# INVESTIGAÇÕES SOBRE PRODUTOS DE TOMATE (*)

ARIOSTO BULLER SOUTO
Biologista do Instituto Adolfo Lutz

OLIVIA DE GODOY
Química do Instituto Adolfo Lutz

*Com o intuito de realizar estudos sistemáticos da flora de determinados alimentos, bem como de certas doenças, no Instituto Adolfo Lutz foi organizada uma nova Secção englobando as antigas sub-secções de microscopia, bacteriologia de alimentos e outras, com a denominação de Secção de Controles Biológicos.*

*Afim de nos colocarmos ao par do que já se fazia nos paises estrangeiros, fomos comissionados para estudar "in loco" a organização sanitária de vários deles.*

*Como delegados oficiais à "Primera Reunión Argentina de Agronomia" (1941), tivemos oportunidade de verificar a extensa série de pesquisas que se realizam presentemente sobre os alimentos argentinos e indústrias agro-pecuárias correlacionadas.*

*Da série de estudos sistematizados realizados e, em curso de realização, na recem-organizada Secção de Controles Biológicos, vários resultados estão sendo apresentados.*

* * *

As investigações que vem sendo realizadas desde há vários anos sob a orientação de J. B. Howard, na Divisão Microanalítica, transferida em 30 de Junho de 1940 para a Agência Federal de Segurança, trouxeram grande contribuição ao aperfeiçoamento dos contrôles das substâncias alimentícias.

---

(*) Recebido para publicação em 3 de Março de 1942.

Na Argentina o casal Soriano, após um estágio de vários anos nos Estados Unidos da América do Norte, durante os quais foram visitados centros dedicados a esses contrôles, com o auxílio de técnicos de grande capacidade como os Drs. M. Cataldi e L. Garassini, vem realizando obra básica e fundamental.

No Brasil, procuramos igualmente conduzir agora estudos de larga amplitude. Nesta nota estuda-se o estado sanitário dos produtos derivados de tomate, existentes no mercado brasileiro e procura-se, atravez desses estudos, fornecer ao Governo dados que permitam estabelecer legislação adequada. Escolhemos este assunto devido à crescente procura desses produtos no mercado interno e de exportação.

O presente trabalho compreende os capítulos seguintes:

I — Introdução
II — Regulamentação oficial
III — Agentes causais de deterioração do tomate e produtos derivados
IV — Métodos de contrôle
V — Críticas aos métodos
VI — Adulterantes
VII — Resultados
VIII — Discussão
IX — Conclusões.

Apêndice (em separado):

Projeto de lei que fixa o limite de filamentos de cogumelos nos produtos de tomate destinados ao mercado interno e à exportação.

## CAPÍTULO I

## INTRODUÇÃO

O estudo microscópico sistematizado dos alimentos tende a tomar cada vez maior importância.

Dados decisivos podem ser obtidos pela verificação da estrutura histológica das substâncias alimentícias. O exame microscópico é um complemento indispensavel no contrôle sanitário dos alimentos.

O exame microscópico direto revela a presença de bactérias. sejam vivas ou mortas. A contagem do número das mesmas fornece clara noção do estado higiênico dos alimentos. Em geral as elevadas numerações microbianas correspondem aos alimentos elaborados com matéria prima total ou parcialmente alterada. Alimentos enlatados em estado de completa deterioração poderão estar absolutamente estéreis, no entanto a contagem bacteriana demonstrará as precárias condições sanitárias do alimento em questão. Essa comprovação vem evidenciar que, com o evoluir dos métodos de contrôle, será muito dificil não só a fabricação de produtos alimentícios adulterados e falsificados como, sobretudo, o emprego de matéria prima de má qualidade na sua elaboração.

Esses métodos, cada vez mais aperfeiçoados, irão permitir uma sistemática análise retrospectiva da matéria prima utilizada na manufatura das substâncias alimentícias. Da possibilidade de certos industriais não estarem suficientemente informados sobre o estado de decomposição da matéria prima empregada, ou da evidente deshonestidade de outros que as empregam mesmo nas mais precárias condições, surge a necessidade de o Estado intervir para salvaguardar, tanto os interesses do público consumidor, como os da indústria honesta. E' dificil, sinão impossivel, em certos casos, ao consumidor, distinguir por simples degustação os produtos bem elaborados daqueles em que se empregou matéria prima alterada, o que é certo é que tais alimentos seriam prontamente rejeitados si isto fosse conhecido. Assim, industriais que trabalham honestamente, sofrem a concorrência desleal dos que, empregando matéria prima alterada, estão por esta mesma circunstância em condições de produzir por menor custo.

A contagem microbiana direta é o meio mais simples e mais prático para se determinar o estado sanitário dos molhos, dos extratos, da gelatina, das carnes defumadas, das linguiças, dos leites em pó e das massas de tomate. Um elevado número de filamentos de cogumelos, espóros, leveduras e bactérias, corresponde geralmente a demoras da matéria prima na fabricação, durante as quais se originam fermentações que tornam o produto de qualidade inferior. Em regra é possivel afirmar que cada *20.000.000* de germes por cc. corresponde a cerca de 1% em peso de material alterado. Esta relação se mantem proporcional até aos 20%.

Embora as numerações baixas, nem sempre correspondem aos alimentos elaborados com matéria prima sã, ao contrário, as altas contagens bacterianas indicam invariavelmente que foram utilizadas matérias primas decompostas ou alteradas.

A contagem dos cogumelos e das leveduras fornece tambem índice e, dos mais seguros, sobre o estado da matéria prima utilizada.

As contagens de cogumelos, bactérias e leveduras, nas conservas de tomate, são de inapreciavel valor no contrôle sanitário. Permitem ter noção muito exata da qualidade da matéria prima empregada. Permitem comprovar o emprego de tomates alterados, mal lavados ou submetidos a outras deficiências de elaboração, tais como a falta de higiene, as demoras na concentração da polpa e a má esterilização. Fornecem dados para um controle pregresso muito eficiente. As contagens altas correspondem, geralmente, a extratos elaborados com elevada proporção de tomates, total ou parcialmente alterados. Evidenciando que, para se obterem produtos de boa qualidade, com contagens baixas, devem ser empregados tomates sãos, isentos de toda decomposição e fabricados sob orientação técnica adequada. "Muitos industriais apesar da sua boa vontade não conseguiram introduzir nas fábricas processos modernos de classificação, limpesa e transporte do tomate, não tanto pelas dificuldades econômicas ou ausência de iniciativas progressistas, como por desconhecerem a influência prejudicial que a falta de uma adequada seleção e lavagem exercem sobre a qualidade sanitária e higiênica do extrato elaborado. Nas condições atuais, a falta de uma conveniente fiscalização bacteriológica do produto entregue ao consumo, retarda a introdução desses melhoramentos que logicamente aumentam o custo da elaboração, o que colocaria aos industriais que as praticassem em inferioridade de condições com relação aos que não as adotassem". Estas considerações do engenheiro agrônomo Rivas (1937), antes da regulamentação argentina, são perfeitamente aplicáveis às nossas condições atuais.

## CAPÍTULO II

## REGULAMENTAÇÃO OFICIAL

O Congresso dos Estados Unidos da América do Norte, em 7 de Julho de 1932, converteu em lei a classificação de alimentos enlatados, organizada pelo Departamento de Agricultura, Divisão

de Economia Agrícola, a ser oficialmente usada no serviço de classificação de frutos e vegetais enlatados. A 16 de Janeiro de 1933, aprovou o padrão de classificação para tomates enlatados. Em 25 de Junho de 1934, dispôs sobre o padrão provisório para a classificação da polpa de tomate enlatado e o produto denominado "Catsup". A 29 de Agosto de 1939 tornou extensivas tais disposições ao suco de tomate.

O padrão provisório de 25 de Junho de 1934 estabeleceu o exame microscópico, usando o método de Howard para conhecer a quantidade de filamentos de cogumelos, leveduras e de bactérias.

As amostras só poderão ser consideradas como boas quando preencherem, como tolerância máxima, os requisitos seguintes:

50% de campos positivos, com filamentos de cogumelos
100 milhões de bactérias por cc.
125 leveduras ou espóros por 1/60 de mm.$^3$

O Código de Agricultura dos Estados Unidos (artigo 752, ano 1935) estabeleceu as condições que requerem os tomates para serem utilizados nos estabelecimentos de enlatamento. Ficou alem disto estabelecido que no enlatamento dos tomates se deverá ter em conta uma série de exigências relacionadas com o peso do tomate, coloração, grau de maturação, características do recipiente, rotulagem, etc..

Não poderão ser considerados aptos si contiverem resíduos de raminhos e outros, não retirados pela lavagem simples com água, de maneira a estar de acordo com as tolerâncias permitidas pelo estabelecido, de modo geral, na lei americana de alimentos, drogas e inseticidas.

Na República Argentina o decreto n.º 70.150, de 2 de Novembro de 1936, que modificou o decreto n.º 51.226, de 7 de Novembro de 1934, sobre conservas de tomate, estabeleceu a análise microscópica para a determinação de filamentos de cogumelo, limitando sua quantidade ao máximo de 50% de acordo com a escala de Howard.

A lei n.º 113.497, de 4 de Setembro de 1936, regulamentou a matéria da maneira seguinte:

ART. 1.º — Os extratos de tomates destinados ao consumo interno a partir da próxima colheita 1937-1938 serão submetidos, alem da análise química, à análise microscópica para determinação dos filamentos de cogumelos, limitando sua quantidade máxi-

ma, de acordo com a escala de Howard ao seguinte: 75% no 1.º ano; 65% no segundo ano; 50% no terceiro ano e seguintes, para exportação. A tolerância será de 50% como limite máximo.

ART. 2.º — Os que infringirem as determinações do presente decreto sem prejuizo da multa que disponha a autoridade municipal do lugar em que se encontre a mercadoria com excesso de cogumelo, serão passíveis das penalidades que estabelece o artigo 8., da lei 11.275.

ART. 3.º — Solicita-se dos Governos provinciais a cooperação necessária, afim de que o presente decreto tenha aplicação nas zonas cuja vigilância está sob a sua jurisdição.

Posteriormente, tendo em vista que os fabricantes de extrato de tomate solicitavam elevar a 60% o limite de filamentos de cogumelos até o ano de 1942 e descer posteriormente a 55%, e no ano de 1945 a 50%, o Governo argentino convocou uma reunião especial do Departamento de Agricultura. Tendo em conta as conclusões chegadas foi promulgado o decreto n.º 79.832, de 18 de Dezembro de 1940 que, considerando:

que o decreto n.º 70.150, de 2 de Novembro de 1935, que estabeleceu o limite máximo de 50% (segundo a escala de Howard) de filamentos de cogumelo para os extratos de tomate foi modificado anualmente neste ponto a pedido dos industriais demorando-se assim o estabelecimento definitivo da porcentagem de filamentos de cogumelos a espera de que a indústria pudesse, sem inconvenientes, adaptar seus produtos às normas estabelecidas;

que atualmente os industriais melhoraram sensivelmente seus processos de seleção e limpesa do tomate, pelo que chegou o momento de impor uma medida limite definitiva para os cogumelos do extrato, que evite os inconvenientes das constantes prorrogações e modificações, que só trazem prejuizos ao prestígio do industrial do ramo, e que seja ao mesmo tempo uma garantia da qualidade do fruto empregado: são, maduro e limpo;

que não obstante o progresso da indústria mencionada, é evidente que existem zonas do paiz que devem esperar ainda um progresso maior nestas culturas, o qual está dependente do Poder Executivo por meio de suas repartições técnicas de colonização e ensino;

que, com o fim de evitar novos pedidos de modificação a escala descendente solicitada, de 60% a 50%, e com a idéia de que ao melhorar as condições expressas na representação dos fabricantes

de extratos, deve-se esperar o máximo empenho da indústria para a obtenção de um produto que aumente o prestígio da produção argentina de extrato de tomate, convem fixar o limite definiitivo e terminante em 60% de cogumelos (segundo a escala de Howard).

Em vista dessas considerações foi decretado:

ART. 1.º — A partir da colheita de 1940-41, e nos anos seguintes, os extratos de tomate destinados ao consumo interno, não poderão conter mais de 60% de filamentos de cogumelos, calculados pelo sistema de Howard.

ART. 2.º — Para a exportação, mantem-se 50% de filamentos de cogumelos.

ART. 3.º — O Departamento do Interior requererá das autoridades provinciais que adotem suas disposições em relação aos termos do presente decreto, para seu melhor cumprimento no interior do paiz.

O "Regulamento Bromatológico" da Província de Buenos Aires, na 2.ª edição de 1937, estabeleceu:

ART.. 410 — As conservas de tomates, alem de corresponderem às exigências do presente Regulamento Bromatológico, examinadas ao microscópio pelo método de Howard e Stephenson, não acusarão um número de filamentos de cogumelos maior do que 50% de campos observados.

Antes da expedição do decreto dispondo sobre a tolerância máxima de cogumelos os exames realizados em 7 fábricas por A. Soriano, na República Argentina, demonstrou um mínimo de 58% e um máximo de 96% de campos positivos. Após o decreto os por cento de campos com filamentos de cogumelos está oscilando entre um mínimo de 4% e um máximo de 60%. Entre 12 fábricas controladas, somente 6% das amostras estavam fora do limite de tolerância e 2% no limite. Isto é uma excelente contribuição demonstrativa da necessidade de ser expedida no Brasil a regulamentação adequada. Foi a 1.ª Conferência Bromatológica Nacional, reunida em Santa Fé, de 3 a 6 de Julho de 1935, que forneceu os dados seguros para elaboração das leis adequadas. Aquela conferência estabeleceu como tema oficial a necessidade de complementar as especificações para elaboração dos produtos de tomate, com o estabelecimento de cifras limites para bactérias, leveduras, espóros e cogumelos, baseadas nos métodos de Howard. Recomendou, alem disto, que não fosse permitida a presença de amido dosi-

ficavel nas conservas de tomate. Tornou recomendavel fazer a dosificação do íon potássio, a relação do extrato seco, da matéria orgânica e as observações relativas ao escurecimento das massas e extratos.

## CAPÍTULO III

## AGENTES CAUSAIS DA DETERIORAÇÃO DO TOMATE E PRODUTOS DERIVADOS

Os principais agentes causais da deterioração dos tomates são os cogumelos ,as leveduras e as bactérias, parasitos ou saprofitos. Esses micro-organismos podem atacar o fruto antes da colheita, durante o crescimento e a maturação; ou então após a colheita, durante as demoras de elaboração, quando os frutos expostos ao sol e às poeiras sofrem ações fermentativas, na falta de armazens de conservação, refrigerados, adequados. Howard no trabalho: "Outlines for instruction in tomato microscopical methods" fornece excelente contribuição sobre esses vários agentes causais da deterioração.

### 1.º) BACTÉRIAS

As bactérias esporuladas aeróbias ou anaeróbias, estritas ou facultativas, gosam papel essencial como agentes causais da deterioração dos produtos enlatados de tomate. A fraca tensão de oxigênio oferece condição ideal para a proliferação de certos anaeróbios gosogênicos como o *Clostridium sporogenes* e o *Clostridium welchii* ocasionando o estufamento das latas. Esses anaeróbios podem produzir cheiro pútrido desagradavel. Entre os esporulados aeróbios o *B.subtilis, B.ramosus, B.ruber, B.prodigiosus* e o *B.viscosus* desempenham importante papel no estufamento das latas. Alguns resistem ao aquecimento a 120° C. e mais. Certos termófilos estritos produzem $CO_2$ e $H_2$ nos produtos de tomate enlatados, são em geral anaeróbios muito resistentes ao aquecimento.

Outros agentes bacterianos de deterioração do tomate e de seus produtos são: o *Clostridium butyricum* que "rancifica" os concentrados, dando cheiro e gosto desagradaveis muito característicos; o *Cl. amylobacter,* os lactobacilos que "azedam" os concentrados, assim como os germes do grupo coliforme. A presença da

*E. coli* e dos coliformes "*citrato-negativo*" poderá ser indicativa da contaminação fecal dos concentrados.

Nos tomates podres algumas das principais formas de deterrioração são produzidas por bactérias. Produzem amolecimento dos tecidos do tomate. Ao microscópio esses microorganismos aparecem sob a forma de bastões curtos ou longos, finos ou grossos, isolados ou em cadeias, e de cócos isolados ou agrupados. As bactérias aumentam muito nos produtos colocados em barricas de madeira ou expóstos ao ar e às poeiras. Os produtos de tomate não são suscetiveis de sofrer esterilização alta, assim é conveniente protege-los o mais possivel de todas as possíveis fontes de contaminação durante as fases de elaboração. E' indispensavel proibir a venda dos produtos de tomate em embalagem acima de 5 quilos em pacotes, em barricas de madeira ou em latas. Geralmente a esterilização é feita mergulhando as latas já fechadas em água em ebulição, durante 40 a 60 minutos, a temperatura no interior das latas alcança entre 65-70°C..

É evidente que a esta temperatura numerosos germes podem resistir, principalmente os esporulados. Dentre estes merecem a atenção é o "*Clostridium botulinum*". O "*Cl. botulinum*" é um anaeróbio esporulado, grande, Gram positivo com espóros ovais sub-terminais. Cresce bem ao meio de Van Ermengem a 28°C. Produz nas conservas alteradas um cheiro butírico penetrante e abundante gás. As provas de toxicidez dos alimentos suspeitos são feitas em cobaias ou camondongos brancos. Os sintomas típicos aparecem dentro de 24 horas e a morte sobrevem si existe muita toxina. Nos produtos de tomate, em virtude do valor do pH, a tendência é formar quantidade muito moderada de toxina botulinica e, isto mesmo, só após incubação muito prolongada e contaminação massiça do produto. Crues (1938) referindo-se a casos de botulinismo escreve que "Tomato sauce of pH 4,4 caused one outbreak, as did also, in one case, home brew made of home-canned fruits, sugar, water, home-canned tomatoes, etc.".

## 2.°) LEVEDURAS

São de grande importância como produtores de deterioração de produtos hortícolas. Variam muito as leveduras encontradas nos produtos de tomate, no tamanho e na forma; em geral são elíticas, quasi esféricas, lembrando os espóros de certos cogumelos.

As cadeias são raras em virtude da agitação que sofrem durante a elaboração. As leveduras produzem amolecimento dos tecidos do tomate, formando uma camada branca sobre a mesma. Fábricas em condições higiênicas dificientes apresentam nos produtos de tomate grande quantidade de leveduras associadas a cogumelos (principalmente do gênero *Oidium)* e a bactérias. São de dificil identificação. Na Secção de Contrôles Biológicos, em colaboração com os Drs. F. Almeida e C. S. Lacaz, O. Barros (1941) publicou recentemente uma chave que facilita em muito a classificação das leveduras.

### 3.º) COGUMELOS

Os cogumelos são altamente responsáveis pela deterioração de muitas substâncias alimentícias. Atacam a matéria orgânica, onde se desenvolvem muito bem. São constituidos por filamentos delgados, os micélios, que substituem as raizes e os talos dos vegetais superiores. Sobre o micélio se desenvolvem espóros de diferentes cores, brancos, cinzentos, pardos, negros, amarelos ou verdes. Os cogumelos diferem uns dos outros principalmente nos métodos de produção de esporos e conídios. Os cogumelos que mais frequentemente produzem a deterioração dos tomates são: (a) *Alternaria,* (b) *Colletotrichum,* (c) *Fusarium,* (d) *Mucor e Rhizopus,* (e) *Oidium,* (f) *Penicillium,* (g) *Aspergillus* e (h) *Botrytis.* Destes os 3 primeiros são distintamente espécies do campo, parasitando o fruto ainda na planta; enquanto que os demais o contaminam depois da colheita.

a) *Alternaria* — (Família *Dematiaceae).*

E' uma das espécies que produzem a deterioração do tomate no campo. Causa o enegrecimento dos tecidos produzindo a "podridão negra" (black rot ou podredumbre negra). O micélio é septado e de espessura média. Os conidióforos são bastante escuros, curtos às vezes alongados. Os conídios são septados transversalmente, sendo os segmentos em muitos casos divididos por septos longitudinais. Os conídios são dispostos em cadeias, sendo o mais velho e o mais desenvolvido o elemento basal; o elemeno apical é pequeno e não completamente septado. Como as cadeias de conídios são fracas, podem se fragmentar facilmente. Esta é mais uma das dificuldades encontradas na diagnose dos elementos deste gênero, principalmente

porque este é um carater genérico que separa os 2 gêneros: *Alternaria* e *Macrosporium*. No gênero *Macrosporium* os conídios estão sempre isolados e jamais em cadeias. O gênero *Alternaria* é o gênero mais importante em relação à produção da deterioração dos tomates na planta.. Principalmente dos tomates que no campo apresentam-se fendidos ou crestados pelo sol. *Fig. 1*

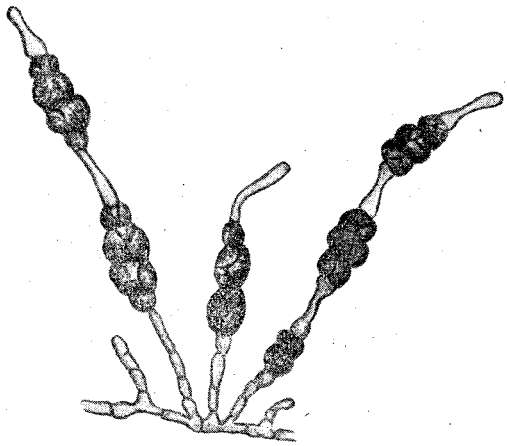


FIG. 1
*Alternaria* — Cadeia de conidios (Saccardo)

b) *Colletrotichum* — (Família *Melanconiaceae*).

Os cogumelos deste grupo produzem a "antracnose" (anthracnose spots) do tomate, enfermidade comum que se inicia sobre o fruto verde. Caracteriza-se pelas manchas circulares, amarelo-avermelhadas, algo deprimidas e com os bordos elevados. Por baixo destas manchas a polpa fica mole e entra em decomposição sob a influência bacteriana. Esta forma de cogumelo é caracterizada pelo crescimento de micélio e dos espóros, que se faz exclusivamente debaixo da pele, não chegando a se aprofundar na polpa. O micélio é fino e sem cor. Os filamentos micelianos têm menor diâmetro de que qualquer outro cogumelo que infesta os tomates. Os espóros são pequenos e elíticos. *Fig. 2*

c) *Fusarium* — (Família *Tuberculariaceae*).

Produzem a "gangrena" ou "podridão apical do tomate". Esta doença exclusiva dos frutos, se inicia com uma mancha deprimida pardo verdosa, pálida, que se localiza no ápice ou nas suas proxi-

midades, sempre na metade oposta e da inserção do pedúnculo, e, se extende paulatinamente em zonas concêntricas, que podem chegar a ocupar um terço da superfície do tomate verde ou maduro.

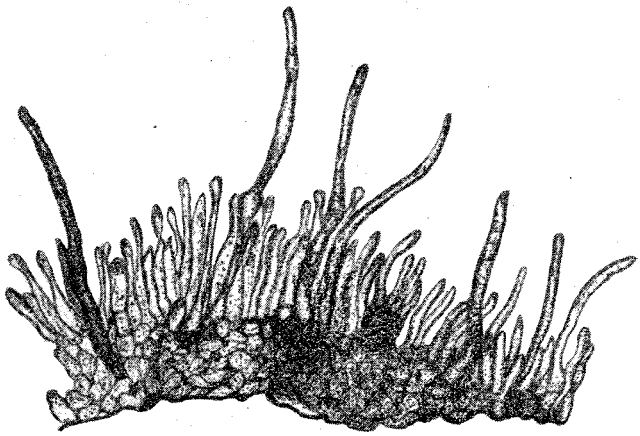


FIG. 2
*Colletotrichum* (Southworth).

A porção aérea do micélio é formada por hifas delgadas hialinas, tabicadas, ramificadas, entrelaçadas, que apresentam engrossamentos laterais ou clamidospóros, piriformes, ovais, continuos ou tabicados. Os espóros são de forma lunar divididos transversalmente por septos em 2 ou mais segmentos. *Fig. 3*

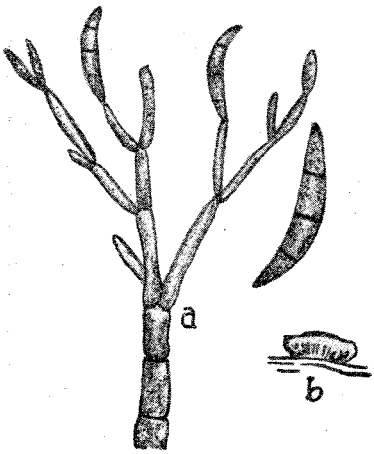



FIG 3
*Fusarium* — a) detalhes dos conidióforos e conídios; b) esporodoquio (Saccardo).

d) *Mucor e Rhizopus* — (Família *Mucoraceae*).

Produzem as "fendas" do tomate (bakers ou goteras), porque quando invadem a polpa provocam a saida de suco, com cheiro mais ou menos desagradavel. Esses 2 gêneros são agrupados, pois pela sua aparência, modo de crescimento e efeito sobre os tomates são muito similares. O micélio não é septado, contendo grânulos grossseiros. A porção aérea é frouxa com aparência de algodão. Os espóros são produzidos em pequenos esporângios em forma de bola,

que a olho desarmado se apresentam como pintas negras disseminadas sobre micélios de algodão. Os espóros contidos no esporângio são pequenos corpos, esféricos, parduscos. *(Fig. 4 e 5)*. Este cogumelo invade prontamente o tamate após a colheita, sendo necessárias a lavagem e a seleção rigorosa.

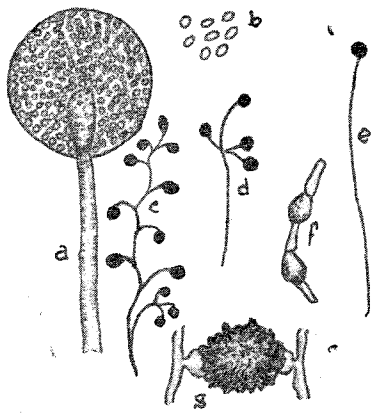



FIG. 4

*Mucor* — a) Esporangio com columela e esporangióforo; b) espóros; c. d) esporangióforos ramificados; e) esporangióforo simples; f) clamidosporos; g) zigosporo. (Buch).

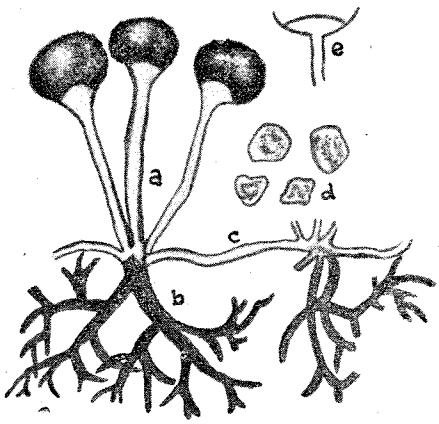



FIG. 5

*Rhizopus* — a) esporangióforos, esporangia; b) rizoides; c) estolone; d) esporos; e) columela e apófise (Buchanan).

e) *Oidium* — (Família *Moniliaceae*).

Certas espécies deste gênero produzem o "polvilho" do tomate. Existe principalmente nas fábricas e usinas de produção dos concentrados de tomate, sendo das espécies mais resistentes à destruição. Sua presença em grande quantidade indica deficiênciias no trabalho, más instalações e falta de higiene. No tomate produz micélio compacto, muito branco e algo alaranjado. A porção aérea, na qual crescem os espóros, tem aparência aveludada e não cresce na superfície em extensão grande. Sobre os utensílios da fábrica forma capa viscosa delgada e cheiro característico. O micélio superficial de hifas delgadas e curtas algo tabicadas, de conteudo violáceo ou verde amarelento. Não tem corpo frutífero especial; os espóros se formam sobre prolongamentos das hifas vegetativas, que se segmentam ou desarticulam, produzindo células cilíndricas, ovóides ou fusiformes, isoladas, denominadas oidios, sendo relativamente facil de identificar por sua forma e tamanho quando os extratos são observados no microscópio. *Fig. 6.*

O vasilhame poluido por este cogumelo apresenta cheiro característico fétido, particular, facilmente assinalado por aqueles

que estão familiarizados com ele. Esse cheiro se transmite ao produto contaminado.

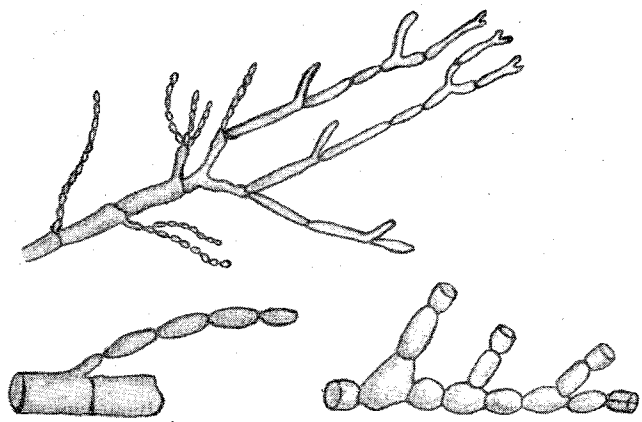


FIG. 6
*Oidium* — Formação de oídios, (Buchanan).

f) *Penicillium* — (Família *Aspergillaceae*).

São muito frequentes e produzem grandes danos. No Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, Thom fez um completo estudo do g.*Penicillium*. Os cogumelos deste grupo são encontrados em substâncias contendo açucar, tais como frutos, sucos, geléias. Crescem bem entre 15 a 25.,C.. Sobre tomates ou extratos guardados um certo tempo produzem uma camada verde, azul grisácea e cheiro e gosto de bolor muito desagradáveis. Micélios pouco extensos, brancos, que quando aparecem os espóros adquirem coloração verde opaca ou azul grisácea, donde o nome de *Penicillium glaucum* ou *P. expansum*. Os espóros ovóides ou elíticos no interior de conidióforos formados em uma hifa fertil erecta, que dá verticilios de esterigmata, às vezes em camada única, outras vezes em camadas superpostas. Esses conidioforos ramificados na extremidade com 4 a 10 ramificações, dão ao conjunto aspécto típico de pincel *Fig. 7*.

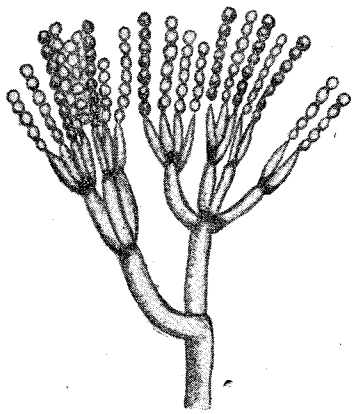


FIG. 7
*Penicillium* — Conidióforo e conídios (Brefeld)

g) *Aspergillus* — (Família *Aspergillaceae*).

Não é comum no tomate, apesar de ser dos que mais contribuem para alterações das substâncias alimentícias. Não produz gosto e cheiro de bolor. O micélio é de consistência mais debil que do *Penicillium*, os espóros estão agrupados em cachos esféricos, em conidióforos de coloração negra, como no *A. niger*, ou marron, *A. glaucus*, e, às vezes, amarelo alaranjada. A reprodução assexuada dos *Aspergillus* é sempre por meio de conidióforos, com aspécto constante para cada espécie. Esses conidióforos são formados por hifa eretil que se inicia ao longo do filamento miceliano, em célula especial de paredes mais espessas e que se denomina célula podal. A célula podal tem forma de T e Y. Dela sáe a estipe, ora contínua, ora septada, que se dilata na porção terminal para formar a *vesícula;* esse vesícula dá origem em toda sua superfície, ou só na região apical, a uma série de células que, dispostas radialmente, se denominam esterigmata. De cada uma dessas esterigmata, nascem os novos esterigmata, chamados secundários ou diretamente cadeias simples de conídios. O conjunto da vesícula com os esterigmata e o conído denomina-se cabeça do *Aspergillus*. *Fig. 8.*

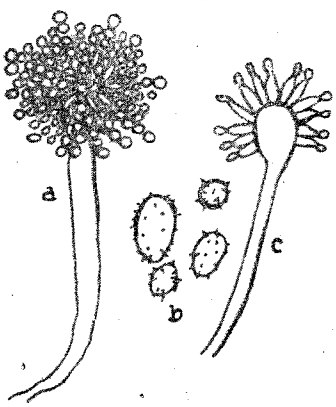



FIG. 8

*Asergillus* — a) conidióforo e cabeça de Asergillus; b) conídio; c) detalhe da cabeça. (Buchanan).

h) *Botrytis* —

São raramente encontrados como causa da terioração dos tomates, embora sejam comuns em alguns outros tipos de deterioração de frutas. O micélio forma uma massa branco acinzentada. Os espóros nascem das ramificações do micélio como cachos de uva. Estes espóros são elíticos e individualmente se assemelham a células de levedura no tamanho e na forma. *Fig. 9.*

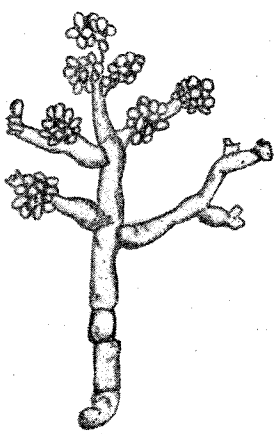


FIG. 9

*Botrytis* — Conidióforos, e conidios. (Frank).

## CAPÍTULO IV

## MÉTODOS

A lei americana sobre o contrôle de alimentos baseia o contrôle dos produtos de tomate no método de análise microscópica de Burton J. Howard e Charles H. Stephenson, da Divisão Microanalítica, da Federal Security Agency. Este processo que permite não só o contrôle sanitário, como verificar as condições da matéria prima utilizada, se baseia na contagem dos cogumelos, bactérias e leveduras considerados como os agentes principais da deterioração.

Certas técnicas têm sido sugeridas com o fim de melhorar o método original de Howard e Stephenson; assim Ch. Vincent propôs a contagem das bactérias em lâminas coradas pelo azul de Loeffler, Bertarelli propôs a filtração prévia da emulsão destinada à preparação. São pequenas modificações que não lograram entrar na prática corrente. Assim é sobre o processo original dos autores americanos que se têm baseado todas as legislações referentes ao assunto.

Além do método de Howard para contagem de cogumelos, leveduras e bactérias são aquí descritos os métodos de Ch. Vincent, para contagem de bactérias, o método de Smith para verificação de cogumelos em suco de tomate e em produtos enlatados contendo produto de tomate e o processo de Howard para determinação de fragmentos de insetos nos produtos de tomate.

### *Contagem de cogumelos*

Material necessário:

1) Microscópio equipado com platina à charriot, aumento compreendido entre 80 e 120 diâmetros e tubo extensivel para poder focalizar um campo circular de 1,5 milímetros quadrados.

2) Objetivo micrométrico de 2 mm. dividido em 200 partes para medir o diâmetro do campo de observação que deverá ter 1,382 mm..

3) Câmara de Howard para a contagem de filamentos micelianos. Formada por uma lâmina grossa, em cujo centro, um pouco deprimido, encontra-se um disco polido de diâmetro de 19 mm., tendo dois cavaletes que servem de assento à lamínula, dispostos de

tal maneira que, entre o disco e a lamínula, permaneça um espaço de 0,1 mm., no qual se colocará uma camada de extrato a examinar.

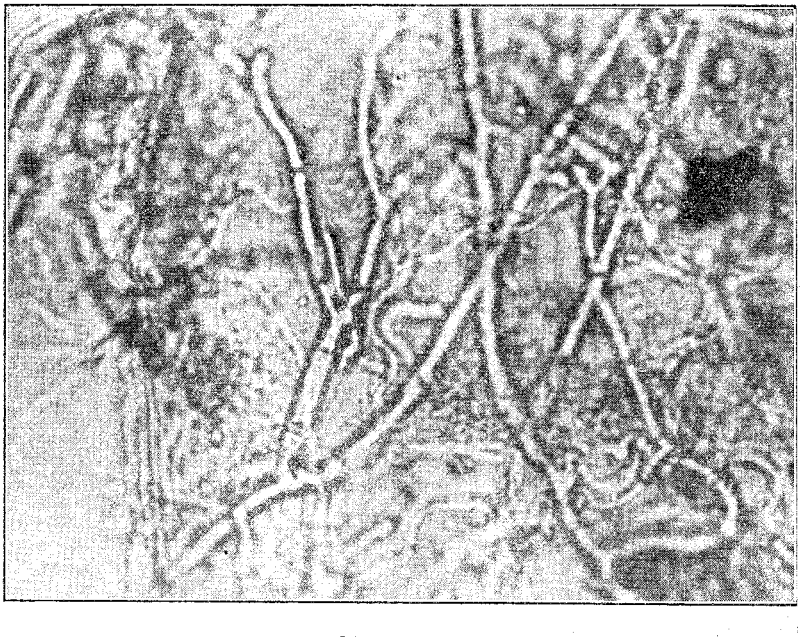
4) Proveta graduada de 10 cc..
5) Espátula ou bisturí de tamanho médio.
6) CORANTES:

Solução de azul de algodão, preparada do seguinte modo:

| | |
|---|---|
| Lactofenol (partes iguais de fenol, ácido láctico, glicerina e água) ..... | 100 cc. |
| Azul de algodão (Baumwolblaw) ..... | 0,1 gr. |

*Modo operatório:* 1) Diluir a amostra na proporção de 1/3, homogeneizando bem. Howard indica a diluição com água; nós empregamos a técnica de Rivas, com o fim de facilitar o reconhecimento de cogumelos, fazendo a diluição com solução de azul de algodão, que, ao corar o protoplasma do cogumelo, torna mais visíveis as paredes e tabiques do micélio.

O azul de algodão não cora os protoplasmas velhos, pelo que, antes de anotar um campo regativo, é necessário aprofundar a observação do mesmo, para constatar si não ficou algum cogumelo por corar. É preciso notar que o azul de algodão cora tambem al-



MICROFOTO 12

Blóco de filamentos micelianos encontrado em conservas de tomate (orig.)

guns elementos anatômicos do tomate, como as células pilíferas desprendidas ou isoladas que, por sua forma, são fáceis de diferençar dos cogumelos. *Fig. 10, 11 e 12.*

2) Extender, co ma espátula, uma gota da diluição sobre a câmara de Howard e colocar a lamínula, de modo a obter uma camada uniforme do material e examinar. É muito importante para a exatidão dos resultados que a mistura seja bem homogênea e, que, sobre a câmara, seja colocada a quantidade justamente necessária de amostra para ocupar todo o disco sem extravassamento laterial; os aneis de Newton deverão ser visíveis. (Formam-se, quando se ajustam os cristais de superfícies polidas e são devidos à decomposição da luz).

3) Levar a preparação ao microscópio e observar com aumento aproximado de 100 diâmetros, 25 campos diferentes de 1½ mm. quadrados, contando os positivos ou negativos pela presença ou ausência de cogumelos. Para que um campo se considere positivo é necessário que o comprimento do cogumelo, ou as pontas dos cogumelos visíveis, si houver vários, excedam a 1/6 parte do diâmetro do campo. O disco micrométrico deverá ser usado para essas verificações.

4) Carregar novamente a câmara e repetir a contagem.

5) Somar os campos positivos das duas observações multiplicando por 2, para referir os resultados a 100% de campos positivos.

A *Fig. 15* mostra tambem uma vista lateral, em detalhe, de câmara de Howard. A área chata circular A, as áreas de contacto B e a lamínula de 33×33mm. aí estão bem visíveis. Estas áreas deverão ser rigorosamente limpas antes do uso da câmara. Deve ser usado o ácido clorídico forte para esta limpesa. Lavar depois perfeitamente com água distilada, com álcool e, finalmente com acetona afim de retirar todas as partículas de poeira.

A câmara foi construida de modo a ter uma camada de líquido com a altura de 0,1 mm., quando a lamínula estiver em contacto suficiente para produzir os discos de Newton. Os discos aparecem entre as superfícies em contacto. Estes discos ou aneis coloridos, como já referimos acima, são um bom critério da exatidão do contacto. A dificuldade em obter esses discos é indicação da insuficiente limpesa das superfícies em contacto. O diâmetro do campo de 1.382 mm. é mais facilmente obtido com objetiva de 16 mm. e a

(*) As figs. coloridas acham-se no final do artigo.

ocular 10X, devendo o tubo do microscópio ser estandardizado de modo a ser obtido o campo desejado. Como só são considerados na contagem os filamentos que têm aproximadamente 1/6 do diâmetro do campo, usamos com muito proveito o "Disco micrométrico de Howard" que deve ser ajustado no interior da ocular.

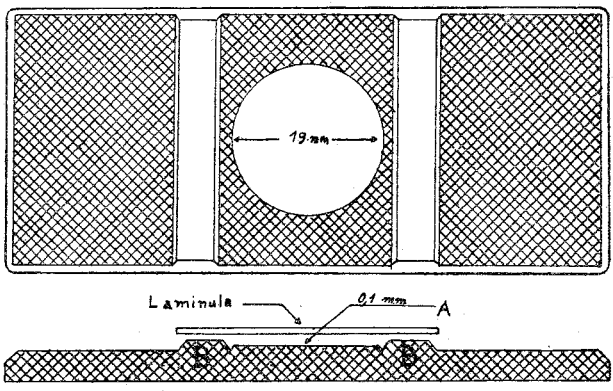



FIG. 13
Camara de Howard para contagem de micélios de cogumelos e, vista lateral, em detalhe.

O "Disco micrométrico de Howard" é um disco de vidro gravado com um quadrado grande e de tamanho tal, que se adapta exatamente ao diâmetro do campo. Está dividido em 6 partes, em ambas direções, formando 36 pequenos quadrados iguais. Os filamentos para serem incluidos na contagem deverão exceder o tamanho de um pequeno quadrado. *Fig. 13a.*

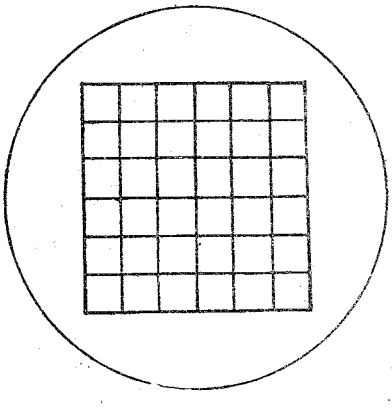


FIG. 13a
Disco micrométrico de Howard.

*Contagem de leveduras e espóros*

Material necessário:

1) Microscópio, como indicado anteriormente, equipado com os elementos necessários para obter aumento de 200 diâmetros em observação direta.

2) Lâmina de Thoma para contagem de sangue. Seu retículo ocupa uma superfície de 1 mm. quadrado, dividido por linhas tri-

plas, em 16 quadrados medianos de 0,0625 de mm. quadrados, que por sua vez estão subdivididos por linhas simples em 25 quadrados pequenos, de 0,0025 mm. quadrados, ou seja 1/400 mm. quadrados. Uma vez colocada a lamínula fica entre esta e a lâmina um espaço de 0,1 mm. de altura, formando uma câmara de 0,1 mm. cúbico.

3) Uma proveta de 30 c.c., uma de 100 c.c. e outra de 200 c.c..

4) Um Erlenmeyer de 100 c.c. e outro de 250 c.c..

5) Uma espátula pequena.

6) Um bastão de vidro com ponta redonda e grossa.

7) CORANTES:

a) Solução de azul de metileno alcalino de Loeffler:

| | |
|---|---|
| Solução alcoólica saturada de azul de metileno ..... | 1 vol. |
| Solução aquosa de hidrato de sódio a 1:10.000 ..... | 2 vol. |

b) Fucsina fenicada de Ziehl:

| | |
|---|---|
| Fucsina ..... | 1,0 |
| Ácido fênico cristalizado ..... | 5,0 |
| Álcool absoluto ..... | 10 cc. |
| Água distilada ..... | 90 cc. |

Em gral de vidro dissolver a fucsina e o ácido fênico, juntando-se álcool, gota a gota; juntar 60 c.c. de água, passar para vidro escuro e lavar o gral com o restante de água. Filtrar depois de 48 horas.

c) Solução de formalina a 40%.

d) Água distilada.

*Modo operatório:* 1) Na proveta graduada colocam-se 10 c.c. de água distilada e a amostra a examinar até que o líquido chegue a marcar 15 c.c..

Mistura-se bem e passa-se para um Erlenmeyer, lavando-se a proveta com pequenas porções de água distilada.

2) Juntar 60 gotas de solução de azul de metileno e ferver durante 3 minutos, suavemente.

3) Juntar 60 gotas de fucsina de Ziehl e ferver durante 3 minutos,.

4) Deixar esfriar lentamente.

5) Juntar 8 a 10 gotas de formol para precipitar o excesso de corante e facilitar a conservação do preparado.

6) Levar o volume a um múltiplo de 15, com água distilada, diluindo a maior volume, à medida que aumente o conteudo microbiano.

7) Agitar bem, deixar repousar 3 a 5 segundos e retirar uma gota grossa com bastão de vidro. a qual é colocada sobre o retículo da câmara de Thoma, cobrindo-se com lamínula. A preparação será correta quando aparecerem os aneis de Newton e não houver derrame lateral de líquido, apesar de ocupar todo espaço existente entre a câmara e a lâmina.

8) Levar a lâmina ao microscópio, deixar repousar 15 minutos, para que os germes permaneçam em um mesmo plano e contar as leveduras e espóros em 8 quadros grandes, que correspondem à metade da câmara. Contam-se somente os espóros e leveduras que por sua forma e tamanho sejam facilmente identificaveis. *Fig. 14.*

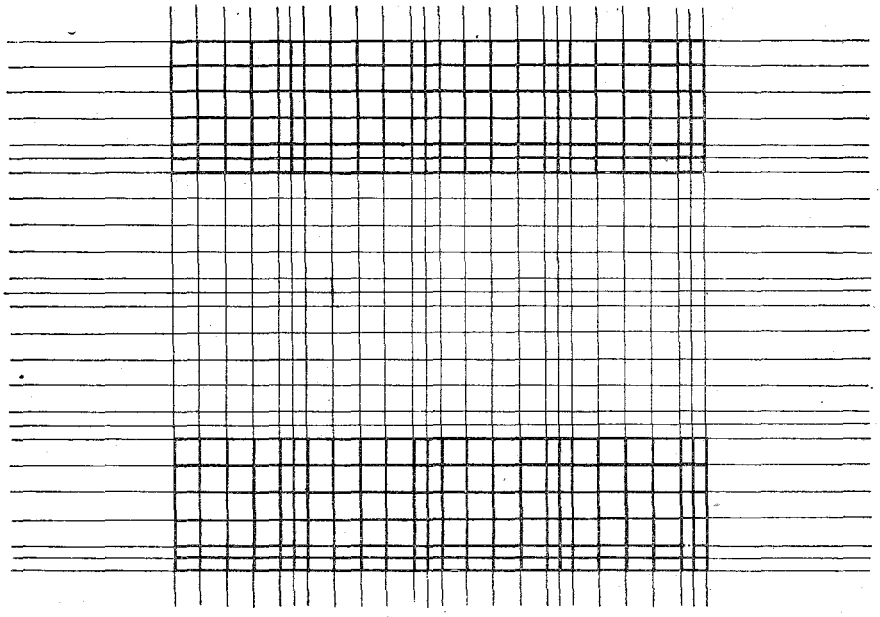


FIG. 14
Reticulo da camara de Thoma, estando marcados com linhas mais grossas os quadradinhos onde deverão ser contadas as leveduras e espóros. (Seg. Rivas).

*Contagem:* O volume total da câmara é de 1/10 mm. cúbicos (1 x 1 x 0,1 mm.) é como só são contados os germes da metade, o número obtido correspondente a 1/20 de cúbido. Para ter o volume de amostra a que corresponde o número de leveduras e espóros encontrados, sobre a diluição com que se carregou a câmara, ter-se-á que dividir 1/20 pela diluição empregada.

Supomos haver encontrado 56 leveduras e espóros em uma amostra diluida 9 vezes (5 de extrato 4,0 c.c. de água), temos que esse número está contido em 1/20 dividido por 9,0 que é igual a 1/180 mm. cúbicos da amostra, donde deduzimos que 1 mm. cúbico conterá:

$56 \times 180 = 10.080$ leveduras e espóros; em 1 c.c. terá:

$10.080 \times 1,000 = 10,080.000$ leveduras e espóros.

Howard refere suas numerações a 1/60 mm. cúbicos da amostra porque esse é o volume da amostra a que corresponde a numeração, quando se carrega a câmara com uma diluição ao terço (5 c.c. de extrato em 10 c.c. de água). para referir as quantidades obtidas de numeração com outras diluições múltiplas de 15, a 1/60 mm. cúbicos da amostra, é suficiente multiplicar a quantidade de leveduras e espóros encontrada pelo quociente resultante da divisão da diluição por 3.

No exemplo citado: $\frac{3}{9} = 3$; $56 \times 3 = 168$, que é o número de leveduras e esporos correspondente a 1/60 mm. cúbicos da amostra examinado.

FATORES PARA DETERMINAR O NÚMERO DE LEVEDURAS E ESPORÓS ENCONTRADOS EM 1/2 CÂMARA A 1/60 MM. CÚBICO E A 1CM³ DA AMOSTRA DE TOMATE ANALISADA:

| Diluições | N.º de espóros e leveduras em: *1/60 mm.³* | *1 cm.³* |
|---|---|---|
| 1/3 (5 c.c. amost. e 10 c.c. água) | n x 2 | 60.000 |
| 1/6 " " 25 " | n x 2 | 120.000 |
| 1/9 " " 40 " | n x 3 | 180.000 |
| 1/12 " " 55 " | n x 4 | 240.000 |
| 1/15 " " 70 " | n x 5 | 300.000 |
| 1/18 " " 85 " | n x 6 | 360.000 |
| 1/21 " " 100 " | n x 7 | 420.000 |
| 1/24 " " 115 " | n x 8 | 480.000 |

n: significa número de leveduras e espóros em leitura direta.
amost.: significa amostra.

*Observações:* 1) No método clássico de Howard a contagem de leveduras e espóros se faz diretamente, sobre a amostra diluida com água sem empregar corantes. Desta forma, em extratos ricos de germes, como os que examinamos, o método nos resultou embaraçoso pelas dificuldades encontradas em individualizar os germes.

Por esta razão é vantajosa a modificação sugerida por H. Miller, que consiste em corar as leveduras, espóros e bactérias com azul de metileno e fucsina, conforme foi anteriormente indicado.

2) Ao fazer a contagem o analista deve evitar de contar duas vezes os germes que estiverem sobre as linhas divisórias dos quadrinhos da lâmina, para o que é conveniente acostumar-se a registrar os localizados unicamente sobre dois lados, sempre os mesmos em cada quadrado; por exemplo: o superior e direito de cada quadrinho.

*Contagem de bactérias*

Material necessário:

1) Microscópio, indicado anteriormente, equipado com elementos necessários para conseguir um aumento de 500 diâmetros em observação direta.

2) Carrega-se a câmara de Thoma com o mesmo material e em idêntica forma que para a contagem de leveduras e espóros e deixa-se repousar 15 minutos.

3) Contam-se as bactérias em forma de bastõesinhos contidos em 5 retângulos de 5 quadrinhos cada um, distribuindo-os de modo que estejam em posição equidistantes — um em cada canto da lâmina e outro próximo do centro. *Fig. 15*

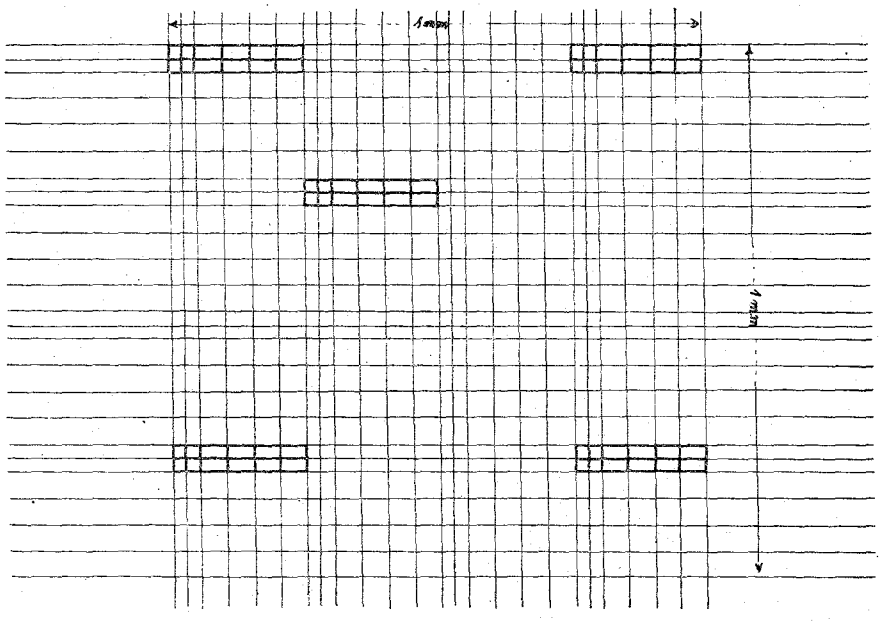



FIG. 15
Reticulo da camara de Thoma, indicando com linhas mais grossas os quadradinhos onde deverão ser contadas as bacterias. (Seg. Rivas).

*Contagem:* O número *n* de bacilos encontrados, corresponde a 1/160 mm.³ de diluição. Com efeito, a câmara completa, composta de 400 quadrinhos contem 1/10 mm.³; um quadrinho terá: 1/10 dividido por 400, o que equivale a 1/4.000 mm.³. 25 quadrinhos: 1/4000 × 25 25/4.000 = 1/160 mm.³.

O número n de bacilos determinado em 1/160 mm.³, multiplicado por 160, pela diluição empregada e por 1.000, dará as bactérias em forma de bastonete em 1 cm.³ de extrato.

FATORES PARA DETERMINAR O NÚMERO *N* DE BACTERIAS DE 1/160 MM.³ DE DILUIÇÃO EM 1 CM.³ DA AMOSTRA

| Diluição | N.º de bactérias em 1 cm.³ da amostra | | |
|---|---|---|---|
| 1/3 | n x | 480.000 | (160 x 3 x 1.000) |
| 1/6 | n x | 960.000 | " 6 " |
| 1/9 | n x | 1.440.000 | " 9 " |
| 1/12 | n x | 1.920.000 | " 12 " |
| 1/15 | n x | 2.400.000 | " 15 " |
| 1/18 | n x | 2.880.000 | " 18 " |
| 1/21 | n x | 3.360.000 | " 21 " |
| 1/24 | n x | 3.840.000 | " 24 " |

*Observações:* 1) Só se computam as bactérias bem caracterizaveis com forma de bastão, que tenham um cumprimento mínimo de 1½ vezes sua *espessura;* não são contados os cócos e os diplocócos.

2) Os bacilos se movem na camada líquida e por isso às vezes aparecem momentaneamente como cócos, sendo necessario fazer detida observação para estabelecer o verdadeiro caracter dos cócos suspeitos.

3) A observação deve ser feita com luz artificial.

*Método de Ch. Vicent para contagem de bactérias:* A contagem microbiana em câmara de Thoma Zeis é substituida pela contagem em lâmina fixada e corada. Diluir o concentrado com duas partes de água esteril, tomar 1 centésimo de cúbico do material, dispor sobre um quadrado previamente marcado de 1 cc.. Deixar secar, fixar em álcool, corar com azul de metilêno de Loeffler, examinar com imersão contando os germes em campos com o diâmetro 0,205 mm.. Multiplicar por 300.000 e obtem-se o resultado do número de germes por cc..

Bertarelli e Micheli (1 920) propuzeram tambem pequena modificação. Colocar 2 cc. do concentrado em água e homogenei-

sar bem com espátula. Juntar água distilada até completar 50 cc. Agitar bem com pérolas de vidro afim de destacar as bactérias dos fragmentos. Passar por filtro quádruplo de gaze, lavando esta com mais 50 cc. de água distilada, que será adicionada aos outros 50 cc. Com este processo somente de 15 a 20% dos germes são retidos na gaze.

*Método para verificação de cogumelos em suco de tomate e em produtos enlatados contendo produtos derivados de tomate (Método de F. Smith).*

Material necessário:

1) Solução saturada de KOH
2) Tubos centrifugadores de 50 cc.
3) Centrifugador
4) Solução aquosa saturada de violeta de genciana
5) Bastões agitadores de vidro
') Bechers pequenos
7) Câmara de Howard para contagem de cogumelos
8) Microscópio binocular
9) Ácido fosfórico a 50%
10) Metil-etil-acetona.

Em virtude das diferenças nas técnicas aconselháveis para os diversos produtos, elas foram divididas em 3 grupos. Contudo, mesmo assim, as amostras de cada grupo variam na consistência, em tal extensão, que esses agrupamentos são somente aproximados, devendo o analista fazer uso de sua habilidade própria na solução de cada caso, aplicando métodos especificamente adaptáveis a eles.

*Exame do suco de tomate*

Este controle apresenta atualmente, no Brasil, certo interesse, dada a intensa campanha que a Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo (1937), vem desenvolvendo no sentido de incrementar a indústria e o consumo dos sucos de tomate. O rápido amadurecimento de toda safra, a ligeira superprodução durante o verão e, sobretudo, a facil deterioração do tomate depois de amadurecido, são fatores que deveriam estimular a fabricação deste produto. Nos Estados Unidos esta indústria do suco de tomate, relativa-

mente nova, sofreu grande incremento; passou de 154.000 caixas de garrafas em 1929, para 1.386.000 em 1930, 3.441.000 em 1931 e a 4.450.000 em 1932; ocupando as respectivas plantações ..... 15.000 hectares de terras e dando trabalho a milhares de trabalhadores que, antes não contavam com mais esse ramo novo de atividade.

A principal dificuldade no exame de certos produtos deste tipo é a presença de grande quantidade de material amidado como farinha de rosca e farinha de trigo.

No caso de sucos espessos, é melhor colocar a lata em água quente por alguns minutos, até ficar homogeneamente aquecida. Facilita-se isto, agitando-se a lata. Em produtos mais fluidos é dispensavel o aquecimento prévio.

Colocar 10 cc. do suco perfeitamente misturado, em um tubo centrifugador largo, de 50 cc., ou maior, e adicionar 3 cc. de uma solução de KOH; um pouco mais não prejudicará. (Si fôr necessário adicional 10 a 15 cc. de metil-etil acetona para retirar a gordura. Após agitar bem, a acetona que se eleva à superfície fica colorida de vermelho, devendo ser rejeitada. Si, porem, bastar a KOH para saponificar a gordura, é desnecessária a adição da acetona).

Agitar por alguns minutos até dissolver o amido do suco e clarear os tecidos. Adicionar água suficiente para encher o tubo e centrifugar.

Nos sucos concentrados, o amido muitas vezes interfere com a sedimentação dos sólidos, durante a centrifugação.

Si o líquido permanece opaco, é necessário rejeitar a amostra e iniciar outra vez com 5 cc. de suco, em vez de 10 cc., procedendo como habitualmente ,com os 3 cc. de KOH.

Quando o líquido sobrenadante ficar perfeitamente claro e as partículas sólidas depositarem-se, o líquido deve ser transvasado, verificando si contem fragmentos de cogumelos.

Si nenhum filamento de cogumelo fôr encontrado nesse líquido sobrenadante, adicionar água suficiente ao resíduo do tubo centrifugador para restabelecer o volume primitivo de suco, misturar e fazer a contagem pelo método usual de Howard.

Para facilitar o exame, algumas gotas de violeta de genciana podem ser adicionadas. A violeta de genciana, colorindo os fila-

Será conveniente neutarlizar o KOH com algumas gotas de

Será conveniente neutralizar o KOH com algumas gotas de ácido fosfórico a 50%.

Isto deverá ser feito após o líquido sobrenadante ter sido rejeitado, e antes de ter sido adicionada a água para restabelecer o volume original de 10 cc.

*Exame da carne enlatada e de outros produtos enlatados contendo produtos de tomate*

Estes produtos são tratados de modo idêntico.

A conserva enlatada ainda fechada é colocada em água quente e aquecida até o conteudo ficar homogeneamente amornado. Este aquecimento preliminar não condensa o molho de tomate, permitindo separar mais prontamente as porções sólidas do produto. A conserva é então aberta e o conteudo esvasiado em uma peneira medianamente grossa, de 6 malhas.

Em alguns produtos, o molho atravessa a peneira prontamente, mas, no caso de alguns feijões e spaghetti, pode demorar 10 ou mais minutos.

Deve-se esgotá-lo ao menos até que a maior parte do líquido tenha passado.

Misturar bem o molho, colocar 10 cc. em um tubo centrifugador e proceder como para o suco de tomate.

Na contagem de produtos contendo carne, deve-se ter cuidado para não confundir filamentos de cogumelos e filamentos dos músculos que apresentam semelhança superficial, embora os filamentos dos músculos sejam mais espessos e as estriações frequentemente perceptíveis.

*Exame de sardinhas ou outros peixes em produtos de tomate*

O exame destes produtos apresenta dificuldade devido à grande quantidade de gordura e ólio. O molho contem em geral pouco ólio adicionado, o ólio aí presente provem do próprio peixe.

Por esta razão, é possivel rejeitar o ólio sem afetar partes essenciais do molho original. A conserva é aquecida em água fervente e o molho é escoado como em outros produtos.

O molho é então bem misturado e uma parte é colocada em um tubo centrifugador, sendo centrifugado até o ólio ascender à superfície. Sendo o ólio rejeitado, tratar 10 cc. do molho com 3 cc. de KOH, como em outros produtos.

Em arenques ou outros produtos em que há pouco ólio, não há necessidade de removê-lo.

Deve-se tomar a maior cautela no exame, afim de distinguir os filamentos de cogumelos, dos filamentos de tecidos do peixe.

*Determinação de fragmentos de insetos nos produtos de tomate*

Este método foi imaginado por Howard e baseado no processo de Wildmann para exame de pequenos insetos em vegetais enlatados.

Material necessário:

1) Frasco de Erlenmeyer de 2 litros
2) Rolha de borracha de tamanho tal que possa ser introduzida com dificuldade no interior do frasco. A rolha deverá ser mantida no interior do frasco por meio de uma haste firme que passe alem da altura do frasco. *Fig. 16*
3) Funil de Buchner de 7 cc., munido de papel de filtro rápido de 7 cc..
4) Um disco de 6 cm. munido com tela de arame com 60 malhas.
5) Microscópio binocular capaz de dar um aumento de 10 a 30 diâmetros.

Accessórios:

— 1 lapis indelevel, de ponta fina, para indicar sobre o papel de filtro a colocação de cada inseto.

— 1 anel de metal (8½ cm. de diâmetro), contendo fios de arame muito finos ou cabelo humano, com intervalos de 7 mm.. Este é fixado sobre o papel de filtro, colocado dentro de uma placa de Petri, para conveniência de exame. Os arames servem de guia para pesquisa metódica dos fragmentos de insetos.

— 1 agulha fina de separação, feita pela inserção do fundo de uma agulha de costura n.º 12, em um cabo de madeira branda. Esta é usada para manipulação dos fragmentos de insetos sobre o papel de filtro.

— 1 aro de borracha de mais ou menos 3/16 de polegada é cortado com diâmetro proporcional ao funil de Buchner. E' colocado no fundo do funil e sobre uma faixa marginal do papel de filtro, da largura de 1/4 de polegada. Esta borracha é mantida firmemente no logar em contacto com o

papel de filtro, por um cilindro de vidro apropriado, ligeiramente mais comprido do que a altura do funil, e conservada no lugar por uma fina mola de latão com grampos que têm uma abertura de 1 polegada, no centro, atravez o qual passa o pé do funil. Os dois braços são dobrados de tal maneira, que as extremidades adaptam-se sobre ângulo superior do cilindro de vidro. Afim de removê-lo é necessário somente soltar as extremidades para desprender o círculo de vidro. A tensão das partes formando os traços deve ser tal que forneça uma pressão moderada, sem ser tão forte que chegue até a arrebentar o vidro. *Fig. 17*

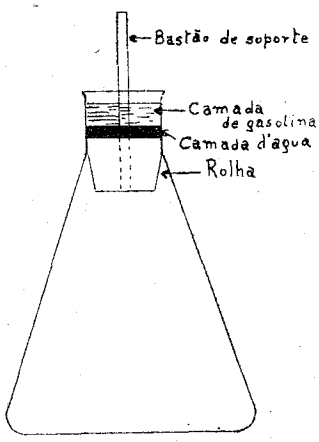



FIG. 16
Diagrama do frasco de Wildmann usado para retirar fragmentos de insetos em produtos de tomate. (seg. Howard).

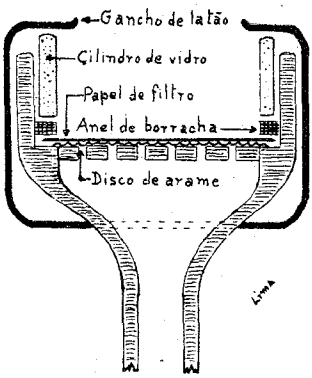



FIG. 17
Funil de Buchner segundo as indicações do texto (vista lateral). (seg. Howard).

*Técnica do Método*: — A rolha, sustentada pelo bastão, é imprensada para dentro do frasco de Erlenmeyer.

No caso de massa, de "catsup", etc., 200 cc. do produto a ser examinado são colocados no frasco e adicionando-se 20 cc. de gazolina. Amostra em exame e a gazolina são perfeitamente agitados.

A água da torneira, mais ou menos à temperatura ambiente, é lançada no frasco de modo a ocasionar vigorosa agitação; o conteudo deverá ascender até o gargalo do frasco até o ponto em que a rolha possa ser levantada.

Deixar repousar 5 ou 10 minutos, efetuando um brando movimento giratório por meio da rolha e bastão, para facilitar que as partículas mais leves cheguem ao gargalo.

Finalmente, levantar vagarosamente a rolha, até ajustar-se firmemente ao gargalo do frasco, de maneira a apanhar a camada de gazolina e pequena porção da sub-camada aquosa, não devendo apanhar alem de 3/16 de polegada. *Fig. 16*

O analista não deve apanhar da camada aquosa mais do que o necessário afim de não reter material celular do tomate aí em suspensão, o que viria interferir com a filtragem e tornar mais dificil a subsequente pesquisa das partes de inseto.

Como guia a este respeito, é bom determinar por tentativas o ponto, no gargalo do frasco, em que a camada aquosa deve ser interrompida, para atingir os melhores resultados. Após a rolha ter sido levantada até o ponto conveniente adicionam-se 10 ou 15 cc. de água pura à porção aí aprisionada, para aumentar ligeiramente o seu volume.

Derramar depois cuidadosamente a porção de líquido apreendido sobre o filtro de Buchner, munido de papel de filtro e sobre o qual foi colocado o disco de arame.

Enxaguar o gargalo do frasco para remover alguns fragmentos de insetos aí remanescentes, e adicionar ao material que está sobre o papel de filtro.

Retirar o papel de filtro e pesquisar os fragmentos de insetos, com auxílio do microscópio, anotando o número de fragmentos de cada espécie encontrada e marcando as suas localizações com lapis indelevel. É de grande auxílio o uso de um foco de luz forte.

Enquanto a pesquisa de fragmentos estiver sendo feita, é conveniente conservar o papel de filtro levemente humidecido.

No caso de pasta, são usados 50 ou 100 cc. do produto, conforme a sua concentração.

Antes de ser adicionada a gazolina, a pasta deverá ser misturada com 200-300 cc. de água. Após a prova ter sido completada, os resultados superiores a 200 cc. são calculados de acordo com a quantidade usada na prova.

Na possibilidade de apanhar muito material celular, assim como da dificuldade na filtração, algumas provas preliminares podem ser feitas, apanhando uma quantidade de líquido retido no gargalo um tanto maior, e colocando-a dentro do frasco de Erlenmeyer de 500 cc., provido com rolha e bastão semelhante ao frasco grande.

No pequeno frasco de Erlenmeyer é feito idêntico tratamento desta 1.ª porção antes de ser lançado sobre papel de filtro. Este processo permitirá reduzir o material celular retido.

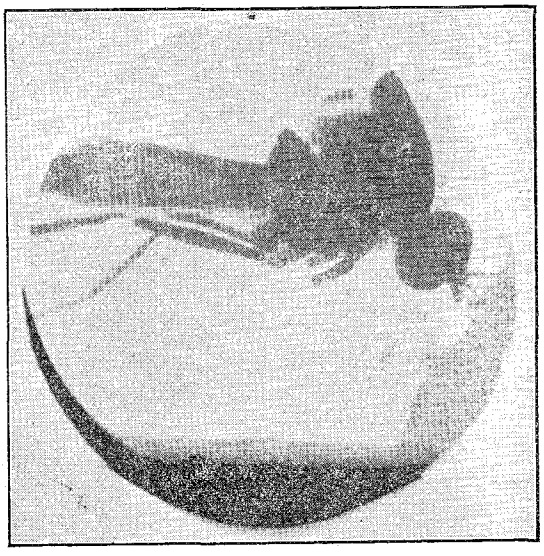


FIG. 20
Inseto adulto encontrado em concentrado de tomate de fabricação clandestina (orig.)

A tolerância admitida pela "Federal Food and Drug Administration" é de um máximo de 20 fragmentos, por 200 cc. da amostra de produto examinada.

Encontramos algumas massas com grande proporção de insetos adultos inteiros, fragmentos de insetos, larvas e outras sujidades. *Figs. 18, 19 e 20.*

## CAPÍTULO V

## CRITICAS AOS MÉTODOS

Cabe à Divisão Microanalítica, da "Food and Drug Administration", pertencente à "Federal Security Agency" e sob orientação de J. B. Howard, todo o mérito de haver estabelecido as técnicas microscópicas para o controle sanitários dos produtos de tomate.

São facilmente calculadas as dificuldades encontradas para estabelecer sistemas exatos de controle, em substâncias onde jamais se haviam praticado controles realmente eficientes e, nas quais, parecia totalmente impossivel que pudessem vir a ser praticados.

As dificuldades iniciais foram julgadas quasi que intransponíveis, pois os analistas americanos deveriam estabelecer um sistema de controles que estivesse dentro das possibilidades práticas e acima de numerosas críticas. Com efeito, uma vez publicado e adotado pelo Governo Norte-americano, sobre esse método foram feitas

muitas críticas, não só dentro do paiz como principalmente nos paizes interessados na exportação dos concentrados de tomate para os Estados Unidos da América do Norte.

Apesar da guerra de que foi alvo por mais de 20 anos, por deficiências facilmente compreensíveis em se tratando de assunto tão complexo, nada existe até o presente, de melhor.

Dentre as dificuldades com que o método se defronta na prática corrente, algumas merecem realmente consideração. Tais reparos porem não diminuem, em absoluto, o valor do mesmo. Dentre os inconvenientes apontados, destacam-se os referentes à contagem e observação dos cogumelos, à contagem das bactérias vivas ou mortas e à dificuldade de controle das levaduras e espóros. Analisemos rapidamente essas críticas:

A — *Quanto à contagem de filamentos micelianos*:

1.º) *Concentração do produto em exame.* A crítica mais forte é de ser aplicado o mesmo critério na contagem dos filamentos de cogumelos, a produtos muito diversos, tanto em conteudo como em apresentação. A crítica procede, em parte, porem as soluções propostas não lograram aceitação. Como o erro é sistemático, os resultados são comparáveis e os limites de tolerância já estabelecidos podem ser mantidos sem inconveniente.

2.º) *Obstáculos na contagem.* A observação dos filamentos micelianos poderá ser prejudicada. Os preparados, ainda que feitos com o máximo cuidado e esforçando para obter densidade constante, poderão apresentar em certos pontos do campo microscópico uma visão pouco clara. É assim impossivel obter uma distinção rigorosa entre as substâncias observadas, como seria o desejavel. Isto ocorre tanto em materiais pobres como nos mais ricos.

3.º) *Critério uniforme.* O critério uniforme adotado, nas contagens, pode ser causa de conclusões dispares. Para efeito das contagens, considera-se positivo todo o campo que apresente filamentos de cogumelo maiores do que 1/6 do campo padronizado do microscópio. Tanto vale, para os efeitos de contagem, observar no campo microscópico um só e pequeno fragmento de micélio que mal atinge 1/6 do campo, como grande entrelaçamento de numerosos filamentos micelianos, constituindo verdadeira massa. Este critério acarreta dúvidas sobre índice de contaminação. Nada existindo de melhor e como nenhuma sugestão razoavel foi lembrada para afastar esse inconveniente, deverá prevalecer o critério. O seu em-

prego sistemático permitirá a avaliação comparativa dos limites de tolerância.

B — *Quanto à contagem das bactérias*:

1.º) *Contagem de bactérias vivas ou mortas.* Um dos inconvenientes apontados ao método é de não poder ser feita a distinção entre bactérias vivas ou mortas, sendo contadas indiferentemente umas e outras.

2.º) *Obstáculos na contagem.* Os mesmos inconvenientes apontados na contagem dos cogumelos são tambem aquí apontados. Alem disto, os fragmentos do concentrado de tomate poderão ocupar uma certa extensão do campo microscópico, ocultando parte dos germes que deveriam ser computados. Bertarelli (1920) procurou resolver esse inconveniente aconselhando a que se fizesse a filtração prévia do concentrado, diluido a 100 cc. de água.

3.º) *Morfologia dos germes.* O processo só é aplicavel aos microorganismos com a forma de bastonete. Os germes em forma de cócos escapam à contagem, assim como os bastonetes quando observados pelos seus pólos. E' sem dúvida um obstáculo a exata apreciação do índice de contaminação, subtraindo à contagem numerosos germes. A técnica de Ch. Vincent procura remover esta deficiência afastando alguns inconvenientes apontados.

C — *Quanto à contagem de leveduras e espóros:*

A tendência é abandonar estas contagens, devendo o contrôôle se restringir às duas outras contagens. Isto, em virtude da dificuldade de serem obtidos resultados comparáveis. E' raramente conseguida correspondência entre duas contagens de leveduras e espóros. Por outro lado a contagem dos espóros dos ifomicetos não apresenta um interesse maior desde que já são contados os filamentos. Assim será de melhor alvitre suprimir esta contagem que pode acarretar certas causas de erro dificilmente removíveis.

Nas críticas de ordem geral os microscopistas estão de acordo que se deveria dispensar uma maior atenção à *concentração* do produto em exame. Os limites estabelecidos deveriam estar relacionados com os concentrados simples, para os concentrados duplos e triplos deveriam ser estabelecidos outros limites de tolerância. Assim, por exemplo, os limites deveriam se relacionar com concentrados de não mais de 20 a 22% de resíduo, para os concentrados

duplos ou triplos as cifras poderiam ser aumentadas para 1/5 e 1/4, respectivamente.

Os limites de tolerância podem ser estabelecidos para os produtos de exportação; os trabalhos realizados provam que o aumento das bactérias, quando vivas nas latas, raramente vai alem de 1 a 1,5%, mesmo após a incubação das mesmas na estufa a 37°C. por tempo mais ou menos longo. E' necessário admitir certa proliferação, porque a esterilização radical não é exequivel. Os industriais, seguindo orientação técnica adequada, poderão perfeitamente conseguir concentrados dentro dos padrões oficiais. Deverão ser observadas as condições essenciais na indústria de concentrados, isto é, trabalhar com material bem fresco, perfeitamente limpo e colhido o mais recentemente possivel, afim de evitar a fermentação. As fábricas deveriam, sempre que possivel, ser construidas no próprio local dos campos de cultura.

## CAPÍTULO VI

## ADULTERANTES

Os principais adulterantes encontrados durante as nossas investigações nos produtos derivados do tomate (massas e extratos) foram: a abóbora (*Curcubita pepo*), o pimentão (*Capsicum annuum*), a batata doce (*Ipomoea batatas*), a banana (gênero *Musa*). Outros adulterantes foram encontrados em pequena quantidade, relativamente aos já mencionados: o xúxú (*Sechium edule*), a beringela (*Solanum melongena*), a cenoura (*Daucus carotta*) e a pera (*Pyrus communis*). Afim de tornar mais clara esta exposição, incluimos neste capítulo um estudo da histologia microscópica do tomate. Analisemos, pois, rapidamente a estrutura microscópica diferencial entre o tomate e os diferentes adulterantes.

### TOMATE (*Lycopersicum*, gen.)

No Brasil as conservas de tomate são preparadas com diferentes variedades do gênero *Lycopersicum*. Os tomates usados na indústria são em geral moderadamente grandes, lisos, de maneira que a lavagem pode ser perfeitamente realizada e as cascas facilmente removidas. Nas variedades comerciais são exigidas no tomate grande proporção de polpa, sabor agradavel e coloração

vermelho carregada. As variedades muito húmidas, de casca enrugada ou de coloração amarelada não são cultivada para industrialização.

No Estado de São Paulo, segundo Lorena (1937) as variedades mais cultivadas e conhecidas são: "Pera", "Rei Humberto", "Purungo", "Redondo grande". Em 1929 foram importadas da Holanda, Dinamarca e Inglaterra 14 variedades. Destas, porem, só 5 se aclimataram convenientemente: "Ailsa Graig", da Holanda, conhecida por esta razão com o nome de "Holandês"; "Triumph", da Holanda e Dinamarca; "Kampehon" e "Radio", da Holanda, e "Canárias" da Inglaterra. Lorena (1937) acredita que esta variedade seja a mesma difundida como "Redondo grande". Nos Estados Unidos são cultivadas numerosas e excelentes variedades, altamente selecionadas: "Stone", a mais difundida. "San Jose Canner" popular na California. "Norton" do sul da California, variante da "Stone" e resistente ao "*Fuzarium*". "Santa Clara Canner" e "Diener" do norte da California. "Matchless" de Delaware e Maryland. São ainda cultivadas as variedades: "Paragon", "Landreth", "Coreless", "Perfection", muito recente, "Great Baltimore", "Favorite", "Red Rock" e "Sucess".

Na Argentina o Ministro da Agricultura fez experiências com as variedades: "Marglobe", "Market King", "Hillside Comet", "Clarks" e "Livington Globe", com resultados muito satisfatórios. Por seu valor comercial, são alí mais cultivadas as variedades "Marglobe", "Clark Eearly" e "Livington Globe".

No preparo das conservas é empregada apenas a polpa espessa do mesocarpo do tomate, cujos caracteres pouco definidos dificultam o reconhecimento dos adulterantes, reconhecimento esse só possivel por microscopistas muito especializados.

A diferenciação requer não só um perfeito conhecimento geral da histologia vegetal, mas particularmente da estrutura característica de cada elemento a definir, seja adulterante ou não. Para maior clareza do assunto são resumidamente descritos os principais característicos do tomate.

*Estrutura microscópica do tomate* — A casca é lisa, lustrosa, cor amarelada ou vermelha, cicatriz genérica ou típica e cicatriz peduncular grande, em depressão; sementes numerosas, revestidas de densa camada de falsos pelos, unicelulares, longos e regulares, quando desembaraçadas da substância gelatinosa que as envolve.

*Estrutura microscópica* — As células do epicarpo e do hipoderma são poligonais, de membranas espessas e resistentes, contendo granulações de matéria corante vermelha ou amarelo brilhante. O mesocarpo é constituido por células grandes, arredondadas, de membranas gelatinosas, contendo cromoblastos e, algumas delas, grânulos de amido. Formam um tecido básico, atravez do qual passam feixes de vasos espiralóides de seiva, de espirais curtas e delicadas. *Fig. 21.* As extremidades interna do pedúnculo possue tambem alguns vasos ponteados e fibras esclerosadas. As células do endocarpo são igualmente arredondadas, porem de paredes finas. *Figs. 21, 22, 23* e *24.*

A semente do tomate, devido a estrutura particular do espermoderma ou epiderme, constituido de células isodiamétricas, com sinuosidades espessas, e, ao seu revestimento de falsos pelos, constitue um dos elementos mais característicos do tomate, nas suas conservas. *Fig. 25.*

Fig. 26

*Tricomas do proprio tomateiro* (caule e folha)

Nota — Nas conservas de tomate (massas, principalmente) é comum a presença de elementos do caule e da folha do tomateiro, ou do pedúnculo do próprio tomate. Tais elementos, que denotam descuido na elaboração higiênica das conservas, poderão acarretar confusões aos analistas não suficientemente especializados neste dificil ramo dos controles sanitários, induzindo-os à condenação de produtos puros. É relativamente facil sua caracterização pela identificação dos estomas e de grande número de tricomas da epiderme, cujas células pequenas e pigmentadas de clorofila, destacam-se em blocos escuros, dos demais elementos, mesmo quando observadas com aumento de 80 diâmetros. *Fig. 26.*

ABÓBORA (*Curcubita pepo*)

Encontramos esse adulterante em 29% das amostras examinadas. E' a adulteração mais frequente, principalmente nas massas de procedência clandestina. E' empregada por seu baixo preço e por suas propriedades culinárias.

*Estrutura microscópica* — As células do mesocarpo, a parte utilizada nas fraudes, são poliédricas e de contornos finos, menores do que as do tomate, contendo, tambem, pigmentações, mas de cor amarela, grânulos de amido que se apresentam separadamente ou em conjunto de dois ou três grânulos. *Fig. 27.*

O mesocarpo interno, parcialmente desorganizado, é composto de um emaranhado de feixes de tubos lactíferos e tubos de seiva. Para diferenciação microscópica com o tomate devemos considerar a estrutura dos tubos de seiva, que tambem são espiralóides, porem de espirais largas e grossas, apresentando dilatações espaçadas, em um conjunto bastante interessante.

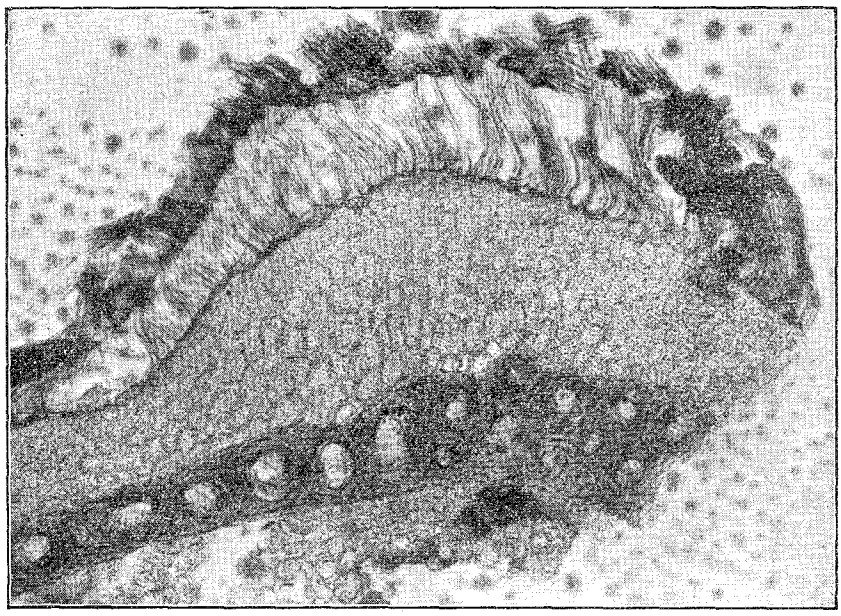


FIG. 28
Corte transversal da semente de abobora. Células porosas da camada sub epidermica.

Semente — Espermoderme ou epiderme externa com hastes que ramificam para a extremidade; sub-epiderme de pequenas células porosas, muito típica, esclarenquima de células grandes com lumem grande; células cactiformes características.

Os elementos da abóbora verde destacam-se mais facilmente pelos tricomas e estomas do epicarpo, e, pela presença muito comum de células porosas, em pequenos blocos, provenientes da camada sub-epidérmica da semente, facilmente triturada quando verde. *Figs. 28* e *29*.

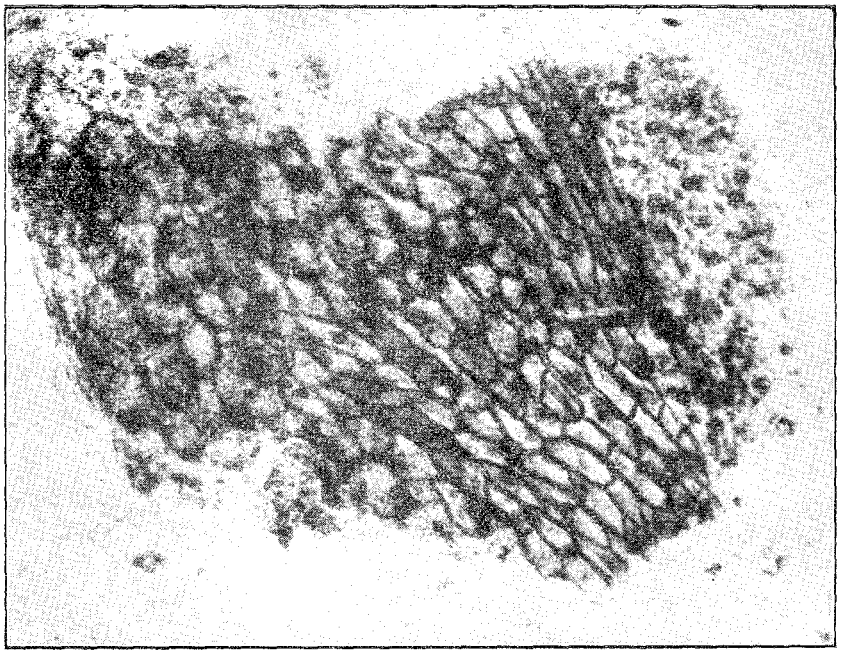


FIG. 29
*Semente de abobora*: Grupo de células porosas, observado em concentrado de tomate.

PIMENTÃO (*Capsicum annum*)

Constatamos a presença deste adulterante em 8% os produtos examinados. Fruto grande, cônico, superfície lustrosa de côr vermelho escuro, com 2 ou 3 cavidades. Sementes numerosas, achatadas, com o embrião aderente ao endosperma. E' facil a identificação do pimentão. A presença das gotículas oleosas avermelhadas que dão a coloração de indigo com o ácido sulfúrico concentrado constitue elemento de valor na diagnose. *Figs. 30, 31* e *32*.

Os grãos de amido são extremamente pequenos. Os fragmentos de tecidos com paredes grossas e tortuosas, que dão ao conjunto um aspecto semelhante ao de pulmão, são típicos. A evidenciação torna-se mais facil nas preparações feitas com água amoniacal por 24 horas.

Epicarpo de células poligonais, em contas, sulcadas.

Hipoderma com paredes salientes, em contas: mesocarpo com gotas de óleo e cromoplastas vermelho-alaranjados; células gigantes de 2 mm. ou mais; endocarpo com grupos de células de paredes espessas e delgadas.

Epiderme externa do espermoderma com parede interna espessa, porosa, verrucosa e esclerenquimatizada. *Fig. 33.*

BATATA DOCE (*Ipomoea batatas*)

Foi encontrada como adulterante em 3% os produtos controlados. E' uma raiz tuberosa convolculácea, cultivada mais frequentemente nas zonas tropicais.

As células da camada cortical apresentam-se dispostas em filas transversais. O amido do parênquima constitue a maior parte do tecido. Os grãos de amido são piriformes, estrangulados, gibosos, não achatados, tendo em um ponto de sua parte superior um hilo circundado por estrias irregularmente concêntricas. As células de amido alongadas longitudinalmente são dispostas em filas radiais. As células lactíferas se distinguem das células do parênquima pela cor mais escura e pelo conteudo granular, que se cora em amarelo pelo iodeto de potássio. São células verdadeiras e não tubos lactíferos. As células medulares apresentam alongamento radial. No tecido parenquimatoso são facilmente reconhecidos no interior de suas células cristais de oxalato de cálcio, em forma de agulhas quebradas. Os tubos de seiva são do tipo pontuado, com pontuações bastante grandes, formando reticulações; apresentam 80 micra de diâmetro, tornando-se maiores no centro da raiz. A natureza destes vasos e a ausência de espirais gran-

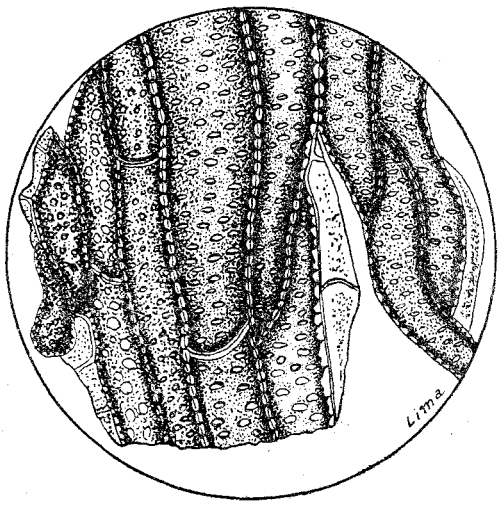



FIG. 34
*Batata-doce* — Vasos de raiz tuberosa em córte longitudinal. (seg. Winton — modif.).

des ou células espiral-reticuladas demonstra a natureza de raiz tuberosa e não de tubérculo verdadeiro da batata doce. *Figs. 34 e 35.*

Nas fraudes feitas com batata doce ou com certas variedades de banana: *M.sapientum, M.paradisiaca,* cujas células amilíferas são muitas vezes confundíveis, depois de sofrerem a ação do calor; é de grande importância a identificação dos vasos de seiva. Estes, na banana, são espiralóides e espiral reticulados e, geralmente, não se apresentam livres e desembaraçados de células, como na batata doce.

### BANANA (*Musa* sp.)

Encontramos este adulterante em 1% os produtos de tomate examinados. Fruta típica das regiões neotrópicas.

*Estrutura microscópica:* Pericarpo — Células isodiamétricas ou alongadas com paredes espessas e cutícula estriada; estomas principalmente na parte externa do fruto, formando o epicarpo. Hipoderma constituido por células de paredes porosas, contendo rafides (cristais alongados em agulhas).

Mesocarpo — Células amilíferas, arredondadas, entre as quais passam feixes fibrosos e fibras vasculares, acompanhados de células de tanino contendo gotas de oleoreosina.

Endocarpo — Células poligonais, radiais de paredes finas muito longas, ricas em amido. Os grânulos de amido são menores no mesocarpo externo e vão aumentando de tamanho na parte interna do mesocarpo. São alongados, piriformes, em forma de salsicha de saco ou de foice. Os aneis com luz polarizada são visíveis nas proximidades do hilo. Pela maturação o amido é transformado em açucar. Os vasos espiralóides e espirais reticulados se caracterizam pela grande largura até 100 micra e pelas fendas.

Espermoderma — Formada por tecido da semente abortada. Células longitudinalmente alongadas de paredes finas; parênquima de células alongadas com vasos espiralóides; células cruzadas em filas. *Fig. 36.*

### XÚXÚ (*Sechium edule*)

Essa curcubitácea é largamente cultivada no Brasil. No pericarpo encontramos 4 camadas: O epicarpo de células poligonais,

com paredes espessadas, numerosos estomatas e filamentos capitados; o hipoderma com células poligonais porosas, com filamentos ramificados em várias direções; mesocarpo delgado com células arredondadas contendo grãos de amido, feixes fibro vasculares, grandes tubos crivados e vasos lactíferos; endocarpo de células pequenas com parede delgada encerrando a semente. O espermoderma apresenta a epiderme e sub-epiderme constituidas de células pequenas de paredes delgadas e o parênquima formado de ampla cadeia de células grandes, contendo grãos de amido. Esses grãos são redondos, ovalados, dispostos em grupos, com hilo distinto, mas aneis e cruz de polarização pouco nítidos. Cotiledones grandes contendo grãos de amido.

BERINGELA (*Solanum melongena*)

Em outras oportunidades tivemos ocasião de assinalar a presença de beringela como adulterante. Fruto liso, de forma oval ou de salsicha, cor purpúrea ou branca, contendo numerosas sementes. O epicarpo é constituido de células irregularmente espessas, dispostas em segmento com grupos de tricomas. O hipoderma é constituido de pequenas células, contendo o pigmento corante, nas variedades purpúreas. Mesocarpo esponjoso contendo grânulos de clorofila nas células externas e pequenos grânulos de amido próximo aos feixes fibro-vasculares, que possuem tubos de seiva, vasos espiralóides reticularos e pontuados. Espermoderma apresenta a epiderme externa com as paredes laterais porosas esclerosadas, bastante espessas dentro de uma camada de celulose. Endosperma e embrião contendo pequenos grânulos de aleurona.

CENOURA (*Daucus carotta*)

Muito usada em numerosos paizes como adulterante de marmeladas e conservas de doces em geral, da chicórea e do café. Usada em latas de conserva, empregada como componente de conservas de caldo e de conservas mixtas de vegetais.

E' uma raiz curta ou alongada, branca, vermelha ou alaranjada. Na camada cortical são encontradas células transversalmente alongadas, quadriláteras e irregulares, contendo grânulos de amido isolados ou em pequenos agrupamentos. No interior destas células vamos encontrar ainda abundantes cristais alaranjados de caroteno, cujo nome é derivado da própria raiz.

As secções longitudinais dos vasos liberianos apresentam células curvas e arredondadas e células medulares de paredes finas, contendo amido; tubos de crivo com lâminas, estreitas células sócias, fibras substitutas com pontas enervadas, algumas vezes de paredes espessas, fendas diagonais e conteudo granular, canais de óleo acompanhados por células arredondadas contendo grãos de aleurona. Ao lado dos canais de óleo são encontradas células particularmente redondas ou poligonais. No cambium as várias camadas de células não apresentam amido. Nos vasos lenhósos as paredes do parênquima são delgadas nas células jovens, espessando-se nas células adultas. Só são encontrados vasos reticulados com tendência a espiral e vasos escaleriformes com fendas curtas.

## PERA (*Pyrus communis*)

No Brasil as variedades duras são cultivadas em escala mais ou menos grande e empregadas como adulterante.

*Estrutura microscópica:* Epiderme — Células mães com paredes espessas e células filhas com paredes finas. O hipoderma apresenta células poligonais de paredes espessas com ângulos e nós proeminentes. Células esclerosadas isodiamétricas ou alongadas de paredes espessas, incolores, e canais ramificados ocorrendo em grupos contornado spor células alongadas no parênquima, formando rosetas e constituindo grande parte da polpa. *Fig. 37.*

Células de amido. Vasos espiralóides, anulares, reticulares e pontuados. Endocarpo constituido por células alongadas dispostas transversalmente. Alem de tricomas unicelulares de paredes finas são encontrados numerosos de paredes espessas. Espermoderma constituido por células alongadas, empalissadas, com lumem estreito ou piriforme. *Fig. 38.*

Esses foram os adulterantes mais comuns encontrados nas conservas de tomate. Outros têm sido assinalados: a farinha de pão, as farinhas de trigo, centeio, cevada, facilmente identificáveis pelo amido específico. A serragem de madeira é de diagnose facil, devido à presença de pedacinhos de madeira e a verificação pela floroglucinia clorídrica que demonstra a coloração vermelha dos complexos celulares, compostos por elementos alongados e cujas pontuações são vistas com clareza.

## CAPÍTULO VII

## RESULTADOS

Os métodos empregados nessas verificações foram os métodos oficiais do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América do Norte. E' sobre estes métodos que está baseada a legislação americana.

A República Argentina tambem tomou por base esses métodos para regulamentação oficial.

Em seus trabalhos, Rivas (1937), Soriano e Garassini (1941) se serviram destas técnicas oficiais.

Em nossas verificações, que atingem atualmente a cerca de duzentas, esses processos produziram sempre resultados uniformemente comparáveis.

### a) CÔNTROLE DE COGUMELOS

A lei americana de 25 de Julho de 1934 estabeleceu como limite de tolerância máxima a presença de 50% de campos positivos com filamentos micelianos. O decreto do Governo Argentino n.º 79.832, de 18 de Dezembro de 1940, estabeleceu, a partir do ano de 1941, a tolerância máxima de 50% de campos positivos com filamentos micelianos, para os produtos de tomate destinados à exportação e, de 60% aos destinados ao consumo interno.

Assim, tomando como termo de comparação a taxa de 50% de campos positivos com filamentos micelianos, verificados pela câmara de Howard, constatamos entre as amostras submetidas a exame:

79% com mais de 50% de campos positivos;
4% com 50% de campos positivos;
17% com menos de 50% de campos positivos.

Os concentrados adulterados apresentaram as seguintes porcentagens:

| | | |
|---|---|---|
| com mais de 50% de campos positivos | (46 amostras) | = 82,1% |
| com 50% de campos positivos | ( 3 amostras) | = 5,3% |
| com menos de 50% de campos positivos | ( 7 amostras) | = 12,5% |

Os concentrados adulterados apresentaram as seguintes porcentagens:

com mais de 50% de campos positivos (33 amostras) = 75,0%
com 50% de campos positivos ( 1 amostra ) = 2,2%
com menos de 50% de campos positivos (10 amostras) = 22,7%

O estudo destes concentrados relativamente aos vários adulterantes nos forneceu interessantes dados. Assim, nos concentrados cujo adulterante era a abóbora:

com mais de 50% de campos positivos (28 amostras) = 96,5%
com menos de 50% de campos positivos ( 1 amostra ) = 3,5%

naqueles cujo adulterante era a batata doce:

com mais de 50% de campos positivos (3 amostras) = 100,0%

naqueles cujc adulterante era a banana:

com mais de 50% de campos positivos (1 amostra ) = 100,0%

naqueles que apresentaram mais de 1 adulterante:

com mais de 50% de campos positivos (3 amostras) = 100,0%

O fato curioso foi relativamente aos concentrados adulterados com pimentão que apresentaram as seguintes porcentagens.

com mais de 50% de campos positivos %
com 50% de campos positivos %
com menos de 50% de campos positivos (8 amostras) = 100%

Em relação à embalagem constatamos nos concentrados enlatados o seguinte:

com mais de 50% de campos positivos (31 amostras) = 77,5%
com 50% de campos positivos ( 7 amostras) = 17,5%
com menos de 50% de campos positivos ( 2 amostras) = 5,0%

nos concentrados empacotados:

com mais de 50% de campos positivos (48 amostras) = 80,0%
com 50% de campos positivos (10 amostras) = 16,6%
com menos de 50% de campos positivos ( 2 amostras) = 3,3%

Em relação à forma de concentrado verificamos nas *massas adulteradas:*

com mais de 50% de campos positivos (32 amostras) = 76,1%
com 50% de campos positivos ( 1 amostra ) = 2,3%
com menos de 50% de campos positivos ( 9 amostras) = 21,4%

| PORCENTAGEM DE CAMPOS POSITIVOS | MASSA | | | EXTRATO | | | ENLATADOS | | | EMPACOTADOS | | | PUROS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total |
| 10 a 19 % | 14% | 1 | 1.8% | | | | | | | 14% | 1 | 1.6% | 14.% | 1 | 1.7% |
| 20 a 29 % | 22% | 1 | 1.8% | | | | | | | 22% | 1 | 1.7% | — | — | — |
| 30 a 39 % | 35% | 2 | 3.6% | 34% | 2 | 4.5% | 34.% | 2 | 5% | 35% | 2 | 3.3% | 38% | 1 | 1.7% |
| 40 a 49 % | 45.66% | 6 | 11.1% | 44.8% | 5 | 11.1% | 44.8% | 5 | 12.5% | 45.6% | 6 | 10% | 44.8% | 5 | 9% |
| 50 a 59 % | 53% | 4 | 7.9% | 53.5% | 8 | 17.7% | 52.6% | 6 | 15% | 54% | 6 | 10% | 53.1% | 9 | 16% |
| 60 a 69 % | 64.5% | 12 | 21.9% | 64.2% | 8 | 17.7% | 64.2% | 8 | 20% | 64.5% | 12 | 20% | 64.5% | 12 | 21.4% |
| 70 a 79 % | 75.25% | 16 | 29.2% | 73.6% | 15 | 33.3% | 73.5% | 13 | 32.5% | 75.1% | 18 | 30% | 73.8% | 18 | 32.3% |
| 80 a 89 % | 82.88% | 9 | 16.3% | 82.2% | 6 | 13.4% | 82% | 5 | 12.5% | 83% | 10 | 16.7% | 83.7% | 8 | 14.4% |
| 90 a 99 % | 92.5% | 4 | 7.2% | 98% | 1 | 2.3% | 98% | 1 | 2.5% | 92.5% | 4 | 6.7% | 94% | 2 | 3.5% |

# M E L O S

| ADULTERADOS | | | ADULTERADOS com ABOBORA | | | ADULTERADOS com PIMENTÃO | | | ADULTERADOS com BATATA DOCE | | | ADULTERADOS com BANANA | | | MISTAS com mais de um adulterante | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total | Média das contagens | N.o de amostras | Porcentagem total |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 22% | 1 | 26% | — | — | — | 22% | 1 | 12.5% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 33.3% | 3 | 6.7% | 30% | 1 | 3.4% | 35% | 2 | 25% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 45.8% | 6 | 13.5% | — | — | — | 46.4% | 5 | 62.5% | — | — | 1 | — | — | — | 44% | 1 | 33.34% |
| 52.4% | 3 | 6.7% | 58% | 1 | 3.4% | — | — | — | 54% | 1 | 33.3% | — | — | — | 50% | 1 | 33.33% |
| 65.6% | 8 | 18.7% | 64.2% | 8 | 27.7% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 75.2% | 13 | 29.4% | 75.4% | 11 | 37.9% | — | — | — | — | — | — | 72% | 1 | 100% | 76% | 1 | 33.33% |
| 82% | 7 | 15.7% | 82.3% | 6 | 20.8% | — | — | — | 82% | 1 | 33.3% | — | — | — | — | — | — |
| 93.3% | 3 | 6.7% | 92% | 2 | 6.8% | — | — | — | 96% | 1 | 33.4% | — | — | — | — | — | — |

As *massas puras:*

| | | |
|---|---|---|
| com mais de 50% de campos positivos | (11 amostras) | = 84,6% |
| com 50% de campos positivos | ( 1 amostra ) | = 7,69% |
| com menos de 50% de campos positivos | ( 1 amostra ) | = 7,69% |

Os *extratos adulterados:*

| | | |
|---|---|---|
| com mais de 50% de campos positivos | ( 1 amostras) | = 50% |
| com menos de 50% de campos positivos | ( 1 amostra ) | = 50% |

Os *extratos puros:*

| | | |
|---|---|---|
| com mais de 50% de campos positivos | (35 amostras) | = 81,3% |
| com 50% de campos positivos | ( 2 amostras) | = 4,65% |
| com menos de 50% de campos positivos | ( 6 amostras) | = 13,95% |

O quadro da pagina 140-A indica a situação dos produtos de tomate, em relação ao teor em filamentos micelianos, verificado pela técnica de Howard.

Assim, em resumo, foram constatadas nas contagens de *cogumelos* as porcentagens seguintes:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Entre | 10 e 19 | campos | positivos | 1% |
| " | 20 e 29 | " | " | 1% |
| " | 30 e 39 | " | " | 4% |
| " | 40 e 49 | " | " | 11% |
| " | 50 e 59 | " | " | 12% |
| " | 60 e 69 | " | " | 20% |
| " | 70 e 79 | " | " | 31% |
| " | 80 e 89 | " | " | 15% |
| " | 90 e 99 | " | " | 5% |

Como porcentagem de maior frequência verificamos a proporção entre 70 e 79 campos positivos. Dentro deste limites constatamos que:

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Com | 70% | de | campos | positivos | foram | encontradas | 5 | amostras | ou 6,2% |
| " | 72% | " | " | " | " | " | 7 | " | " 22,6% |
| " | 74% | " | " | " | " | " | 2 | " | " 6,4% |
| " | 76% | " | " | " | " | " | 10 | " | " 32,2% |
| " | 78% | " | " | " | " | " | 7 | " | " 22,6% |

Do exposto se conclue que 31% das amostras analisadas apresentam de 70 a 79% de campos positivos com filamentos micelianos e que, entre estes 32,2%, têm 76% de campos positivos com filamentos micelianos.

b) CONTROLE DE BACTÉRIAS

A regulamentação oficial já citada no início, admite como tolerância máxima para bactérias a cifra de: *100 milhões de bactérias por cc.*.

Tomando este índice por base constatamos nas 100 amostras examinadas:

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (92 amostras) = 92%
com menos de 100 milhões de bactérias por cc. ( 8 amostras) = 8%

nos *concentrados puros:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (48 amostras) = 85,7%
com menos de 100 milhões de bactérias por cc. ( 8 amostras) = 14,2%

nos *concentrados adulterados:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (44 amostras) = 100%

nos concentrados cujo adulterante era a *abóbora:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (29 amostras) = 100%

nos concentrados cujo adulterante era a *batata doce:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. ( 3 amostras) = 100%

nos concentrados cujo adulterante era a *banana:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. ( 1 amostra ) = 100%

nos concentrados cujo adulterante era o *pimentão:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. ( 8 amostras) = 100%

nos concentrados mistos com *mais de 1 adulterante:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. ( 3 amostras) = 100%

nas *massas puras:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (13 amostras) = 92,8%
com menos de 100 milhões de bactérias por cc. ( 1 amostra ) = 7,1%

nas *massas adulteradas:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (41 amostras) = 100%

nos *extratos adulterados:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. ( 2 amostras) = 100%

nos *extratos puros:*

com mais de 100 milhões de bactérias por cc. (36 amostras) = 83,7%
com menos de 100 milhões de bactérias por cc. ( 7 amostras) = 16,2%

O quadro da pagina 148 organizado segundo a técnica de Howard, mostra a situação dos produtos de tomate em relação ao conteudo bacteriano.

B A C T

| BACTÉRIAS POR C. C. | MASSAS | | | EXTRATOS | | | ENLATADAS | | | EMPACOTADAS | | | PUROS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem |
| 0 a 50.000.000 | | — | — | 41.850.000 | 2 | 4.4% | 41.850.000 | 2 | 5% | — | — | — | 41.850.000 | 2 | 3.57% |
| 50.000.001 a 100.000.000 | 64.800.000 | 1 | 1.8% | 67.604.000 | 5 | 11.2% | 67.604.000 | 5 | 12.5% | 64.800.000 | 1 | 1.67% | 67.136.600 | 6 | 10.7% |
| 100.000.001 a 200.000.000 | 163.937.142 | 7 | 13.6% | 148.848.800 | 18 | 40% | 147 648.750 | 16 | 40% | 162.706.600 | 9 | 15% | 149.414.700 | 19 | 33.9% |
| 200 000.001 a 300.000.000 | 245.600.000 | 9 | 16.2% | 249.360.000 | 6 | 13.4% | 256.320.000 | 3 | 7.5% | 250.560.000 | 13 | 21.67% | 256.000 000 | 9 | 16.07% |
| 300.000.001 a 400.000.000 | 350.114.500 | 11 | 19.3% | 344 880.000 | 5 | 11.2% | 344.880.000 | 5 | 12.5% | 353.158.000 | 10 | 16.66% | 345.085.700 | 7 | 12.5% |
| 400.000.001 a 500.000.000 | 447.360 000 | 9 | 1 6% | 434.400.000 | 3 | 6.6% | 434.400.000 | 3 | 7.5% | 447.360.000 | 9 | 15% | 429.760.000 | 4 | 7.1% |
| 500.000.001 a 600.000.000 | 528.000.000 | 3 | 5.5% | 547.700.000 | 4 | 8.8% | 547.700.000 | 4 | 10% | 528.000.000 | 3 | 5% | 540.333.300 | 6 | 10.2% |
| 600.000.001 a 700.000.000 | 616.120.000 | 4 | 7.4% | — | — | — | — | — | — | 616.120.000 | 4 | 6.67% | — | — | — |
| 700.000.001 a 800.000.000 | 784.800.000 | 1 | 1.8% | — | — | — | — | — | — | 184.800.000 | 1 | 1.67% | — | — | — |
| 800.000.001 a 900 000.000 | 856.800.000 | 1 | 1.8% | 828.900.000 | 1 | 2.2% | 828.900 000 | 1 | 2.5% | 856.800 000 | 1 | 1.66% | 828.900.000 | 1 | 1.78% |
| 900.000.001 a 1.000.000.000 | 912.600.000 | 2 | 3 9% | — | — | — | — | — | — | 912.600.000 | 2 | 3.34% | — | — | — |
| 1.000 000.001 a 5.000.000.000 | 1.225.200.000 | 6 | 10.9% | 1 200.000.000 | 1 | 2.2% | 1.200.000.000 | 1 | 2.5% | 1.225.000.000 | 6 | 10% | 1.302.000.000 | 2 | 3.53% |
| 5.000.000.001 a 10.000.000.000 | 8.856 000.000 | 1 | 1.8% | — | — | — | — | — | — | 8.856.000 000 | 1 | 1.66% | — | — | — |

R I A S

| LTERADOS | | | ADULTERADOS com ABOBORA | | | ADULTERADOS com PIMENTÃO | | | ADULTERADOS com BATATA DOCE | | | ADULTERADOS com BANANA | | | MISTAS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ns | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 33.300 | 6 | 13.6% | 160.246.600 | 3 | 10.3% | 152.190.000 | 2 | 25% | 195.840.000 | 1 | 33.3% | — | — | — | — | — | — |
| 34.280 | 7 | 15.9% | 234 720.000 | 2 | 6.8% | 240.480.000 | 3 | 37.5% | — | — | — | — | — | — | 265.680.000 | 2 | 66.7% |
| 7.500 | 8 | 18.1% | 323.003.300 | 6 | 20.6% | 351 150.000 | 2 | 25% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0.000 | 8 | 18.1% | 446.400.000 | 7 | 24.3% | 489.600.000 | 1 | 12.5% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0.000 | 1 | 2.2% | 532.800.000 | 1 | 3.4% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0.000 | 4 | 9 7% | 616.120.000 | 4 | 13.7% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0.000 | 1 | 2.2% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 784 800.000 | 1 | 100% | — | — | — |
| 0.000 | 1 | 2.2% | — | — | — | — | — | — | 856.800.000 | 1 | 33.4% | — | — | — | — | — | — |
| 0 000 | 2 | 4.5% | 918.000.000 | 1 | 3.5% | — | — | — | 907.200.000 | 1 | 33.3% | — | — | — | — | — | — |
| .000 | 5 | 11.3% | 1.189.440 000 | 5 | 17.4% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 000 | 1 | 2.2% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 8.856.000.000 | 1 | 33.3% |

Assim, em resumo, foram constatadas na contagem das *leveduras* e *espóros* as porcentagens seguintes:

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| De | 200 | a | 300 | leveduras | e | espóros | por | 1/60 mm³ — | 5% |
| " | 300 | a | 400 | " | " | " | " | " | 3% |
| " | 400 | a | 500 | " | " | " | " | " | 8% |
| " | 500 | a | 600 | " | " | " | " | " | 6% |
| " | 600 | a | 700 | " | " | " | " | " | 2% |
| " | 700 | a | 800 | " | " | " | " | " | 3% |
| " | 800 | a | 900 | " | " | " | " | " | 3% |
| " | 900 | a | 1.000 | " | " | " | " | " | 4% |
| " | 1.000 | a | 2.000 | " | " | " | " | " | 24% |
| " | 2.000 | a | 3.000 | " | " | " | " | " | 14% |
| " | 3.000 | a | 4.000 | " | " | " | " | " | 8% |
| " | 4.000 | a | 5.000 | " | " | " | " | " | 3% |
| " | 5.000 | a | 10.000 | " | " | " | " | " | 10% |
| " | 10.000 | a | 20.000 | " | " | " | " | " | 5% |
| " | 20.000 | a | 30.000 | " | " | " | " | " | 1% |
| " | 30.000 | a | 40.000 | " | " | " | " | " | 1% |

A porcentagem de maior frequência está entre 1.000 e 2.000 leveduras e espóros por 1/60 mm.³:

De 1.000 a 1.099 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 5 amostras = 20,83%

De 1.100 a 1.199 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 5 amostras = 20,83%

De 1.200 a 1.299 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 1 amostra = 4,16%

De 1.300 a 1.399 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 3 amostras = 12,5%

De 1.400 a 1.499 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 2 amostras = 8,3%

De 1.500 a 1.599 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 3 amostras = 12,5%

De 1.600 a 1.699 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 1 amostra = 4,16%

De 1.700 a 1.799 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 2 amostras = 8,3%

De 1.800 a 1.899 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 2 amostras = 8,3%

De 1.900 a 1.999 de leveduras e espóros p/ 1/60 mm³ foram encontrados 0 amostras = 0 %

# L E V E D U R A S

| LEVEDURAS E ESPÓROS POR 1/60 $mm^3$ | MASSA | | | EXTRATO | | | ENLATADOS | | | EMPACOTADOS | | | PUROS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagens | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagens | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem |
| 200 a 300 | — | — | — | 249 | 5 | 11.1% | 249 | 5 | 12.5% | — | — | — | 249 | 5 | 8.9% |
| 301 a 400 | — | — | — | 338 | 3 | 6.7% | 338 | 3 | 7.5% | — | — | — | 338 | 3 | 5.23% |
| 401 a 500 | — | — | — | 442 | 8 | 17.7% | 441 | 6 | 15% | 447 | 2 | 3.33% | 442 | 8 | 14.5% |
| 501 a 600 | 522 | 1 | 1.81% | 560 | 5 | 11.1% | 538 | 3 | 7.5% | 533 | 3 | 5% | 558 | 5 | 8.9% |
| 601 a 700 | — | — | — | 669 | 2 | 4.5% | 669 | 2 | 5% | — | — | — | 669 | 1 | 1.8% |
| 701 a 800 | 738 | 1 | 1.81% | 735 | 2 | 4.5% | 735 | 2 | 5% | 738 | 1 | 1.67% | 735 | 2 | 3.64% |
| 801 a 900 | 853 | 2 | 3.9% | 840 | 1 | 2.2% | 840 | 1 | 2.5% | 853 | 2 | 3.33% | 849 | 3 | 5.23% |
| 901 a 1.000 | 939 | 2 | 3.9% | 972 | 2 | 4.5% | 972 | 2 | 5% | 939 | 2 | 3.33% | 955 | 4 | 7.1% |
| 1.001 a 2.000 | 1.546 | 11 | 20% | 1.282 | 13 | 28.8% | 1.552 | 12 | 30% | 1.427 | 12 | 20% | 1.309 | 16 | 28.7% |
| 2.001 a 3.000 | 2.510 | 11 | 20% | 2.780 | 3 | 6.7% | 2.780 | 3 | 7.5% | 2.461 | 11 | 18.33% | 2.552 | 6 | 10.7% |
| 3.001 a 4.000 | 3.549 | 7 | 12.17% | 3.336 | 1 | 2.2% | 3.336 | 1 | 2.5% | 3.467 | 7 | 11.7% | 3.336 | 1 | 1.8% |
| 4.001 a 5.000 | 4.524 | 3 | 5.5% | — | — | — | — | — | — | 4.524 | 3 | 5% | 4.680 | 1 | 1.8% |
| 5.001 a 10.000 | 6.945 | 10 | 18.1% | — | — | — | — | — | — | 6.946 | 10 | 16.66% | 7.080 | 1 | 1.8% |
| 10.001 a 20.000 | 12.321 | 5 | 9.19% | — | — | — | — | — | — | 12.321 | 5 | 8.33% | — | — | — |
| 20.001 a 30.000 | 24.900 | 1 | 1.81% | — | — | — | — | — | — | 24.900 | 1 | 1.66% | — | — | — |
| 30.001 a 40.000 | 30.600 | 1 | 1.81% | — | — | — | — | — | — | 30.600 | 1 | 1.66% | — | — | — |

E ESPÓROS

| DULTERADOS | | | ADULTERADOS com ABOBORA | | | ADULTERADOS com PIMENTÃO | | | ADULTERADOS com BATATA DOCE | | | ADULTERADOS com BANANA | | | MISTOS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem | Média das contagens | N.º de amostras | Porcentagem |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 22 | 1 | 2.2% | — | — | — | 522 | 1 | 12.5% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 69 | 1 | 2.2% | 669 | 1 | 3.4% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 38 | 1 | 2.2% | — | — | — | 738 | 1 | 12.5% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 65 | 8 | 18·4% | 1.455 | 4 | 13.7% | 1.497 | 2 | 25% | — | — | — | — | — | — | 1.452 | 2 | 66.66% |
| 6 | 8 | 18.4% | 2.763 | 3 | 10.3% | 2.571 | 2 | 25% | 2.550 | 2 | 66.66% | 2.160 | 1 | 100% | — | — | — |
| 49 | 7 | 15 9% | 3.459 | 7 | 24.2% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 46 | 2 | 4.5% | — | — | — | 4.446 | 2 | 25% | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 30 | 9 | 20.5% | 6.930 | 9 | 31% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 24 | 5 | 11.3% | 12.324 | 5 | 17.4% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 00 | 1 | 2.2% | — | — | — | — | — | — | 24.900 | 1 | 33.34% | — | — | — | — | — | — |
| 00 | 1 | 2.2% | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 30.600 | 1 | 33.34% |

Do exposto se conclue que a maior porcentagem das amostras analisadas (24%) apresenta entre 1.000 a 2.000 leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$, e que, entre estas, 41,66% dos concentrados de tomate têm entre *1.000 e 1.200* leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$.

## CAPÍTULO VIII

## DISCUSSÃO

Os produtos de tomate examinados no decorrer destas pesquisas procediam de numerosos Estados do Brasil e de 20 fabricantes diferentes.

Foram examinadas 100 amostras de produtos de tomate: 55% massas e 45% extratos. Quanto ao acondicionamento, 40% vieram enlatadas e 60% empacotadas.

Não seria razoavel restringir os exames a determinado tipo de produto ou de embalagem. Foram tomadas como norma diretriz tanto quanto possivel as condições atuais do mercado brasileiro.

Se os produtos estão sendo vendidos fracionadamente, por peso, não seria lógico limitar as investigações aos produtos enlatados, razão pela qual foram examinados indiferentemente, tanto os produtos enlatados, como empacotados e tanto os extratos como as massas. Os dados obtidos são assim mais aproximados da realidade.

Adotando idêntico critério, não restringimos as nossas investigações aos produtos puros. Seria um critério unilateral, de vez que, cerca da metade das amostras examinadas, isto é, 44%, demonstrou a presença de um ou de mais de um adulterante, havendo sido constatado que só 25% das massas de tomate submetidas a exame estavam puras.

A abóbora foi dos adulterantes o mais encontradiço. A sua presença foi revelada em 29% dos casos, o pimentão em 8%, a batata doce em 3% e a banana em 1%. Em 3% das amostras foi constatada a existência de 2 e de mais de 2 adulterantes concomitantemente.

Em relação à contagem de cogumelos, verifica-se que 79% das amostras submetidas a exame apresentaram mais de 50% de campos microscópicos positivos, com um mínimo de 14% e um máximo de 98% de campos positivos.

Os processos de elaboração são ainda deficiente entre nós, pois tanto os produtos enlatados como os empacotados evidenciaram *números índices* sensivelmente iguais, indicativos de que o enlatamento desses produtos está se processando em condições menos satisfatórias.

Qualquer legislação a respeito deverá ser baseada tanto quanto possivel nas condições atuais. Assim não poderá ser feita distinção entre massas e extratos com relação ao teor em filamentos micelianos. Isto é facilmente verificado no quadro abaixo:

QUADRO COMPARATIVO

| PORCENTAGEM DE CAMPOS POSITIVOS | MASSAS | EXTRATOS |
|---|---|---|
| 10 a 19% | 1,8,% | 0 |
| 20 a 29% | 1,8% | 0 |
| 30 a 39% | 3,6% | 4,5% |
| 40 a 49% | 11,1% | 11,1% |
| 50 a 59% | 7,9% | 17,7% |
| 60 a 69% | 21,9% | 17,7% |
| 70 a 79% | 29,2% | 33,3% |
| 80 a 89% | 16,3% | 13,4% |
| 90 a 99% | 7,2% | 2,3% |

Não se constata aquí diferença substancial entre massas e extratos com relação ao conteudo de cogumelos:

18,3% das massas apresentavam menos de 50%;

81,6% " " " mais de 50% de campos microscópicos positivos; ao passo que:

15,6% dos extratos demonstravam menos de 50% e

84,4% " " " mais de 50% de campos microscópicos positivos.

Quanto ao conteudo de bactérias, a situação dos extratos é melhor do que a das massas:

| BACTÉRIAS POR C.C. | MASSAS | EXTRATOS |
|---|---|---|
| 0 a 50 milhões | 0% | 4,4% |
| 50.000.001 a 100 milhões | 1,8% | 11,2% |
| 100.000.001 a 200 milhões | 13,6% | 40,0% |
| 200.000.001 a 300 milhões | 16,2% | 13,4% |
| 300.000.001 a 400 milhões | 19,3% | 11,2% |
| 400.000.001 a 500 milhões | 16,6% | 6,6% |
| 500.000.001 a 600 milhões | 5,5% | 8,8% |
| 600.000.001 a 700 milhões | 7,4% | 0 |
| 700.000.001 a 800 milhões | 1,8% | 0 |
| 800.000.001 a 900 milhões | 1,8% | 2,2% |
| 900.000.001 a 1 bilhão | 3,9% | 0 |
| 1.000.000.001 a 5 bilhões | 10,9% | 2,2% |
| 5.000.000.001 a 10 bilhões | 1,8% | 0 |

Assim, enquanto mais da metade dos extratos, isto é, 55,6%, tem menos de 200.000.000 de bactérias por cc., somente 15,4% das massas demonstrou taxas inferiores a 200 milhões de bactérias por cc.. O conteudo bactérico dos extratos é assim bem menor.

Em relação às leveduras e espóros as porcentagens foram excepcionalmente elevadas; 41,66% dos produtos examinados têm entre 1.000 e 1.200 leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$. Os resultados alcançados na verificação do conteudo de leveduras e espóros tendem a indicar que no Brasil a matéria prima utilizada na manufatura de produtos de tomate fica exposta a demoras grandes antes de ser industrializada. Durante esse período a má conservação determina fermentações, com o consequente aumento da flora microbiana.

Esse aumento de microorganismos pode, tambem, ser posterior à fabricação. Isto ocorre nos casos de má conservação do produto já elaborado.

Crues (1938), referindo-se à influência da conservação, assim se expressa: "In former years it was customary to store tomato pulp (to used for catsup, etc.) in wooden barrels with distilled venegar or sodium benzoate as a preservative. Almost invariably such pulp has shown on microscopical examination after several months' storage very high counts of bacteria and often high mold counts". Após a regulamentação oficial dos produtos de tomate, nos Estados Unidos, as constantes condenações e inutilizações de grandes partidas concorreram para que os industriais abandonassem o emprego das barricas de madeira e adotassem o uso de latas hermeticamente cerradas e tindalizadas antes do armazenamento da polpa.

O método de controle de Howard oferece ampla margem de garantia aos industriais que trabalham em condições adequadas. Segundo Crues, os limites de tolerância máximos admitidos presentemente pela lei americana, poderiam ser reduzidos à metade, nos Estados Unidos, sem sacrifício do industrial.

Para serem alcançados tais objetivos deverão, naturalmente, ser tomadas todas as precauções, separando os tomates em más condições e mantendo a mais rigorosa higiene durante os processos de elaboração e de armazenamento.

Os produtos fabricados com tomates sãos, bem levados e corretamente industrializados devem apresentar baixo teor microbiano. As contagens altas indicam invariavelmente o emprego de tomates

alterados e de processos inadequados na industrialização do produto. A lavagem cuidadosa dos tomates permite retirar grande quantidade dos cogumelos aderentes à casca, reduzindo o teor microbiano, pois a flora de contaminação é de carater eminentemente aeróbio.

Tanto a extração como a concentração da polpa devem ser processadas o mais rapidamente possivel, devendo o concentrado ser conservado de preferência em vasilhame hermeticamente cerrado depois de sofrer tindalização previa.

O processo de Howard nos paizes em que foi oficialmente adotado, trouxe grande melhoramento ao estudo sanitário dos produtos de tomate, daí a conveniência da sua introdução no Brasil.

Ozório de Almeida e colaboradores (1941), estudando a ação do suco de "*Solanum lycopersicum*" sobre a germinação de sementes e crescimento de plantas, levantou a hipótese de que a ação das substâncias inibidoras no fruto destina-se a impedir a proliferação de germes e parasitas que possam atacar as sementes.

Agradecemos ao Sr. J. Menezes Junior varios dos excelentes desenhos que ilustram este trabalho e sua valiosa cooperação. Somos gratos a todos os ensinamentos e a valiosa orientação dos Drs. S. e A. Soriano de Buenos Aires; a assistência do Dr. J. B. Howard, de Washington; a decidida colaboração do Dr. Bruno Rangel Pestana, Chefe da Sub-divisão de Bromatologia e Química do Instituto; pelo interesse do Dr. Nicolino Morena, Chefe do Serviço de Policiamento da Alimentação Pública, e do Dr. Ernani Max, mandando nos fornecer o maior número possivel de amostras para esses contrôles; assim como ao Sr. Clovis Napoleão pela eficiente colaboração.

## CAPÍTULO IX

## CONCLUSÕES

1º) Utilizando a técnica de Howard para contrôle de cogumelos, bactérias, leveduras e espóros em produtos de tomate, procurou-se verificar o estado sanitário desses produtos. Foram minuciosamente examinadas 100 amostras de produtos derivados de tomate, oriundas de vários Estados do Brasil e pertencentes a 20 fabricantes diversos.

2º) Em relação ao controle de cogumelos, verificou-se que 83% das amostras examinadas apresentaram mais de 50% de campos microscópicos positivos. A maior proporção achada foi de amostras com 76% de campos microscópicos positivos. As taxas oscilaram entre um mínimo de 14% e um máximo de 98% de campos microscópicos positivos.

3º) Em relação ao controle de bactérias por cc., verificou-se que a maior porcentagem foi apresentada pelos produtos contendo entre 100 e 200 milhões de bactérias por cc.

4º) Em relação ao contrôle de leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$, verificou-se que as amostras examinadas apresentaram na sua totalidade mais de 125 leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$. A maior porcentagem, ou sejam 41,66%, dos produtos examinados apresentou entre 1.000 1.200 leveduras e espóros por 1/60 mm.$^3$.

5º) Em relação aos adulterantes: 44% dos produtos examiminados demonstraram a presença de um ou de mais de um adulterante.

6º) Os adulterantes mais frequentes foram: a abóbora em 29% dos casos; o pimentão em 8%; a batata doce em 3% e a banana em 1%. Em 3% das amostras examinadas foi evidenciada a presença de mais de um adulterante.

7º) Três quartas partes das massas de tomate examinadas, ou sejam 75%, estavam adulteradas com um ou mais com de um adulterante.

## SCHLUSSFOLGERUNG:

Die Schwämme, Bakterien, Hefen und Sporen in Produkten von Tomaten kontrolierend, wurde die Technik von Howard benützt, um ihren Gesundheitsstandpunkt festzustellen.

1.º) Es wurden bis ins kleinste gehend 100 Muster von verschiedenen Tomaten-Produkten untersucht, von verschiedenen Staaten Brasiliens herstammend, und von 20 verschiedenen Fabrikationen.

2.º) Im Bezug auf die Kontrolle der Schwämme, wurde festgestellt, dass von den 83% der untersuchten Muster,

mehr als 50% positive mikroskopische Felder aufwiesen. Das grösste Verhältnis, das gefunden wurde, war von Mustern mit 76% positiven mikroskopischen Feldern. Die Grenzen schwankten zwischen einem Minimum von 14% und einem Maximum von 98% positiven mikroskopischen Feldern.

3.º) Im Bezug auf die Kontrolle der Bakterien pro cc., wurde festgestellt, dass der grösste Prozentsatz bei Produkten von 100-200 Millionen Bakterien pro cc. aufgefunden wurde.

4.º) Im Bezug auf die Kontrollen der Hefen und Sporen pro 1/60 $mm^3$, wurde festgestellt, dass die untersuchten Muster insgesammt mehr als 125 Hefen und Sporen pro 1/60 $mm^3$ aufwiesen. Der grösste Prozentsazt, oder 41,66% der untersuchten Produkte, wies 1.000 bis 1.200 Hefen und Sporen pro 1/60 auf.

5.º) Im Bezug auf verfälschte Muster: 44% der untersuchten Produkte wiesen eine oder mehr Verfälschungen auf.

6.º) Die haufigsten Verfälschungen waren: der Kürbis in 29% der Fälle; der grosse Pfeffer in 8%; die süsse Kartoffel in 3% und die Banane in 1%. In 3% dre untersuchten Muster wurden mehr als eine Fälschung vorgefunden.

7.º) Drei viertel der untersuchten Tomaten massen, oder 75%, waren mit einer oder mehreren Fäfschungen verfälscht.

## BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, A. Ozório; M. D. Goulart; M. Yelpo & A. V. Pinto — 1941, *Rev. Bras. Biol.*, *1*:345.

ALMEIDA, F. P.; C. S. Lacaz & O. Barros — 1941, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, *1*:396.

BERTARELLI, E. & M, Marchelli — 1920, *An. di Hig.*, *30*:309.

BESSEY, E. A. — 1935, A text book of Mycology — P. Blakiston's Son & Co., Edit. Philadalphia.

BUCHANAN, E. D. & R. F. Buchanan — 1930, Bacteriology — MacMillan Co. — Edit. Londres.

BULLER SOUTO, A. — 1941, *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, *1*:181.

CRUES, W. W. — 1938, Commercial Fruit and Vegetables products — Sec. Ed. — Mac Grow Co. — Edit. — New York.

— 1936, Exportación de tomate — *Bol. Frutas y Hortalizas del Ministerio de Agricultura*, *1*:1.

— 1934, Decreto n.º 51.266 de 7 de Novembro de 1934 — Leys, Decretos y Resoluciones — Ministerio de Hacienda — *D. G. O. Quimicas Nacionales*, *2*:18.

— 1934, Decreto n.º 70.150 de 2 Novembro de 1936, *idem*, pg. 79.

— 1940, Decreto n.º 79.832 de 18 de Novembro de 1940.

— 1939, Federal Food, Drug, and Comestic Act. General regulations for its enforcement — U. S. Government Printing Office, Edit.

FONSECA, O. — 1937, Notas de um Curso de Mycologia do Instituto Oswaldo Cruz.

GODOY, E. F. — 1939, *Bol. de frutas y hortalizas del Minist. de Agricultura de la Nación, 4*:1.

HAGER, H. & C. Mez — 1922, El Microscopio y sus aplicaciones — Gustavo Gili Edit. Barcelona.

— 1937, Indústria do Suco de tomates — *Notas Agricolas da Secretaria da Agricultura do Estado de S. Paulo, 3*:28.

HOWARD, J. B., 1935, Determination of insects parts in tomato products. Food and Drug Administration. Department of Agriculture — Edit. Washington.

HOWARD, J. B. — 1939, Outlines for instruction in tomato microscopical methods. Food and Drug Administration. Department of Agriculture — Edit. Washington.

LEPRINCE, M. & R. Lecoy — 1930, Guide pratique d'analyses alimentaires et d'expertises chimiques usuelles. Vigot Frères, Edit. Paris.

LORENA, B. — 1937, A cultura do tomateiro — Direto. Publicidade Agrícola da Secretaria da Agricultura do Estado de S. Paulo — Edit. S. Paulo.

— 1940, Microanalyses of tomato pulp, puree, sauce paste. Official and Tentative methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 5.ª ed., Assoc. of Official Chemists Edit., Washington.

MORRIS, T. N. — 1933, Principles of fruit preservation. Chapman & Hall Edit., Londres.

RIBEIRO, R. F. & A. GOMES — 1941, *Rev. do Instituto Adolfo Lutz, 2*:476.

RIVAS, J. G. — 1937, *Bol. de frutas y hortalizas del Minist. de Agric. de la Nación, 2*:1.

SCHNEIDER, A. — 1920, The Microanalyses and Microbiology of Foods. P. Blakiston's Sons & Co. Edit., Philadelphia.

SMITH, F. R. — 1940, A method for determination of mold in tomato soup, canned spaghetti, pork and beans and similar products containing tomato sauce. Food and Drug Administration. Depart. of Agriculture Edit. Washington.

SORIANO, A. & L. Garassini — 1941, Analisis microscopico industrial de las conservas de tomates por la determinación de filamentos de hongos y fragmentos de insectos. Trabalho apresentado à "1a. Reunión Argentina de Agronomia" 2 a 6 de Abril de 1941, Buenos Aires.

TANNER, F. W. — 1919, Bacteriology and Mycology of Foods. John Wiley & Sons, Edit. New York.

WINTON, A. L. & K. B. Winton — 1933, The structure and composition of Foods. John Wiley & Sons, Edit., New York.

FIG. 10
Massa de filamentos micelianos
(lugol) 360 x

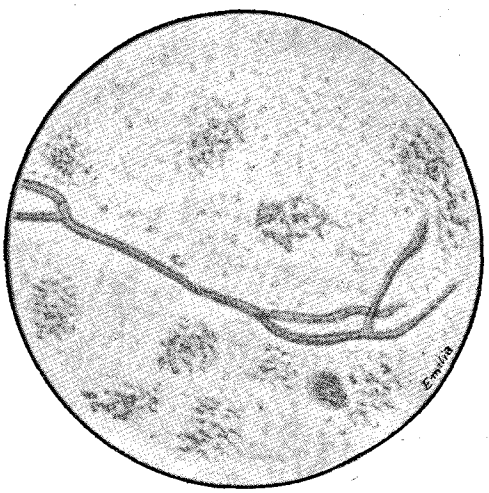


FIG. 11
Filamento miceliano (azul de algodão). 360 x.

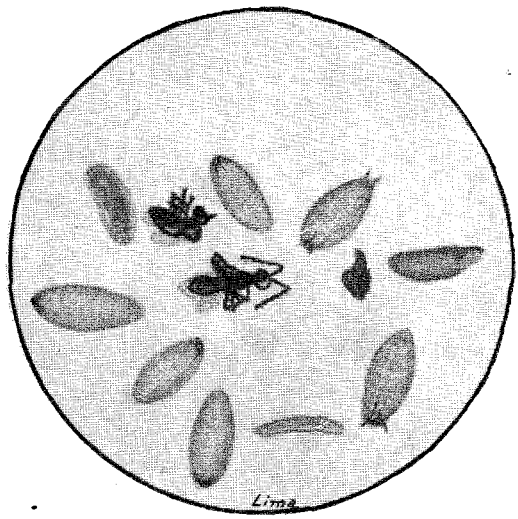



FIG. 18
Larvas e insétos.

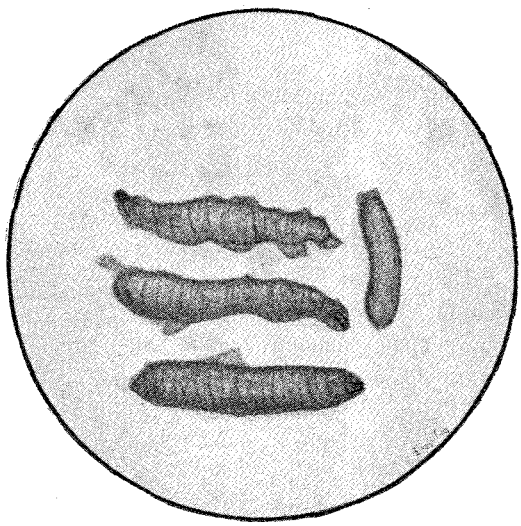


FIG. 19
Larvas e insétos.

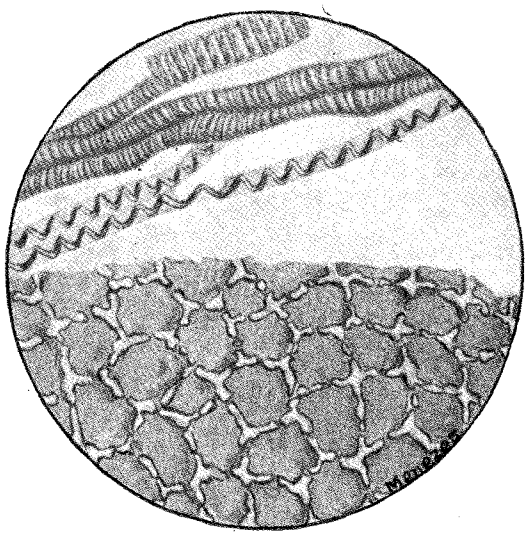


FIG. 21
*Tomate crú* — Dutos espiralóides e elementos da casca (epicarpo). (360 x).

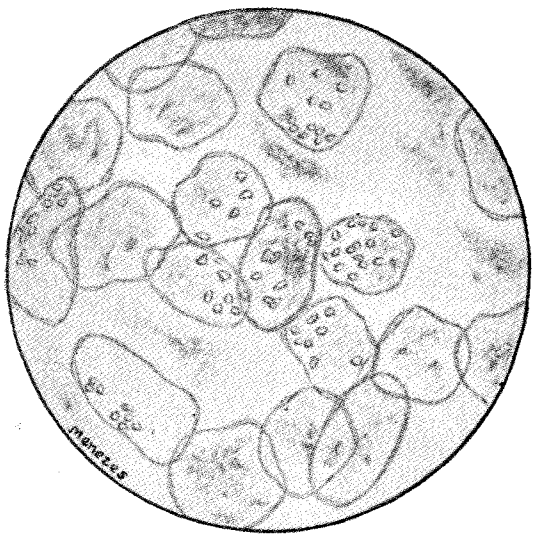


FIG. 22
*Tomate crú* — Células com e sem amido. (80 x).

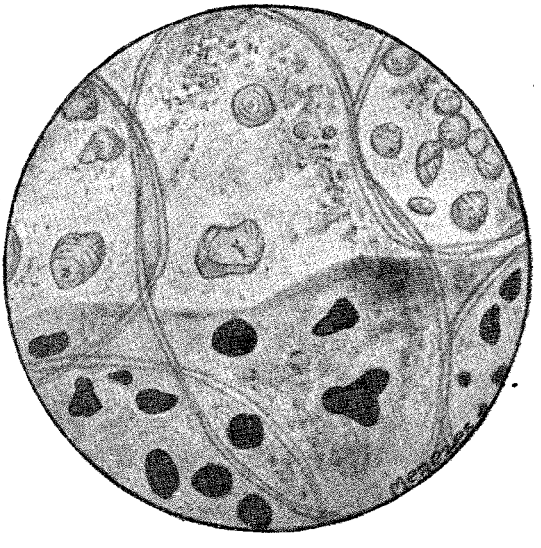


FIG. 23

*Tomate crú* — Células amilíferas com e sem reação de lugól. (360 x).

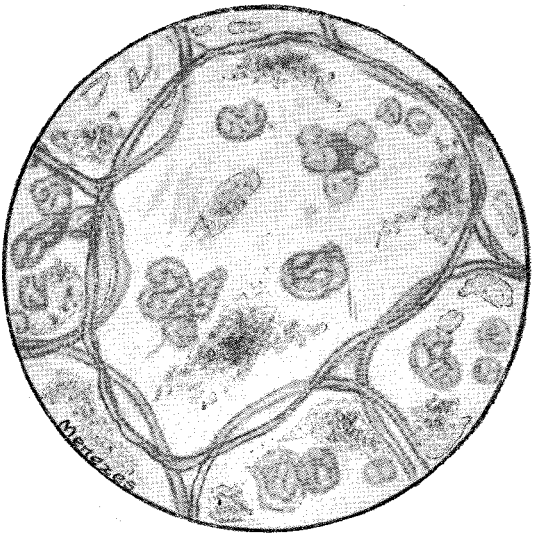


FIG. 24

Elementos do tomate (Extrato). Amido alterado pela ação do calor. (360 x).

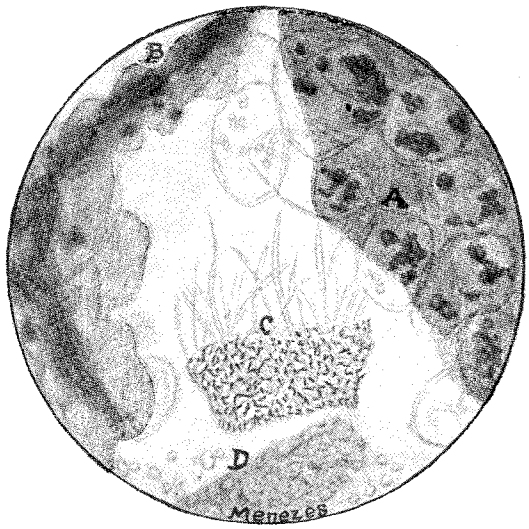



FIG. 25

*Tomate cosido* — (A) celulas amiliferas com e sem lugol; (B) dutos; (C) episperma; (D) Endosperma (aleurona e gotas de gordura). (80 x).

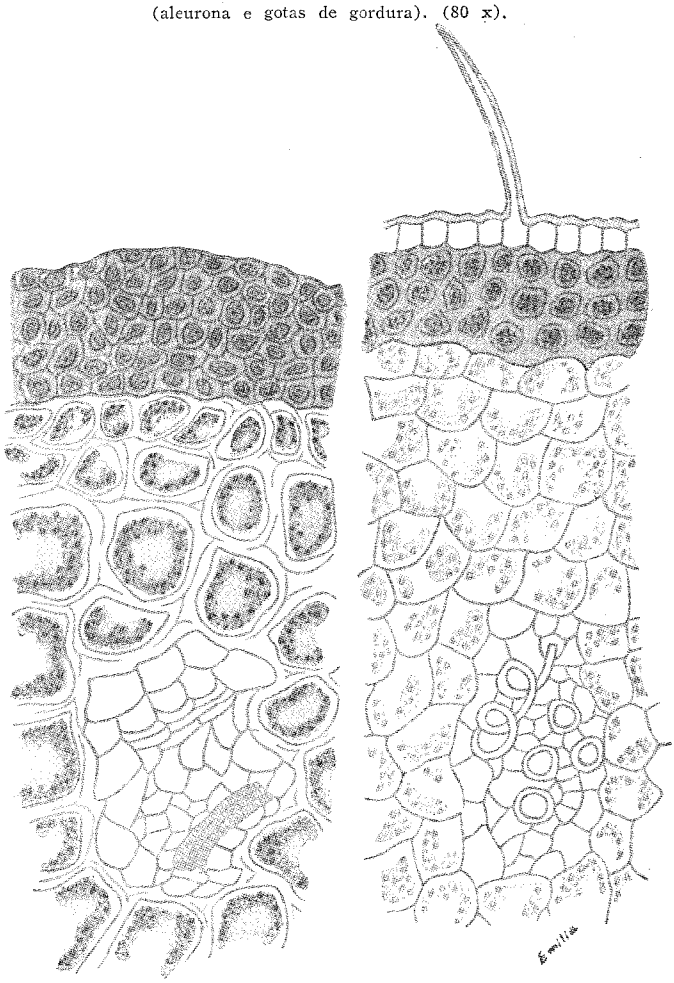


FIG. 27

*Tomate e Abobora* — córte transversal (Segundo Macé — modif.).

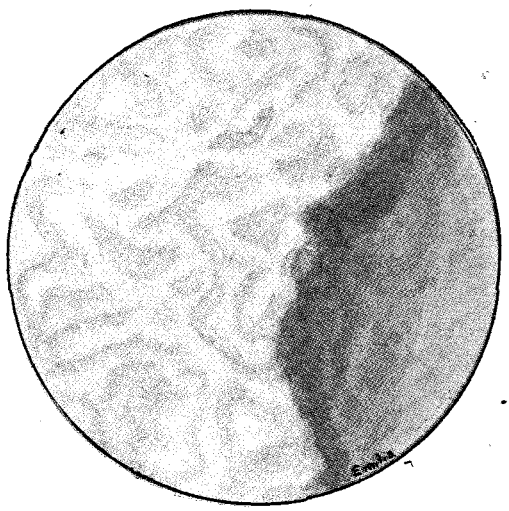


FIG. 30
*Pimentão* — (micro-reação).

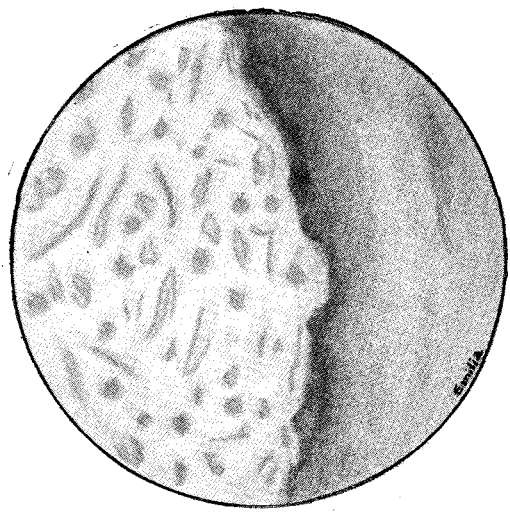


FIG. 31
*Cúrcuma* — (micro-reação).

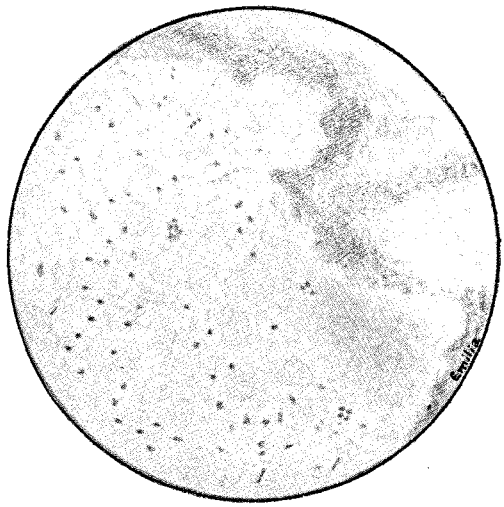


FIG. 32
*Urucum* — (micro-reação).

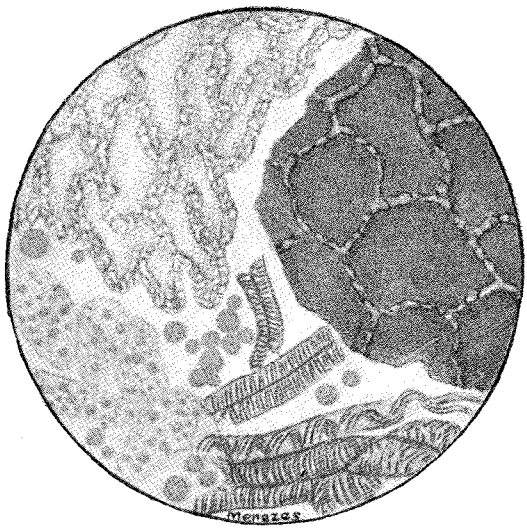



FIG. 33
*Pimentão* — (360 x).

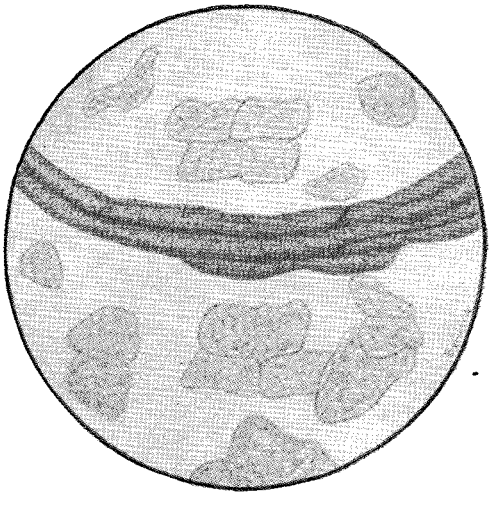


FIG. 35
*Batata-dôce* (cosida)

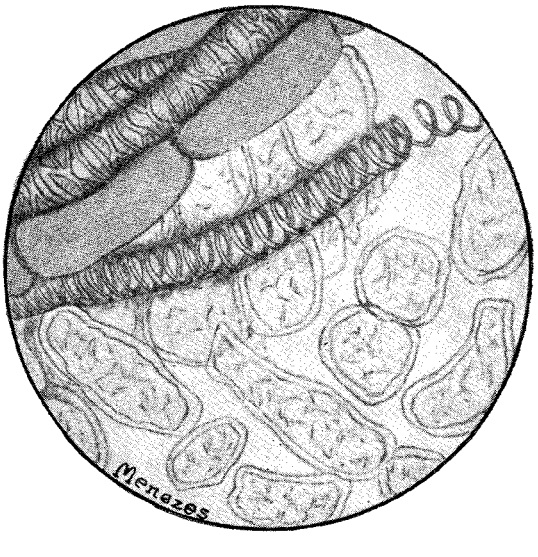



FIG. 36
*Banana cosida* — (var. sapientum). (360 x).

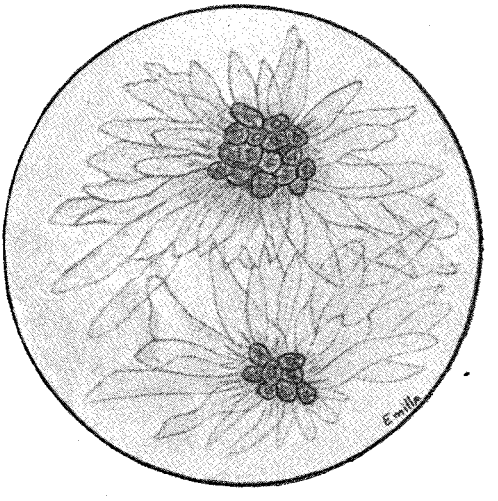



FIG. 37
*Pera nacional* — (Celulas petreas)

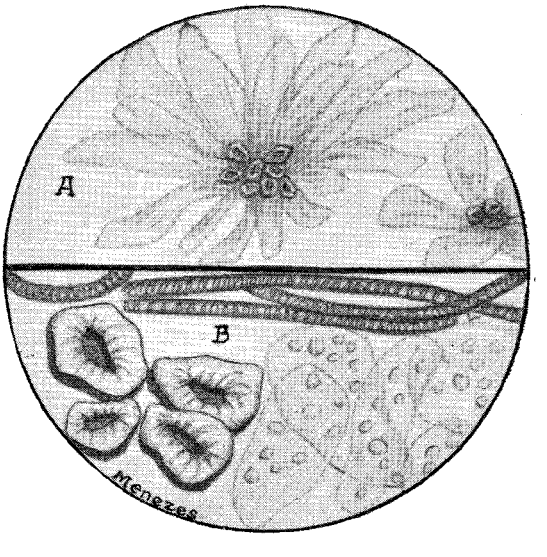



FIG. 38
*Pêra nacional*
A) Blócos de celulas petreas (80 x); B) Dutos — células petreas isoladas — celulas amiliferas (360 x).