

# INVESTIGAÇÕES SÔBRE ALTERAÇÕES DA ESTRUTURA VEGETAL PELA AÇÃO DO CALOR

J. B. FERRAZ DE MENEZES JÚNIOR,

Químico do Instituto Adolfo Lutz.

A razão de ser destas notas nasceu de curiosas observações surgidas no decorrer dos trabalhos de rotina da Subsecção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

Conquanto tais observações não apresentem motivo de interesse coletivo, não deixam de ser uma curiosidade científica, aliás muito pouco divulgada.

Quem quer que inicie estudos sôbre microscopia de alimentos, encontra logo aos primeiros passos, inúmeros obstáculos, no campo da Botânica, ainda mesmo que o candidato em questão possuía conhecimentos gerais da matéria ou traga bagagem literária especializada no assunto.

A dificuldade existente não é apresentada nem pela Sistemática, com a sua diversidade de formas, espécies, gêneros, famílias, ordens e classes, nem pela Fisiologia, com as mais intrincadas leis que regem a vida vegetal, mas pela Morfologia, disciplina que trata da organização externa e da histologia da planta.

Diz Felix Rawitscher: "O estudo da Botânica só poderá ser útil se for acompanhado de observações e demonstrações feitas no objeto vivo."

Se os estudos que todos nós fizemos desta ciência não preencheram *in totum* esta justa asserção, foram pelo menos bem orientados por ilustrações clássicas, representando cortes procedentes de plantas vivas.

No entretanto, êstes cortes deixam de apresentar os seus característicos histológicos típicos, quando o vegetal vem de sofrer a ação do calor, em qualquer de suas modalidades: cozimento, decocção, fritura, assamento e outras.

Estas modificações que, em Bromatologia, são de um valor inestimável na identificação microscópica dos alimentos, não são citadas pelas autoridades na matéria, faltando quaisquer referências nos compêndios que comumente se costuma consultar.

Tendo em mente estas circunstâncias, resolvemos trazer, com a presente nota, alguma contribuição ao assunto. Falaremos de passagem, para maior clareza, sobre cortes anatômicos, exames de superfície e de lupa, para depois tratarmos das alterações morfológicas dos tecidos.

*Cortes histológicos.* — São porções do material a examinar que, devido a sua espessura muito delgada, permitem, por transparência, o exame microscópico de sua estrutura.

São conseguidos por meio de aparelhos especiais denominados micrótomos. Nestes aparelhos os cortes são obtidos em série, saem uniformes e podem apresentar a espessura que se desejar. Essa espessura é determinada em milésimos de milímetro (micra) e representada pela letra grega  $\mu$ .

Conforme a natureza do material, os cortes são obtidos por congelção, parafina ou à mão, podendo ser ainda, em certos casos, corados pela hematoxilina, safranina, eosina, etc.

O material deve ser previamente fixado em líquidos especiais. Quando se trata de peças de origem animal, os fixadores são os usados em anatomopatologia: líquido de Zenker, de Helly, formol a 10%, seguindo-se os métodos usuais, escala de desidratação, etc. Para os vegetais, usa-se o fixador para vegetais, cuja composição é a seguinte:

#### FIXADOR PARA VEGETAIS

Ácido acético .....	35 cc.
Álcool absoluto .....	25 cc.
Solução saturada de sublimado corrosivo ...	25 cc.

Nem sempre se torna necessário o uso de cortes nos exames microscópicos de alimentos. Usámo-lo sempre que deparamos com caso suspeito de fraude em que a identificação se torna difícil pelo simples exame de superfície.

*Exame de superfície.* — É o que se procede quando o material apresenta condições propícias para ser observado microscòpicamente por incidência direta. A maior parte dos exames se faz por este processo, que além de prático é eficiente.

Cada caso, porém, requer um tratamento especial.

Casos há em que se torna necessário lavar o material repetidas vezes, com água, para desembaraçá-lo de certas substâncias, como o açúcar, o sal, etc., que prejudicam a sua observação. Outras vezes é

preciso tratá-lo previamente com álcool, éter, acetona, clorofórmio e solventes especiais; submetê-lo à ação descolorante do hipoclorito de sódio, do cloral, do cloro nascente, da potassa, da soda, ou ainda do bálsamo do Canadá e da glicerina, como diafanizantes, e dos óleos, para casos particulares. Na investigação microscópica das substâncias ricas em reserva amilífera, usa-se o lugol, cuja fórmula é a seguinte:

## LUGOL

(Solução de iôdo iodetada)

Iôdo metalóidico .....	1,0
Iodeto de potássio .....	2,0
Água destilada .....	200 cc.

Quando o material a examinar é cozido e apresenta fragmentos muito pequenos e moles que dificultam a obtenção de cortes, colhem-se alguns, passam-se para uma lâmina, onde são esmagados ou amassados com o auxílio de um bisturi. Em seguida junta-se uma gôta de água, cobre-se com uma lamínula, sôbre a qual se faz pequena pressão afim de distender o material em camada bem tênue para ser examinado por transparência.

Conseguem-se ótimas preparações raspando-se a superfície da substância a examinar e procedendo como ficou dito acima quando o material é duro e não se deseja fazer cortes.

*Exame de lupa.* — Denomina-se lupa tôda lente ou combinação de lentes com a qual se vê um objeto mediante uma imagem virtual, direta e ampliada.

A lupa montada, que é um microscópio simples, para fracos aumentos, presta inestimáveis serviços ao analista. Com tal aparelho é possível distinguir sem dificuldade, tôda e qualquer substância, quer a sêco, quer dissociada em um líquido apropriado.

O microscópio-lupa-binocular moderno, apresenta os aperfeiçoamentos e requisitos necessários para ser considerado um aparelho de reconhecido valor e indispensável em um laboratório de análises microscópicas. A observação pode ser feita à luz refletida ou por transparência, desde que se empregue um dispositivo adicional.

Com o seu auxílio podemos selecionar tôdas as partes que nos interessam numa determinada mistura alimentícia. Tratando-se de uma fraude, torna-se mais fácil a identificação dos elementos estranhos, pescando-os por intermédio de um estilete ou de uma agulha de platina. O lugol facilita grandemente a pesquisa, quando os ele-

mentos suspeitos procedem de substâncias ricas em amido, como a banana, a abóbora, o chuchú, a pera, o marmelo, a batata, etc.

Suponhamos uma goiabada — caso muitíssimo vulgar — adulterada com banana. Para a identificação procede-se da seguinte forma: em um copo graduado de 250 cc. juntam-se 10 g do produto que, com um pouco d'água, é amassado e transformado em pasta com o auxílio de uma espátula, e em seguida lavado várias vezes com água afim de ser desembaraçado do açúcar que mascara a reação, principalmente quando a quantidade de amido é pequena; passa-se o sedimento para uma ou várias placas de Petri com um pouco d'água, juntam-se algumas gotas de lugol, agita-se e leva-se à lupa. Colhem-se os elementos suspeitos, corados em azul violáceo e que se apresentam sob a forma de células avulsas, blocos de células amilíferas e dutos típicos com células de tanino, todos pertencentes à banana. Os demais elementos que, ao em vez de se corarem em azul, tomam a coloração amarelo-parda, são da goiaba.

Quando se examina um produto alimentício, entre as várias operações preliminares, devemos nos certificar se êle é:

- 1.º — constituído por massa, pó ou pasta;
- 2.º — homogêneo ou não;
- 3.º — simples ou composto;
- 4.º — líquido denso ou fluido;
- 5.º — constituído por fragmentos ou pequenos pedaços.

Com auxílio da lupa, colhem-se os fragmentos e demais elementos, suspeitos ou não, que interessam ao exame, fazendo-se cortes, se necessário, aplicando-se os métodos e as técnicas recomendadas para cada caso. Tratando-se de substância líquida, deve ser centrifugada e, previamente dissolvida na proporção de 1 parte para 2 de água destilada estéril se for muito densa (xarope, mel, etc.). Com o sedimento são preparadas lâminas que serão examinadas ao microscópio com pequeno e grande aumentos (100x e 400x).

*Alterações morfológicas dos tecidos.* — O calor é um agente-modificador por excelência. Presta reais serviços em todos os setores da atividade humana, desde a leve temperatura das estufas de laboratório até à dos grandes fornos das indústrias. O tecido vegetal, delicado na sua contextura, formado de células de composição complexa, é tanto mais sensível à ação do calor, quanto mais elevada for a temperatura e maior o tempo de duração do aquecimento.

As substâncias alimentícias, tais como doces em massa, conservas, condimentos, biscoitos, geléias, etc., sendo submetidas ao aquecimento durante sua elaboração, apresentam-se ao microscópio completamente modificadas.

Verifica-se primeiramente a desagregação das células e depois a alteração do seu conteúdo, aumento de volume e mudança de cor.

Admite-se que a região mediana ou lâmina média que se interpõe entre as paredes de duas células contíguas, seja constituída de pectato de cálcio, formando uma espécie de cimento inter-celular. Pelo aquecimento essa substância pectica se dissolve e a desagregação das células se processa.

O conteúdo celular, quando constituído quase que exclusivamente de amido, é transformado em goma e a célula apresenta então um volume muito maior que o primitivo.

Devido aos inúmeros derivados do protoplasma, a célula vegetal, após aquecimento, demonstra uma leve mudança de cor e o aparecimento de granulações, massas e filamentos, geralmente amarelados que se tornam mais intensos, passando para uma tonalidade parda quando sob a ação do lugol.

Estes compostos de origem orgânica são os seguintes: *eritrodextrina*, *glicogênio*, *pectinas*, *mucilagens*, *lipídios*, *cerídeos*, *tanóides*, *essências*, *resinas*, *glicósides azotadas*, *proteínas*, *diástases*, *quitino* e ainda os pigmentos naturais e o latex de composição variadíssima.

Dentre as inúmeras alterações que o calor pode provocar nos vegetais, citaremos as que se passam com os grãos de amido e com as substâncias ricas em reserva amilífera como a batatinha, a batata doce, a mandioca, a banana, o chuchú e o feijão, nas quais o aspecto morfológico se transforma sensivelmente.

Apresentaremos microfotos do amido e ilustrações de cada uma das espécies citadas, mostrando os seus parênquimas antes e depois de sofrerem a ação do calor.

*Amido*. — É a substância nutritiva de reserva mais comum e espalhada entre os vegetais. É encontrada em quase tôdas as partes da planta: raízes, tubérculos, bulbos, caules, frutos e sementes.

Dá-se o nome de *amido* à matéria amilácea extraída dos cereais e o de *fécula* à que é encontrada nos órgãos subterrâneos.

Apresenta-se sob a forma de pequenos grãos com dimensões e conformação variáveis. Podem ser ovais, riniformes, piriformes, polédricos, elípticos, esféricos, truncados e possuir tamanhos que vão de 0,002 a 0,180  $\mu$ .

São constituídos por estrias mais ou menos acentuadas, formando camadas concêntricas ou excêntricas ao redor de um hilo que pode ser pontuado, estrelado, linear, etc.

Quando sêco, tem por fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$ .

Densidade média 1,5.

Não é solúvel no álcool, no éter, nem sensivelmente na água. Entretanto o licor proveniente da filtração de uma mistura de amido e água fria, toma a cor azul em presença do iodo.

Em água fervente o amido aumenta de volume, hidrata-se, podendo chegar a ter 30 vezes o seu tamanho primitivo, formando finalmente a goma que é uma substância semi-sólida, translúcida e de aspecto gelatinoso. Cora em azul pelo lugol. Esta cor característica desaparece na temperatura de 90°C, reaparecendo pelo resfriamento.

Segundo Maquenne e Roux a fécula é constituída de 80% de amilocelulose e 20% de amilopectina. A primeira é momentaneamente solúvel em água morna (40°C), mas separa-se sob a forma de pequenos grãos insolúveis, algum tempo depois. A segunda — amilopectina — matéria de natureza pectiforme, é que dá à goma o aspecto de geléia.

Aquecido a 200° o amido transforma-se em dextrina.

Os álcalis transformam-no em goma.

Sob a ação do ácido sulfúrico diluído passa primeiramente a dextrina e depois à glicose.

É digerido pelos fermentos.

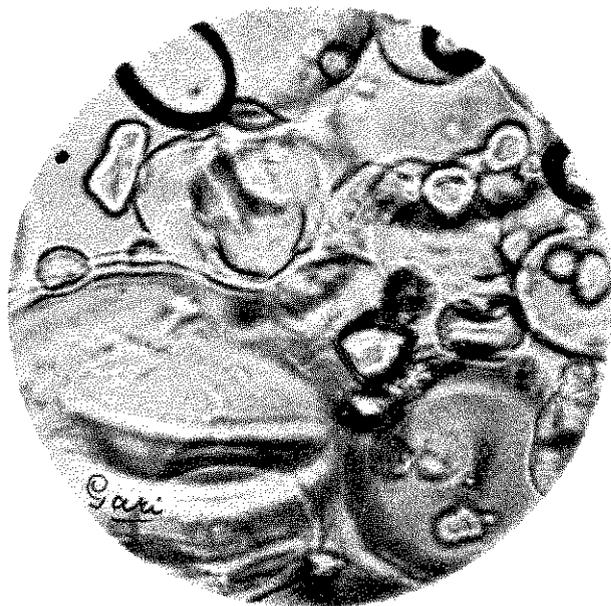
A amilase o transforma em açúcar.

De todos os componentes do vegetal, o amido parece ser o que sente mais de perto a ação modificadora do calor, motivo por que os tecidos ricos desta reserva nutritiva sólida são os que apresentam maiores alterações morfológicas e estruturais.

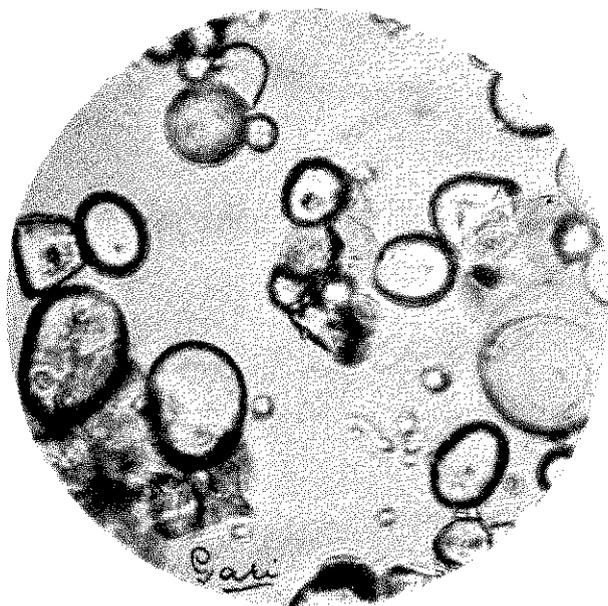
A microfoto n.º 1 nos mostra diversos grãos de amido e de fécula (batata, milho, feijão, trigo e mandioca) numa preparação à fresco e com o aumento de 400 vezes.

Na microfoto n.º 2 vemos os mesmos elementos, logo após sofrerem a ação de ligeiro aquecimento. Notamos que todos êles estão deformados, grandemente aumentados, apresentando-se alguns já partidos pelo excesso de volume.

Neste estado o amido não pode ser identificado ao microscópio.



Microfoto n.º 2



Microfoto n.º 1

BATATINHA — *Batata inglesa* — (*Solanum tuberosum*) (Fig. I)

O parênquima consiste de células arredondadas, grandes, isodiamétricas, com pequenos espaços intercelulares nos ângulos e ricas em amido.

As células da região medular não se apresentam em alas radiais.

O amido tem formas as mais diversas, sendo mais comum a ovóide, a piriforme e a elíptica. O hilo planta-se sempre na extremidade redonda e mais estreita do grão, é punctiforme e bem visível. Em redor dele estão em série, as camadas excêntricas das estrias, alternativamente claras e escuras.

Quando aquecidas (Fig. II), as células tornam-se mais volumosas e apresentam uma reticulação de malhas irregulares, pouco pronunciadas, semelhante à de vidro fantasia (vidro ártico) de armários e vitrais, devido ao entumescimento dos grãos de amido. Com o aumento de 100 x estas malhas são mais nítidas.

Notam-se filamentos estrangulados e granulações de cor amarela, procedentes de substâncias albuminóides contidas na célula e precipitadas pela ação do calor.

BATATA DOCE — (*Ipomoea batatas*) (Fig. III)

As células de que se compõem os tecidos são muito semelhantes às da batatinha, são menores, havendo muitas retangulares e apresentam espaços intercelulares. As células de latex contêm uma substância de natureza resinosa que se torna amarela pelo lugol.

Os grãos de amido são muito irregulares e de tamanho muito variado (de 2 a 30 $\mu$ ), são esféricos, poliédricos, ovóides, truncados e em forma de dedal. O hilo é punctiforme ou estrelado e as estrias são pouco numerosas.

Pelo aquecimento (Fig. IV) as células sofrem as mesmas alterações que as da batatinha. Quando dissociadas aparecem quase sempre agrupadas em dois, três ou mais elementos e apresentam as granulações e filamentos amarelos, bem como a reticulação típica semelhante à dos vitrais, verificados nas células amilíferas da batata inglesa. Apresentam grande analogia com as células da banana (variedade *Musa paradisíaca*), como veremos.

MANDIOCA — (*Manihot utilisima*) (Fig. V)

As células do parênquima, ricas em amido, são isodiamétricas, notando-se maior número das alongadas, mais ou menos quadrilaterais.

O amido tem várias formas e tamanhos. Os menores são esféricos, medem  $8\mu$  de diâmetro; os mais comuns medem  $20\mu$ , têm forma de dedal, de capacete ou de esfera truncada por uma ou mais facetas poliédricas e apresentam hilo punctiforme ou estrelado. São mais ou menos semelhantes aos da batata doce e estão por vèzes agrupados em número de dois, três ou quatro elementos. Submetidos à ação do calor (Fig. IV), as células se tornam maiores, de contornos lisos, brancas, opacas, com aspecto característico que as torna facilmente identificáveis. Nas células assim alteradas raramente se encontram granulações amarelas, devido talvez à quantidade relativamente pequena de latex existente na raiz.

#### BANANA — (*Musa* sp.) (Fig. VII)

O parênquima do mesocarpo é constituído por células de paredes finas, mais ou menos arredondadas, enquanto as do endocarpo apresentam células poligonais ou alongadas. Estas células podem estar cheias de grãos de amido ou se apresentarem quase ou completamente vazias, denotando o grau de amadurecimento do fruto. O amido é maior no endocarpo onde atinge  $85\mu$  de comprimento e vai diminuindo de tamanho à proporção que alcança o mesocarpo externo.

O amido tem a forma de pera, de salsicha, de bastonetes cilíndricos, ovóide, elítico e apresenta estrias concêntricas numerosas e bem visíveis. O hilo está sempre situado numa das extremidades do grão e é punctiforme.

Quanto mais verde for o fruto, tanto mais ricas em amido são as células. Estas, depois de aquecidas (Fig. VIII), nos mostram modificações interessantes, observáveis com maior facilidade quando sob a ação do lugol.

As células provenientes da variedade "Musa Cavendish" (banana nanica), são mais alongadas e de paredes mais finas que as da variedade "M. paradisiaca" (banana da terra), que são arredondadas e de paredes grossas. O aspecto morfológico dessas últimas, muito se aproxima do da batata-doce, característica facilmente reconhecível devido às células da batata doce serem quadrilaterais e de membrana envoltória mais delicada que a da banana. A presença dos vasos, que são diferentes, estabelece rapidamente a identidade de cada uma destas células, no caso de haver alguma dúvida.



FIG. I  
BATATINHA — crúa — (400 X)  
Parênquima amilífero — Córte transversal

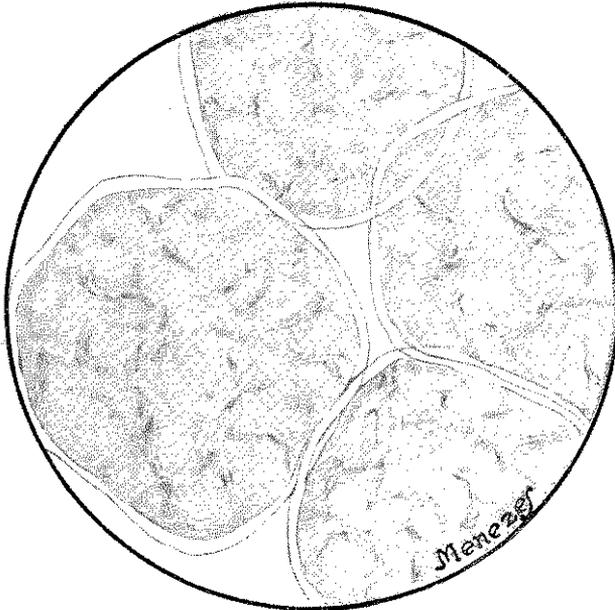


FIG. II  
BATATINHA — cozida — (400 X)  
Células amilíferas alternadas pelo calor

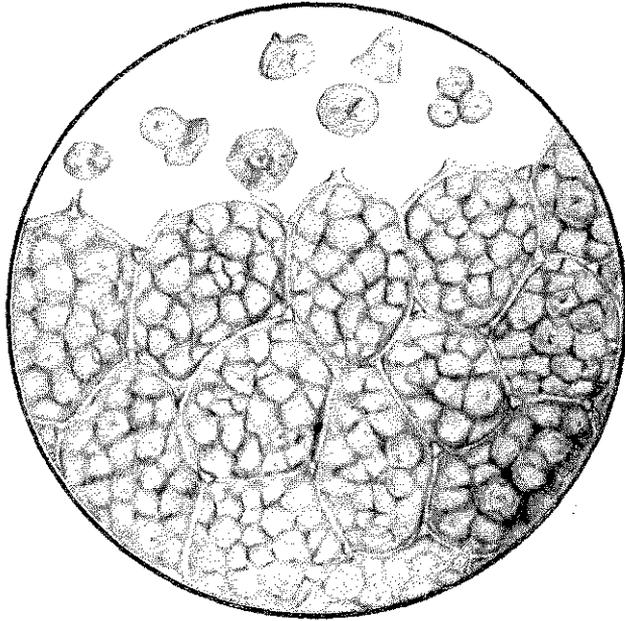


FIG. III  
BATATA DOCE — crua — (400 X)  
Parênquima amilífero — Corte transversal

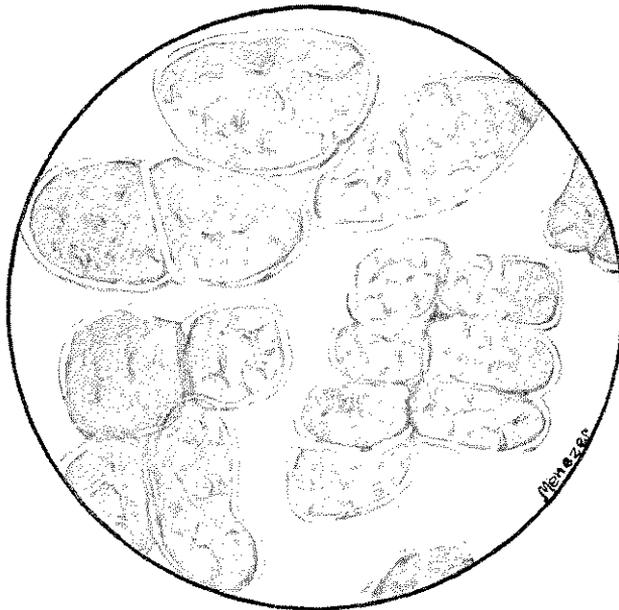


FIG. IV  
BATATA DOCE — cozida — (400 X)  
Células amilíferas alternadas pelo calor



FIG. V  
MANDIÓCA — crúa — (400 X)  
Parênquima amilífero — Corte transversal

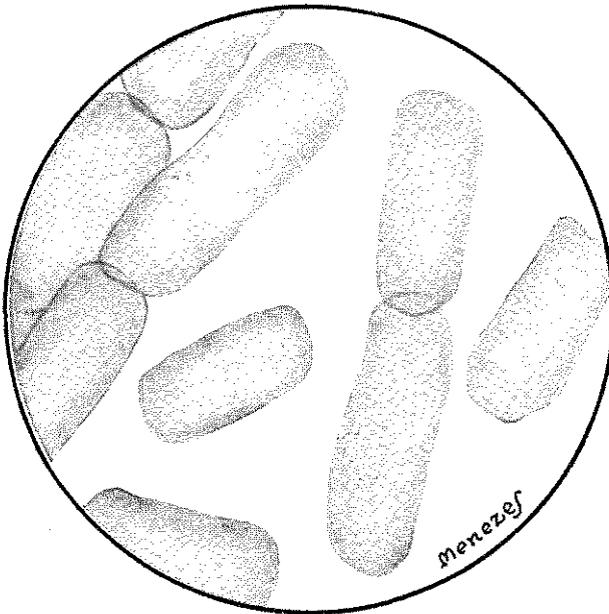


FIG. VI  
MANDIÓCA — cozida — (400 X)  
Células amilíferas alternadas pelo calor

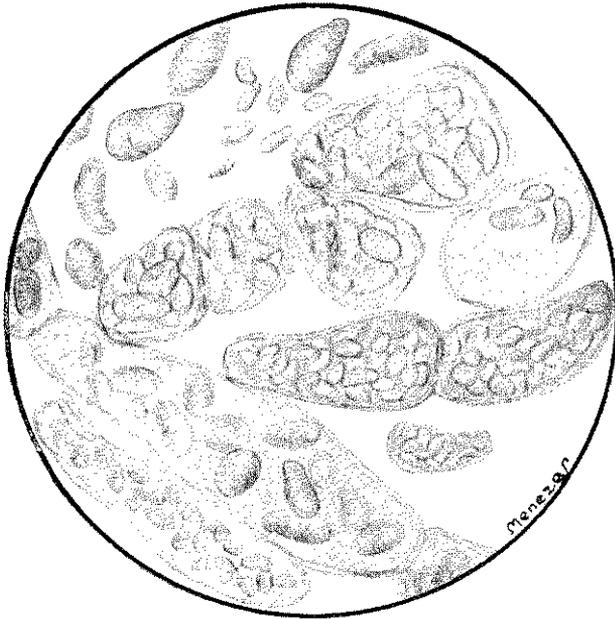


FIG. VII  
BANANA crúa — (400 X)  
Células amilíferas diversas

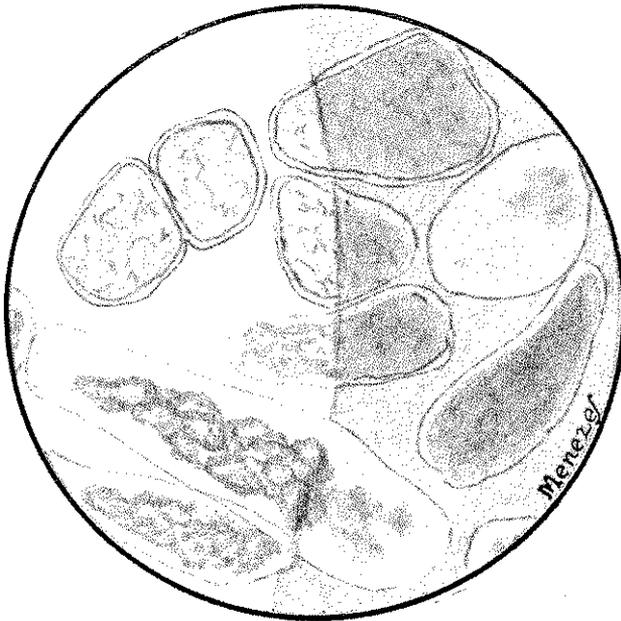


FIG. VIII  
BANANA — cozida — (400 X)  
Células amilíferas, alteradas e sob a ação do iodo

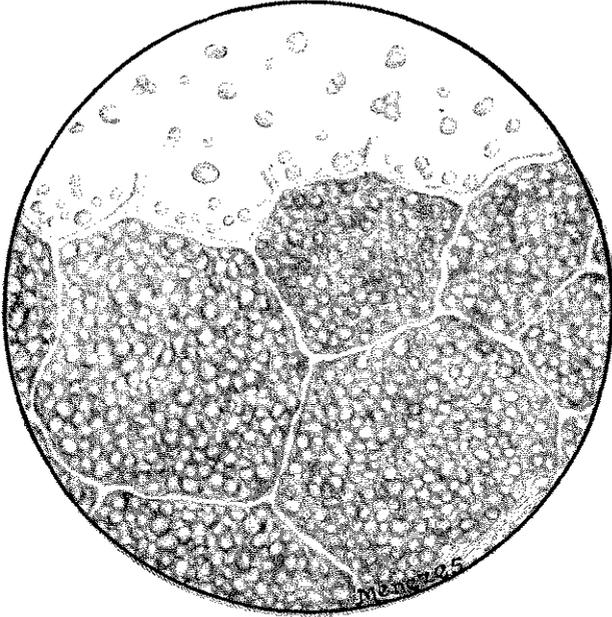


FIG. IX  
CHU-CHÚ — crú — (400 X)  
Parênquima amilífero — Córte transversal

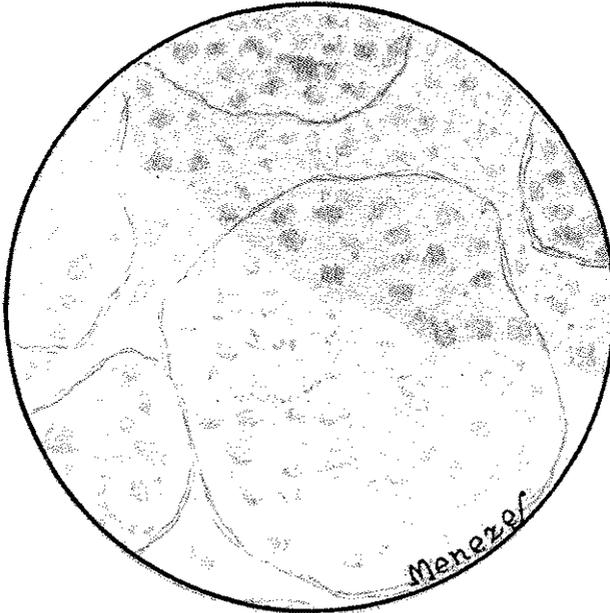


FIG. X  
CHU-CHÚ — cosido — (400 X)  
Células amilíferas, alteradas e sob a ação do iodo

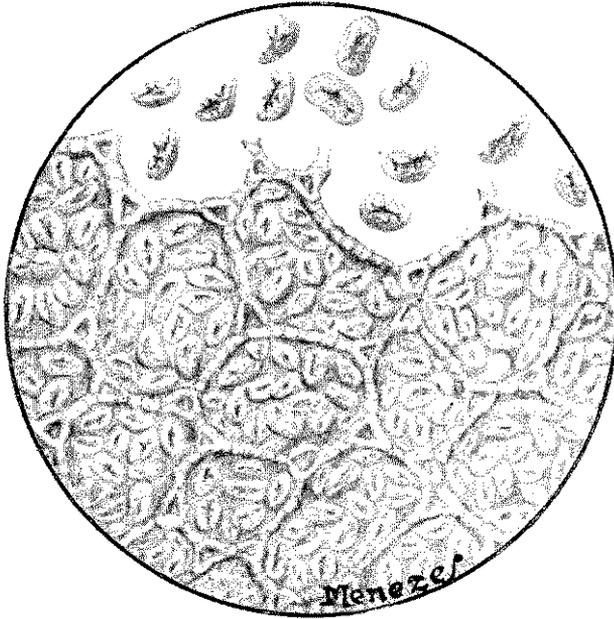


FIG. XI  
FEIJÃO — crú — (400 X)  
Parênquima amilífero — Corte transversal

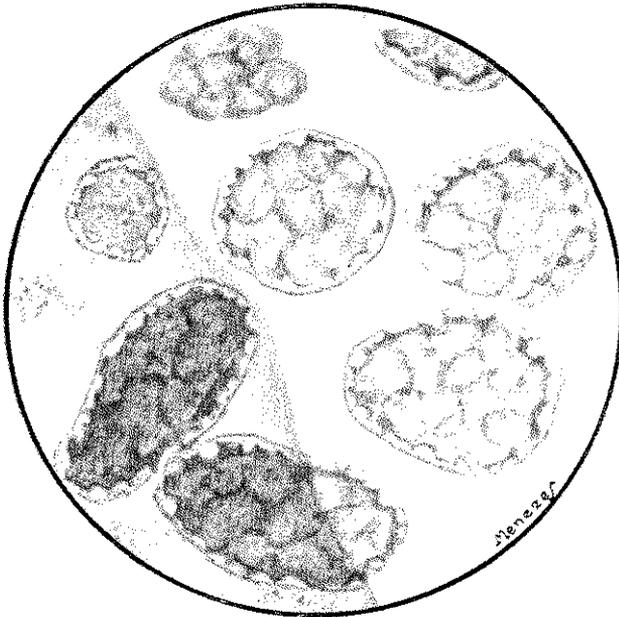


FIG. XII  
FEIJÃO — cozido — (400 X)  
Células amilíferas, alteradas e sob a ação do iodo

CHUCHU — (*Sechium edule*) (Fig. IX).

As células do mesocarpo são arredondadas e de paredes finas, repletas de grãos de amido pequenos, redondos, ovais ou truncados. O parênquima amilífero do endocarpo é constituído por células menores que as precedentes.

Aquecidas (Fig. X), as células tornam-se maiores e os grãos de amido abrem-se tomando a forma de pequenas esponjas, que são encontradas também espalhadas no campo microscópico e provenientes de células partidas.

FEIJÃO — (*Phaseolus vulgaris*) (Fig. XI).

Os cotilédones são constituídos de células isodiamétricas, de paredes grossas e porosas. As da epiderme são pequenas e não porosas. Os grãos de amido são elícticos, ovais, riniformes, triangulares, irregularmente cilíndricos e mostram uma estrição bem perceptível. O hilo, sempre presente, é linear, ocupa quase que o comprimento do grão e dele partem pequenos raios.

Pelo aquecimento (Fig. XII), as células do parênquima se desprendem, aumentam de volume, tomam coloração amarelada e adquirem aspecto de ovo de parasito. A membrana celular apresenta contornos mais vivos e os espaços constituídos pelos poros formam verdadeiros canaliculos, tornando as células semelhantes à esclérulas, nas quais os espaços vazios foram preenchidos pelos grãos de amido e substância protéica (faseolina), alterados pelo calor. É, de tôdas as alterações, a mais interessante e original.

Tratando-se de um estudo comparativo, adotamos um só aumento para todos os desenhos apresentados neste trabalho. Preferimos o forte aumento de 400 vêzes, por tornar mais minuciosos os detalhes estruturais das substâncias estudadas.

As plantas escolhidas para estas demonstrações são tôdas elas, ricas em reserva amilífera.

Procuramos citar os pontos mais interessantes do parênquima de cada uma delas e ilustrar, com a clareza que nos foi possível, os característicos essenciais que acabamos de expor.

Não nos referimos aos demais elementos histológicos de cada um dos vegetais citados, tais como vasos condutores de seiva, de latex, feixes fibro-vasculares, células pétreas, de óleo resina, fibras, etc., porque somente alguns deles apresentam ligeiras modificações pela ação do calor, conservando, os restantes, seus caracteres anteriores.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — DECOURT, Paulo — *Botânica Geral*, 2.<sup>a</sup> ed.
- 2 — HAGER-MEZ — 1922 — *El microscopio y sus aplicaciones*.
- 3 — MACÉ, E. — 1891 — *Les substances alimentaires*.
- 4 — RAWITSCHER, Felix — *Elementos de Botânica*.
- 5 — WINTON — 1932 — *The structure and composition of foods*.
- 6 — GAUTIER, Armand — 1906 — *Química Orgânica*, 280.
- 7 — TROOST — *Química Orgânica*, 350.
- 8 — PIZON, A. — 1915 — *Precis d'Histoire Naturelle*, 4.<sup>a</sup> ed.
- 9 — BONNIER, Gaston — 1893 — *Anatomie & Physiologie Vegetables*, 221.