



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

JAQUELINE PATRÍCIA PIANA

**CONTAMINANTES BIOLÓGICOS EM POLPAS DE
CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum* Wild. ex
Spreng. Schum.) COMERCIALIZADAS EM FEIRA
LIVRE NA CIDADE DE ARIQUEMES, RONDÔNIA**

Jaqueline Patrícia Piana

**CONTAMINANTES BIOLÓGICOS EM POLPAS DE
CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum* Wild. ex
Spreng. Schum.) COMERCIALIZADAS EM FEIRA
LIVRE NA CIDADE DE ARIQUEMES, RONDÔNIA**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial a obtenção de Grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Ms. Fábila Maria Pereira de Sá

Jaqueline Patrícia Piana

**CONTAMINANTES BIOLÓGICOS EM POLPAS DE
CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum* Wild. ex Spreng.
Schum.) COMERCIALIZADAS EM FEIRA LIVRE NA CIDADE
DE ARIQUEMES, RONDÔNIA**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente como requisito parcial à obtenção de Grau de Bacharel em Farmácia.

COMISSÃO EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Ms. Fábiana Maria Pereira de Sá
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Profa. Esp. Lilian Cristina Macedo
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Profa. Ms. Nathália Vieira Barbosa
Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA

Ariquemes, 08 de dezembro de 2011

A Deus, minha fortaleza.

Aos meus pais, Euclides e Elenice, pela vida e pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, minha fortaleza, em quem encontrei força e coragem para alcançar meus objetivos.

Aos meus amados pais Euclides Antônio Piana e Elenice Salete Medeiros Piana, razões do meu viver, pelo amor e dedicação, e pelos quais só tenho a agradecer por esta grande vitória.

Ao meu noivo, Alison de Oliveira Melo que esteve sempre ao meu lado em toda essa jornada, o qual me deu muita força para seguir em frente.

A Profa. MSc. Fábria Maria Pereira de Sá, pela orientação, atenção e dedicação em todo o desenvolver deste trabalho.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisas Nádia Cristina Siuta, Fernanda Souza e Diego dos Santos Lima que passaram comigo pelas mesmas dificuldades e obstáculos, das quais soubemos enfrentá-los todos juntos, e saímos vitoriosos desta batalha. Obrigada pelo apoio.

Aos meus sobrinhos, Marcela Medeiros Kochem, Eduardo Perosso Melo, Stefany Perosso Melo e Eduarda Perosso Melo, que através de beijos e abraços, sem saberem, me confortaram nas horas de dificuldades.

A minha família querida, que amo muito, pela confiança e dedicação.

A Dra Corina Fernandes Pereira, que sempre esteve disposta a me ajudar no decorrer do curso, muito obrigada por tudo.

Aos meus colegas de turma, que juntos conquistamos uma grande vitória.

A FAEMA, por disponibilizar os laboratórios para a realização desta pesquisa.

Aos técnicos de laboratório que auxiliaram o máximo para que as análises realizassem.

Aos professores que estiveram presentes nessa caminhada, obrigada pelas palavras de incentivo.

A Profa. Esp. Lilian Cristina Macedo e a Profa. Ms. Nathália Vieira Barbosa, pelas sugestões, as quais foram muito bem vindas.

Enfim, a todos que de certa forma contribuíram para a elaboração deste trabalho, o meu muito obrigada.

Em tudo somos atribulados, porém não angustiados;
perplexos, porém não desanimados; perseguidos, porém
não desamparados; abatidos, porém não destruídos.

II Coríntios, 4-8, 9

RESUMO

O cupuaçu cientificamente denominado *Theobroma grandiflorum* é um fruto típico da região Amazônica, apresenta alto valor nutricional e se constitui em fonte de renda para muitas pessoas, principalmente na forma de polpas. Grande parte da produção das polpas é artesanal, muitas vezes envolvendo no processamento condições higiênico-sanitárias inadequadas. Assim, o presente trabalho visou, através de análise qualitativa, identificar a presença de microrganismos aeróbicos mesófilos e psicotróficos, coliformes totais e termotolerantes em polpas congeladas de cupuaçu comercializadas em feira livre da cidade de Ariquemes, Rondônia. Foram analisadas três amostras, denominadas A, B e C, adquiridas em barracas diferentes, escolhidas aleatoriamente. A metodologia empregada foi a de Silva et al. (2007). Os resultados evidenciaram presença de microrganismos aeróbicos mesófilos e coliformes totais, em maior quantidade, em duas das três amostras escolhidas e presença de *E. coli* em duas amostras. Apesar das limitações do método e do estudo ser de caráter qualitativo, sugere-se que as amostras de polpa de cupuaçu investigadas apresentaram condições microbiológicas, e, portanto de consumo, inadequadas.

Palavras-chave: Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), Polpa congelada, Análise microbiológica.

ABSTRACT

Cupuassu scientifically named *Theobroma grandiflorum* is a typical fruit of the Amazon region, has a high nutritional value and constitutes a source of income for many people, especially when it is in the form of pulp. Most a large part of the pulp production is by hand, often involving inadequate hygiene and sanitary conditions. Therefore, the present work aims to use qualitative analysis to identify the presence of mesophilic aerobic and psychrotrophic micro-organisms, total coliforms and heat tolerant in frozen cupuassu sold in outdoor markets in the city of Ariquemes, Rondônia. Three samples were used which were labelled A, B, and C. These samples were acquired in different locations and were chosen at random. The methodology employed was that of de Silva et al (2007). The results show the presence of mesophilic aerobic micro-organisms and total coliforms in greater quantity, in two of three samples chosen and the presence of *E. coli* in two samples. In spite of the limitations of the method and that it is of a qualitative nature, it is suggested that the cupuassu pulp samples investigated show microbiological conditions making it inadequate for consumption.

Keywords: Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*), Frozen Pulp, Microbiological Analysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Classificação Taxonômica do Cupuaçu	12
Tabela 2	- Contagem total de aeróbios mesófilos	22
Tabela 3	- Contagem de Psicotróficos	23
Tabela 4	- Determinação de Coliformes Totais	23
Tabela 5	- Determinação de Coliformes Termotolerantes	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Cm	Centímetros
EC	<i>Escherichia coli</i>
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Kg	Quilograma
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
PCA	Ágar Padrão para Contagem
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 CUPUAÇU.....	12
2.2 POLPA DE CUPUAÇU.....	14
2.3 COMPOSIÇÃO FÍSICO–QUÍMICA DA POLPA DE CUPUAÇU	16
2.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIANA NA POLPA DE CUPUAÇU	16
3 OBJETIVOS	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4 METODOLOGIA	19
4.1 LOCALIDADE DE ESTUDO.....	19
4.2 SELEÇÃO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	19
4.3 TRANSPORTE DAS AMOSTRAS	20
4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS	20
4.5 CONTAGEM TOTAL DE AERÓBICOS MESÓFILOS E PSICOTRÓFICOS EM PLACAS	21
4.6 DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS	21
4.7 DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES	21
4.7.1 Determinação de <i>Escherichia coli</i>	21
4.8 LIMITAÇÕES DO MÉTODO.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

INTRODUÇÃO

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum), dentre as frutas da Amazônia, é considerada a de maior potencial econômico. Isso devido a suas características organolépticas e por sua polpa possuir potencial de aplicação na produção de diversos tipos de alimentos, como cremes, tortas, sorvetes, geléias, iogurtes, entre outros (FUNDAÇÃO GETÚLIO VARGAS, 2003).

O cupuaçuzeiro é uma árvore frutífera, que pertence à mesma família do cacau, a Sterculiaceae. É uma árvore típica da região Amazônica, principalmente dos estados de Rondônia, Amazonas e Roraima, e atualmente está disseminada também em outros países como Colômbia, Venezuela, Equador e Costa Rica (FERREIRA; NOGUEIRA; DAMIÃO FILHO, 2006).

O plantio de cupuaçu têm crescido em muitas localidades da Região Amazônica, o que segundo Bastos et al. (2002) é devido ao aumento da demanda pela polpa.

A polpa é comercializada em maior escala nos Estados produtores do fruto, principalmente nos Estados do Pará, Amazonas, Acre e Rondônia e em maior escala nos demais Estados brasileiros e para o exterior (COHEN; JACKIX, 2005).

Porém, a falta do produto no período de entressafra e sua alta perecibilidade dificultam o transporte do fruto *in natura* a longas distâncias, assim o congelamento da polpa tornou-se uma alternativa para perdas de produção (FREIRE et al., 2009; MOREIRA, 2009).

Para o congelamento da polpa é necessário o despulpamento prévio dos frutos, o que geralmente é realizado de forma manual (MOREIRA, 2009). Este processo torna a polpa sujeita a contaminações por microrganismos, pois há o contato direto do trabalhador com a fruta. Além disso, as polpas de frutas são substratos ideais para o desenvolvimento de diversos tipos de microrganismos que podem gerar problemas sérios à saúde dos consumidores.

Assim, o presente estudo justifica-se pelo alto consumo da polpa na região e pela susceptibilidade à contaminação microbiana, pelo fato de ser substrato ideal ao crescimento microbiológico, bem como à facilidade de contaminação durante à manipulação do produto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CUPUAÇU

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum) é uma espécie arbórea da região norte do Brasil, nativa do estado do Pará e encontrada facilmente nas matas de terra firme e várzeas. É uma árvore frutífera pertencente à família Sterculiaceae. Está disseminada também, porém de forma mais esporádica, no nordeste do estado do Maranhão e em outros países como Colômbia, Venezuela, Equador e Costa Rica (ARAÚJO; QUEIROZ; FIGUEIRÊDO, 2002; FERREIRA; NOGUEIRA; DAMIÃO FILHO, 2006)

Na Tabela 1 esta descrita a classificação taxonômica do cupuaçu.

Tabela 1. Classificação Taxonômica do Cupuaçu

<u>Reino</u>	Plantae
<u>Divisão</u>	Magnoliophyta
<u>Classe</u>	Magnoliopsidia
<u>Ordem</u>	Malvales
<u>Família</u>	Sterculiaceae
<u>Gênero</u>	<i>Theobroma</i>
<u>Espécie</u>	<i>Theobroma grandiflorum</i>

Fonte: NCBI, (2011)

Suas folhas, quando jovens, possuem uma coloração rósea e são revestidas por estruturas pilosas. Quando atingem seu estágio final adquirem cor verde-escura, medindo 25 a 30 cm de comprimento por 10 a 15 cm de largura (FERREIRA; NOGUEIRA; DAMIÃO FILHO, 2006).

A árvore do cupuaçu pode ser encontrada em matas virgens chegando com frequência a 20 metros de altura e 45 centímetros de diâmetro, e em pomares caseiros e cultivos comerciais variam de 6 a 8 metros, com copa em andares chegando a atingir 7 metros de diâmetro (COSTA, 2002).

Segundo Freire et al. (2009), o fruto do cupuaçu é uma baga drupácea, elipsóideia ou oblonga que mede entre 12 e 25 cm de comprimento e 10 a 12 cm de

diâmetro, possuindo extremidades obtusas ou arredondadas. Pesa em média 1 kg, seu epicarpo é lenhoso de cor marrom e coberto por pêlos ferrugíneos, que quando raspados, expõem outra camada clorofilada. Possui em média 36 sementes por fruto medindo 2,5 cm de comprimento por 0,9 cm de espessura. (FRAIFE FILHO, [20--]). É um fruto de coloração amarela ou esbranquiçada, de sabor ácido e aroma forte, que possui em média 38,5% de polpa e 2,85% de placenta (FERREIRA; GUIMARÃES; MAIA, 2008; MOREIRA et al., 2011). A Figura 1 mostra o fruto de cupuaçu.

A região amazônica é ideal para o cultivo do cupuaçu por possuir clima e solo favoráveis. Seu nome é derivado de uma língua indígena, o Tupi, e significa *Kupu* = que parece com o cacau, *uasu* = grande. O cupuaçu, entre outras denominações também conhecido por cupu, pupu, pupuaçu, cacau branco (BRASIL, 2007; FERREIRA, 2008; MOREIRA, 2009).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Amazônia Oriental, de Belém do Pará, desenvolveu um produto da semente do cupuaçu parecido com o chocolate, denominado cupulate, que possui menor concentração de cafeína que o chocolate feito do cacau. Da semente, também é feito a manteiga de cupuaçu, que é similar à de cacau, porém, tem a vantagem de ser obtida de um processo mais econômico. Da casca são feitos adubo e bijuterias (FERREIRA; NOGUEIRA; DAMIÃO FILHO, 2006; KAMINSKI, [20--]).

Deste modo, o cupuaçu é totalmente utilizado desde a polpa da fruta até a casca, o que o torna importante meio de sustento para várias famílias na região Amazônica. No ano de 2007, o estado do Amazonas possuía cerca de 8 mil produtores de cupuaçu, o que gerou emprego para cerca de 20 mil pessoas (BRASIL, 2007).

O cupuaçu vem sendo exportado cada vez mais na forma de polpa congelada para várias regiões do país, e para fora do Brasil. No primeiro semestre de 2005, o Brasil exportou 50 toneladas de polpa, e os principais países que compram estas polpas são Japão, Países Baixos, Reino Unido, Alemanha, Estados Unidos, Argentina, Bolívia e Paraguai (BRASIL, 2007).

2.2 POLPA DE CUPUAÇU

Conforme a Instrução Normativa nº 01, de 07/01/2000 do Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA), “polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto”.

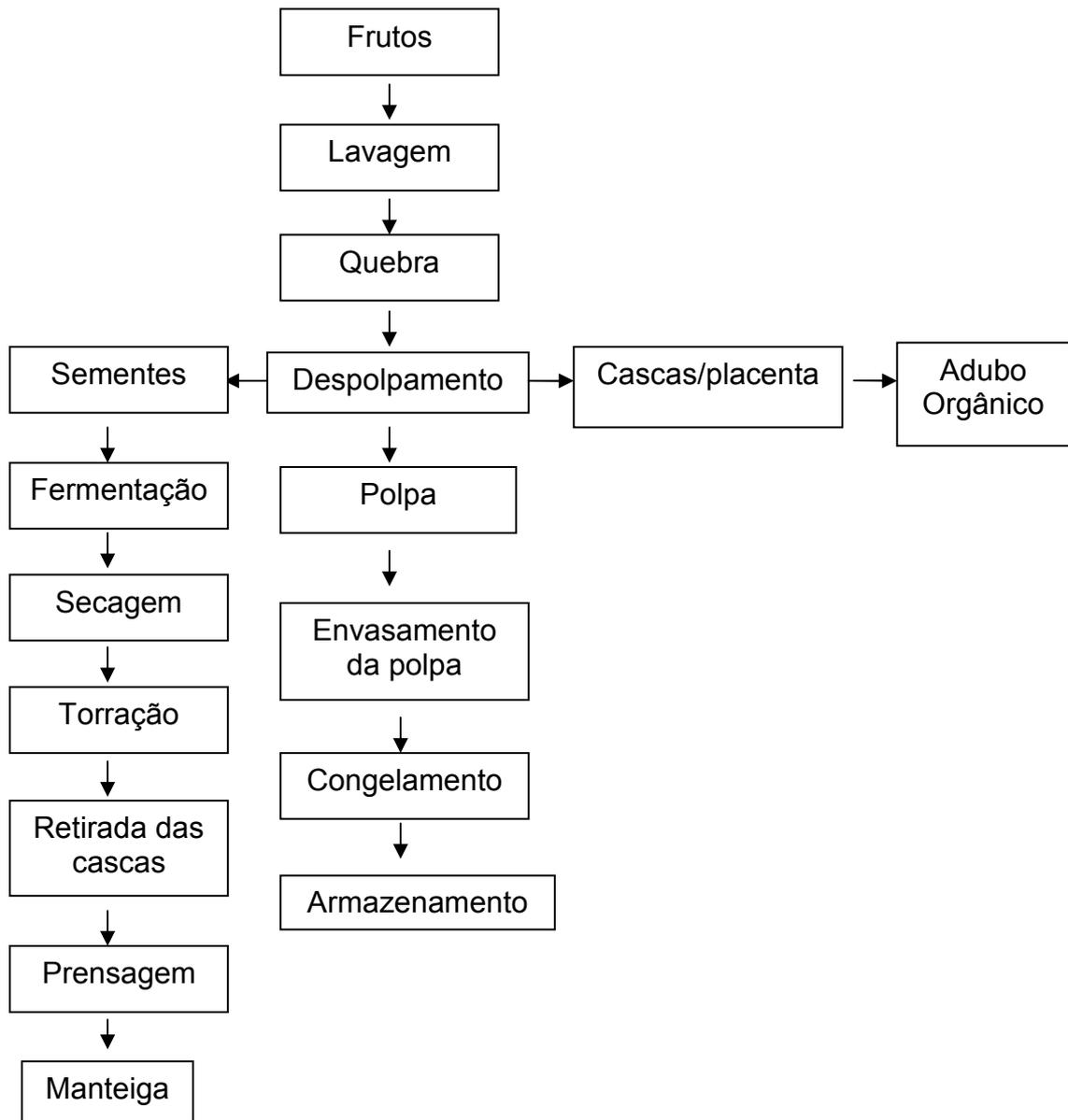
A polpa do cupuaçu tem grande importância como matéria-prima, porém, é considerada de alta perecibilidade, o que faz com que dependa de redes de frio para sua conservação, entretanto, esse método apresenta alto custo de investimento, de manutenção e de energia elétrica. A polpa pode ser produzida em épocas de safra, armazenadas e processadas em períodos propícios ou de acordo com a demanda do mercado consumidor (MOREIRA et al., 2011).

A comercialização do fruto do cupuaçu *in natura* se torna inviável a longas distâncias por se deteriorar em poucos dias. O percentual de perda pós-colheita de frutos tropicais no Brasil é de 30% dos produtos comercializados, em relação ao cupuaçu estima-se perdas pós-colheita variando de 15 a 50%, dentro da média brasileira (MOREIRA et al., 2011).

Assim, devido a escassez do produto no período entressafra e ao aumento das vendas na maioria das regiões brasileiras, a polpa congelada é uma importante forma de comercialização (GONDIM, 2001; MOREIRA, 2009).

O processo de extração da polpa de cupuaçu é realizado manual ou mecanicamente. O processo manual, realizado especialmente em indústrias caseiras é feito através de tesouras (MOREIRA, 2009).

A Figura 2 demonstra o processamento industrial do cupuaçu onde demonstra a extração da polpa por meio mecânico, onde o fruto primeiramente é lavado e quebrado retirando a polpa com semente o que, logo em seguida, é colocado em uma despulpadora na qual são separados (MOREIRA, 2009). Do despulpamento a polpa é envasada, congelada e armazenada para o consumo ou transporte. As sementes passam por todo um processo de fermentação, secagem, torração, prensagem até se transformarem em manteiga de cupuaçu. As cascas acabam virando adubo orgânico.



Fonte: ISAE/ Fundação Getúlio Vargas (2003)

Figura 1 – Fluxograma do processamento industrial do cupuaçu produtivo

2.3 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE CUPUAÇU

O Quadro 1 apresenta a composição físico-química do cupuaçu.

Determinação	Polpa de Cupuaçu
pH	3,2-3,6
Acidez titulável (%)	2,0-2,15
Umidade (%)	84,9-89,0
Açúcares redutores (%)	4,0-5,8
Açúcares não-redutores (%)	4,0-5,8
Amido (%)	0,96
Gordura (%)	0,48-2,35
Proteína (%)	0,53-1,92
Pectina (mg/100g)	390,00-850,00
Lipídeos (g/100g)	0,53
Fibras (%)	0,5-1,89
Cinzas (%)	0,67-0,81

Fonte: Ferreira, 2008

Quadro 1. Composição físico-química da polpa de cupuaçu

O cupuaçu possui acidez natural e elevado nível de pectina que são fatores que favorecem sua utilização na fabricação de doces, geléias, compotas e néctares. E esta acidez natural, faz com que o néctar tenha maior conservação durante o armazenamento (COSTA, 2002).

2.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NA POLPA DE CUPUAÇU

Devido às frutas conterem alto valor nutricional e possuírem qualidades organolépticas, são substratos excelentes para o crescimento de diversos microrganismos como bactérias, leveduras e bolores, podendo ser contaminados durante sua manipulação (DAL RI, 2006). Sebastiany, Rego e Vital (2009), relataram que as frutas são capazes de sustentar o desenvolvimento de bactérias, bolores e

leveduras, e que estes são preocupantes a saúde do consumidor pela capacidade desses microrganismos produzirem toxinas.

As frutas *in natura* podem conter diversos microrganismos, o que fez com que produtores buscassem diferentes métodos para evitar o crescimento microbiano e, com isso, evitar a deterioração microbiológica e alterações químicas e físicas que afetam o alimento e interferem na venda do produto. Entre esses métodos destaca-se o congelamento (DAL RI, 2006).

Ainda de acordo com Dal Ri (2006), o congelamento é utilizado com o fim de retardar ou inibir o crescimento de microrganismos em faixas de temperaturas muito baixas. Existem dois métodos de congelamento, o método rápido, no qual a temperatura é reduzida a -20 °C em 30 minutos, e o método lento, onde a temperatura desejada é alcançada entre 3 a 72 horas. O congelamento lento é o mais utilizado em indústrias caseiras, com o uso do freezer doméstico. Porém, já foi demonstrado que existem microrganismos capazes de crescer, mesmo que em uma velocidade menor, nessa faixa de temperatura, o que faz do congelamento, tanto o lento como o rápido, métodos não muito confiáveis para a destruição dos microrganismos de origem alimentar.

A polpa de cupuaçu, por possuir elevada acidez, torna o crescimento destes microrganismos improvável. Devido à falta de conhecimento dos produtores em relação ao processamento, a ação deteriorante de microrganismos neste tipo de alimento é alta, o que leva à perda na produção das polpas de frutas (FAZIO; GONÇALVES; HOFFMAN, 2009; FREIRE et al., 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Detectar a presença de contaminantes biológicos em polpas de cupuaçu caseiras comercializadas congeladas em feira livre da cidade de Ariquemes, Rondônia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Discorrer sobre aspectos químicos, microbiológicos e tecnológicos relacionados à polpa de cupuaçu;
- ✓ Verificar a presença, nas amostras de polpa de cupuaçu, dos microrganismos Aeróbicos Mesófilos, Psicotróficos, Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes e *Escherichia coli*.

4 METODOLOGIA

Os ensaios microbiológicos das polpas foram executados de acordo com a metodologia proposta por Silva et al. (2007), todas as análises foram realizadas em duplicata. É importante ressaltar, também, que todo o material utilizado foi autoclavado antes das análises e que o aparelho de ar condicionado foi desligado durante a realização de todos os procedimentos.

4.1 LOCALIDADE DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado no município de Ariquemes, Rondônia (09°54'48" S e 63°02'27" W), que localiza-se a cerca de 198 km da capital Porto Velho. Ariquemes é a terceira maior cidade ao noroeste do Estado de Rondônia, Brasil. Apresenta área geográfica de 4.426,576 km², sendo 64 km² de área urbana, com altitude média de 148 m, temperaturas médias de 28°C, pluviosidade entre 1.850 mm a 2.000 mm/ano, economia subsidiada basicamente pela agropecuária (BRASIL, 2010).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa (IBGE), o município de Ariquemes possui uma população de 90.353 habitantes. Sendo o sexo masculino correspondente a 45.543, sexo feminino 44.810 e crianças menores de um ano a nove anos de idade 15.556.

4.2 SELEÇÃO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram adquiridas três amostras de polpa de cupuaçu congeladas comercializadas em feira livre de Ariquemes, Rondônia. Escolhidas aleatoriamente em três barracas diferentes, e em pontos distantes uma da outra. As amostras foram adquiridas no mês de outubro de 2011, no mesmo dia em que começaram as análises. Foram identificadas como A, B e C. Sendo que as amostras eram de fornecedores locais e não identificavam o lote na embalagem do produto.

4.3 TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

As amostras foram transportadas na sua embalagem comercial original, fechadas e intactas, em caixas de isopor com gelo com o intuito de manter a temperatura em torno de 18°C, e assim, evitar o descongelamento total ou parcial das mesmas. Foram encaminhadas até o Laboratório de Bromatologia da FAEMA - Faculdade de Educação e Meio ambiente, onde foram armazenadas congeladas até o início das análises.

4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

A preparação das amostras para análise envolveu três etapas, a saber: homogeneização do conteúdo e retirada da unidade analítica, preparação da primeira diluição da unidade analítica e a preparação de diluições decimais seriadas, para inoculação nos meios de cultura.

Antes da retirada da unidade analítica das amostras, o conteúdo das mesmas foi descongelado em temperatura ambiente, em sua embalagem original. Foram pesadas 25 g de cada amostra e, com o auxílio de um liquidificador doméstico foram homogeneizadas, no tempo de 1 minuto, em 225 mL de água peptonada estéril. Logo após a homogeneização foram transferidas assepticamente para erlenmeyers de 225 mL (diluição 10^{-1}). A partir dessa diluição, foram feitas as diluições seriadas até 10^{-3} com o mesmo diluente.

Para a segunda diluição (10^{-2}), transferiu-se 1 mL da primeira diluição (10^{-1}) para 9 mL de diluente. Para a preparação da terceira diluição (10^{-3}), procedeu-se de maneira similar, transferindo-se 1 mL da diluição anterior (10^{-2}) para 9 mL de diluente.

4.5 CONTAGEM TOTAL DE AERÓBICOS MESÓFILOS E PSICOTRÓFICOS EM PLACAS

Para a contagem total dos microorganismos aeróbicos mesófilos em placa foi utilizado o método do plaqueamento em superfície. O meio de cultura utilizado foi o Ágar Padrão para Contagem (PCA), incubado a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ / 48 ± 2 h.

Na contagem de aeróbicos psicotróficos o método utilizado foi também o plaqueamento em superfície, empregando-se o PCA. A incubação foi feita a $17 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 horas, seguido de mais 3 dias a $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.6 DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS

Foram semeadas duas séries de dois tubos de ensaio com tubos de Durhan, contendo 9 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptase, correspondendo cada série de dois tubos a 1 mL das diluições decimais 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Procedeu-se a homogeneização e incubação a 37°C , por 48 horas. Após o período de incubação, verificou-se a presença ou ausência de gás nos tubos de Durhan.

4.7 DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Foram semeadas duas séries de dois tubos de ensaio com tubos de Durhan, contendo cada um 9 mL de caldo *Escherichia coli* (EC) com as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , em seguida incubou-se os tubos a $44,5^\circ\text{C}$ em banho-maria durante 48 horas, após observou-se a presença ou ausência de gás nos tubos de Durhan.

4.7.1 Determinação de *Escherichia coli*

Para determinação da presença de *Escherichia coli*, foi retirada uma alçada dos tubos contendo caldo EC que apresentavam turbidez, com ou sem produção de gás no interior do tubo de Durhan, sendo semeada em placas de Petri contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas.

4.8 LIMITAÇÕES DO MÉTODO

A metodologia empregada apresentou algumas limitações que são importantes serem citadas, como o fato de o laboratório de Bromatologia não possuir ambiente exclusivo para inoculação dos meios e o fluxo de pessoas do laboratório, em alguns momentos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A RDC nº 12 de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não estabelece padrões para produtos à base de frutas em relação à contagem de microrganismos aeróbicos mesófilos, psicotróficos, coliformes totais. Porém, tais contagens foram consideradas necessárias por indicarem a qualidade da matéria-prima empregada, bem como as condições higiênico-sanitárias de processamento, manuseio e estocagem.

Segundo Feitosa et al. (1997), pesquisas feitas em polpas de frutas comercializadas nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte, indicaram uma grande variação na contagem padrão de bactérias mesófilas, chegando a conclusão que os resultados obtidos indicavam condições precárias de higiene durante a produção das polpas.

A Tabela 2 contém os resultados da pesquisa de microrganismos mesófilos aeróbicos nas polpas de cupuaçu estudadas, demonstrando que a contagem padrão em duas amostras foi incontável, em todas as diluições empregadas. Em uma amostra não houve a presença deste grupo de microrganismos.

Tabela 2 - Contagem de Mesófilos Aeróbicos

Diluições	Amostra A	Amostra B	Amostra C
10^{-1}	Incontável	Incontável	Ausentes
10^{-2}	Incontável	Incontável	Ausentes
10^{-3}	Incontável	Incontável	Ausentes

Na Tabela 3, encontram-se os resultados da pesquisa de psicotróficos. Onde demonstra que nas três amostras analisadas não houve o crescimento deste microrganismo. Conforme Cunha (2006), a contagem de psicotróficos aeróbios detecta o grau de deterioração de alimentos refrigerados ou aqueles submetidos a tratamento térmico.

Tabela 3 - Contagem de Psicotróficos

Diluições	Amostra A	Amostra B	Amostra C
10 ⁻¹	Ausente	Ausente	Ausente
10 ⁻²	Ausente	Ausente	Ausente
10 ⁻³	Ausente	Ausente	Ausente

Conforme a Tabela 4, duas das três amostras analisadas possuíram maior contaminação por coliformes totais, o que pode ser observado através das diluições. Onde as duas primeiras amostras indicaram a presença de coliformes totais na primeira e segunda diluição, enquanto que na terceira amostra analisada só houve a presença deste microrganismo na primeira diluição empregada.

Conforme Amorim et al. (2010), que realizaram pesquisas em polpas de frutas congeladas, comercializadas na cidade de Itapetinga, Bahia, demonstrou que em todas as amostras analisadas as contagens de coliformes foram inferiores a 0,3 NMP.g⁻¹, atendendo à legislação em vigor.

Tabela 4 - Determinação de Coliformes Totais

Diluições	Amostra A	Amostra B	Amostra C
10 ⁻¹	Presença	Presença	Presença
10 ⁻²	Presença	Presença	Ausência
10 ⁻³	Ausência	Ausência	Ausência

Pesquisas realizadas por Sebastiany, Rego e Vital (2009), em 100 amostras de frutas, entre elas o cupuaçu, sendo polpas pasteurizadas e não pasteurizadas, demonstraram que as polpas não pasteurizadas apresentaram maior índice de inadequação do que as pasteurizadas.

A Resolução da ANVISA, nº 12 de 2 de janeiro de 2001, especifica como padrões microbiológicos para polpa de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas, apenas a contagem de coliformes Termotolerantes, que deve ser no máximo de 10² UFC.g⁻¹.

De acordo com a Tabela 5, todas as amostras analisadas indicaram a presença de Coliformes Termotolerantes.

Tabela 5 - Determinação de Coliformes Termotolerantes

Diluições	Amostra A	Amostra B	Amostra C
10 ⁻¹	Presença	Presença	Presença
10 ⁻²	Presença	Presença	Presença
10 ⁻³	Presença	Presença	Presença

Em duas das três amostras analisadas apresentaram a presença de *E. coli*, o que sugere-se a falta de higiene nos processos de fabricação.

Entretanto, pesquisas em polpas de frutas elaboradas por Fazio, Gonçalves e Hoffmann (2009), demonstraram a ausência de *E. coli*, em todas as amostras o que indicou a boa qualidade dos produtos.

Santos, Coelho e Carreiro (2008), analisaram 98 amostras de polpas de frutas congeladas, comercializadas em uma feira livre da cidade de Palmas, Tocantins. Onde apenas 5 amostras (4,3%) apresentaram resultados positivos para coliformes totais e duas confirmaram a presença de coliformes termotolerantes e *E. coli*. Sugerindo assim que os resultados encontrados na devida pesquisa são devido a falta de controle sanitário e que as condições higiênicas durante o processamento, operações de limpeza, escolha de matérias-primas e condições de armazenamento não devem estar de acordo com as boas práticas de fabricação.

CONCLUSÃO

Duas amostras analisadas apresentaram maior nível de contaminação por microrganismos aeróbios mesófilos e coliformes totais. Em nenhuma das amostras foi encontrada presença de microrganismos psicotróficos.

Todas as amostras apresentaram-se contaminadas por coliformes termotolerantes. E, em duas amostras, foi evidenciada possível presença de *Escherichia coli*, indicando condições higiênico-sanitárias inadequadas destas amostras.

É importante ressaltar que o trabalho foi de caráter qualitativo, e seus resultados, portanto, apenas sugerem que as amostras estudadas estão fora dos padrões de qualidade aceitos. Além disso, as polpas investigadas são de produção artesanal e, conseqüentemente, não sofreram fiscalização pelos órgãos sanitários competentes.

REFERÊNCIAS

AMORIM, Graziella Marques et al. Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de polpas de frutas comercializadas em Itapetinga-BA. Bahia: **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, 2010.

ARAÚJO, Josalice de Lima; QUEIROZ, Alexandre José de M.; FIGUEIRÊDO, Rossana Maria F. de. Massa específica de polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum Schum.*) sob diferentes temperaturas. Campina Grande: **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.4, n.2, p.127-134, 2002. Disponível em <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev42/Art424.pdf>>. Acesso em: 26 mar. 2011.

BASTOS, Maria do Socorro Rocha et al. Efeito da aplicação de enzimas pectinolíticas no rendimento da extração de polpa de cupuaçu. Jaboticabal: **Rev. Bras. Frutic.**, v. 24, n. 01, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452002000100051>. Acesso em: 11 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. SISLEGIS – Sistema de Consulta à Legislação. Instrução Normativa n. 01, de 07 de janeiro de 2000, aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Brasília, 2000. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 26 mar. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC – 12, de 02 de janeiro de 2001, Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 26 mar. 2011.

BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria da Educação Profissional e Tecnologia. Cupuaçu. Brasília, 2007. Disponível em <<http://portaldoprofessor.mec.gov.br/storage/materiais>>. Acesso em: 26 mar. 2011.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa – IBGE. Informações estatísticas. Censo demográfico, 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=ro>>. Acesso em: 13 dez. 2011.

COHEN, Kelly de Oliveira; JACKIX, Maria de Nazaré Hoelz. Estudo do liquor de cupuaçu. Campinas: **Ciec. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 1, p: 182-190, jan.-mar. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n1/a29v25n1.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2011.

COSTA, Marta Cristina. Conservação de polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) por métodos combinados com emprego da tecnologia de obstáculos. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Ceará, 2002. Disponível em <<http://www.ppgcta.ufc.br/martacosta.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2011.

CUNHA, Michele Almeida da. Métodos de detecção de microorganismos indicadores. Duque de Caxias-RJ: **Saúde & Ambiente em revista**. v. 1, n. 1, p. 09-13, 2006. Disponível em <<http://publicacoes.unigranrio.br/index.php/sare/article/viewFile/331/322>>, acesso em: 23 nov. 2011.

DAL RI, Estela Sebastiany. Avaliação do processo produtivo e da qualidade de polpas de frutas comercializadas em Boa Vista/RR. Dissertação (Programa de pós-graduação de Recursos Naturais - PRONAT) Universidade Federal de Roraima. Boa Vista/RR, 2006. Disponível em <www.bc.ufr.br/normas-tecnicas/doc_download/24-avaliacao-do-processo-produtivo-e-da-qualidade-de-polpas-de-frutas-comercializadas-em-boja-vistarr>. Acesso em: 20 out. 2011.

FAZIO, Maria Luiza Silva; GONÇALVES, Tânia Maria Vinturim; HOFFMANN, Fernando Leite. Determinação da qualidade microbiológica e da ocorrência de leveduras em polpas congeladas de frutas. São José do Rio Preto-SP: **Higiene Alimentar**, v. 24. n. 172-173, 2009.

FEITOSA, Terezinha et al. Perfil microbiológico de polpa de frutas produzidas e comercializadas nos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte. Curitiba: **B. CEPPA**. v. 15, n. 1, p. 65-74, 1997.

FERREIRA, Maria das Graças Rodrigues; NOGUEIRA, Adriana Ema; DAMIÃO FILHO, Carlos F. Estudo morfológico de folhas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.). **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 33, Porto Velho: EMBRAPA, n. 33, 2006. Disponível em <http://www.cpafrro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/bpd33_cupuacu_.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2011.

FERREIRA, Gilvanete Maria. Estudo das propriedades reológicas do sistema polpa de cupuaçu – biopolímeros. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Escola de Química. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <<http://www.eq.ufrj.br/sipeq/download/sistema-polpa-de-cupuacu-biopolimeros.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2011.

FERREIRA, Gilvanete Maria; GUIMARÃES, Maria José de Oliveira Cavalcanti; MAIA, Maria Cristina Antum. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*T. grandiflorum Schum*) integral. Jaboticabal-SP: **Rev. Bras. Frutic.**, v. 30, n. 2, p. 385-389, 2008. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452008000200020>. Acesso em: 28 mar. 2011.

FRAIFE FILHO, Gilberto de Andrade. Cultivo do cupuaçuzeiro para o estado da Bahia. CEPLAC – Centro de Pesquisas do Cacau – Cepec. Bahia, [20--]. Disponível em <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cupua%C3%A7uzeiro.htm>>. Acesso em: 25 mar. 2011.

FREIRE, Maria Tereza de A. et al. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorum Schum*). **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 1, p. 09-16, 2009. Disponível em <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/html/busca/PDF/v12n1347a.pdf>>. Acesso em: 29 mar. 2011.

GONDIM, Tarcísio Marcos de Souza et al. Aspectos da produção de cupuaçu. Embrapa (Documentos 67). Acre, 2001. Disponível em <<http://catuaba.cpafac.embrapa.br/pdf/doc67.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2011.

FUNDAÇÃO GETÚLIO VARGAS. Instituto Superior de Administração e Economia – ISAE. Projeto Potencialidades Regionais Estudo de Viabilidade Econômica – Cupuaçu. SUFRAMA. Manaus, 2003. Disponível em <www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot.../cupuacu.pdf>. Acesso em: 07 mai. 2011.

KAMINSKI, Paulo Emílio. **O cupuaçu**: usos e potencial para o desenvolvimento rural na Amazônia. Roraima, EMBRAPA, [20--]. Disponível em <www.floraef fauna.com/artigos/o_cupuacu.doc>. Acesso em: 31 mar. 2011.

MOREIRA, Juliana da Silva de Abreu. Desidratação de polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) em estufa com circulação de ar forçado. Dissertação (mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Rio Branco, Acre, 2009. Disponível em <<http://www.ufac.br/portal/unidades-academicas/pos-graduacao/mestrado-em-agronomia-producao-vegetal/dissertacoes/turma-de-2007/juliana-da-silva-de-abreu-moreira-1>>. Acesso em: 01 abr. 2011

MOREIRA, Juliana da Silva de Abreu, et al. Estudo da estabilidade microbiológica e físico-química de polpa de cupuaçu desidratada em estufa. Mossoró: **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 26-32, 2011. Disponível em <www.periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/sistema/article/.../1618/4708>. Acesso em: 30 mar. 2011.

NCBI. Taxonomy Browser, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/>>. Acesso em: 13 dez. 2011.

SEBASTIANY, Estela; REGO, Elizanilda Ramalho; VITAL, Marcos José Salgado. Qualidade microbiológica de polpas de frutas congeladas. São Paulo: **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 68, n. 2, 2009. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552009000200008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 26 mar. 2011.

SANTOS, Cristina Auler do Amaral; COELHO, Ana Flavia Santos; CARREIRO, Solange Cristina. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. Campinas: **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 28, n. 4, p. 913-915, out.-dez. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n4/a23v28n4.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2011.

SILVA, Neusely da et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. Ed. Varela. São Paulo, 2007.