

# FLORA MICÓTICA DE ALGUNS PRODUTOS ALIMENTARES

FLORIANO DE ALMEIDA

1.º assistente e docente livre de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São Paulo

CARLOS DA SILVA LACAZ

2.º assistente de Microbiologia da Faculdade de Medicina de S. Paulo

LUIZ AUGUSTO RIBEIRO DO VALLE

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

O presente trabalho representa contribuição inicial ao estudo da flora microbiana de diferentes produtos alimentares. Foi êle realizado com a colaboração da secção de micologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e da secção de Contrôles Biológicos do Instituto Adolfo Lutz.

Prestamos as nossas homenagens e externamos os nossos agradecimentos ao corpo técnico da secção de Contrôles Biológicos do Instituto Adolfo Lutz, nas pessoas das dedicadas e eficientes técnicas Ema de Lima e Olga Pupo, cujo esforço, dedicação e espírito científico muito contribuíram para o bom êxito do referido trabalho.

O Instituto Adolfo Lutz, na secção de Contrôles Biológicos, desde janeiro de 1941 vem estudando a flora bacteriana e micótica de vários produtos alimentares, para, posteriormente, tentar realizar um possível contrôle na preparação e conservação dos referidos produtos. Assim, Büller Souto e Olivia de Godoy, iniciando tais estudos sistematizados, já realizaram investigações cuidadosas sôbre produtos de tomates.

Na presente comunicação teceremos alguns comentários exclusivamente sôbre a "flora micótica" de alguns produtos e procuraremos tirar algumas conclusões que serão de utilidade para aqueles que se interessarem na feitura de um regulamento para contrôle micológico de produtos alimentares.

Preliminarmente devemos dizer que, mesmo na Argentina e Uruguai, segundo cartas que recebemos dos Professores Pablo Negroni e Juan Mackinon, não existem regulamentos concretos desta natureza, mas apenas uma disposição geral que proíbe o consumo dos produtos quando estejam alterados nas suas propriedades organoléticas ou de apresentação. O Código Brasileiro possui também o mesmo dispositivo regulamentar.

Para melhor sistematização do assunto, dividiremos o presente trabalho em 4 partes:

- a) Emprêgo dos cogumelos (bolos e leveduras) na indústria;
- b) Contrôlo no crescimento dos cogumelos;
- c) Resultados dos exames praticados em 350 amostras de diferentes produtos alimentares;
- d) Algumas conclusões.

a) *Emprêgo dos cogumelos na indústria*: Numerosos bolores (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, etc.) e leveduras (*Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, etc.) são utilizados na indústria pela sua alta capacidade fermentativa. Aliás, o estudo das fermentações está ligado em grande parte ao estudo das leveduras.

Os cogumelos, bolores e leveduras, são utilizados frequentemente no preparo dos seguintes produtos:

1 — *Preparo do álcool*: êste produto, de enorme importância particularmente no momento atual, pode ser obtido sob a forma de etanol a partir de açúcares, do amido ou de outros carboidratos. Partindo-se de material amiláceo ou da celulose, deve-se praticar anteriormente a hidrólise dos mesmos em açúcares fermentecíveis, afim de serem depois atacados pela levedura. A fermentação, geralmente é feita com o *S. cerevisiae* ou o *Schizosaccharomyces pombe*. Tais leveduras, chamadas domésticas por Guilliermond, são frequentemente empregadas na indústria do álcool. Existem dois tipos de fermentação alcoólica: a alta, na temperatura ótima de 10 a 25°C., e a baixa, na temperatura ótima de 5 a 10°C.

2 — *Preparo de cerveja*: os vários tipos de cerveja dependem do material empregado, utilizando-se geralmente o malte e o lúpulo, assim como produtos de outros cereais. As leveduras utilizadas são o *S. cerevisiae* e o *S. carlsbergensis*.

3 — *Preparo do pão*: na indústria da panificação, utiliza-se igualmente o *S. cerevisiae*, o qual, produzindo CO<sub>2</sub> serve para dar a "leveza" ou crescimento às massas.

4 — *Vinho*: trata-se de uma substância obtida a partir da fermentação do açúcar da uva. O vinho pode ser sêco, quando a fermentação é praticamente completa, e doce; neste último caso, o processo fermentativo foi suspenso numa determinada fase. Como agente de fermentação emprega-se o *S. ellipsoideus*, e muitas outras espécies, que dão os diversos tipos de vinho.

5 — *Outras bebidas alcoólicas*: as leveduras, de espécies diferentes, ainda são empregadas no fabrico de outras bebidas alcoólicas como:

- a) Kvass (Rússia)
- b) Pulque (México)
- c) Taette (Scandinávia)
- d) Sorgho (Mandchúria)
- e) Sake (Japão)
- f) Rhum
- g) Whisky
- h) Gin, etc.

6 — *Preparo de certos queijos*: na manufatura de certos queijos, utilizam-se os industriais do *Penicillium camemberti* e do *P. roqueforti*.

7 — *Extração de vitaminas*: partindo-se do princípio de que o complexo B<sub>1</sub> encontra-se em grande concentração na levedura da cerveja, vários autôres têm procurado extrair a tiamina ou aneurina dessas leveduras.

8 — *Glicerina*: utiliza-se como agente de fermentação o *S. ellipsoideus*, var. *Steinberg* e o *S. ellipsoideus*, var. *California*.

9 — *Ácido cítrico*: para a fabricação do ácido cítrico partimos de material à base de sacarose, glicose ou maltose e empregamos como agentes de fermentação o *Citromyces pfeifferianus* e o *Citromyces glaber*, cogumelos estes, considerados por Thom como pertencentes ao gênero *Penicillium*. Também são usados alguns *Aspergillus*.

10 — *Ácido glucônico*: a partir de amostras de *Aspergillus niger*, *Penicillium purpurogenum*, var. *rubisclerotium* e *Penicillium chrysogenum*.

11 — *Ácido láctico*: a partir da glicose pela ação fermentativa de diferentes espécies de *Rhizopus* e *Mucor*.

12 — *Ácido gálico*: resultante da ação do *Penicillium glaucum* sobre a nóz de galhas.

13 — *Ácido fumárico*: empregando-se várias espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*.

Por êste ligeiro apanhado verifica-se o papel importantíssimo que os cogumelos desempenham na indústria e, da estreita colaboração entre químicos e micologistas grandes progressos poderão ser realizados neste domínio interessantíssimo das fermentações.

b) *Contrôle no crescimento dos cogumelos*: Se numerosos cogumelos são empregados frequentemente na indústria devido ao seu alto poder fermentativo, outros são nocivos porquê deterioram produtos ou alteram as suas propriedades organoléticas quando nelas se implantam.

Uma esterilização absoluta desses produtos é praticamente impossível, mas, estabelecendo-se um certo número de preceitos ou normas que devem guiar o preparo de um produto, podemos, até certo ponto, diminuir ou mesmo impedir que eles sejam contaminados por cogumelos.

São as seguintes as normas que devem ser adotadas:

1) assegurar um esterilidade relativa ao ambiente em que se trabalha, mantendo as paredes limpas e secas, assim como os forros e assoalhos, afim de impedir a proliferação de bolores.

2) exercer severa vigilância e controle sobre as pessoas que preparam os produtos, visitantes e, particularmente, sobre os utensílios empregados na manufatura dos mesmos.

3) manter o produto em condições físicas nas quais o crescimento dos cogumelos seja limitado ou mesmo evitado inteiramente (sabe-se que o calor destrói mais facilmente os cogumelos que as bactérias).

4) praticar a pasteurização dos produtos. O Código Brasileiro exige, mas não se cumpre, este dispositivo.

5) limitar o crescimento dos cogumelos por meio de substâncias antisséticas. Devemos afirmar que é difícil encontrar-se uma substância antissética ideal para os fungos, pois para que as mesmas tenham ação fungicida, deverão ser empregadas em concentrações muito elevadas, causando, desta maneira, alterações nos produtos, com perigo igualmente para a saúde dos consumidores.

c) *Resultados obtidos em 350 exames realizados:* Em todos os produtos examinados praticava-se o controle bacteriológico e micológico. Para este último exame, semeava-se o material retirado da sua porção central em vários meios de cultura, particularmente Sabouraud glicose e gelose glicosada e acidificada pelo ácido tartárico a 2%. Os resultados obtidos poderão ser avaliados pela leitura do quadro anexo.

d) *Algumas conclusões:* Antes de tirarmos algumas conclusões referentes ao assunto tratado, vejamos qual o possível significado da presença de um cogumelo em um produto alimentício:

1) *Como causa de moléstia:* infelizmente até ao presente momento, não possuímos dados suficientes para sabermos se um determinado cogumelo isolado de um produto pode ou não ser patogênico para o homem. Está claro que tudo depende também do cogumelo isolado. Alguns deles são capazes de produzir toxinas e muitos, deteriorando os produtos, são a causa indireta de into-

xicações alimentares, algumas vêzes graves. Poder-se-ia inocular o cogumelo isolado do produto alimentar em diferentes animais de laboratório, mas, às vêzes, de uma só inoculação não podemos tirar conclusões definitivas pois, como afirma Henrici, precisamos sensibilizar em primeiro lugar o animal com inoculações sucessivas, para que, posteriormente, êle responda a uma dose desencadeante então patogênica.

2) *Como causa de alteração de produtos*: diversas leveduras e bolores isolados de produtos alimentares são a causa de deterioração dos mesmos, alterações do gôsto, turvação de produtos líquidos, tais como turvação de cervejas pelo *S. postorianus*. Todos estes fatos nos levam a tomar as maiores cautelas no preparo e conservação dos referidos produtos.

3) *Como índice de boa ou má preparação do produto*: de um modo geral, a presença de um cogumelo em um determinado produto é índice de má preparação, mostrando pois que o mesmo foi manipulado sem maiores cuidados de assepsia. Outras vêzes, a contaminação corre por conta da própria matéria prima.

Diante dos dados obtidos e, de acôrdo com as considerações expostas, podemos tirar algumas conclusões que julgamos serão úteis aos legisladores e a todos aqueles que se interessam no preparo de produtos ou aos responsáveis pela saúde pública.

1) Deve-se garantir, nas fábricas de produtos alimentares, um estado de relativa esterilidade no ambiente em que se trabalha, mantendo-se vigilância e contrôle sôbre os utensílios, pessoal e visitantes.

2) Deve-se praticar rigorosa limpeza nos vasilhames e utensílios empregados na manufatura dos produtos alimentares.

3) As amostras de leveduras e bolores utilizados para as fermentações industriais devem ser puras e periódicamente controladas. Achamos que o Govêrno, por um serviço especializado, deverá manter uma secção destinada a fornecer amostras de diferentes cogumelos de poder fermentativo e de aplicação industrial.

4) Sabendo-se que a presença de um cogumelo em um determinado produto alimentar é, geralmente, índice de má preparação, deveremos orientar os industriais, por-meio de palestras educativas, sôbre o valor de tais exames, mostrando-lhes os meios de se evitar uma possível contaminação dos referidos produtos.

O presente trabalho de pesquisa está sendo continuado, de tal modo que, posteriormente, novas conclusões serão tiradas, de real interêsse para a saúde pública.

Produtos alimentares	Especificações	N.º de exames	Resultados positivos	%	Diagnóstico
Peixes	Em conserva, secos e preparados	28	4	14,2%	1 <i>Candida</i> . 2 <i>Leveduras</i> não identificadas.
Derivados do leite	Queijo (10) Manteigas (45) Outros derivados (6) (leite condensado, leite-lho, leite em pó, coalho)	61	10 } 42 } 55 3 }	100,0% } 93,3% } 90,1% 50,0% }	Queijos: <i>Leveduras</i> não identificadas: 5; <i>Torulopsis</i> , 2; <i>Geotrichum</i> , 2; <i>Mucor</i> , 2; <i>Saccharomyces</i> , 1. Manteiga: <i>Saccharomyces</i> , 25; <i>Candida</i> , 5; <i>Geotrichum</i> , 16; <i>Rhodotorula</i> , 2; <i>Penicillium</i> , 3; <i>Lev. não id.</i> 1. Outros der.: <i>Lev. não id.</i> , 3.
Doces e similares	Doces de confeitaria Massas (pecegadas, bananadas, goiabadas) Rapadura	75	7	93,0%	Não identificados, 5. <i>Rhizopus</i> , 1. <i>Saccharomyces</i> , 1.
Condimentos	Suco de tomate, Massa de tomate. Molhos, Pickles, Pimenta, etc.	29	1	3,7%	Não identificados, 1.
Carnes e similares	Patés, Salames, Mortadelas Linguça, Toicinho, Presunto.	15	1	6,6%	Não identificados, 1.
Vegetais em conservas	Palmitos, Espargos, Feijão.	8	0	0,0%	—
Total dos produtos sólidos		216	68	26,8%	

Produtos alimentares	Especificações	N.º de exames	Resultados positivos	%	Diagnóstico
Mel de abelhas	—	4	2	50,0%	<i>Aspergillus</i> , 1. <i>Rhizopus</i> , 1.
Vinagre	—	4	1	25,0%	<i>Cogumelo não identificado.</i>
Vinhos e vermouths	—	6	1	16,6%	<i>Cogumelo não identificado.</i>
Cervejas	—	6	6	100,0%	<i>Saccharomyces</i> , 3. <i>Torulopsis</i> , 1. <i>Penicillium</i> , 3.
Xaropes	de Capilé, Limão, Moringo, Cereja, Abacaxi, Laranja, Groselha, Guaraná, Amoras Silvestres.	17	16	94,1%	<i>Saccharomyces</i> , 11. <i>Torulopsis</i> , 1. <i>Leveduras não identificadas</i> , 3. <i>Cogumelos não identificados</i> , 1.
Guaranás	—	17	10	58,8%	<i>Saccharomyces</i> , 4. <i>Torulopsis</i> , 2. <i>Zygosaccharomyces</i> , 1. <i>Leveduras não identificadas</i> , 1. <i>Penicillium</i> , 1.
Refrescos e outras bebidas refrescantes	Groselha, chimarrão, Refresco espumante, egipciano, laranja, água tônica, club-soda, soda limonada, suco jaboticaba, Refr. maçãs, gasosa, Jantubaina, amora, coca-cola, gengibrina.	80	45	56,2%	<i>Saccharomyces</i> , 23. <i>Torulopsis</i> , 7. <i>Picchia</i> , 1. <i>Zygosaccharomyces</i> , 4. <i>Geotrichum</i> , 1. <i>Candida</i> , 1. <i>Penicillium</i> , 1. <i>Rhizopus</i> , 1. <i>Bolores não identificados</i> , 1. <i>Leveduras não identificadas</i> , 1.
Total de bebidas		134	81	60,4%	

## RESUMO:

Os autôres estudaram a ocorrência do flora micótica em diferentes produtos alimentares. As amostras isoladas foram identificadas constatando-se ser a grande maioria, constituída por leveduras.

A importancia dêste achado, quer sob o ponto de vista patogênico ou como índice de má preparação dos referidos produtos, é discutido. Normas, para que a incidencia dêstes cogumelos seja reduzida, são preconizadas, pois, dos exames levados a efeito, 60,4% das bebidas e 26,8% dos alimentos sólidos examinados apresentavam-se contaminados.

## SUMMARY:

The authors studied the occurrence of mycotic flora in several food stuffs. The isolated strains were identified and the authors verified that most of them were yeasts.

The relative value of the results found is here discussed from the pathogenic aspect or as an index of inefficient preparation. Rules in order to reduce this incidence are suggested, for 60,4% of liquid and 26,8% of solid foods examined were contaminated.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALMEIDA, F., LACAZ, C. S. e BARROS, O. — 1941 — *Rev. do Inst. Adolfo Lutz*, 1: 395.
- 2 — BÜLLER SOUTO, A. e GODOY, O. — 1942 — *Rev. do Instituto Adolfo Lutz*, 2: 100.
- 3 — GUILLIERMOND, A. — 1912 — *Les Levures*. O. Doin et Fils, editores, Paris.
- 4 — HAMMER, B. W. — 1938 — *Dairy Bacteriology*. 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 5 — HENRICI, A. T. — 1941 — *Bacteriological Reviews*, 5:
- 6 — TANNER, F. W. — 1933 — *Food-borne infections and intoxications*. 1st ed. Published in Champaign, Illinois, by the Twin City Printing Co.
- 7 — TANNER, F. W. — 1932 — *The Microbiology of foods*. 1st ed. Published in Champaign, Illinois, by the Twin City Printing Co.
- 8 — PRESCOTT, S. C. e DUNN, C. G. — 1940 — *Industrial Microbiology*. 1st ed. 2nd impression. McGraw-Hill Book Co., Inccrpo., New York and London.
- 9 — SMITH, G. — 1938 — *An Introduction to Industrial Mycology*. London, Edward Arnold & Co. Ltd.