

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MARCO AURÉLIO DA CUNHA DIAS

**DETECCÃO DA ADULTERAÇÃO FRAUDULENTA DE CARNE BOVINA MOÍDA
ATRAVÉS DE TÉCNICAS HISTOPATOLÓGICAS**

UBERLÂNDIA

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MARCO AURÉLIO DA CUNHA DIAS

**DETECÇÃO DA ADULTERAÇÃO FRAUDULENTA DE CARNE BOVINA MOÍDA
ATRAVÉS DE TÉCNICAS HISTOPATOLÓGICAS**

Trabalho apresentado como requisito parcial
para a conclusão da Residência em Patologia
Animal, sob orientação do Prof. Dr. Matias
Pablo Juan Szabó.

UBERLÂNDIA

2020

RESUMO

Neste trabalho relata-se a detecção de fraude por adulteração de carne bovina moída através da avaliação morfológica microscópica dos tecidos utilizando-se técnicas histológicas rotineiras. Foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Uberlândia dois pacotes de carne moída sob suspeita de fraude. As carnes foram descongeladas em temperatura entre 3°C e 7°C por 24 horas, então coletou-se dezoito amostras de cada pacote. Para análise comparativa, foram compradas carnes moídas na hora de primeira e segunda qualidade. Todas amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%, incluídas em parafina e coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômico de Masson (TM). As lâminas coradas com HE foram analisadas quanto à presença de componentes normais da musculatura e outros tecidos. As lâminas coradas com TM foram analisadas para estimar a porcentagem dos tecidos muscular, conjuntivo e adiposo. Estas proporções foram submetidas à análise de variância seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas ($P < 0,05$) ou ao teste Kruskal-Wallis seguida pelo teste de Dunn para comparações múltiplas ($P < 0,05$). Na análise das lâminas coradas com HE, dezoito amostras em suspeição de fraude apresentaram componentes histológicos estranhos à composição de carne moída: agregados de material basofílico amorfo e tecido epitelial glandular. Na análise das lâminas coradas com TM, as amostras de carne moída adulterada tiveram porcentagens de tecido conjuntivo e adiposo semelhantes ao da carne não adulterada. Porém a proporção de tecido muscular foi significativamente menor nas amostras de carne adulterada. A histologia se mostrou um método eficiente para a detecção de contaminantes na carne moída. Colorações histológicas especiais também são ferramentas úteis para auxiliar atestar sua qualidade. É necessário adequar e padronizar o processamento histológico para amostras de produtos cárneos, visando obter secções histológicas de boa qualidade.

Palavras-chave: Alimentos, Fraude, Histologia

ABSTRACT

This paper reports the detection of fraud by adulterating minced meat through microscopic morphological evaluation of tissues using routine histological techniques. Two packages of frozen minced meat under suspicion of fraud were sent to the Animal Pathology Laboratory of the Federal University of Uberlândia. The meats were thawed at a temperature between 3 ° C and 7 ° C for 24 hours, then eighteen samples were collected from each package. For comparative analysis, freshly minced meat of the highest quality and second quality were purchased. The samples were fixed in 10% buffered formalin, included in paraffin and stained with Hematoxylin and Eosin (HE) and Masson's Trichrome (TM). The slides stained with HE were analyzed for the presence of normal components of the musculature and other tissues. The slides stained with TM were analyzed to estimate the percentage of muscle, connective and adipose tissue. These proportions were subjected to analysis of variance followed by the Tukey test for multiple comparisons ($P < 0.05$) or the Kruskal-Wallis test followed by the Dunn test for multiple comparisons ($P < 0.05$). In the analysis of the slides stained with HE, eighteen samples suspected of fraud presented histological components foreign to the composition of minced meat: aggregates of amorphous basophilic material and glandular tissue. In the analysis of slides stained with TM, the samples of adulterated minced meat had percentages of connective and adipose tissue similar to that of unadulterated meat. However, the proportion of muscle tissue was significantly lower in samples of adulterated meat. Histology proved to be an efficient method for the detection of contaminants in minced meat. Special histological stains are also useful tools to help attest to their quality. It is necessary to adapt and standardize the histological processing for samples of meat products, in order to obtain histological sections of good quality.

Key-words: Food, Fraud, Histology

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1
2 Produtos de origem animal são amplamente consumidos em todo o mundo, devido ao seu alto
3 valor nutritivo. Dentre os diversos produtos derivados de animais, podemos destacar a carne bovina. De
4 acordo com dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o consumo médio
5 de carne bovina no Brasil no ano de 2017 foi de 35,34Kg/habitante/ano, e projeções indicam um
6 crescimento anual de 1,5% no consumo dessa carne. (CARVALHO *et al.*, 2015; MAPA, 2017).

7 Uma vez que a produção e consumo de carnes tem aumentado, a preocupação com a qualidade
8 destes produtos também é crescente, tanto por parte da população, quanto por parte das indústrias e dos
9 governos. Ao longo da cadeia de produção dos alimentos, existem diversos fatores que podem
10 comprometer sua integridade, também chamados de perigos. De acordo com a Portaria 46 de 1998 do
11 MAPA, perigos são causas inaceitáveis que tornam um alimento impróprio ao consumo por afetar a
12 saúde do consumidor ou ocasionar perda de qualidade e integridade econômica. De maneira geral, são
13 classificados como perigos biológicos, físicos ou químicos (OLIVEIRA, 2016; MAPA, 1998).

14 Perigos biológicos relacionam-se com a presença de bactérias, vírus, fungos ou parasitas
15 patogênicos nos alimentos, bem como substâncias tóxicas produzidas por estes organismos. Perigos
16 químicos ocorrem quando há contaminantes químicos capazes de causar danos à saúde humana. Já
17 perigos físicos dizem respeito a presença de objetos estranhos à composição original do alimento, que
18 quando ingeridos tem potencial impactar na saúde. (OLIVEIRA, 2016).

19 Esses perigos podem ser introduzidos no alimento em qualquer parte da cadeia alimentar, desde
20 a propriedade onde se cultiva a matéria-prima, ou durante o processamento em indústrias alimentares
21 (OLIVEIRA, 2016). Em muitos casos, quando há ocorrência de algum perigo no alimento, também
22 ocorrem fraudes alimentares.

24 1.2 Fraudes Alimentares

25
26 Segundo o dicionário Michaelis (2020), fraude pode ser definida como um ato de má-fé que tem
27 por objetivo fraudar ou ludibriar alguém. Se tratando mais especificamente de fraude alimentar, segundo
28 Moore *et al* (2009), definem como sendo a adição fraudulenta de substâncias não autênticas ou
29 eliminação/substituição de substâncias autênticas a um alimento, sem conhecimento do consumidor,
30 visando obter vantagem econômica.

31 A ocorrência de fraudes alimentares é um problema que tem ganhado preocupação em todo o
32 mundo, pois a prática de fraudar alimentos infringe o direito do consumidor de conhecer efetivamente
33 o que contém naquele produto que consome, podendo gerar problemas de saúde, econômicos ou
34 religiosos (MANE *et al.*, 2009).

35 Assim, além das questões comerciais, se trata de problema de saúde pública, de forma que
36 também compete aos governos evitar a sua ocorrência (MOORE *et al.*, 2009). Atualmente no Brasil,
37 existem diversas leis com intuito de regulamentar a produção de alimentos e garantir que o consumidor
38 compre produtos de qualidade. No que diz respeito aos produtos de origem animal, o decreto 9013 de
39 2017, ou Regulamento de Inspeção Indústria e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) é a
40 principal lei que rege a produção desse tipo de alimento, havendo diversas outras leis complementares
41 e instruções normativas.

42 De acordo com Ballin (2010), na indústria de carne, os principais tipos de fraude são
43 substituições de ingredientes cárneos de uma espécie por outras espécies animais, tecidos, gordura ou
44 proteínas; modificações dos métodos de processamento de produtos cárneos e adições de componentes
45 sem carne, como água ou aditivos.

46 O RIISPOA estabelece dois tipos de fraude: por adulteração ou falsificação. De maneira
47 genérica, a adulteração acontece quando se utiliza substâncias não autorizadas ou submete-se o alimento
48 a tratamentos para ocultar alterações, má qualidade, defeitos na elaboração ou aumentar o seu peso. Já
49 a falsificação ocorre quando um produto possui aparência e características gerais iguais às de um produto
50 e se denominem como este, sem que o seja. O RIISPOA estabelece ainda punições para estabelecimentos
51 que pratiquem atos fraudulentos, que variam desde multas, nos casos de infrações leves, até fechamento
52 do estabelecimento (BRASIL, 2017).

53 A legislação brasileira estabelece também Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade
54 (RTIQ's) para diversos alimentos. Quando as indústrias produzem alimentos que não estão em
55 conformidade com o RTIQ, pode ser considerado um tipo de fraude (BRASIL, 2017).

56 1.3 Fraudes envolvendo carne moída

57

58 De acordo com a Instrução Normativa (IN) nº 83 de 2003 do MAPA, entende-se por carne
59 moída o produto cárneo obtido a partir da moagem de massas musculares esqueléticas de carcaças de
60 bovinos, seguido de resfriamento ou congelamento. Esta mesma IN estabelece que na carne moída não
61 pode haver quaisquer tipos de aditivos, bem como contaminantes orgânicos ou inorgânicos.

62 A carne moída bovina possui características que podem facilitar a sua adulteração. A
63 cominuição das massas musculares não preserva as características morfológicas do músculo,
64 dificultando diferenciar tecido muscular de outros tecidos. Com isso, a adição de carne de outras
65 espécies ou tecidos de qualidade inferior é a forma mais comum de adulteração de carnes moídas. Ocorre
66 também a adição de proteínas vegetais, por apresentarem baixo custo quando comparada a proteínas
67 animais, como por exemplo a proteína texturizada de soja (KARTHEEK *et al.*, 2011).

68 Além disso, quando comparada às massas musculares inteiras, a carne moída possui maior
69 superfície de contato, o que favorece a oxidação lipídica e a multiplicação microbiana, fazendo com que
70 se deteriore rapidamente (SILVA *et al.*, 2009). Com isso, outra fraude de comum ocorrência é a adição
71 de conservantes, para que tenham maior tempo de prateleira, em especial os nitritos e sulfitos
72 (BONFADA, 2012; SILVA *et al.*, 2009).

73

74 1.4 Métodos para detecção de fraudes

75

76 Todos os tipos de fraude podem ser mensurados qualitativamente e/ou quantitativamente
77 (ESPINOZA *et al.*, 2015). Existem vários métodos que podem ser aplicados para detectar fraudes
78 alimentares, desde métodos mais complexos, como a avaliação da constituição genética dos
79 componentes através da reação em cadeia pela polimerase (para detectar mistura de carne de diferentes
80 espécies (OLIVEIRA *et al.*, 2015; MANE, *et al.*, 2009) até simples análises físico-químicas
81 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Em alguns casos, métodos morfológicos, como a histologia,
82 podem ser aplicados, para se avaliar os componentes teciduais presentes na amostra a ser examinada
83 (BRANSCHIED *et al.*, 2009).

84 Neste trabalho relata-se a detecção de fraude por adulteração de carne moída através da
85 avaliação morfológica microscópica dos tecidos utilizando-se técnicas histológicas rotineiras.

86

87 2 MATERIAL E MÉTODOS

88

89 2.1 Amostragem

90

91 Foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da
92 Universidade Federal de Uberlândia (HV-UFU) pelo Ministério Público Estadual de Minas Gerais, dois
93 pacotes contendo cada um 2Kg de carne moída congelada e com a suspeita de fraude por adulteração.
94 Os pacotes com a carne estavam lacrados e com números de lacre de identificação para cada amostra.
95 Para controle interno do laboratório, um pacote foi identificado como "A" e o outro como "B". As carnes
96 foram descongeladas em geladeira, em temperatura entre 3°C e 7°C por 24 horas. Após completamente
97 descongeladas, foram coletados de cada pacote 18 amostras, sendo nove amostras de cada lado do
98 pacote, e colocadas em cassetes histológicos, para posterior processamento, conforme mostrado na
99 Figura 1.

100

101

A fim de análise comparativa, foram compradas carnes moídas na hora, de primeira qualidade (Patinho) e segunda qualidade (Acém), identificadas com "Controle 1" e "Controle 2", respectivamente.

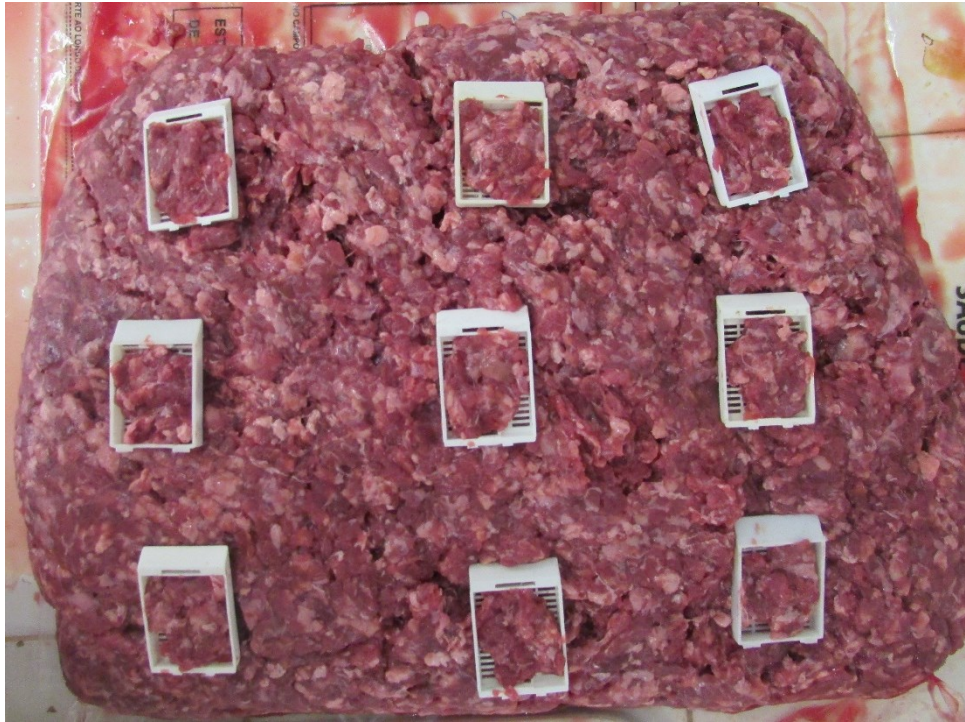


Figura 1. Esquema representativo de como foi feita a amostragem em cada pacote de carne moída

2.2 Processamento histológico

Todas as amostras foram fixadas em formol tamponado a 10% por 48 horas. Em seguida, foram submetidas ao processamento histológico padrão do Laboratório de Histopatologia Veterinária da Universidade federal de Uberlândia. O processamento consistiu em desidratação das amostras em concentrações crescentes de álcool, variando de 70% a 99% (álcool absoluto). Posteriormente, foram diafanizadas em três banhos de xilol, de 15 minutos cada um. Na sequência as amostras passaram por três banhos de parafina líquida, em estufa a 60°C, com duração de 15 minutos cada banho. Finalmente procedeu-se à confecção dos blocos, através da inclusão em parafina líquida, secção dos cortes em micrótomo para deposição sobre as lâminas de histologia. Notou-se porém nesta etapa que as amostras, mesmo após inclusão em parafina, não estavam suficientemente firmes para o corte das secções no micrótomo. Com isso, procedeu-se novo processamento histológico, desta vez prolongando-se o terceiro banho de parafina para 24 horas, realizando então a inclusão. Com esta alteração no processamento, obteve-se blocos com material firme e adequado para se obter secções com 4µm de espessura ao micrótomo. Em seguida, secções representativas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) ou Tricrômico de Masson (TM), conforme rotina do Laboratório de Histopatologia Veterinária da Universidade federal de Uberlândia.

2.3 Análise das lâminas

Todas as lâminas foram analisadas em microscópio óptico Nikon Eclipse Ci. As lâminas coradas com HE foram analisadas com aumentos finais de 40, 100 e 400, quanto à presença ou ausência de tecidos normais da musculatura e outros tecidos. Foram considerados como tecidos normais da musculatura os tecidos muscular, adiposo, conjuntivo, feixes nervosos, vasos sanguíneos. As lâminas coradas com TM foram analisadas através de teste cego (aumento final 4), para se estimar a porcentagem de tecido muscular, tecido conjuntivo e tecido adiposo em cada lâmina. A porcentagem de cada tecido foi estimada visualmente, observando a proporção do corte histológico que se corou em vermelho (indicando a presença de tecido muscular) ou azul (indicando a presença de fibras colágenas), bem como a proporção de adipócitos em relação ao demais tecidos. As proporções de cada tecido, muscular, conjuntivo ou adiposo, foram submetidas ao teste de normalidade de D'Ágostino & Pearson. Aqueles com distribuição normal (proporção de músculo e tecido conjuntivo) foram submetidos à análise de variância seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas ($P < 0,05$). A variável tecido adiposo,

137 não passou no teste de normalidade e foi submetida ao teste Kruskal-Wallis seguida pelo teste de Dunn
 138 para comparações múltiplas ($P < 0,05$).

139

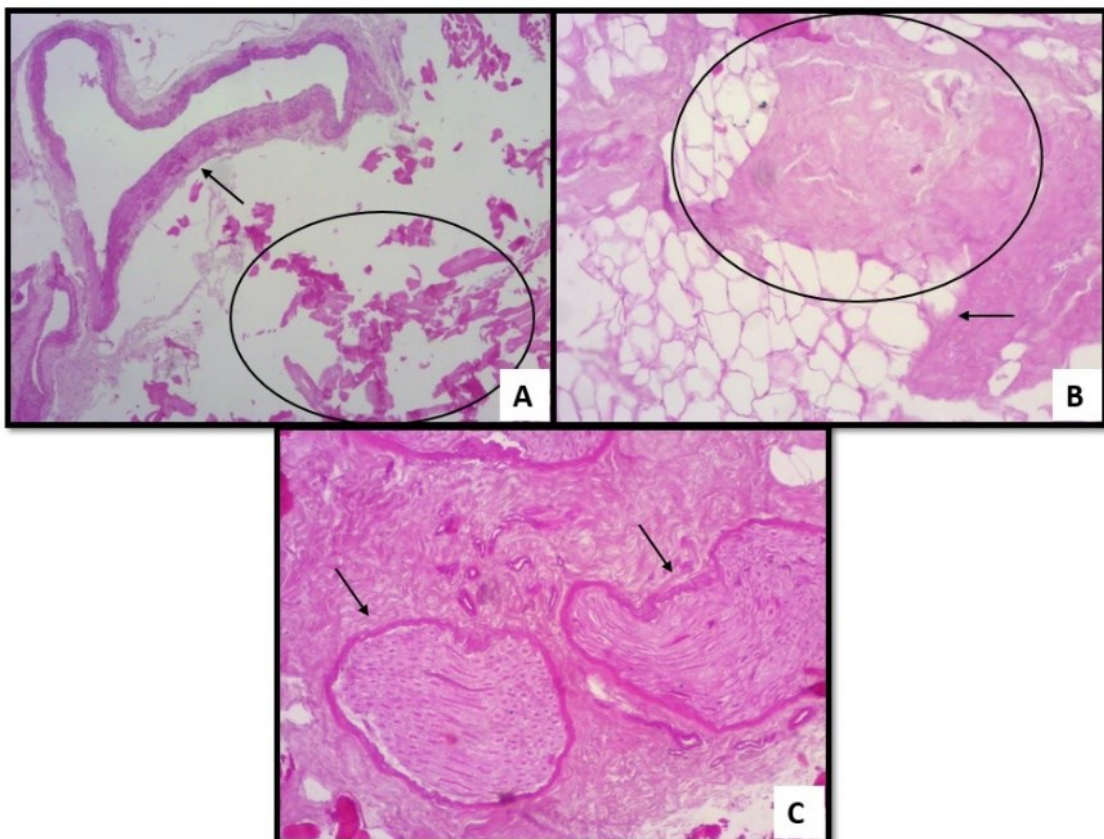
140 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

141

142 Os achados histológicos quanto aos tecidos constituintes das amostras coradas com HE estão
 143 expostos na Tabela 1. Os dados referentes à composição percentual das amostras coradas com TM estão
 144 expostos na Tabela 2 e Figura 5.

145 As amostras controle foram compostas por quantidades variáveis de fibras musculares estriadas
 146 esqueléticas íntegras e fragmentadas, tecido adiposo, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos e linfáticos
 147 (Figura 2). Estes achados condizem com a estrutura histológica do músculo esquelético descrita por
 148 Junqueira & Carneiro (2013).

149 Em todas as 36 amostras “A” e “B” também foi constatada a presença de fibras musculares
 150 estriadas esqueléticas, tecido adiposo, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos e linfáticos. Em 21 das
 151 amostras analisadas também havia a presença de feixes nervosos (Figura 3C), que são considerados
 152 componentes naturais do tecido muscular esquelético (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013). No entanto,
 153 a sua ausência nas demais amostras e mesmo nos controles, também pode ser considerado um achado
 154 normal, explicado pelo fato do corte histológico representar apenas uma pequena fração do tecido
 155 muscular, havendo assim a possibilidade da secção não conter todas as estruturas que compõe o
 156 músculo.



157

158 **Figura 2.** Componentes histológicos normais da carne moída. A: Vaso sanguíneo (seta) e fibras
 159 musculares esqueléticas (Círculo). B: Tecido adiposo (seta) e tecido conjuntivo (círculo). C: Feixes
 160 nervosos (seta). Hematoxilina e Eosina, objetiva de 10x.

161 **Tabela 1.** Identificação de componentes histológicos em amostras carne moída suspeitas de fraude por
 162 adulteração. As letras “A” e “B” identificam as amostras analisadas da carne em suspeição e o controle
 163 se refere à análise de carne moída não adulterada.

Identificação da Lâmina	Músculo Esquelético	Tecido Conjuntivo	Tecido Adiposo	Vasos	Feixe Nervoso	TEG*	MBA**
Controle 1	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Controle 2	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
A1	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>	Ausente
A2	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	Ausente
A3	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
A4	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
A5	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>	Ausente
A6	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>
A7	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	<u>Presente</u>
A8	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	Ausente
A9	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>	Ausente
A10	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
A11	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
A12	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
A13	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	Ausente
A14	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
A15	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	Ausente
A16	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
A17	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	Ausente
A18	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>	Ausente
B1	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>	Ausente
B2	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>
B3	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
B4	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>
B5	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
B6	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	<u>Presente</u>
B7	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
B8	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
B9	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
B10	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
B11	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
B12	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	<u>Presente</u>
B13	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	<u>Presente</u>
B14	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
B15	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
B16	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
B17	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	<u>Presente</u>	<u>Presente</u>
B18	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente

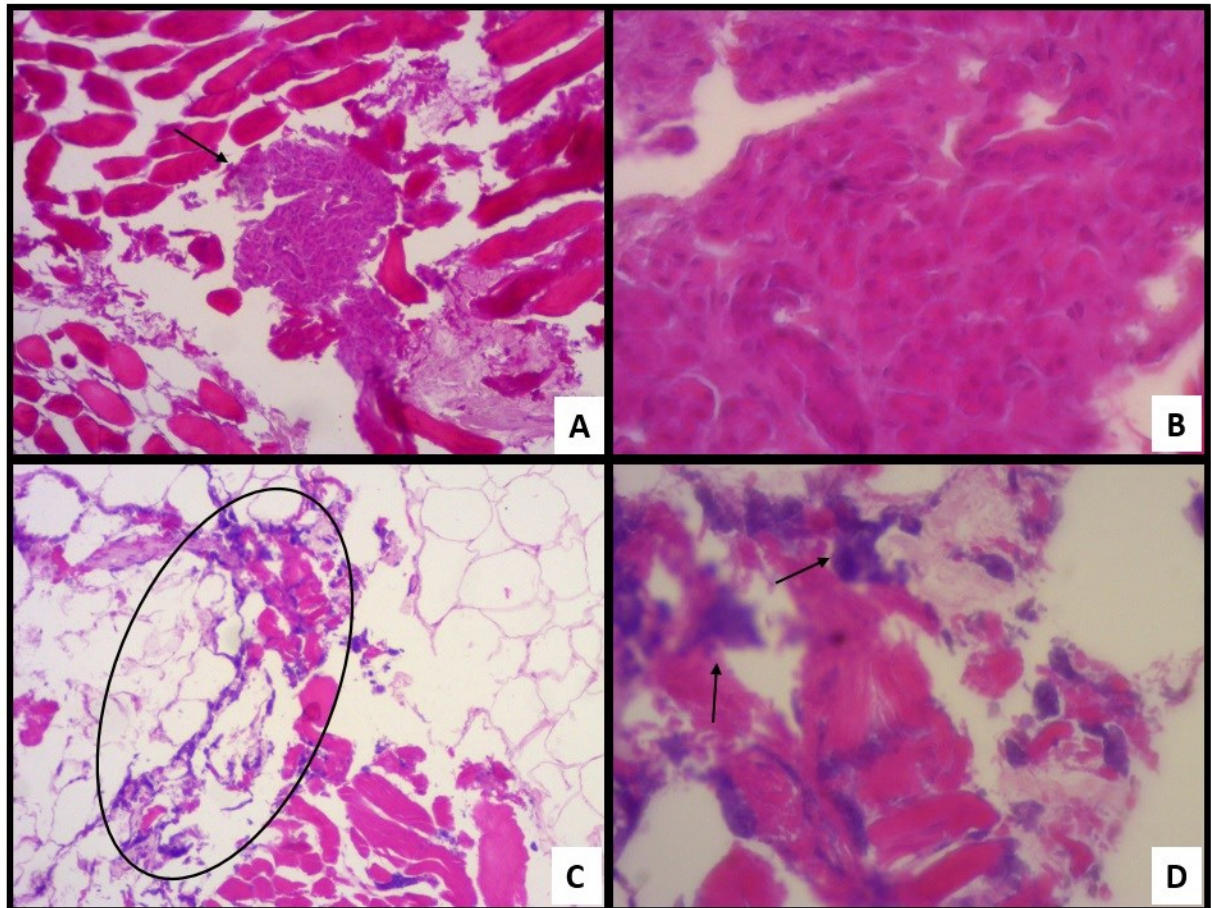
164 * Tecido Epitelial Glandular

165 ** Material Basofílico Amorfo

166 **Tabela 2.** Constituição percentual histológica de músculo esquelético, tecido conjuntivo e tecido
 167 adiposo em amostras carne moída suspeitas de fraude por adulteração. As letras “A” e “B” identificam
 168 as amostras analisadas da carne em suspeição e o controle se refere à análise de carne moída não
 169 adulterada

Identificação da Lâmina	Músculo Esquelético (%)	Tecido Conjuntivo (%)	Tecido Adiposo (%)
Controle	60	30	10
Controle	70	20	10
Controle	70	20	10
Controle	60	20	20
Controle	60	20	20
Controle	60	20	20
Controle	70	10	20
Controle	60	10	30
A1	70	20	10
A2	70	10	20
A3	40	20	40
A4	50	20	30
A5	30	20	50
A6	60	30	10
A7	60	30	10
A8	50	40	10
A9	60	30	10
A10	40	20	20
A11	40	20	40
A12	40	20	30
A13	40	10	50
A14	30	30	40
A15	70	20	10
A16	30	20	50
A17	30	50	20
A18	60	30	10
B1	40	20	40
B2	40	10	50
B3	20	20	60
B4	60	30	10
B5	70	20	10
B6	70	20	10
B7	40	40	20
B8	60	30	10
B9	50	30	20
B10	60	20	20
B11	60	30	10
B12	40	40	20
B13	50	40	10
B14	20	60	20
B15	60	10	30
B16	40	40	20
B17	60	30	10
B18	30	40	30

170 Nas amostras controle não foi notado qualquer tecido estranho à composição do músculo,
 171 porém, nas amostras em suspeição de fraude, foram observados dois componentes histológicos
 172 estranhos à composição de carne moída. Um destes componentes consistiu em agregados de material
 173 basofílico amorfo, que variavam de escassa a moderada quantidade, sendo focais ou multifocais nos
 174 cortes histológicos. O segundo componente estranho foi identificado como tecido epitelial glandular,
 175 em quantidade escassa a moderada (Figura 3).



176 **Figura 3.** Componentes histológicos estranhos à composição da carne moída. A: Fragmento de tecido
 177 epitelial glandular de entremeio à fibras musculares esqueléticas normais (seta). Hematoxilina e eosina,
 178 objetiva de 10x. B: Fragmento de tecido epitelial glandular em maior aumento, evidenciando células
 179 organizadas em ácinos. Hematoxilina e eosina, objetiva de 40x. C: Agregados de material basofílico
 180 amorfo próximo a fibras musculares esqueléticas e tecido adiposo (círculo). Hematoxilina e eosina,
 181 objetiva de 10x. D: maior aumento do material basofílico amorfo, mostrando seu aspecto granular
 182 (setas). Hematoxilina e Eosina, objetiva de 40x.
 183

184 O material basofílico amorfo (MBA) esteve presente em oito das 36 amostras em suspeição
 185 (22,22%). Das oito amostras contendo MBA, duas pertenciam ao Grupo A e seis pertenciam ao Grupo
 186 B. O tecido epitelial glandular (TEG) esteve presente em 12 das 36 amostras (33,33%). Das amostras
 187 que continham TEG, nove eram do Grupo A e três do Grupo B. Em duas amostras foi notada a presença
 188 tanto de MBA quanto de TEG, sendo estas duas amostras do grupo B. Ao todo, 18 amostras do total de
 189 36 (50%) apresentaram ao menos um componente estranho à carne moída.

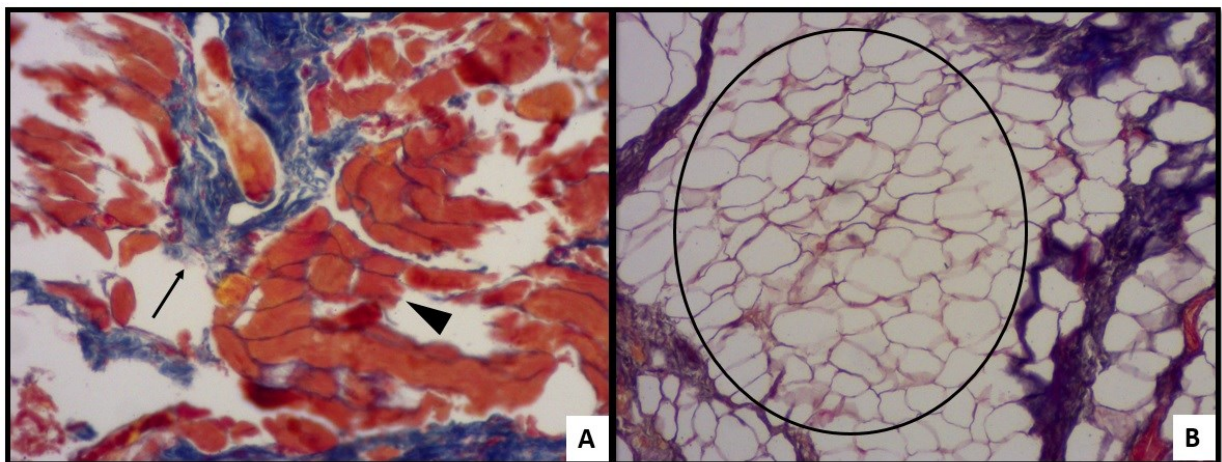
190 O aspecto histológico do MBA encontrado em algumas amostras é compatível com material
 191 mineralizado. Segundo Valentine (2016), mineralização é vista na histologia como material basofílico
 192 de aspecto granular ou cristais basofílico hialinos. Existem diversos processos mórbidos que podem

193 provocar mineralização muscular como a necrose ou ainda parasitas mortos (VALENTINE, 2016).
 194 Além disso, há tecidos que possuem matriz mineralizada, como o tecido ósseo, por exemplo (BACHA
 195 & BACHA, 2003). Por tanto, não é possível determinar com certeza a origem deste material
 196 mineralizado apenas através da histologia. Portanto o MBA embora seja um componente inespecífico
 197 quanto à causa, indica ocorrência de processo mórbido na musculatura animal usada para obtenção da
 198 carne moída.

199 Tecidos epiteliais glandulares em geral são compostos por células especializadas com função
 200 secretora. As glândulas são achadas em diversas localidades anatômicas, desde a pele até o sistema
 201 nervoso central. Porém, o tecido muscular não possui epitélio glandular, sendo caracterizado como
 202 material estranho à composição de carne moída. O TEG nas amostras apresentou o mesmo aspecto em
 203 todas as amostras: fragmentos teciduais com células arranjadas na forma de ácinos, separados por fino
 204 estroma. As células possuíam citoplasma eosinofílico moderado, com núcleo redondo e central. Devido
 205 à grande diversidade histológica que as glândulas, podem apresentar conforme sua localização e
 206 secreção que produz, a origem do TEG presente nas amostras não pode ser determinada apenas com
 207 técnicas histológicas (BACHA & BACHA, 2003; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013; SAMUELSON,
 208 2007).

209 Embora a literatura sobre a pesquisa de fraudes por histologia seja escassa, outros autores já
 210 detectaram o tecido glandular com essa técnica como componente irregular da carne moída. Em um
 211 estudo feito por Latorre e colaboradores (2015), foi feita análise histológica de 20 amostras de diferentes
 212 produtos cárneos processados, recolhidos de mercados e restaurantes do Irã. À microscopia óptica, os
 213 autores constataram alta frequência de tecidos animais não autorizados nos produtos, entre estes ovário
 214 e tecido glandular. Outro estudo conduzido na Itália avaliou qualitativamente, através da histologia, o
 215 recheio de carne de diferentes marcas de *tortellini*. Os autores também detectaram tecido glandular, além
 216 de outros tecidos não autorizados numa variedade de amostras (GHISLENI *et al.*, 2010).

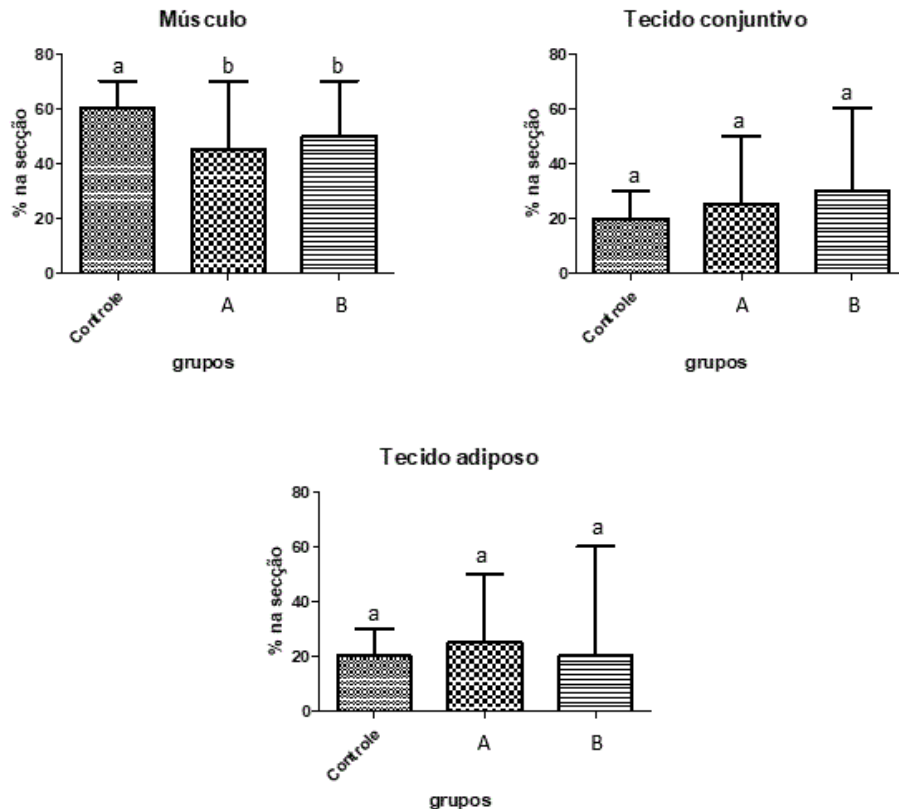
217 Na análise das lâminas coradas com TM, foi possível visualizar fibras musculares coradas em
 218 vermelho, fibras colágenas do tecido conjuntivo coradas em azul, e contornos citoplasmáticos dos
 219 adipócitos corados em vermelho (Figura 4). Os cortes histológicos da carne moída controle
 220 apresentaram em média 64% de tecido muscular esquelético, evidenciado em vermelho. O tecido
 221 conjuntivo representou, em média, 19% das amostras e o tecido adiposo em média, 17,5%. Nas amostras
 222 de carne moída adulterada a porcentagem de tecido conjuntivo e adiposo foi semelhante ao da carne não
 223 adulterada. Porém a proporção de tecido muscular foi significativamente menor nas amostras de carne
 224 adulterada (Figura 5).



225 **Figura 4.** Cortes histológicos de carne moída corados através da técnica de tricrômico de Masson. A:
 226 Fibras colágenas do tecido conjuntivo, coradas em azul (seta) e fibras musculares esqueléticas, coradas
 227 em vermelho (ponta de seta). B: Contornos citoplasmáticos dos adipócitos corados em vermelho
 228 (círculo). Objetiva de 10x.

230 O uso de colorações histológicas especiais já foi relatado em outros trabalhos como ferramenta
 231 para detecção de conteúdos proibidos na carne moída. Sadeghinezhad e colaboradores (2016b),
 232 detectaram através do Tricrômico de Masson a presença de moela, e através do Azul de Toluidina a

233 presença de soja em amostras de carne moída. Jahed Khaniki & Rokni (2007), usaram especificamente
 234 o Tricrômico de Masson para avaliar salsichas cozidas e definiram este como sendo uma boa técnica
 235 para contrastar o colágeno das fibras musculares e detectar tecidos utilizados no preparo de produtos
 236 cárneos cozidos.



237 **Figura 5.** Percentual médio e desvio padrão (barras verticais) de músculo, tecido conjuntivo e tecido
 238 adiposo em carne moída não adulterada (controle) e aquela adulterada (Grupos A e B). Letras diferentes
 239 indicam diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre grupos.
 240

241 Segundo Sadeghinezhad e colaboradores (2016a), métodos químicos e microbiológicos, quando
 242 usados de maneira isolada, não são suficientes para atestar a qualidade de produtos cárneos. Nesse
 243 contexto, a histologia pode ser considerada uma valiosa ferramenta para auxiliar na garantia da
 244 qualidade de alimentos cárneos, pois é capaz de detectar tecidos não permitidos e alterações
 245 morfológicas na estrutura da carne e assim apontar o especificamente o tecido contaminante. A
 246 utilização dessa técnica na detecção de fraudes é, porém, rara na literatura. Além disso, a metodologia
 247 nos artigos consultados não descreve a dificuldade e formas de contornar a inclusão ineficiente da carne
 248 moída em parafina seguindo apenas rotina histológica como relatado no presente trabalho.
 249

250 CONCLUSÕES

251
 252 A histologia se mostrou um método eficiente para a detecção e identificação de contaminantes
 253 na carne moída. O uso de colorações histológicas especiais, como o Tricrômico de Masson, também é
 254 uma ferramenta útil para estimar a composição relativa da carne moída, auxiliando a atestar sua
 255 qualidade. A associação de histotécnicas a outros métodos analíticos pode ser de grande valia para
 256 certificar a segurança dos alimentos cárneos, pois permitem visualização direta dos contaminantes. Há
 257 necessidade de adequação e padronização do processamento histológico para amostras oriundas de
 258 produtos cárneos, visando obter secções histológicas de boa qualidade e garantir uma análise mais
 259 acurada.

260 **REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS**

261

262 BACHA, W. J. & BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca,
263 2003.

264

265 BALLIN, N. Z. Authentication of meat and meat products. **Meat science**, v. 86, n. 3, p. 577-587, 2010.

266

267 BRASIL, **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Disponível em:
268 <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm>. Acesso em 20 de
269 fevereiro de 2020.

270

271 BONFADA, D. H. Presença de sulfito de sódio e sua influência nas características físico-químicas e
272 microbiológicas de carnes bovinas moídas resfriadas. 2012.

273

274 BRANSCHIED, W. et al. The morphological detection of bone and cartilage particles in mechanically
275 separated meat. **Meat science**, v. 81, n. 1, p. 46-50, 2009.

276

277 CARVALHO, A. C. et al. Consumo de produtos de origem animal e fraudes: uma revisão dos métodos
278 moleculares para a investigação de autenticidade e rastreabilidade em produtos lácteos e carnes.
279 **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 52(3), 183-194, 2015.

280

281 ESPINOZA, T. et al. Tipos de fraudes en carnes y productos cárnicos: una revisión. **Scientia**
282 **Agropecuaria**, v. 6, n. 3, p. 223-233, 2015.

283

284 GHISLENI, G. et al. Qualitative evaluation of tortellini meat filling by histology and image analysis.
285 **International journal of food science & technology**, v. 45, n. 2, p. 265-270, 2010.

286

287 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análises de alimentos do Instituto Adolfo
288 Lutz. **Código de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

289

290 JAHED KHANIKI, G. H. & ROKNI, N. D. Histological Study Of Unpermitted Tissues In Heated Meat
291 Products By Using Of Masson's Trichrome Stain. **Pajouhesh and Sazandegi**, 2007.

292

293 JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. Tecido Muscular. In: JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J.
294 **Histologia Básica: Texto & Atlas**. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 177-198, 2013.

295

296 KARTHEEK, M. et al. Determination of adulterants in food: a review. **Journal of Chemical and**
297 **Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 629-636, 2011.

298

299 LATORRE, R. et al. Application of morphological method for detection of unauthorized tissues in
300 processed meat products. **Journal of food quality and hazards control**, v. 2, n. 2, p. 71-74, 2015.

301

302 MANE, B. G. et al Polymerase chain reaction assay for identification of chicken in meat and meat
303 products. **Food Chemistry**, v. 116, n. 3, p. 806-810, 2009.

304

305 MICHAELIS, Dicionário. Disponível em <<http://michaelis.uol.com.br/>>. Acesso em 20 de fevereiro de
306 2020.

307

308 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E BASTECIMENTO. **Portaria nº 46, de 10 de**
309 **fevereiro de 1998**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1139>>. Acesso em 20 de fevereiro de 2020.

311

312

- 313 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E BASTECIMENTO. **Projeções do Agronegócio:**
314 **Brasil 2016/17 a 2026/27 - Projeções de Longo Prazo.** 8ª ed. Ano 2017
315
- 316 MOORE, J. C. et al. ANYL 264-Analytical challenges for preventing the intentional adulteration of
317 food ingredients. In: **Abstracts of Papers of the American Chemical Society.** 1155 16TH ST, NW,
318 WASHINGTON, DC 20036 USA: AMER CHEMICAL SOC, 2009.
319
- 320 CARVALHO, M. A. M. **Segurança na Cadeia alimentar: estudo de fraudes.** Tese de Doutorado.
321 Instituto Politécnico do Porto. Escola Superior de Tecnologia e Gestão, 2016
322
- 323 OLIVEIRA, A. C. S. *et al.* Avaliação da técnica PCR multiplex para detecção de fraude por adição de
324 carne bubalina em carne moída bovina. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 74, n. 4, p. 371-9, 2015.
- 325
- 326 SADEGHINEZHAD, J. et al Application of histomorphological method to assess meat products.
327 **Anatomical Sciences Journal**, v. 13, n. 2, p. 73-78, 2016a.
328
- 329
- 330 SADEGHINEZHAD, J. et al. Evaluation of the morphologic method for the detection of animal and
331 herbal content in minced meat. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 6, p. 564-569, 2016b.
332
- 333
- 334 SAMUELSON, A. D. **Tratado de histologia veterinária.** Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2007
335
- 336 SILVA, C. et al. Presence of additive conserving (nitrite and sulphite) in grounded beef, commercialized
337 in the retail markets. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 33-36, 2009.
338
- 339 VALENTINE, B. A. Skeletal Muscle. In: ZACHARY, J. F. & MCGAVIN, M. D. **Pathologic Basis of**
340 **Veterinary Disease Expert Consult-E-BOOK.** 6ª ed. Elsevier Health Sciences, p. 908-963, 2016.