

**MEDIDA DE COMPRIMENTO DE SARCÔMERO DE CARNE BOVINA POR
MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA.**

Rubens Bernardes Filho^{1,*}, Victor Seabra², Lucimara Aparecida Forato¹, Paulo Orlandi Lasso¹,
Fabiano Okumura³, Renata Tieko Nassu³.

¹ *Embrapa Instrumentação, Rua Quinze de novembro, 1452, CEP 13561-206, São Carlos, SP,*

² *Instituto de Química de São Carlos - USP*

³ *Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, Km 234 s/nº, Fazenda Canchim, Caixa Postal: 339, CEP 13560-970, São Carlos*

* *Autor correspondente, e-mail: rubens.bernardes@embrapa.br*

Resumo: O sarcômero é a unidade contrátil do músculo e tem papel importante na qualidade da carne. O seu comprimento pode sofrer variação durante os processos envolvidos na produção da carne bovina, principalmente no manejo pós abate, durante o resfriamento, onde pode ocorrer o fenômeno do "encurtamento pelo frio", associado à perda de qualidade da carne. A microscopia de força atômica (MFA) é uma técnica que permite obter a topografia de superfícies de amostras em escalas micrométricas e nanométricas com precisão e detalhes, que não são possíveis de se obter por microscopia eletrônica ou óptica. Neste trabalho é apresentada uma metodologia simples de preparação de amostras de sarcômeros para medida de seu comprimento utilizando microscopia de força atômica. Os sarcômeros obtidos das amostras de carne, coletadas após o resfriamento das carcaças, apresentaram comprimento médio de 1,76 μm , mensurados por esta técnica.

Palavras-chave: Sarcômero, Microscopia de Força Atômica, Carne Bovina, Comprimento

**MEASUREMENT OF BEEF SARCOMERE LENGTH USING ATOMIC FORCE
MICROSCOPY**

Abstract: The sarcomere is the contractile unit of the muscle and plays an important role on meat quality. Its length may vary during processes involved in beef production, mainly after slaughtering, where the "cold shortening" phenomenon may occur, associated with loss of meat quality. Atomic force microscopy is a technique that allows to obtain surface topography samples micrometer and nanometer scales accurately and details that are not possible to obtain by electron or optical microscopy. This study presents a simple method of preparing samples for sarcomere length measurement using atomic force microscopy. The sarcomeres obtained from beef after cooling of carcasses had an average length of 1.76 μm , measured by this technique.

Keywords: Sarcomere, Atomic Force Microscopy, Beef, Length.

1. Introdução

Existem vários fatores que influenciam diretamente a qualidade da carne bovina que chega ao consumidor, e, dentre eles podem ser citados: idade, peso, sexo, grupo genético, e manejo pré e pós abate. Uma informação importante para análises ou para acompanhamento desses processos é a medida do comprimento do sarcômero que é a unidade contrátil do músculo, responsável pela contração e expansão muscular. Quando ele sofre encurtamento há a tendência da carne tornar-se mais rígida (ERTBJERG & POULANNE, 2017; HOPKINS & THOMPSON, 2001). Entretanto, além do comprimento, outras dimensões podem variar e é necessário considerar outras variáveis envolvidas no processo. Conhecer tanto as dimensões quanto a morfologia dos sarcômeros podem auxiliar no melhor controle nas etapas de produção da carne.

O comprimento do sarcômero é usualmente mensurado pelas técnicas de microscopia por contraste de fase ou difração de raios laser, mas podem ser sujeitas a erros e não fornecem dados de

outras dimensões, além do comprimento. A microscopia de força atômica (MFA) é uma das técnicas de microscopia de varredura de *probe* que permite obter imagens topográficas de amostras não condutoras de eletricidade (BERNARDES-FILHO & MATTOSO, 2005). Ela consiste no monitoramento da movimentação de um *cantilever*, que possui dimensões microscópicas, sobre uma amostra monitorando a força que ele exerce sobre a superfície desta. Portanto, a MFA seria uma alternativa para mensuração do comprimento do sarcômero. Este trabalho teve como objetivo apresentar uma metodologia de preparação de amostra e mensuração do comprimento do sarcômero pela técnica da MFA.

2. Materiais e Métodos

As amostras de fibras musculares foram obtidas a partir de pedaço do músculo *longissimus*, de animais da raça Nelore. Uma amostra de carne pesando 0,3g foi colocada em um tubo, de vidro de 50ml, contendo 5mL de água destilada e homogeneizada em um ultra turrax, modelo T10, marca IKA, por 30s. Em seguida, uma peneira com furos de 0,5mm de diâmetro foi utilizada para retirada de aglomerados e fibras longas. A amostra resultante foi adicionada água destilada até se obter o volume de 30mL. O líquido foi homogeneizado por agitação. O material foi depositado com micropipeta sobre placas de mica, com dimensão de 1 x 1cm, recém clivadas e colocado para secar em dessecador por 3 horas. Após este período de tempo, a lâmina de mica foi colada sobre lamina de vidro de microscopia óptica, para obtenção das imagens.

O equipamento de MFA utilizado neste estudo foi um Nanosuf modelo Flex, com sistema de varredura de 100 μ m e capacidade de compensação de eixo Z de 10 μ m. O modo de aquisição foi o vibracional (*tapping mode*). Os cantileveres utilizados foram do modelo TAP 150-G, com frequência de ressonância típica de 130KHz, fabricados pela Budget Sensors. O MFA foi montado sobre um microscópio invertido Zeiss modelo Axiovert 1.

As imagens de MFA foram obtidas em campos de varredura de 20 μ m com 256 linhas e frequência de varredura de 1,2Hz. Os sarcômeros foram localizados na lâmina de mica com o auxílio do microscópio invertido.

As dimensões dos sarcômeros foram medidas a partir das imagens com auxílio do *software* livre Gwyddion versão 2.53 (<https://gwyddion.net>). Este *software* de processamento permite obtenção de várias informações das imagens, entre elas: rugosidade total e parcial, extração de perfis, medidas de dimensões nos eixos x, y e z, processamento 3D com variação de posição de iluminação e representação da superfícies com várias faixas de tonalidade.

3. Resultados e Discussão

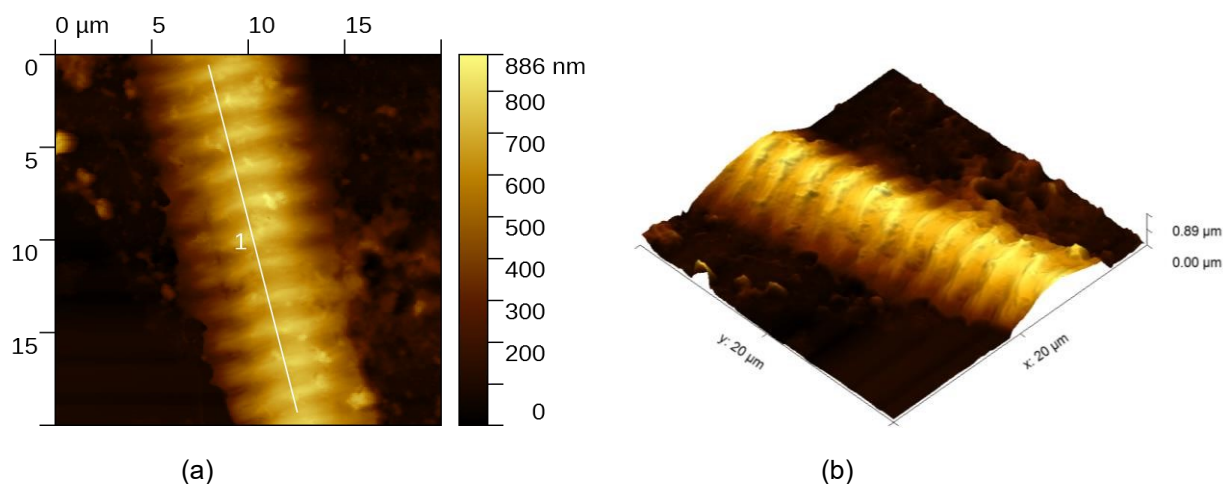


Figura 1. Imagem de sarcômero obtida com microscopia de força atômica; (a) imagem bidimensional com escala lateral de alturas; (b) imagem tridimensional;). A cor das imagens decorre da escolha da paleta de cores “gold” no software Gwyddion.

A figura 1 apresenta imagens de MFA de uma fibra de carne, em que é possível identificar a estrutura anelar repetitiva dos sarcômeros que a compõem. As partes mais escuras das imagens representam as superfícies da mica; as partes mais claras representam as partes mais altas que evidenciam a fibra muscular.

O comprimento do sarcômero foi obtido medindo, na linha traçada ao longo da fibra muscular (figura 1a), a separação entre as regiões mais altas da fibra muscular, como ilustrado na figura 2, foi utilizada para obter as medidas.

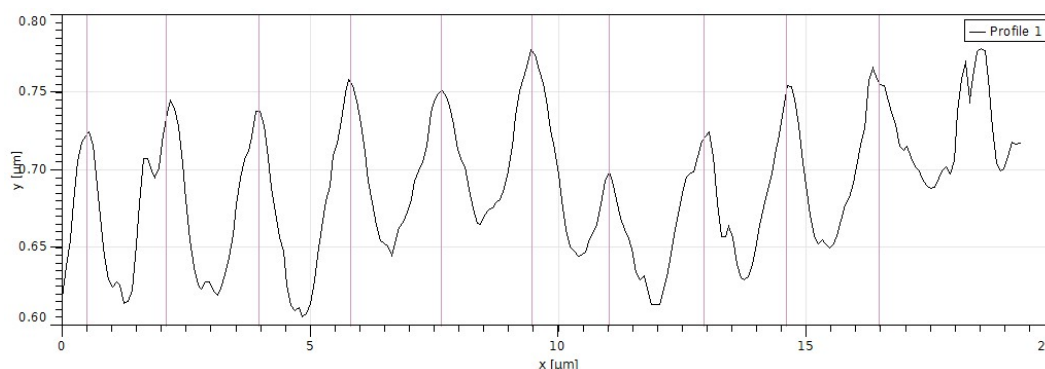


Figura 2. Perfil do sarcômero obtidos pela linha 1 da imagem da figura 1a.

Foram obtidas imagens de 4 fibras distintas em que foi possível obter o comprimento médio (no sentido da fibra) de 27 sarcômeros. O valor médio medido para o comprimento foi de $1,76 \pm 0,11 \mu\text{m}$.

4. Conclusões

As concentrações de material e solvente (água) se mostraram adequadas para obtenção de fibras separadas na superfície da mica, ou seja, sem a presença de aglomerados.

O uso do modo vibracional para obtenção das imagens de MFA não causou danos às fibras. Durante as varreduras não foram observados deslocamentos ou danos nas fibras causados pelas varreduras realizadas. Desta forma a metodologia aqui apresentada se mostrou adequada para fixação das fibras na superfície de suporte.

A qualidade dos dados obtidos permitiu obter a dimensão dos sarcômeros com precisão, pois o desvio obtido foi inferior a 7%.

A metodologia aqui apresentada se mostrou simples e eficiente para medição das dimensões de sarcômeros de fibras musculares, o que é útil para análise de qualidade de carnes.

Agradecimentos

Embrapa, Finep.

Referências:

- BERNARDES-FILHO, R.; MATTOSO, L.H.C. Microscopia de força atômica. In: Sebastião Vicente Canevarolo Junior. (Org.). Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo: Artliber Editora, 2005.
- HOPKINS, D.L.; THOMPSON, J.M. The relationship between tenderness, proteolysis, muscle contraction and dissociation of actomyosin, **Meat Science**, v. 57, e. 1, p. 1-12, 2001.
- ERTBJERG, P.; POULANNE, E. Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: a review. **Meat Science**, v. 132, e. 10, p. 139-152, 2017.