

INVESTIGAÇÕES MICROSCÓPICAS SOBRE MANTEIGAS (*)

A. BÜLLER SOUTO

Biologista do Instituto Adolfo Lutz.

O. DE GODOY E J. B. FERRAZ MENEZES JÚNIOR

Químicos do Instituto Adolfo Lutz.

A manteiga é um alimento de consumo grande e muito difundido, daí o interesse que apresentam as investigações referentes a esse produto alimentício.

No intuito de melhorar os característicos físicos, químicos e organoléuticos das manteigas, adicionam-se, com frequência, culturas puras e selecionadas de certos microorganismos. Assim a contagem microscópica quantitativa global de todos os micróbios encontrados apresenta interesse relativo, da mesma maneira a análise bacteriológica quantitativa total proporciona poucos dados aproveitáveis para se avaliar do estado sanitário da manteiga.

Só a análise bacteriológica qualitativa é capaz de fornecer indicações úteis. Como "índices bacteriológicos" ou "germes de prova" foram escolhidos os cogumelos e as leveduras, germes esses normalmente presentes em quantidade pequena na manteiga adequadamente pausteurizada. A contagem desses microorganismos permite obter bom índice da qualidade sanitária da manteiga, conforme referem Mac e Richie². Esses autores admitem que a contagem dos cogumelos e das leveduras na manteiga serve como critério da eficiência da pasteurização e do estado sanitário das fábricas e usinas onde o creme e a manteiga são manipulados.

Na manteiga são pouco satisfatórias as condições para o crescimento dos microorganismos em geral. Essas más condições para o desenvolvimento dos microorganismos na manteiga foram postas em evidência por Hammer³ e são devidas ao fraco teor em lactose, ao elevado conteúdo de cerca de 90% de gordura relativamente resistente, ao baixo teor de umidade e à taxa de cloreto de sódio regularmente elevada nas manteigas salgadas.

(*) Trabalho apresentado e aprovado pela 1.ª Jornada Brasileira de Bromatologia.

Apesar destas condições desfavoráveis, alguns microorganismos conseguem se desenvolver sôbre a manteiga, acarretando modificações em seus característicos físicos, químicos e organoléticos e nas suas propriedades nutritivas. Dentre êsses microorganismos são justamente os cogumelos e as leveduras os principais responsáveis pelas alterações e decomposições da manteiga. Assim, os cogumelos quando crescem na superfície da manteiga, onde as exigências em oxigênio podem ser melhor satisfeitas, acarretam modificações no aspecto, no cheiro e no gôsto dêste alimento. Segundo escreve Hammer⁶: "Mold on butter is the cause of considerable loss because the moldy portion must be removed, this involving a decrease in weight and additional labor, and also because in influence of the mold growth on the flavor of the normal appearing portion. *In general, moldy butter is an indication of unsatisfactory methods of manufacturing and packing*".

Os tipos de cogumelos variam muito na aparência, no poder invasivo e produzem distintas substâncias capazes de influir na qualidade da manteiga. Algumas vêzes dois ou mais cogumelos podem crescer ao mesmo tempo exercendo influência mais pronunciada sôbre o carater da decomposição. No trabalho de Grimes, Cumins e Kennelly⁵, encontra-se extensa lista dos principais cogumelos isolados da manteiga e uma excelente descrição dos seus característicos morfológicos e culturais.

A atividade lipolítica e caseolítica dos cogumelos invasores exerce papel preponderante na qualidade da manteiga. Alguns dos cogumelos que crescem na manteiga produzem produtos que causam mau cheiro e mau gôsto, ao passo que outros não afetam os seus característicos organoléticos.

North e Reddish (ref. de Vandaveer e Wildman), examinando manteigas e cremes de boa qualidade, jamais encontraram mais de 5.000 oidios por cm³. Notaram haver inter-relação entre a presença de oidios em número considerável (50.000) e o emprêgo de cremes velhos ou deteriorados na manufatura da manteiga. Clarke (ref. idem) usando o método de Wildman¹⁰, chegou à conclusão de que devem ser encontrados sômente vestígios de filamentos micelianos na manteiga preparada com creme de boa qualidade, ao passo que a manteiga preparada com creme decomposto apresenta sempre grande quantidade de filamentos micelianos.

Adams e Parfit¹ observaram que a quantidade dos filamentos micelianos é bom índice da idade do creme empregado na fabrica-

ção da manteiga, e da temperatura em que o mesmo foi conservado antes de ser utilizado.

Em investigações realizadas sob os auspícios da Food and Drug Administration, no vale do Mississipi, Meyers, Pruitt e Slocum demonstraram que se a conservação era adequada, até 6 dias depois poderiam ser obtidos cremes isentos de cogumelos e, sem alteração dos característicos organoléticos, até 8.º dia. Tendo em conta essas observações, Vandaveer e Wildman⁹ investigaram sob o aspecto comercial, qual a importância do filamento miceliano na manteiga preparada com cremes de procedência conhecida.

Verificaram Vandaveer e Wildman⁹ que as manteigas preparadas com cremes velhos apresentam invariavelmente elevada porcentagem de filamentos micelianos donde a sua conclusão que: "*It is apparent that under conditions studied the mold mycelia count in butter reflects the age of the cream*".

Os fatores que influenciam o desenvolvimento do cogumelo na manteiga e no creme são muito variados, entre outros se destacam a temperatura, o tempo de conservação, a acidez, a lavagem frequente dos utensílios, as condições de mungidura do leite, a taxa de sal, a presença da caseína e o conteúdo em água.

O desenvolvimento do *Penicillium glaucum* é impedido no meio contendo 27% de cloreto de sódio e 83% de umidade relativa, ao passo que 12% de concentração de cloreto de sódio e 92% de umidade têm o mesmo efeito sobre o *Oidium lactis*. O salgamento da manteiga não previne o desenvolvimento dos esporos, apenas diminui a sua porcentagem. As espécies *Oidium*, *Alternaria* e *Cladosporium* em geral não se desenvolvem em manteigas com um teor de 2,5% de sal.

A prevenção deverá ser dirigida para o creme, pois é a origem de contaminação pelo cogumelo. Existe sempre relação estreita entre o conteúdo de filamentos micelianos da manteiga e a idade e a acidez do creme: "*A high mold mycelia count in butter, shows conclusively that decomposed or unfit cream was used*".

Tanto naquilo que se relaciona com o creme como com a manteiga os cogumelos são contaminantes muito prejudiciais porque decompõem as proteínas e as gorduras, produzindo produtos indesejáveis conforme verificaram Parfitt e Galema. Enfim, segundo

a opinião de Bouska²: "*One of the most undesirable germs in cream is the milk mold*".

Assim, uma das preocupações do produtor deverá ser a de trabalhar com cremes isentos de cogumelos ou com taxa desprezível dos mesmos afim de conseguir manteigas com porcentagem pequena ou nula de filamentos micelianos. Além de alterarem as suas qualidades nutritivas, os cogumelos tornam a manteiga desprezível como substância alimentícia, pois a maioria dos consumidores têm repugnância natural pela manteiga "mofada", o que acarreta prejuízos econômicos muito grandes, assim a condenação do produto é feita automaticamente pelo próprio consumidor.

As presentes investigações foram conduzidas com o fito especial de verificar a importância da presença do cogumelo e, se este deveria ser considerado como um constituinte natural e absolutamente inevitável do creme e da manteiga, como acontece com certos tipos de queijo.

Em extenso trabalho Wildman¹¹ investigou se poderiam ser obtidos cremes e manteigas isentos ou com porcentagem mínima de cogumelos. Tendo em conta as observações anteriores feitas por Greene⁴ sôbre a aglomeração de cogumelos, Wildman empregou a solução de borax para dissolver o coalho de caseína da manteiga, corando as massas de cogumelos com o auxílio do azul de metileno.

Wildman¹² chegou à conclusão de que o desenvolvimento do cogumelo no creme é inevitável. A única distinção está entre a presença de alguns filamentos e de poucos esporos somente e a constatação de grandes quantidades dos mesmos.

A presença de grande quantidade de cogumelos pode provir tanto da contaminação do aparelho mal lavado e mal esquentado, como da contaminação de estábulo. A quantidade excessiva de cogumelos na manteiga também indica descuido no manêjo, falta de higiene, deficiência de refrigeração, período de armazenamento demasiado longo do creme e emprêgo de creme decomposto na fabricação da manteiga. O conteúdo em filamentos micelianos aumenta proporcionalmente nas amostras com característicos organoléticos condenáveis conforme escreve Wildman¹¹: "Data on this question show as a matter of fact the percentage of off — flavored samples increases as the mold mycelia content increase".

A maior proporção das amostras de creme com característicos organoléticos anormais corresponde sempre a um aumento do teor de cogumelos nos mesmos. Quando são empregados êsses cremes.

com característicos organoléticos condenáveis, invariavelmente as manteigas obtidas de tais cremes apresentam contagens muito elevadas de filamentos micelianos.

Se os cremes ácidos e não pasteurizados não forem conservados em utensílios limpos e refrigerados o seu teor em cogumelos aumenta. O *ospora lactis*, cresce rapidamente nos resíduos de leite ou de creme deixados no vasilhame. O número de cogumelos que aí se encontra é sempre muito grande.

Sob o ponto de vista prático a maior fonte de contaminação é o uso de recipientes que não foram adequadamente lavados e escaldados e, nos quais, o creme tornou-se embolorado. A preocupação inicial deverá ser a de manter todos os utensílios e equipamentos em condições de limpeza a mais rigorosa possível. O creme deverá ser sempre conservado em temperatura abaixo de 20°C principalmente nos meses de verão. A adição de creme fresco duas vezes ao dia, com agitação completa, ao creme armazenado, tende a prevenir o desenvolvimento dos cogumelos contaminantes. A remessa frequente do creme para as cremerias ou a sua utilização o mais rapidamente possível é uma prática absolutamente recomendável. Essas recomendações já têm sido repetidas desde há muitos anos, e Wildman¹¹ cita mesmo o trecho de um artigo aparecido em 1850 no "Prairie Farmer":

"To make good butter there must be good cream. This would seem to be self evident; but it is frequently overlooked. A sweet and delicious article cannot be made of a bitter, or badly soured, or mixed cream; whether it is made so the keeping process previous to chunning".

É, pois, fato provado e perfeitamente estabelecido que jamais poderá ser obtida boa manteiga de um creme embolorado, envelhecido e mal conservado.

A taxa alta de gordura do creme é um fator de diminuição de seu teor em cogumelos, assim como o enchimento o mais completo possível dos latões destinados à remessa das grandes partidas de creme para as cremerias, concorre para diminuir os riscos do emboloramento.

Partindo do princípio perfeitamente estabelecido de que, quanto maior é a quantidade de filamentos micelianos na manteiga tanto pior é a sua qualidade, deverão ser empregados todos os cuidados afim de diminuir tôdas as possibilidades de contaminação ou que aumentem a quantidade dos filamentos micelianos. Uma das

vantagens principais do método de contagem dos filamentos micelianos é a possibilidade de dar informações sôbre a matéria prima empregada na fabricação da manteiga, permitindo assim o contrôlo retrospectivo do creme empregado.

Tôdas as vêzes que um creme embolorado for aproveitado na fabricação de manteiga, a mesma apresentará um alto teor em filamentos micelianos.

Sem um bom creme não poderá haver boa manteiga. Todo o creme embolorado é um creme deficiente sob o ponto de vista das condições de higiene, de colheita, de separação, de conservação e condenável sob o ponto de vista alimentício. O cogumelo se desenvolve tanto à custa das propriedades nutritivas do creme como da manteiga.

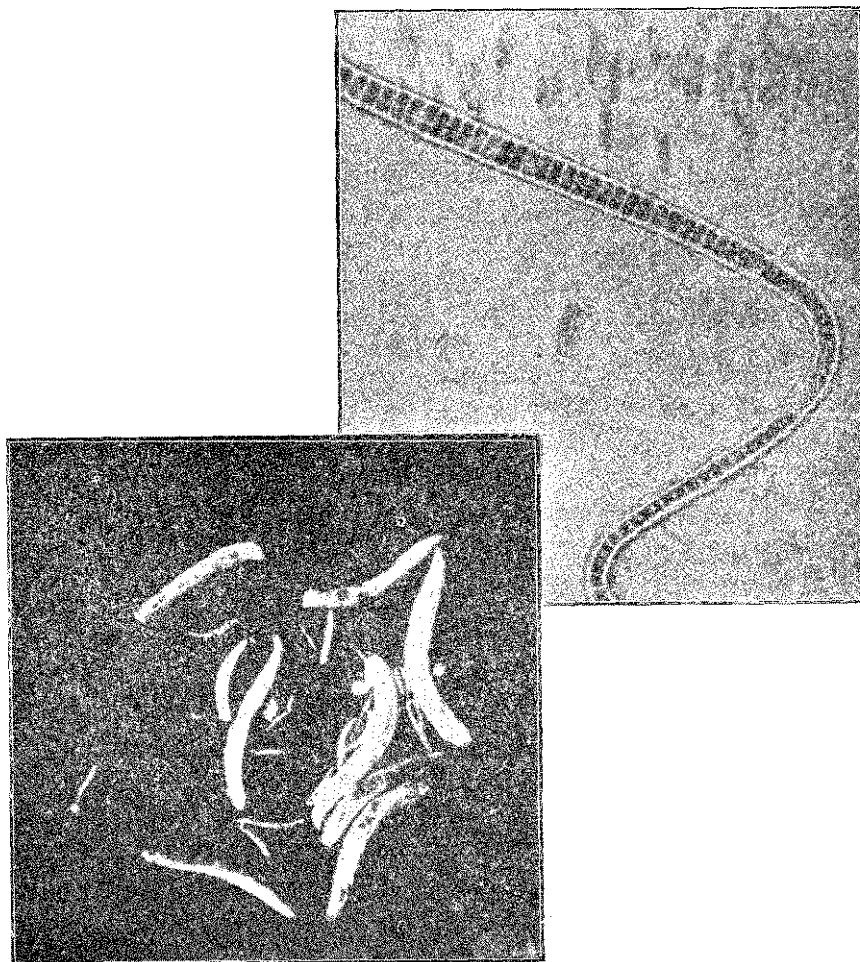
Investigamos detalhadamente o teor de filamentos micelianos nas manteigas do comércio, assim como qual a relação que poderia haver entre a idade da manteiga, as condições da sua conservação, de seu tipo e o seu teor em filamentos de cogumelos. Os resultados referentes a estas últimas investigações são relatados na parte experimental do presente trabalho.

SUJIDADES DA MANTEIGA

O exame microscópico da manteiga, permite também a verificação da presença de substâncias estranhas, de parasitas, de insetos e seus fragmentos. Essas sujidades da manteiga têm grande importância no contrôlo sanitário dêste produto. Com efeito, os pêlos de roedores, os fragmentos de excrementos de roedores, os insetos inteiros, os excrementos de insetos e os fragmentos do corpo de insetos e outras substâncias repugnantes, podem ser encontradas na manteiga oferecida ao consumo público. As sujidades podem ser encontradas mesmo nas manteigas de qualidade a melhor com referência à escala de classificação por pontos. De início a constatação das sujidades na manteiga produziram uma impressão muito forte. É o que se pode constatar lendo o número de setembro de 1935, pag. 441, da "Food Industries":

"Astonishing itens about butter have appeared in "Notices of Judgments" issued by the U. S. Department of Agriculture within the past twelve months.

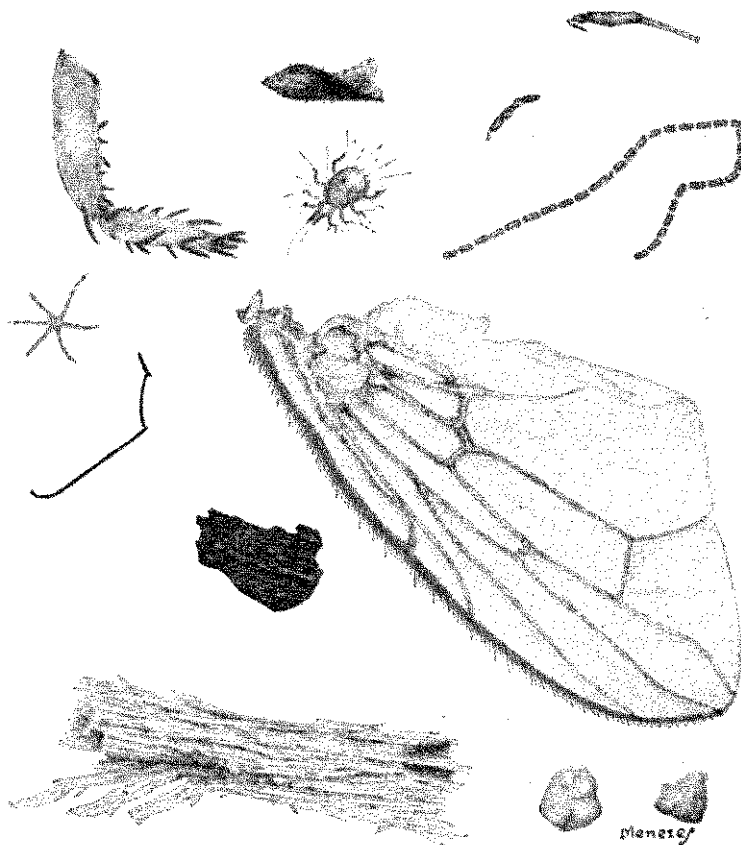
Butter, which most of us have heretofore regarded as the substance that gets into trouble only account of short-weight or too-high moisture content, has been repeatedly cited and condemned because the presence of filthy foreign matter".



Foram experimentados vários processos para o controle da verificação da presença de sujidades nas manteigas.

Os métodos comuns de flutuação com gasolina, clorofórmio e tetracloreto de carbono, comumente utilizados no exame das farinhas, não puderam ser empregados porque as impurezas encontradas na manteiga variavam muito em sua densidade.

Os métodos que consistiam simplesmente em dissolver a gordura da amostra e examinar o resíduo não dissolvido sob o microscópio, também esbarravam com a presença de caseína que, sendo um constituinte normal da manteiga e insolúvel nos solventes orgânicos, perturbava a pesquisa de qualquer substância estranha. Foi então utilizado nos ensaios dos vários métodos de contróle, a capacidade que tem o borax de dissolver a caseína. Verificou-se então que o borax dissolvendo a caseína não destruía as substâncias estranhas presentes na manteiga. O novo método devido a Greene⁴ consiste essencialmente no tratamento da manteiga por uma solução de borax quente, tornando solúvel a caseína coagulada e depois filtrando e lavando o resíduo. Por êste processo, as sujidades e outras matérias estranhas da manteiga são deixadas no papel de filtro onde podem ser facilmente examinadas e contadas ao microscópio.



Sujidades da manteiga (orig.).

TÉCNICAS EMPREGADAS

MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE COGUMELO NA MANTEIGA

Foi empregado o método da Microanalytical Division, descrito por Wildman¹⁰:

Aparelhos e reagentes:

- a) Colher de medição: colher de chá.
- b) Pipeta: 10 cm³.
- c) Solução de goma: Preparar um litro de uma solução a 0,75% de goma dragante, com 2% de formaldeído adicionado como preservativo. A goma seca deve ser previamente misturada, primeiro com 10-15 cm³ de álcool a 95% e agitando depois rapidamente com a quantidade suficiente de água. A solução deverá ser brandamente aquecida até a fervura, para expelir o álcool e o ar, sendo o aquecimento mantido por 25-30 minutos. Adicionar formaldeído e resfriar. Usar a solução clara sobrenadante, isenta de partículas, deixando repousar gradualmente os elementos celulares da goma.

Processo:

Deve ser feito cuidadoso exame prévio da superfície da manteiga, para verificar a ausência do desenvolvimento de cogumelos na mesma. Anotar-se-á qualquer crescimento visível de cogumelo. A fim de prevenir a possibilidade de contaminação não visível por cogumelo, deve-se raspar e rejeitar 3.8 milímetros da superfície

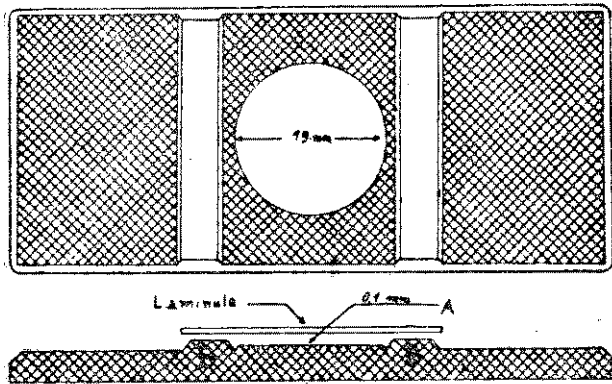
Pesar uma grama de manteiga por meio da colher de medida. Medir 7 cm³ da solução quente de goma e derramar 2 ou 3 cm³ sobre a colher que deverá estar sobre um bequer de 50 cm³. (Esta quantidade é geralmente suficiente para derreter a manteiga e fazê-la escoar-se no bequer).

Usar o resíduo dos 7 cm³ da solução quente para retirar a manteiga remanescente na colher.

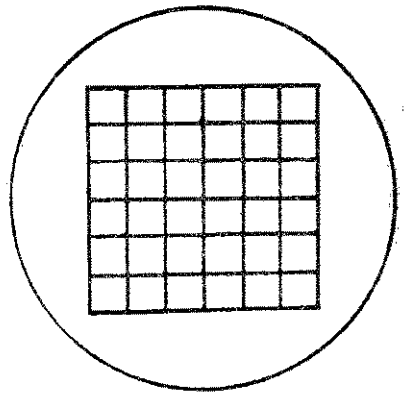
Agitar até que a solução fique bem misturada e os glóbulos de gordura alcancem 0,1-0,2 mm de diâmetro.

Colocar uma porção de mistura sôbre a lâmina de contagem do cogumelo e contar pelo método de Howard, de acôrdo com a técnica já descrita em nosso trabalho anterior³.

Anotar como campo positivo, sômente quando os comprimentos combinados dos dois filamentos mais longos excedem de $1/6$ do diâmetro do campo. É aconselhável empregar o disco micrométrico de Howard.



Câmara de Howard



Disco micrométrico de Howard

MÉTODOS PARA A VERIFICAÇÃO DE SUJIDADES SOB A FORMA DE INSETOS, E DE OUTRAS SUBSTÂNCIAS ESTRANHAS NA MANTEIGA

O método da autoria de Greene⁴, da Food and Drug Administration, foi o empregado em nossas investigações.

Técnica: Pesar 100 g de manteiga em um bequer de 400 cm³. Adicionar à manteiga 150 à 200 cm³ de solução de borax (preparada pela dissolução de 40 g de borax em um litro de água; soluções alcalinas mais fortes não devem ser usadas porque destroem os pêlos). Aquecer sôbre platina aquecedora até à ebulição. Filtrar imediatamente através de um funil de sucção de Büchner de 7 cm³, munido com papel de filtro rápido, lavar o papel com gasolina para remover algum resíduo gorduroso e em seguida com água quente.

Quando a manteiga contém cogumelos, seja finamente divididos ou em grumos, os poros de papel podem ficar obstruídos; dessa maneira às vezes são necessários 10 papéis de filtro separados para filtrar uma amostra de manteiga extremamente embolorada.

Auxilia a filtração, uma tela de cobre circular, de 50 malhas, com 6,5 cm de diâmetro e ajustada ao fundo do funil. O papel é

então colocado sôbre esta, o que permite ficarem o papel e a tela no centro, obturando perfeitamente e não permitindo a passagem de material algum em volta ou sob os ângulos. O papel pode ser umidecido com água para mantê-lo no lugar, antes de derramar a solução de manteiga no funil.

Pelo método acima descrito o coalho é transformado pela solução de borax, em um caseinato solúvel e, como consequência, a totalidade passa prontamente, não deixando depósito sôbre o papel de filtro.

Quando a manteiga tem cogumelo, o mesmo fica retido sôbre o papel de filtro seja finamente dividido ou em grandes aglomerações que, algumas vêzes, assemelham-se ao coalho insolúvel; êsses filamentos micelianos devem ser raspados e colocados entre lamínula e lâmina sob o microscópio, com uma gôta de óleo ou glicerina comprimindo-se ligeiramente.

Os bordos do funil de Büchner são examinados afim de certificar, que nenhum cogumelo, inseto ou outra substância estranha ficou aí retida. Em relação ao material suspeito como cogumelo, é necessário às vêzes observar os característicos diferenciais entre cogumelo e papel, porque fragmentos dêste último podem ser também encontrados ocasionalmente. Deve ser notado que em alguns casos é obtido um resíduo viscoso sôbre os papéis de filtro, sendo necessário fazer preparações com pequena porção de substância examinada. Deve-se tomar esta precaução devido ao fato de que algumas vêzes êsses resíduos são formados de coágulos na sua maior parte e com poucos cogumelos. Esta precaução permite evitar equívocos.

O papel de filtro é examinado com o microscópio binocular de campo grande, com lentes dando ampliações de aproximadamente 15-20x. Uma ampliação mais baixa pode ser empregada para encontrar larvas mas a de 20x é recomendada para outros materiais. Os pêlos, os fragmentos de insetos e outras contaminações, exceto cogumelos, podem ser removidos com uma agulha e colocados em uma gôta de glicerina sôbre uma lâmina e recobertos com lamínula para exames ulteriores mais minuciosos.

As etapas principais do método de Greene são:

1 — Colocam-se 100 g da manteiga a ser examinada em um bequer de 400 cm³.

2 — Adicionam-se 150-200 cm³ de solução filtrada de borax.

3 — Aquece-se em um bico de gás ou em uma platina aquecedora até à ebulição, continuando-se a ferver durante 3 minutos exatos.

4 — Filtra-se por sucção em um funil de Büchner de 7 cm³, provido de um papel de filtro grosso. Lava-se o bequer e o papel cuidadosamente com a solução fervente de borax.

5 — Examina-se o papel com um microscópio binocular de fraco aumento de cêrca de 20 vêzes.

6 — Anota-se todo o material encontrado inclusive cogumelos. se fôr verificada a sua presença.

NOTAS

Para auxiliar a filtração, uma tela de cobre cortada com cêrca de 6 cm³ de diâmetro, mantém o papel no fundo do funil. O papel pode ser umidecido com água antes de se colocar a solução.

O cogumelo é geralmente encontrado em aglomerados semelhantes a grumos não dissolvidos. A sua diferenciação pode ser feita colocando-se uma pequena quantidade do material grumoso retido no papel de filtro, sôbre uma lâmina e misturando cuidadosamente com uma ou duas gôtas de uma solução de ácido hidrocloretrico a 10%, antes de cobrir com a lamínula; desta maneira pode ser evitada a confusão entre filamentos de cogumelos e fibras de papel.

O cogumelo é expresso em unidades; cada unidade tendo uma área de 12,70 milímetros x 12,70 milímetros ou sejam 6,35 milímetros quadrados.

Os pêlos e outros materiais que necessitam de grande aumento para sua exata identificação, podem ser removidos com uma agulha e colocados sôbre uma lâmina, em uma gôta de glicerina.

Se os cogumelos são encontrados em quantidades que necessitam vários papéis para filtrar as 100 g da amostra e, se além d'isso, fôr verificado que outros contaminantes podem estar mascarados, substitue-se a solução de borax pela mesma quantidade de solução de ácido hidrocloretrico a 2%, fervendo-se a mistura por 3 minutos.

Geralmente o cogumelo desaparece e se há outras matérias estranhas, estas são logo demonstradas.

As experiências feitas por J. D. Wildman da "Microanalytical Division", demonstraram a necessidade da fervura durante 3 minutos, para assegurar completa destruição dos cogumelos.

MÉTODO PARA MEDIR O NÚMERO DE UNIDADES DE COGUMELO NA MANTEIGA

O processo de Hodges⁷ permite medir, sôbre o papel de filtro, o número de unidades de cogumelos encontradas na manteiga.

Processo: A manteiga é tratada de acôrdo com o processo descrito no método de Greene⁴:

1) Os grupos de cogumelos espalhados sôbre o papel de filtro, são reunidos em u'a massa com espátula pequena.

2) Com o auxílio da espátula essa massa é aplainada dentro de uma depressão com um milímetro aproximadamente; o cogumelo é prensado para baixo firmemente. Se houver mais de um papel de filtro, todos os papéis devem ser tratados separadamente.

3) Com uma régua, medir o número de polegadas quadradas ou frações na área coberta pelo cogumelo e computar o número de unidades em tôdas as amostras.

4) Cada 6,35 milímetros quadrados — uma área de 12,70 milímetros por 12,70 milímetros — coberta pelo cogumelo, equivale à uma unidade.

5) Deve-se tomar precaução para não dilacerar o papel de filtro quando se reunir o cogumelo.

6) Antes de medir o cogumelo encontrado é necessário examinar primeiramente o papel de filtro para determinar a presença de outras matérias estranhas, tais como: pêlos, fragmentos de insetos, etc.

RESULTADOS

Foram examinados nos Contrôles Biológicos do Instituto Adolfo Lutz, cêrca de 260 amostras de manteigas. Essas amostras foram examinadas tendo em consideração o acondicionamento, o tipo, e a procedência da manteiga.

I — *Quanto ao acondicionamento* — 349 amostras eram empacotadas e 11 amostras eram enlatadas.

II — *Quanto ao tipo* — 216 amostras eram de manteiga fresca de primeira, 39 amostras eram de manteiga fresca de segunda, 47 amostras eram de manteiga fresca de terceira; 32 amostras eram de manteiga salgada de primeira, 15 amostras eram de manteiga salgada e 11 amostras eram de tipo extra.

III — *Quanto à procedência* — 94 amostras eram estrangeiras e 226 eram brasileiras. Entre essas últimas, 238 amostras eram paulistas e 21 amostras eram de outros Estados do Brasil.

Examinando os resultados totais obtidos verificamos que:

a) *Quanto ao número de campos microscópicos positivos contendo cogumelos ou seus filamentos a porcentagem total foi de 35,8%.* Essa porcentagem global não é má. Porém, é de se lamentar termos encontrado amostras de manteiga com até 84% de campos microscópicos positivos, embora tivéssemos também outras com 14%;

b) *quanto ao número médio total de substâncias estranhas por 100 g de manteiga:* este foi de 1545;

c) *quanto à presença de parasitos ou insetos:* 10% das amostras examinadas, ou sejam 36 amostras em 360, revelaram a presença de parasitos ou insetos.

I — *Quanto ao acondicionamento:*

1.º) Entre as manteigas empacotadas foram encontrados 35,5% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g de manteiga foi de 1525.

Trinta e três das 349 amostras de manteiga empacotada ou seja 9,4% das amostras, demonstraram a presença de parasitos ou insetos.

2.º) Entre as manteigas enlatadas, 32% dos campos microscópicos apresentavam filamentos de cogumelos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g foi de 209.

Três das 11 amostras de manteiga enlatada ou seja 27,2% das amostras demonstraram a presença de parasitos ou insetos.

II — *Quanto ao tipo:*

1º) Entre as manteigas frescas de primeira, foram encontrados 32,2% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g de manteiga foi de 127.

Das 216 amostras examinadas 24 ou seja 11,11% demonstraram a presença de parasitos ou de insetos.

2.º) Entre as manteigas frescas de segunda foram encontrados 40,5% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g de manteiga foi de 167.

Sòmente uma das 39 amostras de manteiga fresca de segunda, demonstrou a presença de parasitos ou insetos.

3º) Entre as manteigas frescas de terceira foram encontrados 44,4% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g de manteiga foi de 125.

Nenhuma das amostras analisadas demonstrou a presença de parasitos ou insetos.

4º) Entre as manteigas salgadas de primeira foram encontrados 35,6% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número médio de substâncias estranhas por 100 g de manteiga foi de 202.

Das 32 amostras de manteiga salgada de primeira, 8 ou seja 25% demonstraram a presença de parasitos ou insetos.

5.º) Entre as manteigas salgadas de segunda foram encontrados 44,2% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

O número de substâncias estranhas foi de 175 por 100 g de manteiga.

Das 15 amostras de manteiga salgada 2 ou seja 13,3% demonstraram a presença de parasitos ou insetos.

6º) Entre as manteigas extras foram encontrados 39,5% de campos microscópicos positivos.

O número de substâncias estranhas foi de 39 por 100 g de manteiga.

Nenhuma das amostras analisadas revelou a presença de parasitos ou insetos.

III — *Quanto à Procedência*

1º) Entre as manteigas estrangeiras examinadas foram encontrados 22,2% de campos microscópicos positivos.

O número de substâncias estranhas foi de 61 por 100 g de manteiga.

Nenhuma das amostras analisadas apresentou parasitos ou insetos.

2º) Entre as amostras nacionais examinadas foram encontrados 41,2% de campos microscópicos positivos, sendo que entre as paulistas 40,4% e entre as manteigas de outros Estados 42% dos campos microscópicos estavam positivos.

O número médio de substâncias estranhas foi de 1922 por 100 g de manteiga analisada, sendo para as paulistas 185 e de outros Estados 200.

Das 226 amostras de manteiga nacional analisadas, 35 ou seja 12% demonstraram a presença de parasitos ou insetos, sendo que as paulistas a proporção foi de 13,4% e de outros Estados a proporção foi de 10,7%.

3º) Entre as 226 amostras de manteiga nacional examinadas foram verificadas as seguintes proporções:

Com 0% campos microscópicos positivos	0%
Entre 1 a 10% campos microscópicos positivos ...	0%
Entre 11 a 20% campos microscópicos positivos ...	31%
Entre 21 a 30% campos microscópicos positivos ...	18,49%
Entre 31 a 40% campos microscópicos positivos ...	31,32%
Entre 41 a 50% campos microscópicos positivos ...	34,32%
Entre 51 a 60% campos microscópicos positivos ...	9,81%
Entre 61 a 70% campos microscópicos positivos ...	1,88%
Entre 71 a 80% campos microscópicos positivos ...	0,37%
Entre 81 a 90% campos microscópicos positivos ...	0,37%
Entre 91 a 100% campos microscópicos positivos ...	0%

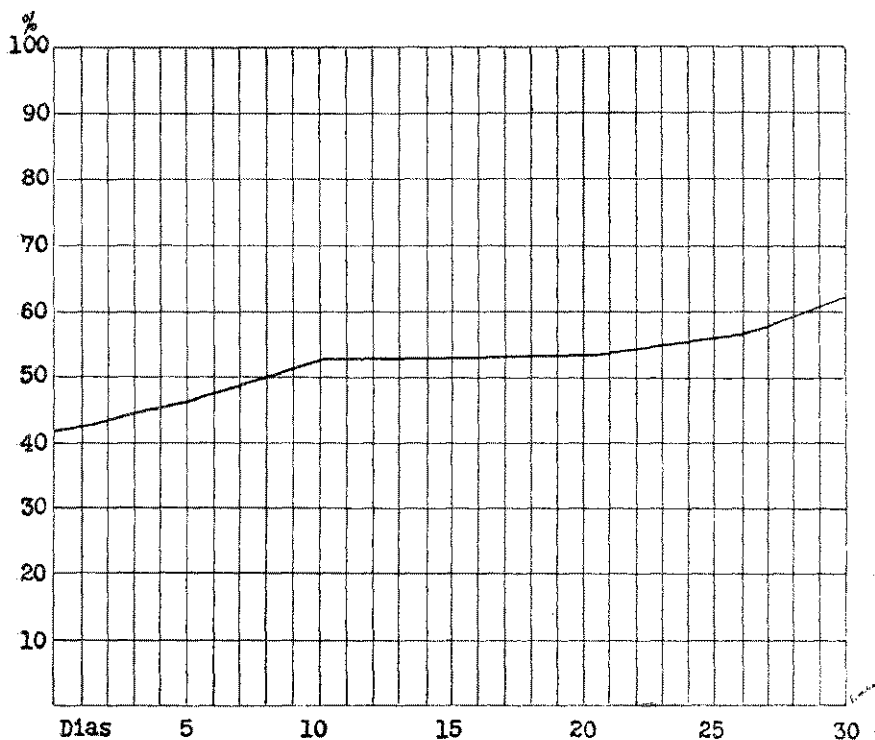
PARTE EXPERIMENTAL

Com o fim de comprovar exatamente se o envelhecimento acarretava aumento de número de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos, examinamos várias manteigas frescas e salgadas conservadas na geladeira e na temperatura ambiente. Foi também examinada a manteiga fresca conservada sob salmoura, com trocas frequentes desta salmoura, como é hábito em muitos estabelecimentos que vendem êsse produto no varejo, assim como um hábito doméstico muito difundido no Brasil.

Os gráficos abaixo dão exata noção dos resultados obtidos.

1º) *Manteiga fresca conservada em temperatura ambiente:*

GRÁFICO I

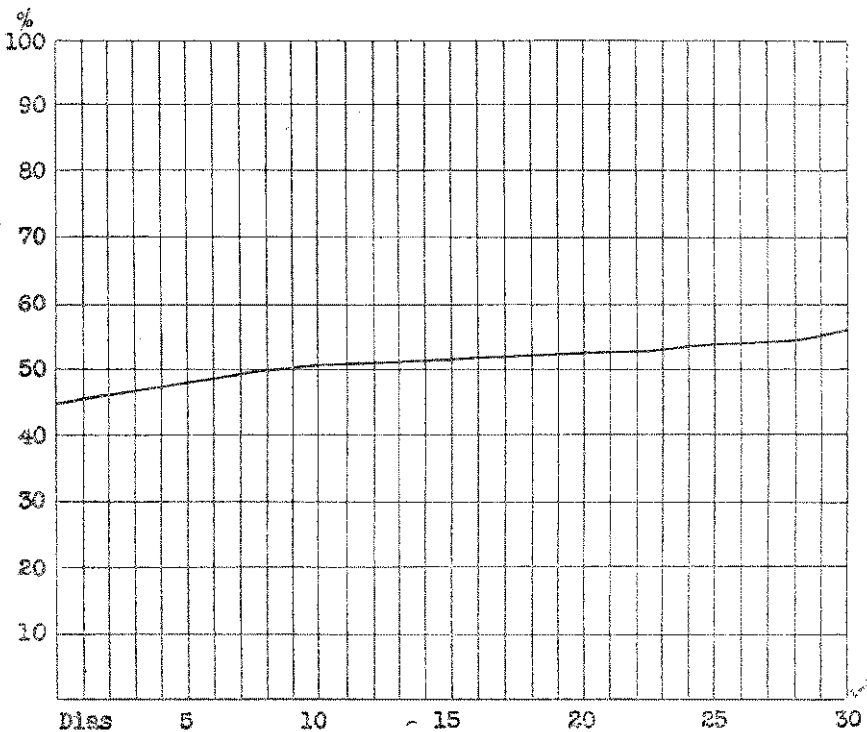


Analisando o gráfico acima notamos que a porcentagem de campos microscópicos positivos que era inicialmente de 42,3%, pas-

sou a 46,6%, 5 dias após; a 52%, 10 dias após; a 53,3% 20 dias após e a 63%, 30 dias após, havendo assim um aumento com relação à contagem inicial. Donde se pode concluir que na manteiga fresca conservada em temperatura ambiente, o número de campos microscópicos positivos aumenta com a idade.

2.º). *Manteiga fresca conservada em geladeira:*

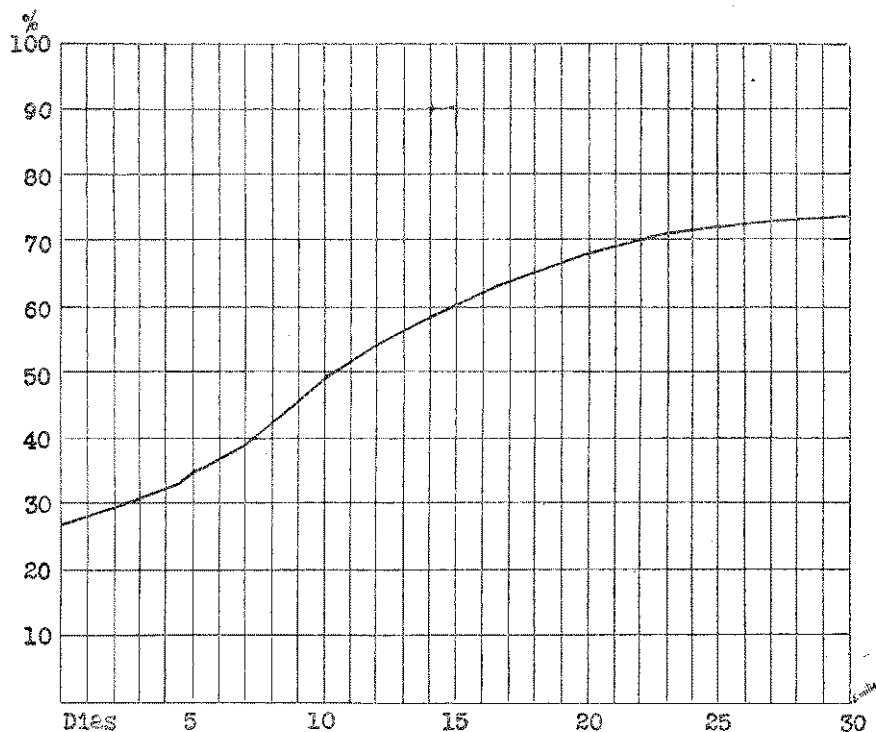
GRÁFICO II



Analisando o gráfico acima verificamos que na manteiga fresca e conservada na geladeira, a porcentagem de campos microscópicos positivos que inicialmente era de 45,6%, passou após 5 dias a 48,5%; 15 dias após a 51,3%; 20 dias após 52,3% e 30 dias depois a 56,6%. Donde se pode concluir que na manteiga fresca conservada em geladeira, o número de campos microscópicos positivos aumenta com a idade, ligeiramente menos que quando conservada em temperatura ambiente.

3º) *Manteiga salgada conservada na temperatura ambiente:*

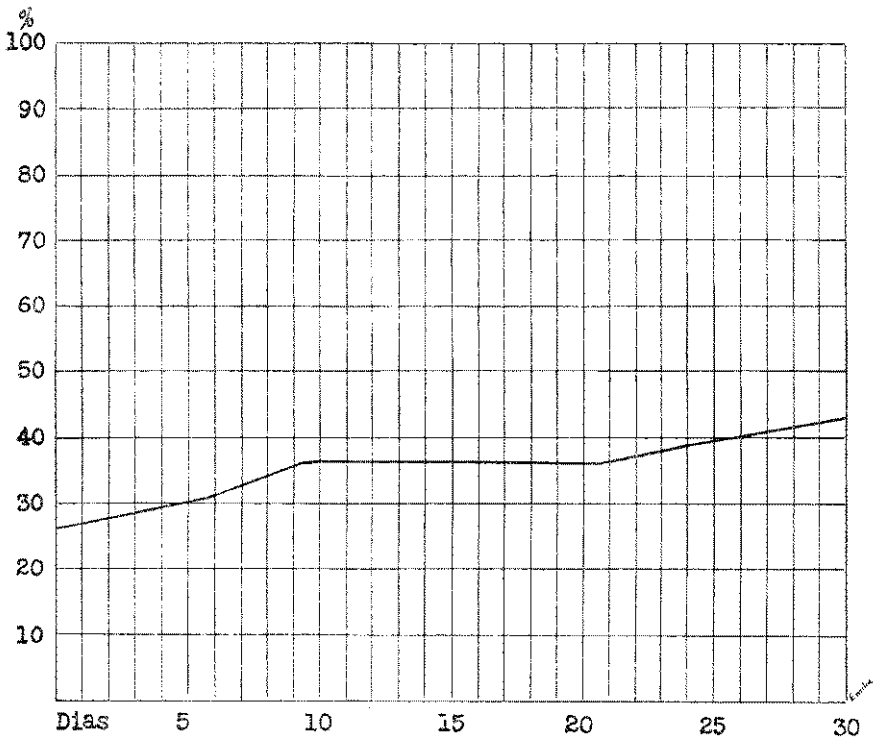
GRÁFICO III



Analisando o gráfico acima verificamos que os campos microscópicos examinados para a pesquisa de filamentos micelianos, demonstraram inicialmente 26,8% de positividade, passaram a 35,6% após 5 dias; a 50% após 10 dias; a 68,8% após 20 dias e a 75,6% após 30 dias. Houve, assim, um forte aumento em relação à contagem inicial. Donde se pode concluir que na manteiga salgada conservada em temperatura ambiente, o número de campos microscópicos positivos aumenta fortemente com a idade.

4º) *Manteiga salgada conservada na geladeira:*

GRÁFICO IV



Analisando o gráfico acima verifica-se que o número de campos microscópicos positivos, que inicialmente era de 26,8% passou a 36,4% após 5 dias, a 36,8% após 10 dias; após 20 dias não havia aumento do número dos campos microscópicos positivos que se conservavam em 36,8% e após 30 dias de permanência na geladeira, o número dos campos positivos subiu a 43,6%, havendo, pois, um fraco aumento em relação ao teor original de campos microscópicos positivos.

5.º) *Manteiga fresca conservada sob salmoura frequentemente trocada e na temperatura ambiente.*

Verificamos que o número de campos microscópicos positivos, que inicialmente era de 36%, passou, após 30 dias a 60%.

6.º) *Manteiga fresca conservada sob salmoura frequentemente trocada e na geladeira.*

O número de campos microscópicos que apresentava filamentos micelianos inicialmente de 36% passou a 38% após 30 dias. Assim a contagem dos filamentos micelianos, dá noção bastante segura da idade da manteiga e das condições de sua conservação, além das informações precisas que fornece sobre a idade do creme e das condições em que êste foi conservado.

Os menores aumentos foram verificados com as manteigas adequadamente conservadas na geladeira. Entre as manteigas conservadas na geladeira, as manteigas salgadas revelaram muito menor aumento de campos microscópicos positivos do que as manteigas frescas. Porém as manteigas salgadas e conservadas na temperatura ambiente foram as que apresentaram os mais altos índices de emboloramento após 30 dias.

O processo de conservação que resultou mais favorável para prevenir o emboloramento, foi o processo largamente difundido no Brasil e que consiste em conservar a manteiga em geladeira e mantida sob salmoura, frequentemente trocada. Após 30 dias o índice de emboloramento da manteiga conservada nestas condições, era praticamente desprezível.

CONCLUSÕES

1.º) Utilizando as técnicas para contrôle de cogumelos, substâncias estranhas, parasitos e insetos em manteigas, procurou-se verificar o estado sanitário desse produto.

2.º) Foram examinadas 360 amostras de manteigas nacionais e estrangeiras.

3.º) Em relação ao contrôle de cogumelos, verificou-se que a maior proporção foi de 35,8% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos. As taxas oscilaram entre um mínimo de 14% e um máximo de 84% de campos microscópicos positivos com filamentos micelianos.

4.º) Em relação as substâncias estranhas o número médio foi de 1545 por 100 g de manteiga examinada.

5.º) Em relação aos parasitos e insetos 10% das amostras examinadas demonstraram a presença dos mesmos.

6.º) Os dados obtidos demonstram que certos cremes empregados apresentam deficiência quanto às condições de colheita, de separação, de conservação e de higiene em geral.

7.º) O processo doméstico mais favorável para prevenir o emboloramento da manteiga é o de conservá-la em geladeira sob salmoura frequentemente trocada.

CONCLUSIONS

1st. — An attempt was made to determine the sanitary state of butter by employing technics for the control of foreign bodies, fungi, parasites and insects in this food-substance.

2nd. — 360 samples of national and foreign butter were examined.

3rd. — With regard to the control of the fungi the largest proportion was 35,8% positive microscopical fields with filaments of mycellia. The rates varied from a minimum of 14% to a maximum of 84% positive microscopical fields with filaments of mycellia.

4th. — With regard to the foreign bodies the average number was 1545 per 100 grms of butter examined.

5th. — Regarding the parasites and insects 10% of the samples examined showed parasites and insects.

6th. — The data collected gave evidence that certain creams in use are deficient as to the methods of collection, separation, preserving, of hygiene in general.

7th. — The most favorable domestic measure for preventing butter from becoming stale is to keep it in the ice-chest in salt-water, which could be frequently chanfed.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ADAMS, J. e PARFITT, E. H. — 1939 — *Journ. Dairy Sc.*, 22: 367.
- 2 — BOUSKA, F. W. — 1930 — *New York Produce Review and American Creamery*, 69: 520.
- 3 — SOUTO, A. Buller e GODOY, O. — 1942 — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2: 100.
- 4 — GREENE, W. S. — Examination of Butter. Microanalytical Division of Food and Drug Administration, Ed. Washington, s/d.
- 5 — GRIMES, M., CUMMINS, H. A. e KENNELLY, H. — 1934 — *Le lait*, 12: 899.
- 6 — HAMMER, B. W. — 1937 — *Dairy Bacteriology*, 2.^a ed., John Wiley and Sons ed., London.
- 7 — MACY, H. e RICHIE, H. B. — 1929 — *Journ. Dairy Products*, 12: 351.
- 8 — PARFITT, E. J. e GALEMA, M. L. — 1931 — *Am. Creamery and Poultry Produce Review*, 71: 462.
- 9 — VANDAVEER, R. L. e WILDMAN, J. D. — 1940 — *Journ. Ass. Off. Agric. Chemist*, 33: 693.
- 10 — WILDMAN, J. D. — 1937 — *Journ. Ass. Off. Agric. Chemist*, 20: 93.
- 11 — WILDMAN, J. D. — 1939 — Mold in Commercial Cream and Butter, Microanalytical Division of Food and Drug Administration, Ed. Washington.
- 12 — WILDMAN, J. D. — 1938 — Mold in cream and it is detection, Microanalytical Division of Food and Drug Administration, Ed. Washington.