

USO DE TAMIS NA IDENTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS HISTOLÓGICOS EM IOGURTES COM POLPA DE FRUTA(S) *

Márcia Dimov NOGUEIRA**
Regina M. Morelli S. RODRIGUES**

RIALA6/768

NOGUEIRA, M.D. & RODRIGUES, R.M.M.S. - Uso de tamis na identificação de elementos histológicos em iogurtes com polpa de fruta(s). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54 (2): 93-6, 1994.

RESUMO: Comparou-se a eficiência de dois métodos empregados na análise microscópica para identificação dos elementos histológicos em iogurtes com polpa de fruta(s). Os métodos utilizados foram: A - desengorduramento seguido de hidrólise alcalina a 5% e B - uso do tamis USBS 230 e água filtrada a 35°C. Foram analisadas 30 amostras de iogurtes com polpa de fruta(s) de diferentes sabores, simples ou combinados, adquiridas no comércio da cidade de São Paulo. O método B foi mais eficiente por permitir boa visualização do material e caracterização das frutas em 96,7% das amostras, assim como, avaliar a qualidade da polpa de fruta. O Método B, por ser mais rápido, simples e preciso e por não utilizar reagentes tóxicos, mostrou-se mais adequado para a identificação histológica de vegetais em iogurtes com polpa de fruta(s).

DESCRITORES: iogurte com polpa de fruta(s), identificação de elementos histológicos, análise microscópica.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o iogurte apresenta uma tendência de crescimento de produção e apesar da grande popularidade, é recente a legislação² que estabelece a denominação de iogurtes com polpa de fruta(s), sendo classificado comercialmente como iogurte batido⁴.

Tecnologicamente, o iogurte com polpa de fruta(s) é caracterizado pelo alto teor de sólidos, teor de gordura padronizado, podendo-se adicionar de 12% a 18% de açúcar para melhorar o sabor e a consistência. A adição da polpa de fruta ao iogurte é feita numa etapa final, após a fermentação e o rompimento do coágulo, sendo então embalado e armazenado em câmara fria⁴.

A legislação em vigor¹ estabelece dois itens relacionados à análise microscópica: a caracterização e a condição higiênica do produto. Na caracterização, determina-se a genuinidade do produto, ou seja, a

identificação histológica dos constituintes vegetais. Assim como para a identidade, verifica-se também a fraude, intencional ou não, que é a substituição total ou parcial de um componente ou outro.

Para a identificação histológica dos constituintes vegetais, principalmente quando triturados ou moídos, além do conhecimento e experiência do analista quanto aos aspectos morfológicos e histológicos⁹, também devem-se utilizar métodos que proporcionem a obtenção de material adequado para boa visualização ao microscópio ótico¹⁰.

O elevado teor de sólidos e o alto grau de trituração das frutas dos iogurtes com polpa de fruta(s) têm acarretado demora e dificuldade na identificação dos vegetais característicos desses produtos, quando se utiliza o método de desengorduramento seguido de hidrólise alcalina¹². Este problema aliado à demanda de trabalho de um laboratório de prestação de serviço e à exposição do analista à reagentes in-

* Realizado na Seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

flamáveis e tóxicos foram fatores preponderantes na busca de alternativa para agilizar o preparo das amostras para análise microscópica, melhorar a qualidade do processo e assegurar melhores condições de trabalho ao analista.

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiências do uso do tamis USBS 230 e da técnica de desengorduramento e hidrólise alcalina na caracterização dos vegetais presentes nos iogurtes com polpa de fruta(s) e propor mudança de metodologia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 30 amostras de iogurte com polpa de fruta(s), de diferentes sabores, simples e misturados, de 8 marcas, adquiridas na cidade de São Paulo - SP, contendo de 1 a 5 tipos de frutas.

Método

As amostras utilizadas em cada método foram retiradas da mesma embalagem, após a homogeneização do produto.

Método A - Foi utilizado o método descrito por Zamboni et alii¹², de uso corrente na Seção de Microscopia Alimentar, caracterizado por 3 etapas principais: desidratação com álcool etílico, desengorduramento com éter etílico e hidrólise com solução de hidróxido de sódio a 5%.

Método B - Método da tamisação para iogurtes com polpa de fruta(s)

Material

Béquer de 200 ml
Equipamento para filtração a vácuo
Espátula de metal
Microscópio estereoscópico
Microscópio ótico
Papel de filtro qualitativo
Tamis USBS 230

Reagente

Água filtrada a 35°C
Água glicerinada a 2%

Procedimento

Após homogeneização, pesar 100 g da amostra em um béquer de 200 ml. Verter a amostra, em pequenas quantidades, no tamis USBS 230, lavando-a com jatos de água filtrada a 35°C. Lavar as paredes do béquer com água filtrada a 35°C, transferindo-a para o tamis, até remover a amostra aderida ao recipiente. Repetir o procedimento de lavagem até o resíduo apresentar-se limpo. Filtrar o material retido

no tamis, a vácuo sobre papel de filtro, lavando o tamis com água filtrada até remover todo o resíduo. Transferir o papel de filtro para uma placa de Petri e observá-lo ao microscópio estereoscópico, aumento de 20 x, para identificar e quantificar matérias estranhas. Retirar com espátula de metal, pequenas porções do material retido no papel e montar sobre lâmina com água glicerinada a 2%. Examinar ao microscópio ótico, aumento de 100 a 400 x, e identificar os elementos histológicos característicos e estranhos ao produto.

Identificação Histológica

Os elementos histológicos característicos das frutas presentes nos iogurtes foram identificados a partir do conhecimento específico do analista, de comparações com padrões e leituras especializadas^{7,8,11}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliação dos métodos considerou-se os seguintes critérios:

- Exposição do analista aos reagentes - foram considerados os tipos de reagentes e os tempos determinados pelos métodos.
- Tempo de preparo da amostra - tempo gasto para eliminar material interferente.
- Tempo de leitura - tempo gasto na observação microscópica para identificação dos elementos histológicos característicos das frutas.
- Qualidade da leitura - caracterizada pela visibilidade adequada do material em lâmina.

No Método A, o tempo gasto para desengorduramento variou entre as amostras e não foi inferior à 1 hora. Nesta etapa trabalhou-se com éter etílico, que pode causar irritação moderada de pele e das membranas mucosas, além de outros problemas, quando em doses altas⁶. Outro solvente utilizado nessa etapa foi o etanol (álcool absoluto), que pode causar vários efeitos tóxicos como náusea, vômito etc⁶. Após o desengordu-

TABELA 1

Comparação dos métodos A e B para identificação de elementos histológicos em iogurtes com polpa de fruta (s).

Método	Reagente usado	Tempo de preparo	Tempo de leitura
A	álcool éter etílico hidróxido de sódio	1h e 40 min.	60 min.
B	água filtrada água glicerinada	10 min.	5 a 15 min.

Fonte: Instituto Adolfo Lutz, São Paulo - 1994

ramento, procedeu-se à hidrólise alcalina e o material foi levado à ebulição seguido de filtração à quente, sendo que o tempo gasto foi de 40 minutos (Tabela 1).

Segundo método descrito por ZAMBONI et al.¹², após a hidrólise, o material deve ser esfriado e, então, filtrado. Como a filtração do material a frio foi dificultada devido a formação de uma camada gelatinosa sobre o papel de filtro, optou-se pela filtração a quente, onde foi possível filtrar todo o material hidrolisado. Porém, a filtração a vácuo do material hidrolisado aquecido expõe o analista diretamente aos vapores tóxicos, podendo causar desde uma irritação das mucosas do sistema respiratório até uma pneumonite grave³.

O uso do tamis USBS 230 (Método B) eliminou os reagentes de risco e a lavagem do material com água quente foi feita em cerca de 10 minutos (Tabela 1).

Enquanto no Método B, o tempo de leitura da lâmina para identificação do elemento histológico característico variou de 5 a 15 minutos (Tabela 1), dependendo do número de frutas adicionadas, no Método A, o tempo mínimo foi de 1 hora. Pela dificuldade de identificação de determinados elementos histológicos, não foi anotado o tempo máximo de análise. Optou-se pela observação sistemática de várias lâminas do material obtido por esse método, onde ocorreram, inclusive, situações nas quais o elemento histológico vegetal não foi identificado.

Na observação do material obtido pelo Método A, ao microscópio estereoscópico, foi mais difícil visualizar os fragmentos vegetais, devido ao alto teor de resíduo (material interferente) e, em alguns casos, as estruturas celulares desses fragmentos, como os rafideos de *Ananas sativus* (abacaxi), mostraram-se dilaceradas ao microscópio ótico, sendo que o mesmo não ocorreu com o material obtido pelo Método B.

Pelo Método A, verificou-se que 36,7% (Figura 1) das amostras apresentaram boa qualidade de leitura

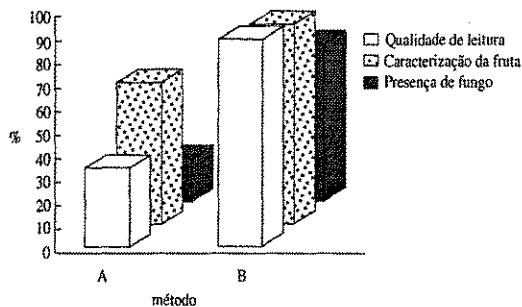


FIGURA 1

Percentagem de amostras analisadas quanto à qualidade de leitura, caracterização da(s) fruta(s) e presença de fungos. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo - 1994.

ra. No restante, a presença de matérias interferentes dificultou a identificação dos elementos histológicos característicos das frutas. Foi possível a caracterização das frutas em 66,7% das amostras analisadas (Figura 1). Na leitura das lâminas deste material, foi observada a presença de poucas estruturas celulares da fruta e, na maioria, apenas o elemento histológico característico. A facilidade de identificação ocorreu nos iogurtes sabores morango (*Fragaria vesca*), framboesa (*Rubus idaeus*) e amora (*Rubus sp*), pelas próprias características dos frutos¹¹.

Quando o elemento histológico das frutas correspondia à estrutura morfológicamente mais delicada ou presente em pequena proporção, como célula de mesocarpo, tubo de látex, pêlo, célula de tanino e outros^{7,11}, o material interferente dificultou ou impossibilitou a visualização e, conseqüentemente, a identificação.

A presença de material interferente, resultante das amostras tratadas pelo Método A, pode ser conseqüência da integração dos seguintes fatores: desengorduramento insuficiente, pois de acordo com o método deve-se repetir a etapa de desengorduramento até a retirada da maior parte das substâncias gordurosas do produto, o que nem sempre ocorreu; hidrólise alcalina incompleta⁵, pelo curto tempo de aquecimento e baixa temperatura; e, pelas próprias características do produto⁴ que possui elevado teor de sólidos (15% de extrato seco desengordurado), muitas vezes aumentado para dar consistência ideal ao produto.

O uso do tamis USBS 230 permitiu boa visualização do material em lâmina em 100% das amostras analisadas, sendo que em 96,7% (Figura 1) foram caracterizadas as respectivas frutas. Isto se deve à eliminação dos sólidos menores que 0,062 mm e à retenção dos elementos histológicos vegetais sem impregnação de partículas gordurosas ou proteicas devido a lavagem a quente. Além do elemento histológico característico, pode-se observar um maior número de estruturas do fruto em estudo, o que incrementou a eficácia da análise.

Nas lâminas obtidas do material tamisado, sem material interferente, também foi possível observar grande quantidade de hifas nas estruturas celulares das frutas em 70% das amostras, indicando a adição de matéria-prima avariada. Esta etapa também deve ser considerada um ponto crítico de controle, uma vez que, após a adição da polpa, o produto será envasado e resfriado. Se essas hifas estiverem mortas, sugere-se estipular um limite de tolerância neste tipo de produto, caso contrário, o risco de qualquer alteração de temperatura nas etapas subsequentes de transporte ou armazenamento comercial acarretará conseqüências mais graves à saúde. Pelo Método A verificou-se a presença de fungos somente em 26,7% das amostras.

Os dois métodos permitiram a visualização de gomas, na observação do material em lâmina e identificadas através da comparação com padrões, naqueles produtos com especificação de espessantes na rotulagem.

CONCLUSÕES

Na comparação entre os dois métodos utilizados na identificação histológica de iogurtes com polpa de fruta(s) pode-se concluir que o uso do tamis USBS 230:

- 1 - Apresentou melhor qualidade de leitura do material ao microscópio.
- 2 - Aumentou a eficiência da identificação histológica e, conseqüentemente, a caracterização da(s) fruta(s).
- 3 - Possibilitou a identificação de matérias estranhas e melhor observação de hifas nas estruturas celulares das frutas.
- 4 - Permitiu maior rapidez na análise microscópica.

Sob o aspecto analítico e de segurança do analista, propõe-se o uso do tamis USBS 230 na análise microscópica de iogurtes com polpa de fruta(s).

RIALA6/768

NOGUEIRA, M.D. & RODRIGUES, R.M.M. - The hystological identification in yogurts containing fruit pulp by using sieve USBS 230. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(2): 93-6, 1994.

ABSTRACT: The efficiency of two methods for hystological identification was compared, by using 30 samples of yogurts containing different flavors of fruits pulps. Method A used defatting and alkaline hydrolysis and Method B used sieve USBS 230 and filtered water at 35°C. The Method B was superior to Method A by making possible a good visualization of the material and characterization of fruits in 96,7% of samples. In both methods, it was also possible to evaluate the quality of fruit pulp. Since the Method B is rapid, simple and precise and does not require toxic reagents, it is considered to be the most suitable for hystological identification in yogurts containing fruit pulp.

DESCRIPTORS: yogurts containing fruit pulp, hystological identification, microscopy methods.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. *Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal*. Aprovado pelo decreto nº 30.691 de 23-3-52, alterado pelo decreto nº 1.255 de 25-6-62. Brasília, DIPOA, 1980. p.115.
2. BRASIL. SECRETARIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA. Portaria nº 02 de 10 de abril de 1985. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 set. 1985. Seção 1, pt 1, p.6052.
3. FUNDACENTRO, Ministério do Trabalho. Ficha de orientação para produtos químicos. São Paulo, 1981.
4. GRANDI, J.G. - Leites fermentados, manteiga e queijos. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A. & BORZANI, W. - *Alimentos e bebidas produzidos por fermentação*. São Paulo, Edgard Blucher, 1983. (Série Biotecnologia, 5), p. 124-30.
5. LEHNINGER, A.L. - *Componentes moleculares das células*. São Paulo, Edgard Blucher, 1976. p.71.
6. MERCK AND COMPANY. *The Merck Index*. Rahway, N.J. 11 ed., 1989, p.594 e 600.
7. MENEZES JUNIOR, J.B.F. - Investigação sobre o exame microscópico de algumas substâncias alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 9:18-77, 1949.
8. MENEZES JUNIOR, J.B.F. - A investigação microscópica de sementes oleaginosas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 18:26, 1958.
9. SCHULZC, A.E. - Applied histology of foods and drugs material. In: *FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Microscopic-analytical methods in foods and drug control*, Washington, D.C. FDA, 1960. (Techin. Bull. nº 1), p. 209-20.
10. WALLIS, T.E. - *Microscopia analítica: sus fines, y metods in relacion a los alimentos, agua, especias y medicamentos*; trad. por J.G. Berenguer, Zaragoza, Acribia, 1968. p. 24-5.
11. WINTON, A.B. & WINTON, K.B. - The structure and composition of foods. New York, John Wiley, 1939. v.2, p.102-803.
12. ZAMBONI, C.Q. et ali. *Manual de análise microscópica de alimentos*. São Paulo, 1986. p. 18-9 (apostila mimeografada).

Recebido para publicação: 4.4.94