

# Riscos e Alimentos

---

## Carne e Produtos Cárneos



*Novas metodologias para a identificação de adulterações de produtos cárneos com carne de cavalo*

*Autenticação de produtos cárneos com a designação Halal: Detecção e quantificação de derivados de suíno*

*Clones de Salmonella não tifóide em produtos cárneos e seu impacto no Homem*

---

## ÍNDICE

**Editorial - pág. 2**

**ASAE e a EFSA - Cooperação com a EFSA em 2015 - pág. 3**

Novas metodologias para a identificação de adulterações de produtos cárneos com carne de cavalo - **pág. 4**

Deteção de fraudes alimentares em carne - análise de ADN - **pág. 8**

Autenticação de produtos cárneos com a designação Halal: Deteção e quantificação de derivados de suíno (*Sus scrofa*) - **pág. 11**

Avaliação da autenticidade de Alheiras de caça por identificação específica de espécies - **pág. 14**

Riscos e benefícios associados ao consumo de carne de caça - **pág. 17**

Aditivos alimentares em produtos à base de carne - **pág. 21**

Clones de Salmonella não tifóide em produtos cárneos e seu impacto no Homem - **pág. 25**

A segurança alimentar dos produtos cárneos no mercado retalhista, face aos resultados do Plano Nacional de Colheita de Amostras (PNCA) - **pág. 29**

**“ASAE vai à Escola”**- Um instrumento de apoio à sensibilização e promoção da higiene e segurança alimentar - **pág. 34**

## Editorial

**Pedro Portugal Gaspar**  
*Inspetor Geral da ASAE*



“Riscos e Alimentos” é uma revista de carácter científico, de periodicidade semestral, editada pela área Técnico-Científica da ASAE, que se dedica a publicar artigos sobre os riscos associados a uma determinada categoria de alimentos. Trata-se portanto de um espaço de reflexão independente e científico onde são colocadas questões centrais da segurança alimentar, concretizando deste modo a responsabilidade da ASAE enquanto a entidade nacional com competência para a avaliação, comunicação e gestão do risco na cadeia alimentar. Sendo aliás relevante recordar que tal panóplia de competências, que a ASAE detém nesta matéria, é única no quadro comparado europeu.

Nesta edição a nossa preocupação centra-se nos produtos à base de carne, razão pela qual há diversos artigos de professores da Academia Portuguesa e colaboradores da ASAE, os quais trazem ao conhecimento geral informação sobre os riscos associados ao consumo de produtos à base de carne e ainda as fraudes que podem ocorrer, sendo que na maioria das situações as fraudes não constituem risco para saúde. A importância de dedicar uma publicação a este tipo de alimentos, deve-se ao facto de serem produtos com um elevado padrão de consumo em Portugal, o que não só implica um debate técnico-científico, como igualmente a uma intensificação do controlo oficial.

Naturalmente que todos temos conhecimento da longevidade da produção dos produtos à base de carne, na qual o recurso a métodos tradicionais está a ser substituído por metodologias mais ou menos industrializadas, em que em certos casos são adicionadas substâncias químicas, nomeadamente os designados aditivos alimentares.

Deste modo, recomendo assim que se faça uma leitura atenta desta edição, que servirá certamente para um melhor conhecimento dos desafios que se colocam ao consumidor.

## Autenticação de produtos cárneos com a designação *Halal*: Detecção e quantificação de derivados de suíno (*Sus scrofa*)

Joana S. Amaral<sup>1,2</sup>, Joana Costa<sup>1</sup>, Isabel Mafra<sup>1,\*</sup>, M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>REQUIMTE, Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal. <sup>2</sup>ESTiG, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. (\*E-mail: [isabel.mafra@ff.up.pt](mailto:isabel.mafra@ff.up.pt))

### Introdução

Devido aos recentes escândalos alimentares relacionados com adulterações em produtos cárneos, tem-se assistido a uma maior atenção por parte dos consumidores e autoridades sobre a ocorrência de fraudes neste setor, especialmente no que respeita a substituição de carne de espécies animais de valor elevado por proteínas musculares de mais baixo custo. Em particular, devido ao seu baixo preço e elevada disponibilidade, a carne de porco e/ou derivados de suíno (gordura, plasma, colagénio, entre outros) podem ser fraudulentamente adicionados em produtos cárneos, tendo por objetivo o aumento de lucros de fabricantes pouco escrupulosos [1,2]. Para além destas práticas representarem uma fraude económica, a presença de espécies animais não declaradas na rotulagem é algo que causa elevada preocupação em certos grupos religiosos para os quais o consumo de determinadas espécies é proibido. Em particular, de acordo com a lei Islâmica, os muçulmanos podem apenas consumir carne *Halal*, sendo o consumo de porco e seus derivados estritamente proibidos (entre outras espécies). Desta forma, mesmo que na produção de produtos cárneos sejam utilizados apenas colagénio ou gordura de porco, esses alimentos passam a ser considerados como *Haram* (inaceitáveis para consumo muçulmano). Segundo os consumidores muçulmanos, os principais problemas de autenticidade relacionados com produtos *Halal* prendem-se com a substituição de carnes *Halal* por carne de porco, a utilização de ingredientes proibidos, tais como plasma e tripa de porco, e a utilização de métodos de abate não-*Halal* [2].

Considerando que a população muçulmana mundial atingiu 1,8 bilhões em 2011, sendo expectável que continue a aumentar, existe uma grande procura global para este tipo de produtos [3]. Recentemente, foi estimado pelo *World Halal Forum Secretariat* que o comércio mundial de alimentos e bebidas *Halal* corresponde anualmente a aproximadamente 1,4 trilhões de dólares [3]. Adicionalmente, refira-se que de uma forma geral, os produtos *Halal* apresentam um preço superior comparativamente a produtos convencionais/não-

*Halal* similares [4]. Pelos motivos apresentados, os produtos cárneos *Halal* são muito propensos a sofrerem adulterações pela substituição e/ou mistura de espécies de não-*Halal* de menor custo económico. Assim, para salvaguardar o direito de escolha de cada consumidor, torna-se necessário desenvolver metodologias que permitam detetar especificamente espécies consideradas *Haram* (proibidas), tal como o porco, em carne e produtos cárneos processados.

### Identificação da espécie porco (*Sus scrofa*)

Até à presente data, são várias as metodologias descritas na literatura para a determinação específica da espécie porco em carnes e produtos cárneos, incluindo técnicas espectroscópicas (espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR)) e técnicas baseadas na deteção de proteínas ou de ADN [5]. Os métodos baseados em proteínas, tais como eletroforese, cromatografia e técnicas imunológicas, apesar de serem adequados e de elevada sensibilidade na análise de carnes cruas, podem levar a resultados falsos negativos quando aplicados a produtos cárneos muito processados devido à desnaturação proteica inerente ao processamento [6]. Recentemente, os métodos baseados na análise de ADN, moléculas que existem em todos os tipos de células, têm sido considerados como os mais apropriados para a identificação de espécies em carnes processadas dada a maior resistência das moléculas de ADN, comparativamente às proteínas, quando submetidas a processos térmicos e/ou elevada pressão. Adicionalmente, a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) para análise de ADN é considerada uma técnica rápida, sensível e altamente específica para a identificação inequívoca de espécies em matrizes complexas. Entre as diferentes técnicas de PCR descritas na literatura para a identificação da espécie porco em produtos cárneos processados contendo diversos ingredientes, a utilização de PCR específica de espécies tem sido considerada como a metodologia melhor e mais robusta, uma vez que

não requer a utilização de enzimas de restrição, a interpretação de padrões complexos obtidos por electroforese em gel de agarose e/ou sequenciação dos produtos de PCR [2]. A técnica de PCR específica de espécies requer a utilização de *primers* desenhados cuidadosamente por forma a emparelharem especificamente com um fragmento de ADN da espécie alvo. A utilização de PCR em tempo real utilizando *primers* específicos de espécies e, adicionalmente, uma sonda fluorescente de ADN, apresenta diversas vantagens tais como uma maior sensibilidade e seletividade, permitindo ainda a realização de análises quantitativas. Não obstante, as sondas serem geralmente caras e aumentarem consideravelmente o custo da análise, a utilização de PCR em tempo real com corantes fluorescentes foi proposta em trabalhos anteriores como alternativa mais económica para a deteção de carne de porco em produtos cárneos processados [7].

#### Identificação de porco e/ou derivados em produtos cárneos *Halal*

No âmbito de um estudo realizado com a finalidade de avaliar a autenticidade de diferentes produtos cárneos processados, foram adquiridos 15 produtos *Halal* em lojas especializadas Portuguesas, os quais foram posteriormente avaliados para presença de ADN de porco [8]. Considerando que em Portugal existe um número reduzido de lojas de produtos *Halal*, o que poderá levar alguns muçulmanos a adquirir produtos em supermercados de cariz genérico, adicionalmente incluiu-se no estudo 26 produtos cárneos não-*Halal*, mas rotulados como sendo produtos contendo somente carne de aves.

Inicialmente foram preparadas misturas de referência binárias contendo diferentes percentagens de carne de porco (entre 25,0% e 0,0001%) em carne de vaca. Após homogeneização, as misturas foram divididas em duas partes semelhantes, tendo uma delas sido submetida a processamento térmico. Com base nestas misturas, procedeu-se à otimização de um ensaio de PCR específica para a espécie porco tendo por alvo o gene *cytb*, o qual foi posteriormente aplicado às amostras comerciais. Os resultados obtidos demonstraram que o método de PCR proposto apresentou uma especificidade e sensibilidade elevadas, evidenciadas pelos resultados negativos em testes de reatividade cruzada com outras espécies animais e vegetais, e pela deteção de carne de porco até ao nível de 0,0001% para carne crua e 0,001% para carne processada termicamente. Adicionalmente, os extratos de ADN obtidos das amostras comerciais foram

submetidos a análises de PCR em tempo real com o corante fluorescente EvaGreen seguido de análise de *melting*. Para fins de quantificação, foram construídas curvas de calibração com base nos resultados de PCR em tempo real obtidos para as amostras binárias, cruas e processadas termicamente. A Figura 1 apresenta as curvas de amplificação obtidas por PCR em tempo real para diferentes quantidades de ADN de porco, evidenciando a elevada sensibilidade do método proposto.

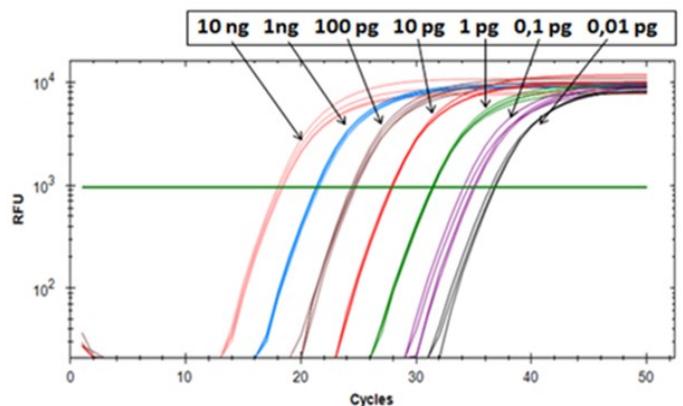


Figura 1. Curvas de amplificação por PCR em tempo real para diferentes quantidades de ADN de porco.

Foi detetado ADN de porco em 6 produtos *Halal* e em 16 produtos cárneos não-*Halal* à base de aves (Tabela 1). Contudo, apenas foi possível proceder à sua quantificação em 8 dessas amostras, uma vez que as restantes estavam abaixo do limite de quantificação. Os resultados da quantificação evidenciaram a presença de quantidades vestigiais de ADN de porco nas amostras de produtos *Halal* (valores estimados de 0,01% nas três amostras quantificáveis), o que sugere uma possível contaminação nas linhas de processamento em invés de uma adulteração intencional ou adição de pequena quantidade de gordura de porco. No entanto, uma vez que o consumo de porco é totalmente proibido para os muçulmanos, estes produtos deverão ser classificados como *Haram* (proibidos). As quantidades de ADN de porco nas amostras de produtos à base de carne de aves variaram entre 0,03% e 0,24%. Estes baixos valores sugerem igualmente uma contaminação em vez de uma substituição fraudulenta por adição de carne de porco, com vista a ganhos económicos. No entanto, refira-se que estes valores foram ligeiramente superiores aos verificados nos produtos *Halal* o que poderá indicar um controlo de qualidade mais efetivo no caso de indústrias que produzam produtos *Halal* destinado a consumidores muçulmanos.

Tabela 1. Resultados da detecção de ADN de porco em amostras de produtos *Halal* e produtos não-*Halal* à base de carne de aves.

Espécie	Resultados positivos/total de amostras (% rotulagem não-conforme)		
	Produtos cárneos <i>Halal</i>	Produtos cárneos não- <i>Halal</i>	Total
Porco	6/15 (40%)	16/26 (62%)	22/41 (54%)

### Considerações finais

O crescente interesse e preocupação dos consumidores em relação à ocorrência de fraudes na indústria dos produtos cárneos tem sido uma força motriz para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas que permitam garantir o cumprimento da legislação, proporcionando assim uma maior transparência no sector. Na última década, tem sido dada particular atenção ao desenvolvimento de metodologias analíticas para a identificação de espécies animais em produtos cárneos, com ênfase na detecção de carne de porco e seus derivados em produtos cárneos processados, sendo esta uma matéria de especial relevância para os consumidores muçulmanos uma vez que o consumo de porco é estritamente proibido. Desta forma, são necessárias técnicas rápidas, confiáveis e sensíveis que permitam confirmar a ausência total da espécie porco em produtos comercializados como sendo *Halal*, por forma a garantir os direitos da comunidade muçulmana e simultaneamente promover o comércio justo. Devido à sua elevada sensibilidade e especificidade, a técnica de PCR em tempo real tem mostrado ser uma ferramenta adequada para a referida finalidade.

### Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através do projeto PEst-C/EQB/LA0006/2013.

### Referências

- [1] Aida, A. A., Man, Y. B. C., Wong, C. M. V. L., Raha, A. R., & Son, R. (2005). Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Science*, 69: 47-52.
- [2] Nakyinsige, K., Man, Y.B.C, & Sazili, A.Q. (2012). Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science*, 91: 207-214.
- [3] Farouk, M.M. (2013). Advances in the industrial production of halal and kosher red meat. *Meat Science*, 95: 805-820.
- [4] Ali, E., Razzak, A., Hamid, S.B.A., Rahman, M., Amin, A., Rashid, N.R.A., & Asing (2015). Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. *Food Chemistry*, 177: 214-224.
- [5] Ali, M. E., Kashif, M., Uddin, K., Hashim, U., Mustafa, S., & Man, Y. B. C. (2012). Species authentication methods in foods and feeds: the present, past, and future of Halal forensics. *Food Analytical Methods*, 5: 935-955.
- [6] Rodríguez, M. A., García, T., Gonzalez, I., Hernandez, P. E., & Martín, R. (2005). TaqMan real-time PCR for the detection and quantification of pork in meat mixtures. *Meat Science*, 70: 113-120.
- [7] Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M.B.P.P., & Mafra, I. (2013). A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed poultry meat products. *Meat Science*, 94: 115-120.
- [8] Santos, G. S. (2013). Desenvolvimento de metodologias de biologia molecular para a autenticação de produtos cárneos com designação *Halal*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto.

**Ficha Técnica:**

**Riscos e Alimentos, nº 9  
junho 2015**

**Propriedade:  
Autoridade de Segurança  
Alimentar e Económica  
(ASAE)**

**Coordenação Editorial, Edição e Revisão:  
Departamento de Riscos  
Alimentares e Laboratórios  
(DRAL) /UNO**

**Distribuição:  
DRAL / UNO**

**Periodicidade:  
Semestral**

