

REJANE MARIA SALES CAVALCANTE

**ANÁLISE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE POLPAS DE CUPUAÇU E
BACURI COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ.**

**Belém - Pará
2005**

REJANE MARIA SALES CAVALCANTE

**ANÁLISE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE POLPAS DE CUPUAÇU E
BACURI COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ.**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, área de concentração Patologia das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Habib Fraiha Neto (D.Sc.)

**Belém - Pará
2005**

REJANE MARIA SALES CAVALCANTE

**ANÁLISE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE POLPAS DE CUPUAÇU E
BACURI COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE BELÉM, PARÁ.**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, área de concentração Patologia das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Habib Fraiha Neto (D. Sc.)

BANCA EXAMINADORA

1- _____

Dr. Francisco das Chagas Alves do Nascimento

2- _____

Dra. Ruth de Vasconcelos Brazão

3- _____

Dr. José Maria dos Santos Vieira

Julgada em: 30 de maio de 2005

Conceito: _____

Dedico este trabalho em primeiro lugar a Deus, por todas as bênçãos recebidas.

Aos meus pais, Francisco e Regina e às minhas irmãs Francineth e Camille, pelo carinho, paciência e constante incentivo a prosseguir, privando-se muitas vezes de minha presença.

Muito obrigada,

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter dado motivação para a realização deste trabalho.

Este projeto provavelmente nunca teria saído do papel sem a disponibilidade, os conselhos e a orientação do professor Habib Fraiha Neto, no decorrer desta longa jornada.

Aos professores do Curso de Mestrado em Doenças Tropicais e do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Pará, pelos sábios ensinamentos.

Meus agradecimentos se estendem também ao Departamento de Vigilância Sanitária do Município de Belém, pela boa acolhida em suas dependências, em particular a Leila Castro, Joana Souza, Sirlena Lima, Mariza Dantas, Edson Xavier e José Márcio Gonçalves, que me permitiram superar inúmeros obstáculos. *Valeu!*

Aos funcionários do Laboratório Central do Estado do Pará e do Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Pará, em especial ao Dr. Sabino Caldas, à professora Regina Guerreiro e ao Sr. Manoel.

E, de uma maneira muito especial, aos feirantes que disponibilizaram as amostras de polpas de frutas, de fundamental importância para este estudo. *Muito Obrigada!*

Aos amigos e familiares que, direta ou indiretamente, acompanharam meus passos e tanto me incentivaram para a realização desta pesquisa.

“Aprendi que os sonhos são somente
para fazerem-se realidade...
E, desde aquele dia, já não durmo
para descansar...
Agora simplesmente durmo para
sonhar.”

RESUMO

O consumo de polpas de frutas e seus derivados vem sendo notavelmente incrementado, dadas suas propriedades nutricionais, a grande variedade de sabores e aromas, e a demanda cada vez maior por produtos com características sensoriais do alimento “*in natura*”. As polpas são utilizadas para consumo direto ou como matéria-prima na indústria de sucos, sorvetes, iogurtes etc. O processo de sua obtenção deve ser realizado em condições de higiene adequadas, seguido de acondicionamento e armazenamento também apropriados, de modo a assegurar a integridade e a qualidade do produto. O objetivo deste estudo foi o de avaliar as condições higiênico-sanitárias de polpas de cupuaçu e bacuri comercializadas no município de Belém, considerando que o seu processamento implica manipulação direta dos frutos, nem sempre por mãos convenientemente preparadas para este ofício. Sua realização contou com o indispensável apoio da Divisão de Vigilância Sanitária da Secretaria Municipal de Saúde, do Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN) e do Laboratório de Parasitologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. O método correspondeu a análises microbiológicas, microscópica e parasitológica de 33 amostras coletadas em 11 feiras-livres, precisamente aquelas em que esses produtos são regularmente oferecidos à venda, distribuídas em igual número de bairros da cidade de Belém e da vila de Icoaraci. Foram examinadas 22 amostras de cupuaçu e 11 de bacuri. A análise microbiológica correspondeu à pesquisa de coliformes a 45°C, mediante a técnica do número mais provável (NMP), e à pesquisa de *Salmonella* sp., em obediência ao prescrito na resolução RDCn°12/2001/ANVISA. Os resultados foram todos negativos. O exame microscópico, realizado em observância à Instrução Normativa n°1/2000 do Ministério da Agricultura e Abastecimento, não logrou revelar a presença de sujidades em qualquer das amostras. A análise parasitológica foi feita pelo método de Faust, todas as amostras apresentando ausência de cistos de protozoários e ovos de helmintos. Apesar da observação macroscópica das condições higiênico-sanitárias do ambiente das feiras-livres, muito sugestivas de fácil contaminação do produto, todas 33 amostras de polpas de cupuaçu e bacuri foram consideradas adequadas para o consumo, por atenderem às exigências da legislação vigente. Isto talvez seja devido ao grau de acidez e à presença de ácido cítrico em ambos os produtos, e ainda ao processo de congelamento a que são submetidos.

Palavras-chave: polpas de frutas; cupuaçu; bacuri; microbiologia de alimentos; feiras-livres; Belém.

ABSTRACT

The consumption of fruit pulp and your derivatives have been increased, because of their nutritional properties, flavors variety and aromas, and the increasing search for the products with *in natura* food characteristics. The pulps are used for direct consumption or as a raw material for juice, ice cream, yogurt industries. The process to obtain pulp should be done in right hygiene conditions, followed by appropriated storage, to assure integrity and quality of products. The study objective was value sanitary hygienic conditions of cupuaçu and bacuri pulps sold in the city of Belém, considering that the processing involves fruit manipulation, sometimes with not appropriated hands. Your realization counted on the Division of Sanitary Vigilancy of Municipal Health Department, Central Laboratory of the State of Pará (LACEN) and Laboratory of Parasitology on Biological Sciences Center Support. The methods used were microbiological, microscopical, parasitological analysis of 33 samples bought in 11 street markets, with in we easily find these products, the street markets are well distributed in the neighborhoods of Belém Icoaraci small town. 22 cupuaçu and 11 bacuri samples were analysed. The microbiological analysis were made regarding presence of 45°C coliformes using more probable number (NMP) method, and *Salmonella* sp., in agreement with RDC nº12/2001/ANVISA. The results were all negatives. The microscopical examination, followed nº1/2000 Instruction of Supplying and Agriculture Department didn't show any dirty in the samples. The parasitological analysis was made following Faust method and no worms or protozoan were found. Although the street markets observation of sanitary hygienic conditions suggests product contamination, all 33 samples of cupuaçu and bacuri pulps were considered good for consumption, in agreement with current legislation. These results can be explained by the acid level and the presence of citric acid both products, and because of the freezing process.

Key words: fruit pulp; cupuaçu; bacuri; food microbiology; street market; Belém.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. POLPAS DE FRUTAS	11
1.1.2. Cupuaçu	13
1.1.3. Bacuri	16
1.2. CONTAMINAÇÃO E DETERIORAÇÃO DE ALIMENTOS POR MICROORGANISMOS	18
1.3. FATORES QUE AFETAM O CRESCIMENTO DE MICROORGANISMOS NOS ALIMENTOS	19
1.3.1. Fatores intrínsecos	20
1.3.1.1. Atividade de água	20
1.3.1.2. Acidez	21
1.3.1.3. Potencial de oxi-redução	22
1.3.1.4. Composição química	23
1.3.1.5. Presença de substâncias antimicrobianas naturais	24
1.3.1.6. Interação entre microorganismos	25
1.3.2. Fatores extrínsecos	25
1.3.2.1. Temperatura	25
1.3.2.2. Umidade relativa do ambiente	26
1.3.2.3. Composição gasosa do ambiente	26
1.4. MICROORGANISMOS INDICADORES DO ESTADO HIGIÊNICO-SANITÁRIO DOS ALIMENTOS.....	27
1.4.1. Indicadores gerais das condições higiênicas	28
1.4.2. Indicadores das condições higiênico-sanitárias	29
1.4.3. Indicadores de risco	30
1.4.4. Parasitoses intestinais	34
1.5. JUSTIFICATIVA	39
2. OBJETIVOS	41
2.1. OBJETIVO GERAL	41
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1. COLETA DAS AMOSTRAS	42

3.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS	44
3.2.1. Análise microbiológica	45
3.2.1.1. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes fecais	45
3.2.1.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	46
3.2.2. Análise microscópica	49
3.2.3. Análise parasitológica	50
3.2.4. Análise de pH e acidez em ácido cítrico	50
4. RESULTADOS	51
5. DISCUSSÃO	54
6. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	66

1. INTRODUÇÃO

1.1. POLPAS DE FRUTAS

As frutas, por serem alimentos perecíveis, deterioram em poucos dias, tendo sua comercialização *in natura* dificultada a grandes distâncias. Estima-se que perdas pós-colheita variem de 15 a 50%. O processamento para obtenção de polpa é uma atividade agroindustrial importante, na medida em que agrega valor econômico à fruta, evitando desperdícios e minimizando as perdas que podem ocorrer durante a comercialização do produto *in natura*, além de permitir aumentar sua vida útil (FURTADO et al., 2000; BUENO et al., 2002; BRUNINI et al., 2003).

A legislação brasileira do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, define polpa de fruta como o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais provenientes da parte comestível, específico para cada fruto. As polpas devem ser preparadas com frutas frescas, sãs e maduras, isentas de matéria terrosa, detritos de animais ou vegetais, e de parasitos. Não deverão conter fragmentos das partes não comestíveis do fruto, nem substâncias estranhas à sua composição normal. No rótulo da embalagem deverá constar a denominação “polpa”, seguida do nome da fruta de origem. As características físicas, químicas e organolépticas deverão ser as provenientes do fruto de sua origem, observando-se os limites mínimos e máximos previstos nas normas específicas para cada polpa de fruta (BRASIL, 2000).

A produção de polpa de fruta tornou-se um meio favorável para o aproveitamento integral dos frutos na época de safra e tem grande importância como matéria-prima para as indústrias de alimentos, que as armazenam e reprocessam como doces de massa, geléias, néctares etc, em ocasiões mais propícias, nos períodos ociosos, ou até segundo a demanda do mercado consumidor. Ao mesmo tempo, também são

comercializadas para outras indústrias,

que as utilizam como parte da formulação de iogurtes, doces, biscoitos, bolos, sorvetes, sucos, alimentos infantis etc. (HOFFMANN et al., 1997; BUENO et al., 2002).

De acordo com o FAVERET FILHO et al. (2000), a exportação brasileira de produtos derivados de frutas tem apresentado um crescimento considerável. A expansão no comércio de polpas tem apresentado taxas de crescimento anual das exportações em média de 27% entre 1990 e 1999, sendo a indústria de bebidas a sua grande beneficiária.

A conscientização do consumidor quanto à importância de uma dieta à base de frutas, o seu valor nutricional, a imensa riqueza de aromas e sabores de frutas ditas exóticas, muito apreciadas, e a tendência cada vez maior de se consumir alimentos processados com as características sensoriais do alimento *in natura*, têm contribuído para o aumento do consumo de polpas de frutas e seus derivados, porém, a ampliação deste mercado depende, também, da qualidade do produto final, englobando os aspectos físicos, químicos e microbiológicos (FURTADO et al., 2000; BUENO et al., 2002).

O processamento das frutas para a obtenção de polpa deve apresentar-se dentro de critérios higiênicos e para isso são indispensáveis normas rígidas na seleção e limpeza dos frutos, a fim de serem eliminados os microorganismos. Todos os alimentos, independentemente de sua origem, apresentam uma microbiota natural extremamente variável, concentrada principalmente na região superficial, embora os tecidos internos tanto de vegetais como de animais possam, eventualmente, apresentar formas microbianas viáveis (ABREU et al., 2003).

Falhas na produção, processamento e distribuição podem expor as polpas de frutas à contaminação por substâncias tóxicas ou por microorganismos patogênicos, constituindo um grande problema de saúde pública, porque suas conseqüências são conhecidas e presentes, tais como crianças subnutridas por freqüentes diarreias, além de ter um impacto sócio-econômico considerável, posto que o alimento deteriorado leva a grandes perdas econômicas, pela

rejeição do produto para consumo, bem como por resultar em incapacidade para o trabalho (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Desta forma, tornam-se necessárias condições higiênico-sanitárias adequadas para toda a linha de produção das polpas de frutas, visando à prevenção de risco para a saúde, na elaboração de alimentos mais seguros e de melhor qualidade (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.1.2. Cupuaçu

O cupuaçu pertence à família *Sterculiaceae* e sua denominação específica é *Theobroma grandiflorum* Schum. Constitui um dos mais importantes frutos tipicamente amazônicos (CALZAVARA et al., 1984).

O fruto tem uma forma elipsóide ou oblonga, com as extremidades obtusas ou arredondadas, variando de 15 a 35 cm. de comprimento por 10 a 15 de diâmetro, e com peso médio de 1.500 gramas. Possui o epicarpo (casca) rígido, porém, facilmente quebrável, recoberto por um indumento ferrugíneo (CALZAVARA et al., 1984).

As sementes são recobertas por uma polpa (endocarpo) de coloração branco-amarelada, fibrosa, apresentando bastante acidez (% de ácido cítrico) e cheiro forte e muito característico, que o torna apreciadíssimo, constituindo excelente matéria-prima para a fabricação de outros produtos, tais como néctar, sucos, geléia, sorvetes e doces diversos (CALZAVARA et al., 1984; CAVALCANTE, 1996; RODRIGUES, 1996; JESUS, 2001).

O rendimento do fruto é variável de acordo com o tamanho, a procedência, o período de safra e o método de extração. Dependendo do peso do fruto, encontra-se em média 49,02% de casca, 33,82% de polpa, 14,93% de semente e 2,21% de placenta (VENTURIERI, 1993).

A região Norte tem sido, até o presente, o maior mercado produtor de cupuaçu, respondendo o Estado do Pará por 30% deste mercado, sendo que a capital, Belém, é seu principal centro de comercialização, distribuição e consumo. A oferta anual de polpa desta

fruta na região está entre duas mil e três mil toneladas, das quais 70% são produzidos no Estado do Pará, seguido pelos Estados do Amazonas, Rondônia e Acre. A polpa é preferencialmente utilizada para o consumo sob a forma de sucos e sorvetes (BARBOSA et al., 1978; CORAL, 2000; PESQUISA COMPROVA..., 2004).

Nos últimos anos houve uma crescente demanda em nível nacional deste produto. Este aumento da procura deve-se, em grande parte, às suas qualidades exóticas apreciáveis e à sua utilização doméstica e industrial (RODRIGUES, 1996; CORAL, 2000).

O beneficiamento do cupuaçu consiste na retirada da polpa, podendo ser efetuado por processo manual ou mecanizado. Por serem relativamente simples, as tecnologias de obtenção e processamento da polpa de cupuaçu podem ser facilmente desenvolvidas pela agricultura familiar. O processo manual (Figura 1) é realizado nas indústrias caseiras, sorveterias e nos pomares comerciais e consiste na quebra do fruto e extração da polpa que envolve as sementes, com o auxílio de tesoura. De grande importância para a região, este processo é executado por mulheres e crianças, geralmente esposas e filhos dos trabalhadores da propriedade, vindo a complementar a renda familiar (CALZAVARA et al., 1984; VENTURIERI, 1993; RODRIGUES, 1996).

No processo mecanizado os frutos são lavados e quebrados manualmente para a remoção das sementes com a polpa que, em seguida, são colocadas em máquinas despulpadoras para a separação desses dois componentes do fruto (CALZAVARA et al., 1984; VENTURIERI, 1993).

Segundo Venturieri (1993), há um menor rendimento da polpa obtida por processo mecânico (35,51%), se comparado ao despulpamento manual (40,61%). Outra grande vantagem do despulpamento manual consiste na presença de pedaços de polpa, formando material mais grosso, de consistência mucilaginosa (viscosa), o que não ocorre com o

despolpamento mecânico, cujo produto normalmente apresenta-se liquefeito (CALZAVARA et al., 1984).



Fig. 1: Despolpamento do fruto do cupuaçu.

O cupuaçu é um fruto com grande aceitação pelo mercado consumidor, em virtude do sabor e odor agradáveis, pelo que é amplamente utilizado e vem conquistando um espaço bastante importante devido ser uma das poucas matérias-primas totalmente aproveitáveis (polpa, semente e casca) na indústria e na culinária local, principalmente no Estado do Pará (CALZAVARA et al., 1984).

Com a separação da polpa, a casca é utilizada em alguns locais como adubo orgânico e as sementes são utilizadas como matéria-prima para a fabricação de chocolate, por resultar em derivado com sabor, textura, odor e aparência semelhantes ao do chocolate elaborado com cacau e por seu teor de proteína e de uma substância gordurosa comestível bem semelhante à manteiga de cacau (CALZAVARA et al., 1984; LANNES et al., 2002).

Além da fruta *in natura*, pode ser oferecida ao mercado consumidor à polpa congelada ou pasteurizada, que por suas características já mencionadas, é matéria-prima para diversas indústrias como as de sorvetes, iogurtes e doces, constituindo o melhor meio pelo qual podem elas reverter os problemas de manuseio, transporte e armazenamento de frutas *in natura*, em função das condições climáticas, das distâncias e da perecibilidade (ABREU et al., 2003).

O cupuaçu é constituído de elementos nutritivos bastante pronunciados, excelentes características organolépticas, apresentando elevados teores de vitamina C, fósforo e pectina, este último propiciando sua utilização industrial, com ótimas vantagens na fabricação de doces (CORAL, 2000).

1.1.3. Bacuri

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), espécie frutífera da família *Clusiaceae*, é uma planta arbórea tipicamente tropical, cujas áreas de ocorrência abrangem os Estados do Pará, Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso, alcançando também o Paraguai. Seus centros de origem e de diversidade estão localizados no Estado do Pará, onde se encontra ampla variação de forma e tamanho de frutos, rendimento e qualidade da polpa, além de outras características de interesse econômico (CAVALCANTE, 1996; SOUZA et al., 2001).

O fruto é uma baga volumosa, uniloculada, com formato arredondado, ovalado, piriforme ou achatado, de cor amarelo-citrina, epiderme lisa e lustrosa, com diâmetro médio de 25 a 28 cm. Apresenta um peso médio de 257,9 g., 326,0 g. e 346,3 g., respectivamente, para frutos oriundos dos Estados do Maranhão, Piauí e Pará. Alguns tipos produzem frutos bem maiores, com peso superior a 1.000 g. O número de sementes por fruto geralmente varia de um a cinco, com média de 2-4 sementes, envolvidas por uma polpa branca, macia, de cheiro e sabor agradáveis, empregada na indústria alimentícia e na culinária local. Em casos raros são encontrados frutos contendo seis sementes ou desprovidos de sementes (SANTOS et al., 1988; GUEDES et al., 1990; CARVALHO et al., 2002).

Em termos percentuais, a maior parte do bacuri é representada pelo epicarpo e mesocarpo, popularmente denominados de casca e sementes, respectivamente. A polpa, que corresponde ao endocarpo, é o componente que ocorre em menor proporção. Resultados obtidos em amostras de frutos de tipos com sementes, oriundos de diversas matrizes, mostraram valores médios para os rendimentos percentuais de casca, polpa e sementes variando entre 63,0 e 75,0%; entre 9,7 e 17,3%; e entre 13,0 e 26,0%, respectivamente (CARVALHO et al., 2002).

A ocorrência do bacuri sem sementes foi primeiramente assinalada por Calzavara et al. (1970), que identificou na ilha de Marajó uma planta que produzia frutos partenocárpicos, sem, no entanto, caracterizá-los, salientando, apenas, que o formato era arredondado. De ocorrência rara, estes frutos têm despertado pouco interesse no mercado por apresentar tamanho diminuto e, conseqüentemente, reduzida quantidade de polpa (CARVALHO et al., 2002, 2003).

O bacuri é comercializado nas CEASAs e feiras-livres de Belém (PA), São Luís (MA) e Teresina (PI), e não tem sido suficiente para atender à demanda crescente do mercado consumidor dessas capitais. Na forma de polpa congelada, a comercialização é feita, principalmente, nas grandes redes de supermercados dessas capitais a preços superiores aos de outras frutas tropicais, como o cupuaçu, o taperebá, a goiaba e a graviola, por exemplo. Portanto, a médio ou a longo prazo, essa espécie pode estabelecer-se como uma nova e excelente alternativa para os mercados interno e externo de frutas ditas exóticas (SOUZA et al., 2001).

O Estado do Pará é seu maior produtor e principal consumidor. Estimativas indicam que somente na capital do Estado, são comercializados, anualmente, sete milhões de frutos, num valor total de US\$ 1,61 milhão (CARVALHO et al., 2002).

Por apresentar polpa doce e muito agradável, o bacuri é um fruto com grande aceitação, podendo ser consumido *in natura* ou aproveitado pelas indústrias alimentícias e pela culinária local. Na indústria, a polpa é utilizada na fabricação de refresco, néctar, geléia, doce em pasta, compota, licor, iogurte, sorvete, picolé, bombom e, até mesmo, de uma cerveja com sabor da fruta. Na culinária doméstica, o bacuri tem larga aplicação, sendo utilizado na elaboração de cremes, pudins, recheio de bolos, biscoitos e outras iguarias. Em algumas dessas formas de consumo, a casca do fruto, pré-cozida, é usada como ingrediente. Cada quilograma de polpa é suficiente para a elaboração de cinco litros de refresco (SHANLEY, 1998; BACURIZEIRO, 2004).

Além de apresentar qualidades organolépticas favoráveis ao seu consumo, a polpa do bacuri possui características nutricionais importantes, como valor energético de 105 kcal/100g. do produto, na sua maior parte determinado pelos açúcares presentes, pois os teores de lipídios e, particularmente, de proteínas, são baixos. Dentro dos açúcares totais, a participação relativa da sacarose é de 1,12%, e da glicose e frutose, de 13,15 e 16,15%, respectivamente, além de ser um alimento rico em potássio, fósforo e cálcio e com razoável teor de ferro. Diversas vitaminas estão presentes no bacuri, todas, porém, em concentrações baixas (BACURIZEIRO, 2004).

1.2. CONTAMINAÇÃO E DETERIORAÇÃO DE ALIMENTOS POR MICROORGANISMOS

Os microorganismos estão intimamente associados com a disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para consumo humano. Alimentos são facilmente contaminados com microorganismos na natureza, durante manipulação e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para o crescimento dos microorganismos, que podem mudar as características químicas e físicas do produto, alterando suas características organolépticas, resultando em sua deterioração. Os microorganismos também podem representar um risco à saúde, por serem responsáveis por

intoxicações e infecções transmitidas por alimentos, cuja intensidade vai depender de uma série de fatores relacionados ao alimento, ao microorganismo patogênico em questão e ao indivíduo a ser afetado (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os microorganismos de interesse em alimentos compreendem bactérias, vírus, bolores, leveduras e parasitos intestinais. Estes agentes podem chegar até o alimento por inúmeras vias, sempre refletindo as precárias condições higiênico-sanitárias durante a produção, armazenamento, distribuição ou manuseio em nível doméstico (HAZELWOOD & McLEAN, 1994; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os principais veículos de contaminação alimentar podem ser classificados como diretos ou indiretos, a partir de diferentes fontes, como a falta de asseio durante a manipulação, envolvendo manipulador portador de enfermidades; ambiente impróprio, como a presença de sujidades, lixo e animais nos locais e imediações da produção de alimentos; instalações deficientes e mal cuidadas, principalmente as sanitárias; matéria-prima deteriorada; utilização de água, durante o fluxograma de produção alimentar, fora dos padrões bacteriológicos, assim como equipamentos e utensílios inadequadamente higienizados (LEITÃO, 1976; FRANCO & LANDGRAF, 1996; EVANGELISTA, 2000).

1.3. FATORES QUE AFETAM O CRESCIMENTO DE MICROORGANISMOS NOS ALIMENTOS

A capacidade de sobrevivência e multiplicação dos microorganismos presentes nos alimentos depende de diversos fatores que são divididos em dois grupos: parâmetros intrínsecos, relacionados aos alimentos, e extrínsecos, relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (FRANCO & LANDGRAF, 1996; FORSYTHE, 2002).

Os fatores intrínsecos incluem: atividade de água, acidez (pH), potencial de oxidação-redução, composição química, presença de substâncias antimicrobianas naturais e interação entre microorganismos. Os fatores extrínsecos incluem a temperatura ambiental, umidade relativa do ambiente e composição gasosa do ambiente (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.3.1. Fatores intrínsecos

1.3.1.1. Atividade de água

Como todo ser vivo, nenhum microorganismo cresce em meio seco. O metabolismo e multiplicação microbiana exigem a presença de água livre, disponível nos alimentos. O parâmetro que mede a disponibilidade de água em um alimento denomina-se atividade de água (A_w) (FENNEMA, 1993; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A atividade de água de um alimento ou de uma solução pode ser definida como a relação entre a pressão parcial de vapor da água contida na solução ou no alimento (P) e a pressão parcial de vapor da água pura (P_o), à mesma temperatura - $A_w = P/P_o$ (FENNEMA, 1993; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A A_w de um alimento varia de 0 a 1, porém, considerando que a A_w da água pura é igual a 1 e que em estas condições não há multiplicação microbiana, o limite máximo para o crescimento dos microorganismos é menor que 1 (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Cada espécie de organismo tem uma exigência mínima e máxima, em teor de água no meio, sendo que fora desta faixa tem seu metabolismo alterado. A maioria dos microorganismos necessita de valores de A_w elevados. Em geral, bactérias requerem A_w mais alta que os bolores e leveduras. Os bolores necessitam para o seu crescimento de valores menores de A_w do que as leveduras (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

O crescimento dos microorganismos frente à A_w é extremamente variável nos alimentos. A maioria das bactérias deteriorantes não se multiplica em A_w inferior a 0,91. Enquanto isso, os fungos deteriorantes podem fazê-lo em A_w de 0,80 (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

As frutas apresentam uma A_w superior a 0,97, valor que permite a multiplicação de microorganismos importantes, como as bactérias Gram-negativas, entre as quais as *Salmonellas* e a *Escherichia coli*, além dos bolores e leveduras (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.3.1.2. Acidez (pH)

O pH é a medida de acidez ou alcalinidade de uma substância. Alguns alimentos caracterizam-se por sua acidez intrínseca, outros devem sua acidez à atividade de determinados microorganismos, que recebe o nome de acidez biológica. Ambas são capazes de influenciar a sobrevivência, o crescimento ou a destruição de microorganismos (JAY, 1994).

Ainda que o crescimento microbiano seja possível numa faixa ampla de pH, a maior parte dos microorganismos tem seu ponto ótimo de crescimento próximo da normalidade, entre 6,5 a 7,5. Alguns deles desenvolvem-se em pH ácido (<4,5), como as bactérias lácticas - provavelmente pela inibição da microbiota de competição - os bolores e as leveduras (JAY, 1994; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

De acordo com Franco e Landgraf (1996), é possível avaliar o potencial e a provável natureza do processo de deterioração dos alimentos com base nos valores do pH e subdividi-los em três grandes grupos:

- Alimentos de baixa acidez (pH superior a 4,5) – mais sujeitos à multiplicação de espécies patogênicas e deteriorantes;
- Alimentos ácidos (pH entre 4,0 e 4,5) – mais propícios ao crescimento de bactérias lácticas, de algumas espécies de *Bacillus* e de bolores e leveduras;
- Alimentos muito ácidos (pH inferior a 4,0) – favoráveis ao desenvolvimento de bolores e leveduras.

As polpas de frutas podem ser consideradas alimentos ácidos, de vez que seu pH se situa entre 4,0 e 4,5. De acordo com BUENO et al. (2002), a polpa de cupuaçu tem um pH de 3,33 e CARVALHO et al. (2003) expressaram como de 3,34 o valor médio do pH das polpas de bacuri. Nesta faixa de pH a microbiota capaz de se desenvolver no produto e deteriorá-lo está, normalmente, restrita a bactérias lácticas e algumas esporuladas, além de bolores e leveduras (HOFFMANN et al., 1997).

A maioria dos alimentos de baixo pH deve sua acidez à presença de ácidos orgânicos, produtos intermediários do metabolismo respiratório dos frutos e importantes condicionadores do sabor e do odor (OLIVEIRA et al., 1999; GERMANO & GERMANO, 2001).

Estes ácidos também apresentam atividade antimicrobiana, uma vez que a maior parte dos microorganismos se desenvolve numa faixa muito estreita de pH. Entre os ácidos orgânicos presentes nos alimentos podemos citar o ácido cítrico, presente em grande parte dos alimentos, entre eles as frutas (FRANCO & LANDGRAF, 2003; SANTOS et al., 2004).

1.3.1.3. Potencial de oxi-redução

O potencial de oxidação e redução (Eh) pode ser definido como sendo a facilidade com que determinado substrato ganha ou perde elétrons. Quando um elemento perde elétrons ele é dito oxidado, e quando ganha elétrons, reduzido. Está intimamente relacionado com a tensão de oxigênio no alimento. Quanto maior for a oxidação do substrato, mais positivo será seu potencial elétrico e, quanto maior for a redução, mais negativo será o seu potencial (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

De acordo com Franco e Landgraf (2003), microorganismos aeróbios requerem valores de Eh positivos para multiplicação, como a maioria dos bolores, algumas leveduras e determinadas bactérias.

Microorganismos anaeróbios requerem valores de Eh menores. Neste grupo estão incluídas algumas bactérias patogênicas e deteriorantes (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

Algumas bactérias aeróbias apresentam uma multiplicação favorável em condições reduzidas e, por isso, são denominadas bactérias microaerófilas. Lactobacilos estão incluídos nesse grupo (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

As bactérias que se multiplicam igualmente bem, tanto em condições anaeróbias quanto anaeróbias, são denominadas anaeróbias facultativas. Bactérias da família *Enterobacteriaceae* estão incluídas neste grupo (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

1.3.1.4. Composição química

Segundo Franco e Landgraf (1996), para que a multiplicação dos microrganismos seja possível é necessário que o alimento forneça substratos importantes para o seu desenvolvimento. São eles: água, fonte de energia, fontes de nitrogênio, vitaminas e sais minerais.

As fontes de energia que os microrganismos podem utilizar são os açúcares, álcoois e aminoácidos. Alguns microrganismos são capazes de utilizar açúcares complexos, como o amido e a celulose, por decompô-los a açúcares simples. Os lipídios também podem ser utilizados como fonte energética, porém são metabolizados por um número reduzido dos microrganismos presentes nos alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Como fonte de nitrogênio utilizada pelos microrganismos, as mais importantes são os aminoácidos. Uma grande variedade de compostos nitrogenados também pode ser utilizada pelos microrganismos, como os nucleotídeos, os peptídeos e as proteínas complexas (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

As vitaminas são importantes para o crescimento dos microorganismos por serem componentes de diversas coenzimas envolvidas em suas reações metabólicas. Entre as vitaminas, as mais exigidas são as do complexo B (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Em relação aos sais minerais, os microorganismos precisam de uma quantidade muito reduzida, porém indispensável para a sua multiplicação, pois estão envolvidas em várias reações enzimáticas. Cálcio, sódio, fósforo, magnésio, ferro, cobre, manganês, zinco e enxofre, são alguns dos minerais importantes para os microorganismos (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.3.1.5. Presença de substâncias antimicrobianas naturais

Pode-se dizer que a estabilidade de alguns alimentos face à invasão dos microorganismos é devida a presença de certas substâncias naturais que apresentam a capacidade de retardar ou impedir a multiplicação microbiana (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Entre as substâncias presentes naturalmente nos alimentos podemos citar: eugenol no cravo, alicina no alho, aldeído cinâmico e eugenol na canela, timol e isotimol no orégano, lisozima na clara de ovo, alil-isotiocianato na mostarda e a lactoferrina no leite. As frutas contêm ácidos orgânicos e óleos essenciais importantes na inibição da multiplicação bacteriana (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Entre outros fatores antimicrobianos naturais podemos incluir as estruturas biológicas que funcionam como barreiras mecânicas para a penetração dos microorganismos, como as cascas dos frutos e dos ovos, a pele dos animais e a película que envolve as sementes (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CORRÊA & GRADIM; 2004).

Além dos fatores antimicrobianos naturais, há um recurso tecnológico que é adicionado intencionalmente nos alimentos, conservadores químicos, para aumentar a sua vida útil (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.3.1.6. Interação entre microorganismos

De acordo com Franco e Landgraf (1996), microorganismos presentes nos alimentos, ao se multiplicarem, podem produzir metabólitos que pode favorecer ou afetar a capacidade de sobrevivência e de multiplicação de outros microorganismos presentes nesse alimento. Por exemplo, a produção de ácido lático, que é de responsabilidade das bactérias lácticas, pode alterar o pH do alimento que inibe o crescimento de muitos outros microorganismos por não tolerarem o meio ácido.

1.3.2. Fatores extrínsecos

1.3.2.1. Temperatura

A temperatura é o fator ambiental mais importante que afeta o desenvolvimento dos microorganismos. O crescimento microbiano é possível entre -8 até $+90^{\circ}\text{C}$, porém, a temperatura que permite o desenvolvimento de um determinado microorganismo raramente excede os -35°C (FENNEMA, 1993).

Segundo Franco e Landgraf (1996), é possível classificar os microorganismos em quatro grupos, de acordo com a necessidade de crescimento em determinada temperatura:

- Microorganismos psicrófilos: todos aqueles que têm a capacidade de se desenvolver entre 0 e 20°C , com uma temperatura ótima de crescimento entre 10 e 15°C ;
- Microorganismos psicrotróficos: os que são capazes de se desenvolver entre 0 e 7°C ;

- Microorganismos mesófilos: que têm sua temperatura ótima de multiplicação entre 25 e 40°C, temperatura mínima entre 5 e 25°C, e máxima entre 40 e 50°C. Este grupo corresponde à grande maioria dos microrganismos de importância em alimentos e a maior parte dos patógenos de interesse;
- Microorganismos termófilos: que têm a temperatura ótima de multiplicação entre 45 e 65°C, mínima entre os 35 e 45°C, e máxima entre 60 e 90°C. Neste grupo estão incluídas várias espécies patogênicas, como o *Clostridium botulinum*, e várias espécies deterioradoras, como o *Bacillus coagulans*.

1.3.2.2. Umidade relativa do ambiente (URE)

Há uma relação entre atividade de água (A_w) de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio do ambiente. Quando o alimento está em equilíbrio com a atmosfera, a umidade relativa é igual a cem vezes a atividade hídrica. Com isto, podemos observar que alimentos conservados em ambientes com umidade relativa superior à sua A_w tenderão a absorver umidade do ambiente, com conseqüente aumento de sua A_w . Por outro lado, os alimentos perderão água se a umidade ambiental for inferior à sua A_w , com diminuição desse valor. Essas alterações provocarão modificações na capacidade de multiplicação dos microorganismos presentes, que serão determinadas pela A_w final (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.3.2.3. Composição gasosa do ambiente

Na determinação dos tipos de microorganismos que podem predominar no alimento, utiliza-se a composição gasosa do ambiente. A presença de oxigênio estabelecerá a multiplicação de microorganismos aeróbios, enquanto que sua ausência beneficiará a predominância de anaeróbios, embora haja bastante variação na sensibilidade destes últimos ao oxigênio (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

1.4. MICROORGANISMOS INDICADORES DO ESTADO HIGIÊNICO-SANITÁRIO DOS ALIMENTOS

Microorganismos indicadores são espécies ou grupos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, ou sobre a provável presença de patógenos ou, ainda, sobre a deterioração potencial do alimento, além de indicar condições sanitárias inadequadas durante o seu processamento, produção ou armazenamento (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Segundo Franco e Landgraf (1996), um microorganismo indicador deve apresentar alguns critérios pré-definidos, como:

- “deve ser de rápida e fácil detecção;
- deve ser facilmente distinguível de outros microorganismos da microbiota do alimento;
- não deve estar presente como contaminante natural do alimento, pois assim sua detecção não indicará, necessariamente, a presença de matéria fecal ou de patógenos;
- deve estar sempre presente quando o patógeno associado estiver;
- seu número deve correlacionar-se com o do patógeno;
- deve apresentar características e taxas de crescimento semelhantes às do patógeno;
- deve estar ausente nos alimentos que estão livres do patógeno, ou estar presente em quantidades mínimas.”

Em geral, os indicadores são específicos para cada alimento e nem sempre todas essas características são observadas.

1.4.1. Indicadores gerais das condições higiênicas

Neste grupo estão incluídos os microorganismos cuja presença, em maior ou menor número, é indicativa das condições higiênicas do produto e do processamento utilizado.

A presença de bolores e leveduras viáveis e em índice elevado nos alimentos pode fornecer várias informações, tais como indicar matérias-primas excessivamente contaminadas, condições higiênicas deficientes dos utensílios e equipamentos, e falha no processamento e/ou estocagem, além de tornar-se um perigo à saúde pública devido à produção de micotoxinas. Em alimentos *in natura* e congelados a contagem destes microorganismos é, normalmente, baixa, insignificante. Somente quando o seu crescimento for visível e expressivo é que a deterioração alimentar será evidente (SIQUEIRA, 1995; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A contagem de bactérias mesófilas é importante para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, mesmo que patógenos estejam ausentes e que o produto não apresente alterações organolépticas, pois o número elevado deste grupo de microorganismos torna o alimento insalubre. A contagem destes microorganismos tem grande importância, pois quando a contagem desse grupo de bactérias em alimentos não perecíveis for elevada, é indicativa do uso de matéria-prima contaminada ou processamento insatisfatório sob o ponto de vista sanitário; mesmo porque todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Portanto, uma alta contagem de mesófilos, que crescem à mesma temperatura da do corpo humano, significa que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

O grupo dos coliformes totais inclui as bactérias em forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicas, aeróbias ou anaeróbias facultativas, capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. O grupo está constituído por vários gêneros da família Enterobacteriaceae: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Escherichia* (FRANCO & LANDGRAF, 1996; SILVA et al., 1997).

Apesar de todos esses gêneros serem freqüentemente encontrados em matérias fecais, sabe-se, entretanto, que três gêneros, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* incluem cepas de origem não fecal. Por essa razão, sua presença em alimentos não pode ser, necessariamente, considerada indicativa de contaminação fecal. No entanto, sua presença em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo (principalmente no caso de pasteurização), evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos (SILVA et al., 1997).

1.4.2. Indicadores das condições higiênico-sanitárias

Os principais indicadores de condições higiênico-sanitárias de alimentos são os coliformes fecais. As bactérias pertencentes a este grupo correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5-45,5°C. Nestas condições, ao redor de 90% das culturas de *Escherichia coli* são positivas, enquanto entre os demais gêneros, apenas algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* mantêm essa característica. Este fato compromete a especificidade deste grupo como indicador de contaminação fecal. Por isso, muitos pesquisadores questionam a utilização deste indicador (FRANCO & LANDGRAF, 1996; SILVA et al., 1997).

O índice de coliformes fecais é empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias, visto presumir-se que a população deste grupo é constituída de uma alta proporção de *E. coli*, responsável por gastroenterites, principalmente em crianças, tendo a diarreia como o principal sintoma (FRANCO & LANDGRAF, 1996; SILVA et al., 1997).

Dentre as bactérias de hábitat reconhecidamente fecal, e dentro do grupo dos coliformes fecais, a *E. coli* é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não fecais. Todos os demais membros do grupo têm uma associação duvidosa com a

contaminação fecal e a *E. coli*, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA et al., 1997).

Sua presença em alimentos crus é considerada um indicador de contaminação direta ou indireta. A contaminação fecal direta ocorre durante o processamento de matéria-prima, e devido à falta de higiene pessoal dos manipuladores. A contaminação indireta pode ocorrer através de águas poluídas e de esgotos. Em alimentos processados pelo calor sua presença é vista com grande preocupação (RAY, 1996).

1.4.3. Indicadores de risco

Neste grupo estão incluídas bactérias de grande importância em saúde pública, visto serem microorganismos que produzem e liberam toxinas nos alimentos ou que causam infecção quando ingeridos. As bactérias patogênicas de ocorrência mais frequentes nos alimentos são: *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia coli* invasora, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, entre outras (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

- *Salmonella* sp.

As bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família Enterobacteriaceae, são bacilos Gram-negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos, que fermentam a glicose com produção de gás (exceto a *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum* (PARDI, 1993; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

O pH ótimo para o crescimento dessa bactéria é de aproximadamente 7,0, e valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são tidos como bactericidas. A temperatura ideal é de 35 a 37°C, embora possa também se desenvolver numa temperatura mínima de 5°C e máxima de 47°C, cuja variação depende do sorotipo implicado (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A classificação e a nomenclatura das salmonelas sofreram várias modificações nos últimos anos. Atualmente a classificação é baseada em características bioquímicas, dividindo o gênero *Salmonella* em duas espécies, *Salmonella enterica*, subdividida em seis subespécies (*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica salamae*, *S. enterica arizonae*, *S. enterica diarizonae*, *S. enterica houtenae* e *S. enterica indica*), e *Salmonella bongori*. Esta classificação apresenta pouca importância prática em Medicina e Epidemiologia. Por esta razão, na prática utiliza-se o modelo proposto por Kauffmann & White, que divide o gênero em tipos sorológicos (sorotipos ou sorovares) baseado na identificação sorológica dos antígenos de superfície O (somático), Vi (capsular) e H (flagelar) (CAMPOS, 1999; BRENNER et al., 2000; FUKUSHIMA et al., 2002; MURRAY et al., 2004; TAVECHIO et al., 2004).

De acordo com Brenner et al. (2000), existem 2.463 sorotipos de *Salmonella*, dos quais 1.454 pertencem à subespécie *S. enterica enterica*, sendo identificados bioquímica e sorologicamente.

As salmonelas são amplamente distribuídas, sendo o trato intestinal do homem e de animais o principal reservatório natural. Por exemplo, o homem é o único reservatório natural de *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi* A, B e C. Outros sorotipos são adaptados a determinada espécie animal, como a *Salmonella gallinarum* nas aves, enquanto outros podem infectar tanto homens como animais, como é o caso da *Salmonella typhimurium*, e que são os maiores responsáveis pelas infecções de origem alimentar (CAMPOS, 1999).

As infecções alimentares são na grande maioria causadas por *Salmonella*. De acordo com Hazelwood e McLean (1994), as salmonelas são responsáveis por cerca de 70% dos casos registrados de intoxicação alimentar, causando cerca de 20 a 40 casos fatais anualmente, por consumo de alimentos contaminados pela bactéria. Somente nos Estados Unidos a cada ano são registrados, aproximadamente, 1,5 milhão de casos de salmonelose, com mais de 15 mil hospitalizações e 500 óbitos. Mesmo não sendo uma doença de notificação compulsória, a

incidência vem crescendo nos últimos anos. Prováveis fatores que influenciam este aumento seriam mudanças nas práticas agrônômicas, nos hábitos alimentares e aumento das importações de alimentos frescos (EVANGELISTA, 2000; XUAN GUO et al., 2001; TAVECHIO et al., 2004).

A contaminação de alimentos ocorre pela falta de controle da temperatura e de práticas de manipulação adequadas ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados. Os alimentos mais vulneráveis ao crescimento da *Salmonella* são os de origem animal como os produtos cárneos, os laticínios e seus derivados e os ovos. O microorganismo se multiplica no alimento até atingir a dose infecciosa (EVANGELISTA, 2000; XUAN GUO et al., 2001; FORSYTHE, 2002; MURRAY et al., 2004).

A patogenicidade das salmonelas varia de acordo com o tipo sorológico do agente e com a idade e as condições de saúde do hospedeiro. A *Salmonella typhi* é o agente da febre tifóide, normalmente transmitida por água e alimentos contaminados com material fecal humano. Os sintomas são muito graves e incluem, febre alta, diarreia, vômitos e septicemia, podendo produzir, ainda, danos respiratórios, hepáticos, esplênicos ou neurológicos. Por ser um microorganismo altamente patogênico, de risco direto e grave, sua presença torna-se inaceitável nos alimentos. Um total de 375 casos de infecção por *Salmonella typhi* foi relatado nos Estados Unidos em 1998, a maioria adquirida durante viagens. Estima-se que 16 milhões de casos ocorram anualmente em todo o mundo (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 1999; MURRAY et al., 2004).

As salmonelas paratíficas (A, B, e C) causam as febres entéricas, infecções semelhantes à da febre tifóide, mas os sintomas clínicos são mais brandos. Estas doenças também podem ser contraídas pelo consumo de água e alimentos contaminados, especialmente leites, vegetais crus e ovos (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 1999).

Os demais sorotipos de *Salmonella* causam no adulto normal apenas uma enterocolite que evolui sem complicações e desaparece dentro de uma semana ou menos. Nas crianças pequenas, particularmente recém-nascidas, ou em portadores de certos tipos de patologias, a salmonelose pode se agravar, pois freqüentemente a bactéria invade a circulação provocando infecção em outros órgãos (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 1999).

Após a recuperação de uma infecção por *Salmonella*, alguns pacientes permanecem assintomáticos, eliminando a bactéria nas fezes, por semanas, meses ou até mesmo anos (portadores crônicos). Estes portadores são importantes reservatórios da bactéria, contribuindo para a sua disseminação. Por esta razão, manipuladores de alimentos devem ser monitorados, periodicamente, por cultura de fezes, evitando assim, a ocorrência de surtos da doença (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 1999).

As infecções por *Salmonella* têm início na mucosa intestinal. Quando há enterocolite, sem invasão da circulação sanguínea, as salmonelas atravessam a camada epitelial, em um processo conhecido como transcitose, até alcançar a lâmina própria, onde proliferam. Estas bactérias são fagocitadas pelos monócitos e macrófagos, resultando em resposta inflamatória, decorrente da hiperatividade do sistema reticuloendotelial. Nas infecções sistêmicas, a bactéria atinge os linfonodos mesentéricos, sua multiplicação continua no fígado e no baço e, a partir daí, pode atingir outros órgãos através da corrente sanguínea (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 1999).

O diagnóstico das infecções por *Salmonella* é realizado pelo isolamento e identificação da bactéria. O material clínico a ser examinado vai depender do local da infecção: as fezes, no caso das enterocolites; o sangue, nas septicemias; o líquido, nas meningites, etc. A identificação da *Salmonella* é realizada por meio de provas bioquímicas e sorológicas, estas últimas mediante anti-soros para identificação de sorotipos, principalmente os de maior importância, como os da *Salmonella typhi* e *S. paratyphi* (A, B e C) e *S.*

typhimurium, este o mais freqüente nas infecções intestinais. A grande maioria das infecções é causada por um pequeno número de sorotipos de *Salmonella*. Em termos mundiais, 95% das salmonelas isoladas do homem e de várias outras fontes animais pertencem aos sorogrupos B (47,1%), C1 (13,3%), C2 (7,1%), D1 (23,7%) e E1 (4,4%) (CAMPOS, 1999).

A prevenção das enterocolites por *Salmonella* é baseada em uma manipulação e processamento adequados dos alimentos, principalmente naqueles mais vulneráveis à bactéria, como os produtos cárneos, leite, ovos e vegetais crus (CAMPOS, 1999).

1.4.4. Parasitoses intestinais

As parasitoses intestinais constituem grave problema de saúde pública, sobretudo nos países do Terceiro Mundo. Representam um dos principais fatores debilitantes da população, associando-se freqüentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição que comprometem o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente nas faixas etárias mais jovens da população (LUDWIG et al., 1999).

As parasitoses intestinais no Brasil vêm crescendo, significativamente, devido à falta de saneamento básico, a hábitos higiênicos precários e ao baixo nível sócio-econômico da população. A esses fatores, soma-se o consumo de frutas e hortaliças irrigadas e tratadas com água contaminada (TAVARES-DIAS & GRANDINI, 1999).

Os parasitos intestinais de maior interesse para a microbiologia alimentar são os protozoários *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica* que, embora não se multipliquem nos alimentos, são capazes de sobreviver sob a forma cística. Além disso, já um pequeno número de cistos é suficiente para determinar a infecção humana (GERMANO & GERMANO, 2001; CÉSAR, 2002).

A erradicação desses parasitas requer melhorias das condições sócio-econômicas, no saneamento básico e na educação sanitária, além de mudanças de certos hábitos culturais (TAVARES-DIAS & GRANDINI, 1999).

- *Entamoeba histolytica* / *E. dispar*

A *E. histolytica* é o agente etiológico da amebíase, importante problema de saúde pública que leva ao óbito cerca de cem mil pessoas ao ano, constituindo a segunda causa de mortalidade depois da malária, dentre as parasitoses humanas (SILVA & GOMES, 1999).

Em 1825, Brumpt, procurando explicar as elevadas percentagens de portadores assintomáticos da doença, sugeriu a existência de outra espécie de ameba, a *E. dispar*. Anos de estudos do perfil enzimático, imunológico e genético revelaram diferenças entre ambos os parasitos provenientes de indivíduos assintomáticos e sintomáticos. Com isso, em 1977, a Organização Mundial da Saúde/OMS, assumiu a *E. dispar* como espécie responsável pela maioria das infecções assintomáticas atribuídas à *E. histolytica* (SILVA & GOMES, 1999).

Atualmente, mesmo com esse ressurgimento da *E. dispar*, a amebíase continua definida como infecção sintomática ou assintomática causada pela *E. histolytica* (SILVA & GOMES, 1999).

A amebíase é uma doença de distribuição geográfica mundial, com predominância nas regiões tropicais e subtropicais, relacionadas a precárias condições de higiene, educação sanitária e sócio-econômica das populações. Estima-se que 10% da população mundial esteja infectada com a *E. histolytica* (AQUINO, 1999; GERMANO & GERMANO, 2001).

No Brasil, segundo levantamentos efetuados em diversas regiões, a prevalência de *E. histolytica* varia de 2 a 50%, sendo alta em algumas cidades, como Manaus, Belém, João Pessoa e Porto Alegre (AQUINO, 1999).

O mecanismo de transmissão da doença é através de alimentos, como frutas, verduras e água, contaminados com a forma cística do parasito. A transmissão direta de *E. histolytica* de pessoa a pessoa é muito freqüente em locais onde as condições de higiene são precárias. Os “portadores assintomáticos” que manipulam alimentos são os principais disseminadores dessa protozoose (AQUINO, 1999; SILVA & GOMES, 1999).

A amebíase é uma doença infecciosa, de natureza primariamente intestinal, caracterizada pelo surgimento de lesões inflamatórias e ulcerativas no intestino grosso, levando a quadros de disenteria, colite e enterocolite amebiana (SILVA & GOMES, 1999).

Alguns fatores estão envolvidos na ação patogênica dos parasitos, no processo de invasão da parede intestinal, como os ligados ao hospedeiro (estado nutricional, resposta imune, dieta, alcoolismo, infecções concomitantes por *Salmonella*, *Escherichia coli* e outras, capazes de potencializar a virulência de cepas de *E. histolytica*); e os ligados ao meio onde vivem (condições climáticas, por exemplo), e os relacionados ao próprio parasito, como os fatores de adesão às células epiteliais do intestino, como as lecitinas contidas na superfície das amebas. Estes fatores modificam o comportamento do parasito, tornando-o mais virulento e facilitando sua penetração nos vasos sanguíneos. Através da circulação porta, atinge o fígado e outros órgãos, determinando a forma extra-intestinal da doença (SILVA & GOMES, 1999; HAQUE et al., 2003).

Medidas que visam diminuir, consideravelmente, a prevalência da amebíase estão intimamente ligadas à educação sanitária, melhoria das condições sócio-econômicas e culturais da população, ampliação da rede de esgoto e de água tratada, e tratamento dos doentes e portadores assintomáticos. Estes últimos são os responsáveis pela disseminação da *E. histolytica*. Portanto, seria de grande valia o exame freqüente dos manipuladores de alimentos. Outra medida de controle possível e eficaz é evitar a ingestão de cistos viáveis, procurando lavar bem e tratar todos os alimentos crus (SILVA & GOMES, 1999).

- *Giardia lamblia*

A *Giardia lamblia* é o agente etiológico da giardíase, que constitui, igualmente, importante problema de saúde pública. Esta protozoose é, frequentemente, adquirida por intermédio de alimentos e água contaminados com a forma cística do parasito (SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

A giardíase é uma doença cosmopolita, com altas prevalências nas regiões tropicais e subtropicais, e entre pessoas de baixo nível econômico. No Brasil, a prevalência varia de 4% a 30%. É encontrada em todas as faixas etárias, principalmente entre crianças de oito meses a dez anos, podendo ser devida à falta de hábitos higiênicos nessa fase (SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

Sendo a *G. lamblia* um protozoário que habita o trato gastrintestinal superior dos indivíduos infectados, determina um amplo espectro da doença, por mecanismos não bem conhecidos, que incluem desde o estado de “portador assintomático” até pacientes sintomáticos que podem apresentar quadros de diarreia aguda, ou um quadro de diarreia crônica, persistente. As principais complicações da giardíase crônica estão associadas a esteatorréia, perda de peso e má-absorção de gorduras e, principalmente, de vitaminas lipossolúveis e vitamina B₁₂, ferro e lactose, nutrientes importantes para o ótimo crescimento e desenvolvimento da criança (ADAM, 1991; DAGNER et al., 1997; SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

Essa variabilidade sintomatológica é multifatorial e tem sido atribuída a fatores associados ao parasito (cepa, número de cistos ingeridos) e ao hospedeiro (resposta imune, estado nutricional, pH do suco gástrico, associação com a microbiota intestinal). Há evidências de que determinada cepa de *Giardia* pode apresentar maior potencial patogênico (SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

A maioria das infecções é assintomática e ocorre tanto em adultos quanto em crianças, que muitas vezes podem eliminar cistos nas fezes (forma infectante) por período de até seis meses (“portadores assintomáticos”) (SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

Assim como na amebíase, a medida de controle mais eficaz na giardíase é a melhoria das condições higiênico-sanitárias, proteção dos alimentos e tratamento da água utilizada. Além disso, é importante o tratamento precoce dos doentes e portadores assintomáticos. Estes últimos são os grandes responsáveis pela disseminação da *G. lamblia*. Por esta razão, o exame freqüente dos manipuladores de alimentos é de grande importância (SOGAYAR & GUIMARÃES, 1999).

- Helmintos intestinais

As helmintíases intestinais apresentam distribuição mundial e no Brasil assumem papel relevante, pelos elevados coeficientes de prevalência e por suas implicações clínicas e sociais. Sua presença está quase sempre associada ao baixo desenvolvimento econômico, à carência de saneamento básico e a hábitos inadequados de higiene pessoal e alimentar. As infecções helmínticas são consideradas uma das principais causas de morbidade entre escolares dos países em desenvolvimento, atingindo índices de até 90% (OLIVEIRA & GERMANO, 1992; CARVALHO et al., 2002; BELTRAMINO et al., 2003).

Dados mais recentes da OMS revelam a elevada prevalência mundial de infecções pelos denominados geo-helmintos, com um total de um bilhão de indivíduos infectados por *Ascaris lumbricoides*, 900 milhões por ancilostomídeos e 500 milhões por *Trichuris trichiura* (COURA & CARVALHO, 2001).

Geo-helmintos são os parasitos que possuem alguma fase de seu ciclo evolutivo fora do organismo do hospedeiro humano, no solo. Este se contamina com ovos e larvas provenientes da matéria fecal de indivíduos infectados, que aí amadurecem podendo atingir

novos hospedeiros por ingestão de água ou alimentos contaminados (ovos de *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*) ou através da pele (larvas de ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis*) (CHIEFFI, 2001; COURA & CARVALHO, 2001).

Outra espécie importante de helminto é o *Enterobius vermicularis*, antes denominado *Oxyurus vermicularis*, transmitido ao homem por via direta, ânus-boca, por contaminação dos dedos e das unhas, principalmente em crianças e adultos sem cuidados higiênicos, ou por via indireta, através da inalação de ovos presentes na poeira de dormitórios, colégios, habitações coletivas e roupas de cama (CIMERMAN & CIMERMAM, 2001).

Várias dessas espécies de helmintos, não somente o *Enterobius*, podem ter os seus ovos presentes no material colhido debaixo das unhas de crianças e adultos de maus hábitos de higiene. Em trabalho realizado numa escola primária dos arredores de Belo Horizonte, Sampaio (1981) (apud NEVES, 1995), ao examinar o material subungueal de 178 alunos, encontrou 19 (10,7%) positivos para os seguintes parasitos: *A. lumbricoides* (52,38%), *T. trichiura* (14,28%), *E. vermicularis* (14,28%), *S. stercoralis* (4,7%), *Entamoeba coli* (9,5%) e *E. histolytica* (4,7%). Outra pesquisa, realizada em Goiânia, em 147 escolares, os resultados foram semelhantes (NEVES, 1995). São apenas alguns exemplos da importância da higiene das mãos no que tange à manipulação de alimentos.

1.5. JUSTIFICATIVA

Em função de suas propriedades nutricionais e da diversidade de sabores e aromas agradáveis, as frutas são bastante apreciadas pelo consumidor, principalmente quando seus produtos são processados mantendo as características sensoriais do alimento *in natura*, como no caso das polpas. Estas correspondem ao produto proveniente do esmagamento das partes comestíveis de frutos carnosos, por processos tecnológicos adequados. Por constituir matéria-prima para uma multiplicidade de segmentos da indústria alimentícia, tais como sorvetes,

iogurtes, produtos lácteos, doces etc., as polpas de frutas constituem o melhor meio pelo qual as indústrias podem solucionar problemas de transporte e armazenamento de frutas *in natura*, decorrentes da perecibilidade do produto, das longas distâncias e de condições climáticas adversas.

O processamento para a obtenção de polpas deve ser realizado em observância a legislação específica (Portaria nº326/1997-ANVISA/MS), a partir de matérias primas de boa qualidade e em condições higiênico-sanitárias adequadas, depois convenientemente acondicionadas e armazenadas de modo a assegurar a preservação das características e da integridade do produto, isento de microorganismos. Estes, quando presentes, são capazes de promover quadros de diarreia crônica e desnutrição em humanos, e mesmo comprometer o desenvolvimento físico e intelectual de pacientes, particularmente nas faixas etárias mais jovens, constituindo objeto de preocupação em saúde pública.

O aumento da oferta de polpas de frutas no comércio de Belém, decorrente do incremento de sua produção caseira, oportuniza e recomenda uma avaliação das condições higiênico-sanitárias de sua comercialização.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar as condições higiênico-sanitárias de polpas congeladas de cupuaçu e bacuri comercializadas na cidade de Belém do Pará.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar, microscopicamente, a presença de materiais estranhos em polpas dessas frutas;
- Investigar a presença de *Salmonella* e o Número Mais Provável de Coliformes a 45°C nas amostras;
- Investigar a presença de parasitos intestinais - cistos de protozoários e ovos de helmintos – nas amostras.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DAS AMOSTRAS

Foram adquiridas 33 (trinta e três) amostras de polpas de cupuaçu e bacuri congeladas, sendo 22 de cupuaçu e 11 de bacuri, em 11 feiras-livres da região continental do município de Belém, capital do Estado do Pará (Feira do Ver-o-Peso, da 25, do Guamá, da Terra Firme, da Marambaia, da Cabanagem, do Barreiro, de Batista Campos, da Pedreira, da Cremação e a da Campina em Icoaraci) (Figuras 2-5). Por exigência do Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN), para as análises microscópica e microbiológicas foi realizada análise fiscal (Anexo 1), implicando a coleta de 1.500g de cada amostra (três espécimes de 500g). Um quarto espécime de 500g foi coletado para a análise parasitológica. As coletas foram realizadas no período de novembro de 2004 a abril de 2005, todas sendo feitas com a participação direta (indispensável) de técnicos da Divisão de Vigilância Sanitária da Secretaria Municipal de Saúde (SESMA) (Figura 6).



Fig. 2: Barraca de venda de polpas de frutas na feira do Ver-o-Peso.

As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, mantendo, porém, a embalagem original. Em seguida, foram transportadas sob refrigeração, em caixas de isopor, aos laboratórios.



Fig. 3: Polpas de fruta de diferentes fornecedores, tal como embaladas para comercialização.



Fig. 4: Armazenamento das polpas de frutas num ponto de venda.



Fig. 5: Armazenamento das polpas de frutas em outro ponto de venda.



Fig. 6: Um momento da coleta das amostras: preenchimento do Termo de Coleta e identificação dos sacos estéreis onde seriam acondicionadas as amostras destinadas ao Laboratório Central para análise.

3.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As análises microbiológicas e a pesquisa microscópica de sujidades e materiais estranhos foram realizadas no Setor de Microbiologia Alimentar do Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN-PA). As análises parasitológicas foram processadas no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Patologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará (DP/CCB/UFPa).

3.2.1. Análise microbiológica

O padrão microbiológico para as polpas de frutas é regulamentado pela atual legislação brasileira, Resolução RDC nº12/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA, que estabelece que devem ser realizadas análises de Coliformes a 45°C/g e *Salmonella* sp./25g. Os resultados obtidos foram comparados aos estabelecidos pela legislação, que devem obedecer aos seguintes padrões: máximo de 10^2 para as bactérias do grupo coliforme a 45°C e ausência para *Salmonella*. Segundo a resolução RDC supracitada, o produto pode estar:

- em condições sanitárias satisfatórias, quando de acordo com os padrões legais vigentes, cujos resultados analíticos forem abaixo ou iguais aos estabelecidos para a amostra indicativa;
- em condições sanitárias insatisfatórias, ou impróprios para o consumo humano, quando os resultados analíticos estiverem acima dos limites estabelecidos e/ou quando demonstrada a presença de outros microorganismos patogênicos ou toxinas que representem riscos à saúde do consumidor.

As análises microbiológicas foram estabelecidas pelo Bacterial Analytical Manual Food and Drug Administration – FDA, 1998.

3.2.1.1 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) DE COLIFORMES FECAIS (CF)

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos ou NMP, usando para a inoculação os caldos Lauril Sulfato Triptose (LST) a 35°C/24-48h. e o de *Escherichia coli* (EC) a 44,5°C/24h., respectivamente como meios presuntivo e confirmativo para os coliformes fecais (SILVA et al., 1997).

Primeiramente foram homogeneizados 25g da amostra do alimento em 225 mL de Solução Tampão (diluição a 10^{-1}). Em seguida foi transferido 1 mL desta diluição para

um tubo contendo 9 mL do diluente (diluição a 10^{-2}) e deste foi transferido 1 mL para outro tubo contendo 9 mL de diluente (diluição a 10^{-3}). Cada uma dessas diluições foi inoculada em três tubos contendo 10 mL de LST e o tubo de Durhan, incubados a $35^{\circ}\text{C}\pm 2/24-48\text{h}$. e observada a ocorrência de crescimento com produção de gás. Em caso positivo (crescimento e produção de gás), passou-se aos itens subseqüentes (SILVA et al., 1997).

Para a confirmação dos coliformes fecais foram selecionados os tubos de LST com produção de gás, sendo transferida uma alçada bem carregada de cada cultura para os tubos de caldo EC e incubados em banho-maria a $44,5^{\circ}\text{C}\pm 0,1/24\text{h}$.; observando-se o crescimento com produção de gás. Para os tubos com produção de gás, confirmativa de coliformes fecais, foi determinado o NMP/g ou mL em uma tabela de NMP adequada às diluições inoculadas (SILVA et al., 1997). A incubação dos tubos de EC deve ser sempre acompanhada de um tubo inoculado com a cepa-padrão positiva (*E. coli*) e um tubo inoculado com a cepa-padrão negativa (*E. aerogenes*).

3.2.1.2 PESQUISA DE *SALMONELLA* sp.

De acordo com SILVA et al. (1997), a metodologia empregada para detecção de *Salmonella* sp. em alimentos compreendeu as seguintes etapas:

- Pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada (APT)

Foram homogeneizados 25g de cada polpa de fruta em 225 mL de APT (10^{-1}) pH 6,8 e incubados a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$.

- Enriquecimento seletivo:

Após incubação do caldo de pré-enriquecimento, 1 mL da suspensão foi transferido para 10 mL de caldo tetracionato (TT) e 0,1 mL para 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis. Em seguida foram incubados ambos os caldos a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$.

▪ Isolamento:

Após a incubação, o isolamento foi obtido mediante a técnica de semeadura por esgotamento (estrias) de cada uma das culturas em placas de Ágar Entérico de Hectoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Incubaram-se as placas, invertidas, a 35°C/24h e verificando se houve desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella*:

- Ágar HE: colônias transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto (cepas fortemente produtoras de H₂S produzem colônias inteiramente pretas);
- Ágar XLD: colônias transparentes, cor de rosa escuro, com ou sem centro preto (cepas fortemente produtoras de H₂S podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante, ou mesmo inteiramente pretas).

▪ Triagem das colônias:

As colônias típicas de *Salmonella* foram repicadas para os meios de triagem, Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA), sendo posteriormente incubadas a 35°C/24h.

O comportamento bioquímico típico de *Salmonella* nas reações de TSI e LIA é assim caracterizado:

- TSI: superfície alcalina (vermelha) e base ácida (amarelo), com ou sem produção de H₂S (escurecimento do ágar);
- LIA: reação alcalina (púrpura, sem alteração da cor do meio) em todo o meio, com ou sem produção de H₂S (escurecimento do meio).

▪ Caracterização bioquímica e sorológica:

Das culturas selecionadas através das reações de TSI e LIA foram realizados os testes bioquímicos. A partir do tubo de TSI, repicou-se nos seguintes meios:

- Caldo Uréia de Christensen. Incubou-se a 35°C/24h e observou-se a viragem alcalina do indicador, com alteração da cor do meio, do pêssego para cor de rosa escuro (teste positivo), ou permanência do meio na cor original (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* são urease-negativas;
- Caldo vermelho de fenol suplementado com 0,5% de dulcitol. Incubou-se a 35°C/48h, com a tampa ligeiramente afrouxada, e observou a ocorrência de viragem ácida do indicador, alterando a cor do meio, de avermelhada para amarela (teste positivo). Viragem alcalina do indicador de avermelhada para rosa escuro. A não alteração da cor do meio indica teste negativo. A maioria das cepas de *Salmonella* fermenta o dulcitol;
- Caldo indol. Adicionaram-se 0,2 a 0,3 mL do reagente de Kovacs para cada 4,0 a 5,0 mL de cultura em Caldo Triptona e agitou-se levemente. Observou o desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo), ou se o anel permanecia amarelado, da cor do reagente de Kovacs (teste negativo). As cepas de *Salmonella* são indol-negativas;
- Caldo malonato. Incubou-se a 35°C/48h e observou-se a viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio, do verde para o azul (teste positivo) ou a permanência inalterada da cor verde do meio (teste negativo). A maioria das cepas de *Salmonella* são malonato-negativas.

Para as culturas que apresentaram provas bioquímicas características para *Salmonella*, foram realizados testes sorológicos utilizando soros polivalentes somático (O) e flagelar (H).

Teste sorológico somático polivalente: Foram marcados dois quadrados de aproximadamente 2,0 cm², em uma lâmina de vidro. A partir da cultura de 24 horas em TSI, foi transferida uma alçada para cada um dos quadrados demarcados. Adicionou-se uma gota

de solução salina fisiológica estéril a cada um dos quadrados e emulsificou bem a cultura. Sobre um dos quadrados foi adicionado uma gota de anti-soro polivalente anti-*Salmonella* e posteriormente emulsionado. Observou-se a ocorrência de aglutinação no quadrado com o anti-soro.

Teste sorológico flagelar polivalente: Foi transferida uma alçada da cultura em TSI para um tubo com 5,0 mL de Caldo Trypticase de Soja (TSB) e incubou-se a 35°C/24h. Em seguida adicionaram-se 2,5 mL de Solução Salina Formalinizada (Formalina), para a obtenção do antígeno flagelar a ser detectado no teste. Foram transferidos para um tubo 0,5 mL da cultura formalinizada (antígeno) e 0,5 mL de anti-soro flagelar polivalente contra *Salmonella* (anticorpos). Preparou-se um tubo controle negativo, com 0,5 mL do antígeno (cultura formalinizada) e 0,5 mL de formalina e um tubo controle positivo, com 0,5 mL de uma cultura padrão de *Salmonella*, formalinizada em TSB e 0,5 mL do antígeno. Agitaram-se vigorosamente, os tubos, incubando-as a 50°C/1h, em banho. A ocorrência de floculação no tubo-teste e tubo controle positivo indica teste positivo.

3.2.2. Análise microscópica

De acordo com INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1999 apud CÉSAR, 2002) foram pesados 50g de cada amostra em um béquer de 400 mL e homogeneizados com 200 mL de água destilada. Em seguida, o conteúdo homogeneizado foi filtrado em papel filtro, a vácuo. A amostra contida no papel filtro era transferida para um recipiente para ser analisada. Com o auxílio de uma lupa, os fragmentos de materiais estranhos seriam detectados e posteriormente levados ao microscópio óptico para identificação.

De acordo com a Instrução Normativa nº1/2000 do Ministério da Agricultura e Abastecimento, o padrão de Identidade e Qualidade, no que se refere à microscopia para polpas de frutas não permite a presença de terra, sujidade, parasitos, fragmentos de insetos e pedaços das partes não comestíveis da fruta e da planta.

3.2.3. Análise parasitológica

A pesquisa de parasitos intestinais foi processada pelo método de Faust, ou da centrífugo-flutuação em sulfato de zinco, para identificação de cistos de protozoários (*E. histolytica*, *E. dispar* e *G. lamblia*) e de ovos leves de helmintos (*Enterobius*, *Ascaris*, *Trichuris* e ancilostomídeos) (Anexo 2), com ligeiras modificações de modo a adaptá-lo ao tipo de material a examinar: menor número de lavagens e menor velocidade de centrifugação. Como segue:

De acordo com INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1999 apud CÉSAR, 20002), cada amostra, de aproximadamente 10 g, foi lavada em recipiente com 20 mL de água destilada, filtrada através de gaze dobrada para um copo plástico e transferida para um tubo de ensaio. Em seguida, eram centrifugados cerca de 10 mL da diluição, por 1 minuto/2000 r.p.m. O sedimento foi lavado duas vezes, até que o líquido sobrenadante ficasse claro, e após a última decantação adicionavam-se 10 mL de sulfato de zinco a 33%, agitando-o e centrifugando-o novamente por 1 minuto/2000 r.p.m. Os cistos e ovos presentes eram colhidos com auxílio de uma alça de platina da superfície do sobrenadante, colocados sobre uma lâmina de microscopia, juntamente com uma gota de lugol, cobrindo-os com uma lamínula para ser levado à observação ao microscópio óptico.

3.2.4. Análise de pH e acidez em ácido cítrico

A determinação do pH e da acidez em ácido cítrico foi determinada como descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), segundo os métodos 4.72 e 4.71, respectivamente.

RESULTADOS

A análise microscópica não constatou a presença de materiais estranhos, como terra, sujidade, fragmentos de insetos e pedaços das partes não comestíveis da fruta nas polpas submetidas. O produto estava, portanto, de acordo com a legislação vigente (Tabela 1).

TABELA 1 – Resultado da análise microscópica de polpas de cupuaçu e bacuri comercializadas em feiras-livres da cidade de Belém, novembro de 2004 a abril de 2005.

POLPAS	Nº DE AMOSTRAS	MATERIAL ESTRANHO
Cupuaçu	22	Ausência
Bacuri	11	Ausência

Os resultados das análises microbiológicas e parasitológica estão contidos na Tabela 2. Das 33 amostras de polpas de frutas analisadas, 22 foram de cupuaçu (67%) e 11 de bacuri (33%), todas apresentando condições sanitárias satisfatórias, portanto adequadas para o consumo, de acordo com os padrões legais vigentes.

Os resultados das análises do pH e da acidez em ácido cítrico estão contidos na Tabela 3.

TABELA 2 - Resultados da análise microbiológica e parasitológica de polpas de cupuaçu e bacuri comercializadas em feiras-livres da cidade de Belém, novembro de 2004 a abril de 2005.

POLPA	AMOSTRAS	<i>SALMONELLA</i> SP.	COLIFORMES A 45°C (NMP/g)	PARASITOS INTESTINAIS
CUPUAÇU	01	Ausência	< 3	Ausência
	02	Ausência	23	Ausência
	03	Ausência	43	Ausência
	04	Ausência	< 3	Ausência
	05	Ausência	< 3	Ausência
	06	Ausência	< 3	Ausência
	07	Ausência	< 3	Ausência
	08	Ausência	< 3	Ausência
	09	Ausência	< 3	Ausência
	10	Ausência	< 3	Ausência
	11	Ausência	< 3	Ausência
	12	Ausência	4	Ausência
	13	Ausência	< 3	Ausência
	14	Ausência	< 3	Ausência
	15	Ausência	< 3	Ausência
	16	Ausência	< 3	Ausência
	17	Ausência	< 3	Ausência
	18	Ausência	< 3	Ausência
	19	Ausência	< 3	Ausência
	20	Ausência	< 3	Ausência
	21	Ausência	< 3	Ausência
	22	Ausência	< 3	Ausência
BACURI	01	Ausência	23	Ausência
	02	Ausência	< 3	Ausência
	03	Ausência	< 3	Ausência
	04	Ausência	< 3	Ausência
	05	Ausência	< 3	Ausência
	06	Ausência	< 3	Ausência
	07	Ausência	< 3	Ausência
	08	Ausência	< 3	Ausência
	09	Ausência	< 3	Ausência
	10	Ausência	< 3	Ausência
	11	Ausência	< 3	Ausência
TOTAL	33			

Padrão Federal (BRASIL, 2001): Coliformes a 45°C: máximo 10² NMP/g; *Salmonella*: ausência em 25g.

TABELA 3 - Resultados da análise de pH e acidez total em ácido cítrico de polpas de cupuaçu e bacuri comercializadas em feiras-livres da cidade de Belém, novembro de 2004 a abril de 2005.

POLPA	AMOSTRAS	pH	ACIDEZ TOTAL EM ÁCIDO CÍTRICO (%P/P)
CUPUAÇU	01	3,35	2,00
	02	3,52	1,34
	03	3,48	1,70
	04	3,54	1,64
	05	3,55	2,00
	06	3,65	1,64
	07	3,58	2,00
	08	3,52	1,84
	09	3,47	2,59
	10	3,53	2,15
	11	3,71	2,12
	12	3,79	1,50
	13	3,57	2,00
	14	3,48	1,88
	15	3,55	2,00
	16	3,32	2,67
	17	3,48	1,64
	18	3,47	1,70
	19	3,52	1,80
	20	3,47	2,57
	21	3,48	1,70
	22	3,55	2,00
BACURI	01	3,19	1,00
	02	3,05	1,64
	03	3,16	0,96
	04	3,00	2,29
	05	3,04	1,90
	06	3,16	1,14
	07	3,06	1,62
	08	2,95	2,00
	09	3,05	1,64
	10	3,16	1,60
	11	3,04	1,89

4. DISCUSSÃO

Por constituírem produtos com propriedades organolépticas muito apreciadas pelo mercado consumidor, as polpas de frutas devem ser objeto de especial interesse no que tange ao controle de qualidade dos alimentos por parte dos serviços de vigilância sanitária.

O processo de retirada das polpas de frutas pode ser considerado atividade profissional alternativa para muitos trabalhadores. A simplicidade de sua obtenção, que requer muitas vezes apenas a quebra do fruto e extração da polpa com auxílio de tesoura, tem assegurado trabalho e sustento de famílias inteiras. O processo manual de extração e obtenção das polpas deve, entretanto, ser realizado com cuidados higiênicos adequados, a fim de não expor o produto a contaminações por microorganismos patogênicos que impliquem riscos à saúde do consumidor.

No presente estudo, foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias de 33 amostras de polpas de frutas congeladas comercializadas em 11 feiras-livres da cidade de Belém. De acordo com a Tabela 1, todas 33 amostras estavam de acordo com os padrões legais vigentes quanto à microscopia. Resultado semelhante fora anteriormente obtido por JESUS (2001) em análise de 15 polpas congeladas de cupuaçu da mesma cidade de Belém.

Conforme observado na Tabela 2, nenhuma das amostras apresentou também contaminação por *Salmonella*. Resultados semelhantes foram igualmente referidos por JESUS (2001), que realizou análises microbiológicas de 12 amostras de polpas congeladas de cupuaçu, também comercializadas na cidade de Belém. Semelhantes foram também os resultados de ABREU et al. (2003), que analisaram 265 polpas de frutas em Teresina, no Piauí, entre elas 8 de cupuaçu e 29 de bacuri, em nenhuma constatando contaminação por *Salmonella*; e os de CORRÊA e GRADIM (2004), que fizeram uma avaliação dos laudos analíticos de alimentos expedidos pelo Laboratório Central do Estado (LACEN/PA) no

período de 2000 a 2003 na cidade de Belém, constatando não ter sido registrada a presença de *Salmonella* em amostras de polpa de cupuaçu.

Dados da literatura relativos a polpas de outras frutas evidenciam também resultados comparáveis, como os de FURTADO et al. (2000) e BUENO et al. (2002), que referem ausência de *Salmonella* em todas as amostras analisadas.

De acordo com SILVA et al. (1997), essa ausência de *Salmonella* em determinados alimentos pode decorrer de fatores desfavoráveis à bactéria, tais como a existência de uma microbiota competidora bem maior que a sua e cepas em número reduzido e/ou injuriadas pelo processo de preservação, como no congelamento.

Quanto à ocorrência de coliformes fecais, todas as amostras aqui analisadas apresentaram-se também dentro do limite estabelecido pela legislação pertinente (Tabela 2). Estudos semelhantes foram realizados por ABREU et al. (2003) que, como vimos, analisaram polpas de frutas congeladas, entre as quais 8 de cupuaçu e 29 de bacuri, também consideradas adequadas ao consumo, de acordo com a legislação vigente; por BUENO et al. (2002), que referem igualmente 15 amostras de cupuaçu por eles analisadas, todas dentro dos padrões estabelecidos pela legislação em vigor; e por JESUS (2001), que observou 12 outras amostras de polpa de cupuaçu, todas dentro dos parâmetros de qualidade estabelecidos.

CORRÊA e GRADIM (2004) observaram a presença de uma única amostra de polpa de cupuaçu (7,7% do total de amostras analisadas) em condições sanitárias insatisfatórias, por apresentar coliformes em número acima dos limites estabelecidos pela legislação em vigor.

Segundo ICMSF (2001), bactérias patogênicas não estão associadas às frutas. Entretanto, é possível que nelas existam patógenos em decorrência de contaminação fecal. O tempo de sobrevivência dos patógenos entéricos, tanto nas frutas como em seus derivados,

depende de determinados fatores, como o pH. Nas frutas de acidez elevada, os tempos de sobrevivência geralmente são mais curtos do que nas frutas de pH mais elevado.

Para GERMANO e GERMANO (2001), a acidez do alimento influi, consideravelmente, sobre os microorganismos. Segundo eles, para as *Salmonella* o pH mínimo requerido é de 3,8; para *Escherichia coli*, só um pH próximo do neutro propicia condições ótimas para o desenvolvimento. As polpas de cupuaçu e bacuri, por apresentarem pH baixo (Tabela 3), conferem reação ácida, o que constitui um mecanismo natural de proteção contra a proliferação desses microorganismos, uma vez que o pH adverso afeta dois aspectos da célula microbiana: o funcionamento de suas enzimas e o transporte de nutrientes no interior da célula.

A maioria dos alimentos deve sua acidez à presença de ácidos orgânicos. Além de suas características organolépticas, os ácidos desempenham quase sempre uma função antimicrobiana, de vez que a maior parte dos microorganismos se desenvolve apenas numa faixa estreita de pH. O ácido cítrico é um dos ácidos orgânicos presentes nos alimentos, entre eles as frutas.

SANTOS et al. (2004) verificaram a ação de agente antibacteriano à base de ácido cítrico sobre microorganismos presentes em hortaliça crua. Suas análises foram feitas com e sem tratamento prévio com o agente antibacteriano, para determinação do número mais provável (NMP/g) de coliformes fecais. Os resultados obtidos revelaram que 20% das amostras de alface tratadas com ácido cítrico apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação vigente para este alimento. Em contraposição, 85% das amostras de alface não tratadas apresentaram índice NMP/g de coliformes fecais acima do estabelecido pela legislação, sendo, portanto, consideradas impróprias para o consumo.

Deste modo, é de supor que tanto o pH como o teor de ácido cítrico nas polpas analisadas no presente estudo podem ter constituído fatores de proteção do alimento contra a multiplicação de *Salmonella* e coliformes fecais.

A ausência de parasitos na análise parasitológica das polpas pelo método de Faust (Tabela 2), pode ter decorrido da ação do processo de congelamento e descongelamento. Os protozoários são em geral destruídos pelo congelamento abaixo de -5 ou -10°C, quando não submetidos a algum tipo de conservação; e, embora não ainda comprovado, considera-se que a morte dos microorganismos não ocorre pelo congelamento e sim durante o descongelamento do alimento, devido à ruptura celular (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

5. CONCLUSÃO

A despeito da observação macroscópica das condições higiênico-sanitárias do ambiente das feiras-livres, muito sugestiva de fácil contaminação do produto, todas 33 amostras de polpas de cupuaçu e bacuri submetidas a análises microscópica, microbiológicas e parasitológica no presente estudo foram consideradas adequadas para o consumo, por atenderem às exigências da legislação vigente.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. C.; NUNES, I. F. S.; OLIVEIRA, M. M. A. Perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina, PI. **Revista de Higiene Alimentar**, v.17, n.112, p.78-81, set.2003.
- ADAM, R. D. The biology of Giardia spp. **Microbiol. Rev.**, v.55, n.4, p.706-732, Dec.1991.
- AQUINO, J. L. Amebíase. In: FERREIRA, W.; ÁVILA, S. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. 2ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999.
- BACURIZEIRO. **EMBRAPA-CPATU**. Disponível em: <<http://www.cpatu.embrapa.br/Fruteiras/bacurizeiro.htm>>. Acesso em 10 de junho de 2004.
- BARBOSA, W. C.; NAZARÉ, R. F. R.; NAGATA, I. **Estudo tecnológico de frutos da Amazônia**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1978. 19p.
- BELTRAMINO, D.; LURÁ, M. C.; CARRERA, E. El tratamiento antihelmíntico selectivo frente al tratamiento masivo. Experiencia en dos comunidades hiperendémicas. **Rev. Panam. Salud Publica**, Washington, v.13, n.1, jan.2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 de abril de 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n.1, de 7 de janeiro de 2000. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p.54.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 de abril de 2005.

BRASIL. Ministério da marinha de guerra, do exército e da aeronáutica militar. Decreto-Lei n.986, de 21 de outubro de 1969. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 10 abr. 2005.

BRUNINI, M. A. et al. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba 'Paluma' armazenada a -20°C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.3, dez.2003.

BRENNER, F. W. et al. *Salmonella* Nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.7, p.2465-2467, Jul.2000.

BUENO, S. M. et al. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.62, n.2, p.121-126, 2002.

CALZAVARA B. B. G.; MULLER, C. H.; KAHWAGE, N. C. **Fruticultura tropical: o cupuaçuzeiro – cultivo, beneficiamento e utilização do fruto**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1984.

CAMPOS, L. C. In: TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 3ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 586p.

CARVALHO, J. E. U. et al. Características físicas e químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sem sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, ago.2002.

CARVALHO, J. E. U. et al. Características físicas e químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) com rendimento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, ago.2003.

CARVALHO, O. S. et al. Prevalência de helmintos intestinais em três mesorregiões do Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.35, n.6, nov./dez.2002.

- CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 6ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi/MCT-CNPq, 1996.
- CÉSAR, K. L. V. **Análise higiênico-sanitária da carne do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), beneficiada em dois municípios litorâneos do Estado do Pará**. 2002, 75f. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém.
- CHIEFFI, P. P. Ancilostomíase. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 390p.
- CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. Enterobíase. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 390p.
- CORAL, R. P. S. P. **Cupuaçu: do plantio à colheita**. Belém: SAGRI, 2000. 55p.
- CORRÊA A.; GRANDIM R. **Avaliação de Laudos Analíticos de Alimentos Expedidos pelo Laboratório Central do Estado – LACEN/PA, no período de 2000 a 2003 na cidade de Belém, Pará**. 2004. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Pará, Belém.
- COURA, L.; CARVALHO, H. Ascaridíase. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 390p.
- DAGNER, M. G. F. et al. Giardíase. In: LEÃO, R. N. Q. **Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico**. Belém: Cejup/UEPA/IEC, 1997.
- EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 652p.
- FAVEREST FILHO, P. et al. Exportação de Sucos e Polpas. **Net**. Brasília, n.18, dez., 2000. Informe Setorial do BNDES. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br/conhecimentos>>. Acesso em: 13 fev. 2005.

- FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 1095p.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.
- FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.
- FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182p.
- FUKUSHIMA, M.; KAKINUMA, K.; KAWAGUCHI, R. Phylogenetic analysis of *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* strains on the basis of the *gyrB* gene sequence. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, n.8, Aug.2002.
- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Manual de coleta de amostras de produtos sujeitos a vigilância sanitária**. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 1998.
- FURTADO, A. A. L. et al. Avaliação microbiológica e sensorial da polpa de goiaba tratada termicamente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.especial, p.91-95, jul. 2000.
- GERMANO, P.M.; GERMANO, M. I. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 655p.
- GUEDES, Z. B. L. et al. Estudo da fração lipídica da amêndoa do bacuri (*Platonia insignis*, Mart.). **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.8, n.1, p.23-27, jan./jun.1990.
- HAZELWOOD, D.; McLEAN, A. C. **Manual de higiene para manipuladores de alimentos**. São Paulo: Varela, 1994. 140p.
- HAQUE, M. B. R. et al. Amebiasis. **N. Engl. J. Med.**, v.348, p.1565-1573, 2003.

- HOFFMANN, F. L. et al. Microrganismos contaminantes de polpas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v.17, n.1, p.32-37, jan.-abr.1997.
- ICMSF. **Microorganismos de los alimentos**: Ecología microbiana de los productos alimentarios. v. 6. Zaragoza: Acribia, 2001.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1. São Paulo: O Instituto, 1985. 147p.
- JAY, J. M. **Microbiología moderna de los alimentos**. 3ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.
- JESUS, L. **O Controle Microbiológico, Microscópico e Físico-Químico de polpas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) “in natura” e congelada**. 2001, 46f. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro Tecnológico, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Pará, Belém.
- LANNES, S. C. Formulação de "chocolate" de cupuaçu e reologia do produto líquido. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.38, n.4, p.463-469, out.-dez. 2002.
- LEITÃO, M. F. F. **Controle de sanificação na indústria de alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, 1976.
- LUDWIG, K. M. et al. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.32, n.5, set./out.1999.
- MURRAY, P. R. et al. **Microbiologia Médica**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 762p.
- NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 9ed. São Paulo: Atheneu, 1995. 524p. [p.274].

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I - Pesquisa de helmintos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.26, n.4, ago.1992.

OLIVEIRA, M. E. B. et al. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. **Revista de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v.19, n.3, set./dez. 1999.

PARDI, M. C. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, 1993.

PESQUISA comprova rentabilidade do cupuaçu. **O Liberal**, Belém, 03 jun. 2003. Caderno Painel. Disponível em: <<http://oliberal/arquivo/noticia/n02062003.asp>>. Acesso em: 10 jun. 2004.

RAY, B. **Fundamental food microbiology**. Boca Ratón: CRC, 1996. 516p.

RODRIGUES, D. M. **Aspectos da produção e da comercialização do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) na região Norte**. Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 1996. 43p.

SANTOS, M. S. S. A. et al. Caracterização física e química do bacuri (*Platonia insignis*, Mart.) e processamento de néctares. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.6, n.2, p.73-78, jul./dez.1988.

SANTOS, T. B. et al. Condições higiênico-sanitárias de alfaces antes e após tratamento com agente antibacteriano. **Revista de Higiene Alimentar**, Rio de Janeiro, v.18, n.121, p 85-89, jun. 2004.

SHANLEY, P. **Frutíferas da mata na vida amazônica**. Belém. 1998.

SILVA, E. F.; GOMES, M. A. Amebíase. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 428p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA/CTAA, 1995. 159p.

SOGAYAR, M. I. T. L.; GUIMARÃES, S. Giardia lamblia. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 428p.

SOUZA, V. A. B. et al. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, dez.2001.

TAVARES-DIAS, M.; GRANDINI, A. A. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.32, n.1, jan./fev.1999.

TAVECHIO, A. T.; GHILARDI, A. C. R.; FERNANDES, S. A. “Multiplex PCR” identification of the atypical and monophasic *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 1,4,[5],12:i:- in São Paulo State, Brazil: frequency and antibiotic resistance patterns. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.46, n.2, mar./abr.2004.

VENTURIERI, G. A. et al. **Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamentos**. Belém: Clube do Cupu, 1993. 108p.

XUAN GUO et al. Survival of Salmonellae on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.10, Oct.2001.

ANEXO 1

ANÁLISE FISCAL

É efetuada sobre o alimento apreendido pela autoridade fiscalizadora competente e servirá para verificar a sua conformidade com os dispositivos do Decreto-Lei 986 de 21/10/1969 e de seus regulamentos.

De acordo com o Manual de Coleta de Amostras de Produtos Sujeitos a Vigilância Sanitária da Fundação Oswaldo Cruz (1998), “a coleta do produto consistirá na colheita de amostra representativa do estoque existente, a qual, dividida em três partes, será tornada inviolável para que se assegurem as características de conservação e autenticidade, sendo uma delas entregue ao detentor ou responsável, a fim de servir como contraprova, e as duas outras imediatamente encaminhadas ao Laboratório Oficial para realização das análises indispensáveis. Logo, a quantidade de amostras a ser apreendida deve ser em triplicata, em quantidades iguais de unidades, do mesmo lote, sendo um invólucro entregue, junto com uma via do Termo de Coleta, ao detentor ou responsável pelo local onde está se dando a coleta. Os dois invólucros devem ser remetidos para o Laboratório Oficial, que procederá às análises das amostras de um dos invólucros e deixará o outro como testemunha, para ser utilizado no caso de empate entre o resultado da análise fiscal e de contraprova.”

ANEXO 2

O MÉTODO DE FAUST

Destina-se à pesquisa de cistos de protozoários e ovos leves de helmintos. Segundo NEVES (1995), a técnica consiste nos seguintes passos:

- 1) Diluir 10g da amostra em 20ml de água filtrada;
- 2) Homogeneizar bem;
- 3) Filtrar através de gaze dobrada em quatro, num copo plástico, e transferir para um tubo de Wasserman;
- 4) Centrifugar por um minuto a 2500 rpm;
- 5) Desprezar o líquido sobrenadante e ressuspender o sedimento em água;
- 6) Repetir as operações 4 e 5, mais duas a seis vezes, até que o líquido sobrenadante fique claro;
- 7) Desprezar a água do sobrenadante e ressuspender o sedimento em solução de sulfato de zinco a 33%;
- 8) Centrifugar novamente por um minuto, a 2500 rpm;
- 9) Os cistos e ovos leves serão coletados da superfície do sobrenadante com auxílio de alça de platina e transferidos para uma lâmina de microscopia, onde poderão ser examinados ao microscópio junto com uma gota de lugol e coberta com lamínula.