é a remoção de compostos sólidos insolúveis pela passagem do leite através de um material poroso resultando em um filtrado. A padronização é a retirada de parte da gordura do leite e a manipulação de seu teor no próprio leite ou nos derivados, por adição do creme extraído ao leite desnatado, ajustando-o ao teor de gordura desejado. Esse processo de separação é realizado por centrífugas desnatadeiras. Geralmente o leite é aquecido entre 45 °C e 55 °C antes de separar a gordura. Após a separação, o creme possui teor de gordura predefinido, que será misturado em quantidade adequada ao leite desnatado para a produção dos diferentes produtos. Isso possibilita ao laticínio padronizar produtos com teor de gordura constante, como o leite UAT, por exemplo, mantido a 3% de gordura, e destinar o creme excedente para a produção de outros produtos derivados (creme de leite, requeijão, queijo, manteiga, entre outros).

De acordo com o artigo 253 do RIISPOA (BRASIL, 2017), entende-se por clarificação a retirada das impurezas do leite por processo mecânico, mediante centrifugação ou outro processo tecnológico equivalente, aprovado pelo DIPOA. Um dos equipamentos utilizados

nesse processo é a centrífuga de discos.

A bactofugação é um processo utilizado para eliminar bactérias contidas no leite, utilizando força centrífuga. Para aumentar a eficiência do tratamento, geralmente é realizada sobre o leite aquecido, pois dessa forma ocorre menor resistência ao deslocamento das bactérias. Por essa razão, o bactofugador acaba sendo integrado ao sistema de pasteurização rápida. Quando o leite alcança a temperatura desejada na seção de pasteurização, ele é submetido à bactofugação, seguindo para a regeneração e o resfriamento.

A homogeneização tem o objetivo de reduzir o diâmetro dos glóbulos de gordura do leite e evitar a separação do creme por gravidade. O processo consiste em aplicar uma grande pressão ao leite forçando-o a passar por um canal estreito que acaba rompendo os glóbulos de gordura. Esse processo proporciona maior estabilidade à emulsão de gordura, evitando que ocorra floculação e impedindo, assim, a separação da nata. A homogeneização modifica as micelas, aumenta a viscosidade, ativa a lipase em decorrência da agitação e destrói aglutininas, promovendo um leite mais branco, pois, consequentemente, aumenta o número de partículas no leite e a reflexão de luz. Para romper os glóbulos de gordura, o leite é submetido a pressão. A temperatura da homogeneização deve ser maior do que 50 ºC, sendo ideal a 65 ºC, pois em baixas temperaturas ocorre cristalização dos glóbulos de gordura e, nesse caso, sendo menos eficiente. Em seguida, o leite é resfriado a 4 °C e armazenado em tanques isotérmicos de estocagem até o seu envase ou para processamento de derivados.

O tratamento térmico pasteurização rápida consiste no aquecimento do leite em trocadores de calor tubulares ou de placas, de forma contínua. O leite é aquecido e resfriado por meio de circulação, em fluxo contínuo a pressão constante, entre as placas, em camadas muito finas, em circuito fechado, ao abrigo de ar e de luz, à temperatura de aquecimento entre 72 ºC a 75 ºC, durante 15 segundos, e é resfriado com água gelada a uma temperatura de 4 ºC. A eficiência desse tipo de pasteurização é de 99,5%. Esse tipo de pasteurização apresenta vantagens em comparação com a pasteurização lenta, como: permite maior controle e segurança do processo; apresenta maior eficiência; por se tratar de um processo contínuo, é efetuado com muita rapidez; possibilita o tratamento de grande volume de leite; processo de limpeza é automatizado; as instalações exigem menos espaço e apresentam maior economia de energia pelo processo de regeneração que ocorre no interior do aparelho.

Na esterilização por aquecimento direto, ocorre mistura de vapor a elevada pressão (965 × 103 Pa) com o leite, seja por injeção de vapor, seja por pulverização do leite no vapor. Nesse processo, ocorre adição de água ao produto e, em consequência, há eliminação dessa água por regulação de sólidos durante o processamento com a evaporação da água. O aquecimento e o

resfriamento do leite ocorrem de forma rápida e, por conseguinte, a carga total de calor é menor em comparação com o aquecimento indireto, no qual o produto não entra em contato direto com a fonte de calor, sendo aquecido por meio de trocadores de calor. O sistema direto, por atingir a temperatura máxima desejada de forma quase imediata, promove menores alterações do leite pelo calor e também passa por uma da câmara de vácuo que contribui para a redução do sabor e do odor sulfuroso. Existe também a esterilização por aquecimento indireto. Nesse processo não ocorre mistura do leite com o agente térmico. A troca de calor é realizada em placas ou pasteurizadores tubulares. O leite é preaquecido no trocador de placas a 65 ºC a 75 ºC, depois passa por um homogeneizador antes de, finalmente, chegar à sessão de esterilização a 140 ºC a 150 ºC para então ser resfriado. As plantas UAT modernas são totalmente automatizadas e operam em quatro etapas básicas: esterilização, produção, limpeza por CIP (Clean in place ou sistema em circuito fechado) e limpeza asséptica intermediária. Os equipamentos desse tipo de processo são de menor custo em comparação com os de aquecimento direto e sua manutenção é mais simples. No sistema indireto, o leite demora mais para atingir a temperatura desejada, com maior desnaturação proteica, intensificação do escurecimento causado pela reação de Maillard; ainda, a concentração de oxigênio tende a ser maior, predispondo a maior oxidação lipídica e consequente rancificação do produto.

Questão 4: Considerando, a imunização de animais de corte, no caso mamíferos, por meio de vacina injetável, descreva como o sistema imunológico reage para desenvolver imunidade.

Um vez injetado um antígeno de forma subcutânea ou muscular, macrófagos e células dendríticas os capturam e destroem. Esse processo fisiológico é válido para qualquer tipo de vacina, seja por agente patogênico morto, fragmentos ou, no caso, quando vírus são atenuados. Quando esses patógenos são destruídos, essas células apresentam os antígenos por meio dos MHC II para os linfócitos B, no caso células virgens, as quais são sensibilidades e passam a se duplicar. Depois da mitose uma das células permanece enquanto célula de memória e outra se transforma em plasmócito secretando anticorpos IgM. Exposições sucessivas, ou vacinações sucessivas promovem nessas células as mudanças de classes, passando a secretar IgG. Algumas vacinas requerem uma segunda dose para esta especialização, outras não, dependendo da tecnologia empregada na produção destas. As vacinas mais eficientes são aquelas que ativam os linfócitos T CD4 para produzirem citocinas específicas, possibilitando defesa mais eficiente ao organismo imunizado.

Questão 5: Em uma propriedade, há vários casos de mastite bovina. Descreva como faria o isolamento e identificação da bactéria causadora da doença?

A mastite clínica é uma patologia que desenvolve inflamação da glândula mamária pela ação de bactérias, que resulta em perdas na produção e modificações físico-químicas do leite, como aumento da contagem de células somáticas (CCS). Os principais gêneros e espécies envolvidos na infecção são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Peptoniphilus indolicus*, *Mycoplasma* spp., *Klebsiella* spp., *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Serratia mascescens*, *Staphylococcus* coagulase negativos (SCN) e *Enterobacter aerogenes* (Brabes et al., 1999; Langoni et al., 2011).

Para diagnosticar mastite na propriedade utiliza-se o teste California Mastitis Test (CMT) de cada quarto mamário. Ao confirmar a doença, realiza-se a coleta do leite do animal. Antes de coletar a amostra, deve-se descartar os primeiros jatos de leite e fazer a antissepsia dos tetos com algodão embebido com álcool a 70%, iniciando-se pelos mais distantes. Quando os tetos estiverem secos, inicia-se a coleta do leite em recipientes estéril e mantêm-se a amostra a 4-5 ºC até a entrega no laboratório/momento da análise. Para isolamento, é necessário preparar as diluições do leite. Transferindo-se 10 mL do leite para 90 mL de água petponada (10^{-1}), a partir desta diluição, prepara-se as demais retirando 1mL da diluição 10^{-1} para 9 mL de água peptonda (10^{-2}) conforme descrito na Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Inocula-se 0,1 mL das diluições selecionadas em meio de cultura seletivo/diferencial (agar MacConkey, ágar Bard Parker, AccuMast® entre outros) e incubar a temperatura/ tempo descrito conforme metodologia selecionada (37º C por 24/48 horas).

A utilização de meios cromogênios, como o AccuMast® facilita a identificação do gênero e da espécie causadora da mastite. No entanto, para confirmar o gênero e espécie da bactéria causadora da mastite, pode-se utilizar métodos fenotípicos e moleculares. Nos métodos fenotípicos, as colônias isoladas obtidos nos meios seletivo/diferencial serão submetidos a provas bioquímicas como teste de catalase, coagulase entre outros. Atualmente há vários kits comerciais baseados em reações bioquímicas como por exemplo API (bioMériux), além equipamentos automatizados como VITEK® 2 (bioMériux) que auxiliam na identificação, diminuindo o tempo e trabalho nos laboratórios. Para utilização dos métodos moleculares é necessário a extração do DNA do isolado e submetido por exemplo a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ou sequenciamento.

Dizione Schittler Moroni

Presidente da Banca Examinadora