

INCIDÊNCIA DE MICRORGANISMOS CONTAMINANTES EM POLPAS DE FRUTAS COMERCIALIZADAS *IN NATURA* EM FEIRAS LIVRES DA CIDADE DE SÃO LUÍS/MA

ADENILDE RIBEIRO NASCIMENTO*
JOÃO ELIAS MOUCHREK FILHO*
SILVIO CARVALHO MARINHO**
ANDRÉ GUSTAVO LIMA DE ALMEIDA MARTINS***
MARTHA REIS SOUSA****
WALDENIA ASCENÇÃO SOUSA DA SILVA*****
FRANCISCA AMAYA CASTILLO*****
MARLUCY BEZERRA OLIVEIRA*****

O objetivo deste trabalho foi avaliar as condições higiênico-sanitárias de diversos tipos de polpas de frutas comercializadas nas feiras livres de São Luís-MA, Brasil. Realizaram-se as análises de coliformes a 45°C, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* coagulase positiva e bolores e leveduras em 40 amostras adquiridas em feiras livres. Os resultados mostraram ausência de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positiva nas alíquotas das amostras, respectivamente, 25 mL e 0,1 mL. Porém, verificou-se 100% de contaminação por bolores e leveduras e 12% por coliformes a 45°C. Algumas cepas de enterobactérias patogênicas ao homem foram identificadas, dentre as quais *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Erwinia uredovora* e *Proteus mirabilis*.

PALAVRAS-CHAVE: POLPAS DE FRUTAS; COLIFORMES; *Salmonella* sp.; *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA; ENTEROBACTÉRIAS.

- * Professores do Departamento de Tecnologia Química, Pavilhão Tecnológico, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, MA, Brasil (e-mail: adenild@bol.com.br, mouchrek@ufma.br).
** Doutorando em Química Analítica, Universidade Federal da Paraíba (UFPB).
*** Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFPB.
**** Especialista em Tecnologia de Alimentos, UFMA, São Luis, MA.
***** Químicas Industriais, UFMA, São Luis, MA.
***** Graduanda em Química Industrial, UFMA, São Luis, MA.

1 INTRODUÇÃO

As frutas são utilizadas como matéria-prima para a elaboração de diferentes produtos alimentícios, dentre os quais sucos, refrescos, geléias, sorvetes e doces (SANTOS *et al.*, 2004). Dessa forma, a produção de polpas de frutas congeladas tornou-se meio favorável para o aproveitamento integral das frutas na época da safra evitando os problemas ligados à sazonalidade (BARRET, CHITARRA e CHITARRA, 1994).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a polpa de fruta pode ser definida como “produto não-fermentado, não-concentrado, não-diluído, obtido pelo esmagamento de frutas polposas mediante processo tecnológico adequado, com teor mínimo de sólidos totais provenientes da parte comestível do fruto (BRASIL, 2000).

BUENO *et al.* (2002) relatam que o número de indústrias de polpas de frutas tem aumentado por que o produto apresenta características de praticidade, sendo adquirido não só pelas donas de casa, mas também por hotéis, restaurantes, lanchonetes e até hospitais.

A qualidade das frutas constitui fator essencial no processamento das polpas, as quais devem ser sãs, limpas, isentas de matéria terrosa, de parasitas e de detritos de animais ou vegetais. Não podem conter fragmentos das partes não-comestíveis da fruta, nem substâncias estranhas, observando-se também a ausência de sujidades, parasitas e larvas (SANTOS *et al.*, 2004). A importância desses cuidados é fundamental, principalmente pelo aumento dos relatos sobre surtos de infecções humanas associados com o consumo de frutas *in natura*, vegetais e sucos de frutas não-pasteurizados (BEAN *et al.*, 1997; PARISH, 1997).

As bactérias, os bolores e as leveduras deteriorantes fazem parte da microbiota dominante das frutas e dos vegetais. Dentre as espécies de bactérias patogênicas encontradas nesses alimentos estão *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* patogênica e *Clostridium botulinum* produtor de toxina. A contaminação ocorre, principalmente, durante o cultivo, colheita, manipulação, processamento, distribuição e armazenamento (BEUCHAT, 1996).

No intuito de avaliar as condições higiênico-sanitárias das polpas de frutas comercializadas nas feiras livres de São Luís do Maranhão, a presente pesquisa objetivou analisar microbiologicamente diversos tipos de polpas regionais que podem se tornar veículos de toxinfecções.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Coletaram-se no período de julho a setembro de 2004, 40 amostras de polpas de frutas de sabores distintos comercializadas por vendedores em feiras livres da cidade de São Luís-MA. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA) para a realização das análises pertinentes.

Alíquotas de 25 mL de cada amostra foram pipetadas, assepticamente, e transferidas para frascos erlenmeyer, contendo 225 mL de solução salina estéril a 0,85% - diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição foram efetuadas as diluições decimais seriadas até 10^{-5} .

Na determinação do Número Mais Provável (NMP/mL) de coliformes a 45°C utilizou-se a técnica dos tubos múltiplos e Caldo EC. Após a inoculação, os tubos foram incubados em banho-maria por 24 horas. Efetuou-se o cálculo do Número Mais Provável (NMP/mL) de coliformes a 45°C com o auxílio da Tabela de Hoskins (APHA, 2001).

Procedeu-se a identificação das espécies da família Enterobacteriaceae a partir dos tubos positivos do Caldo EC. Realizou-se o plaqueamento nos meios de cultura Ágar Eosina Azul de Metíleno e Agar MacConkey, sendo os tubos incubados a 37°C. Logo após, as colônias foram transferidas para tubos inclinados contendo Ágar Triptona de Soja (Ágar TSA) para serem submetidas aos seguintes testes bioquímicos: indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer, citrato de Simmons, caldo malonato, caldo uréia, sacarose, lactose, manitol, inositol, glicose, rafinose, lisina, ornitina e arginina (APHA, 2001).

Para a pesquisa de *Salmonella* sp. foram homogeneizados 25 mL de

cada polpa reconstituída em 225 mL de água peptonada tamponada. Após incubação a 35°C por 24 horas, alíquotas de 1 mL e 0,1 mL dessa suspensão foram transferidas para 10 mL de Caldo Tetracionato e Rappaport, respectivamente, com incubação a 35°C. Em seguida, semeaduras por esgotamento foram efetuadas em placas de Petri contendo Ágar Rambach e Hektoen. As colônias suspeitas foram isoladas em Ágar TSA e após o período de incubação a 35°C por 24 horas submetidas aos testes bioquímicos (APHA, 2001).

Na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva inoculou-se 0,1 mL de cada diluição na superfície de placas de Petri, contendo Ágar Baird Parker. Em seguida incubaram-se as placas a 35°C por 48 horas. Logo após, as colônias suspeitas foram transferidas para Ágar TSA, incubadas a 35°C por 24 horas e realizados os testes de coagulase (APHA, 2001).

Para a contagem de bolores e leveduras pipetou-se assepticamente 1 mL de cada diluição, distribuindo-as em placas contendo Ágar batata dextrose acidificado a 10% de ácido tartárico. Em seguida incubaram-se as placas a 25°C por cinco dias. As unidades formadoras de colônias foram calculadas de acordo com as diluições (APHA, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 constam os resultados obtidos nas análises microbiológicas das 40 amostras de polpas de frutas.

Não foi detectada contaminação por *Salmonella* sp. ou *Staphylococcus* coagulase positiva em nenhuma das amostras analisadas, respeitadas as alíquotas das amostras indicadas em Material e Métodos. No teste para coliformes a 45°C, 35 das 40 amostras enquadram nos padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA, 2001).

A quantificação de bolores e leveduras evidenciou 100% de contaminação das amostras, variando entre $1,0 \times 10^5$ e $1,1 \times 10^8$, mas a legislação brasileira não estabelece padrões para esses microrganismos (ANVISA, 2001).

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES A 45°C (NMP/g), PESQUISA DE *Salmonella* sp., PESQUISA DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA E CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS (UFC/mL)

Amostras	Coliformes a 45°C (NMP/mL)	<i>Salmonella</i> sp. em 25 mL	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em 0,1 mL	Bolores e leveduras (UFC/mL)
1	23	Ausência	Ausência	$3,6 \times 10^6$
2	<3	Ausência	Ausência	$1,1 \times 10^6$
3	<3	Ausência	Ausência	$3,2 \times 10^6$
4	<3	Ausência	Ausência	$1,8 \times 10^5$
5	<3	Ausência	Ausência	$3,7 \times 10^5$
6	<3	Ausência	Ausência	$1,0 \times 10^5$
7	43	Ausência	Ausência	$2,6 \times 10^5$
8	20	Ausência	Ausência	$6,6 \times 10^5$
9	<3	Ausência	Ausência	$1,2 \times 10^5$
10	<3	Ausência	Ausência	$1,5 \times 10^5$
11	<3	Ausência	Ausência	$2,4 \times 10^7$
12	15	Ausência	Ausência	$3,2 \times 10^7$
13	<3	Ausência	Ausência	$3,2 \times 10^7$
14	<3	Ausência	Ausência	$2,5 \times 10^7$
15	<3	Ausência	Ausência	$1,5 \times 10^7$
16	4	Ausência	Ausência	$4,0 \times 10^7$
17	<3	Ausência	Ausência	$1,3 \times 10^7$
18	<3	Ausência	Ausência	$4,8 \times 10^6$
19	<3	Ausência	Ausência	$2,9 \times 10^7$
20	<3	Ausência	Ausência	$9,0 \times 10^6$
21	240	Ausência	Ausência	$2,2 \times 10^7$
22	7	Ausência	Ausência	$5,0 \times 10^4$
23	<3	Ausência	Ausência	$3,2 \times 10^6$
24	-	Ausência	Ausência	$1,0 \times 10^4$
25	<3	Ausência	Ausência	-
26	<3	Ausência	Ausência	$5,8 \times 10^5$
27	7	Ausência	Ausência	$1,3 \times 10^5$
28	<3	Ausência	Ausência	$1,8 \times 10^5$
29	<3	Ausência	Ausência	$4,5 \times 10^7$
30	<3	Ausência	Ausência	$1,5 \times 10^7$
31	280	Ausência	Ausência	$1,5 \times 10^8$
32	2400	Ausência	Ausência	$1,7 \times 10^8$
33	21	Ausência	Ausência	$6,6 \times 10^7$
34	28	Ausência	Ausência	$5,1 \times 10^7$
35	75	Ausência	Ausência	$9,6 \times 10^7$
36	210	Ausência	Ausência	$1,1 \times 10^8$
37	210	Ausência	Ausência	$3,5 \times 10^7$
38	15	Ausência	Ausência	$2,7 \times 10^7$
39	28	Ausência	Ausência	$2,2 \times 10^8$
40	<3	Ausência	Ausência	$2,0 \times 10^8$
Padrão*	100 NMP/g	Ausência em 25 g	-	-

*Estabelecido pela ANVISA (2001).

Pesquisadores como LEITE *et al.* (2000), NASCIMENTO *et al.* (1999) e FEITOSA *et al.* (1997) estudaram bolores e leveduras em polpas de frutas e todos encontraram altas contagens.

Os resultados verificados no presente trabalho podem representar forte indício de contaminação da matéria-prima, ou condições de armazenamento inadequadas. Segundo FRANCO E LANDGRAF (1996), a presença desses microrganismos nos alimentos pode representar perigo à saúde pública em razão da produção de micotoxinas pelos bolores.

A presença de bactérias do grupo coliformes a 45°C, especialmente *Escherichia coli*, indica provável contaminação dos alimentos com material de origem fecal (FLORENTINO, 1997). Essa contaminação pode estar associada à qualidade da água utilizada no processo, ou com práticas inadequadas de higiene pessoal dos manipuladores (PELCZAR, 1996). Além da importância desses microrganismos como indicadores da contaminação fecal, alguns podem ser responsáveis por diversas doenças como a *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇, considerada grande problema para questões de saúde pública em diversos países (TRABULSI, 1998; BOYCE, SWERDLOW e GRIFFIN, 1998). Essas cepas de *Escherichia coli* patogênica de origem alimentar foram caracterizadas a partir de 1971, embora haja evidências de sua associação com diarréias infantis no século XVIII (JAY, 2000).

Os resultados obtidos corroboram os de SANTOS e MARTINS (1999) que não verificaram a presença de *Salmonella* em 43 amostras de polpas congeladas de diferentes frutos comercializados em Petrolina/PE. No entanto, esses autores constataram contaminação por coliformes.

Identificaram-se espécies de bactérias da família Enterobacteriaceae (Tabela 2) nas amostras das polpas de frutas analisadas. Esses resultados são preocupantes pelo fato das polpas serem utilizadas, basicamente, para a elaboração de sucos e néctares, consumidos sem nenhum tratamento térmico que possa reduzir o número de microrganismos contaminantes.

TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE BACTÉRIAS DA FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE IDENTIFICADAS NAS AMOSTRAS DE POLPA DE FRUTAS COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES DA CIDADE DE SÃO LUÍS-MA

Gêneros isolados	Espécies identificadas	Quantidade (%)
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	24,0
	<i>vulneris</i>	1,1
	<i>blattae</i>	7,1
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes</i>	9,5
	<i>asburiae</i>	2,3
	<i>amnigenus</i>	9,5
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	5,0
<i>Citrobacter</i>	<i>diversus</i>	8,3
	<i>freundii</i>	1,1
<i>Edwardsiella</i>	sp.	7,1
<i>Ewirinia</i>	<i>uredovora</i>	8,3
	<i>amylovora</i>	1,1
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	9,5
	<i>penneri</i>	1,1

4 CONCLUSÃO

As análises realizadas nas polpas de frutas mostraram resultados adequados em relação à ausência de *Salmonella* sp. e de *Staphylococcus* coagulase positiva. Quanto à colimetria, 12% das amostras não se enquadraram nos padrões microbiológicos exigidos pela legislação em vigor, apresentando diversas enterobactérias. Outro grande risco refere-se às altas contagens de bolores e leveduras, sendo que 100% das amostras apresentaram contaminação com contagens suficientes para a produção de micotoxinas. Entretanto, é preciso identificar as cepas produtoras de micotoxinas e considerar as características intrínsecas do produto para avaliar as condições de sua produção.

A comercialização das polpas de frutas nas feiras livres de São Luís/MA denuncia falta de conhecimentos básicos dos vendedores no que

diz respeito à conservação, armazenamento e manipulação do produto, favorecendo a proliferação de inúmeros microrganismos, principalmente os do grupo dos coliformes.

Abstract

INCIDENCE OF MICROORGANISMS THAT CAN CONTAMINATE FRUIT PULP SOLD IN NATURA IN POPULAR FREE MARKETS OF THE CITY OF SÃO LUÍS-MA (BRAZIL)

The aim of this work was to evaluate the sanitary condition of different kinds of fruits pulps merchandized in the popular free markets of the city of São Luís-MA, Brazil. Analysis of the following bacteria were performed: coliforms at 45°C, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* positive coagulase, as well as the presence of moulds and yeast in 40 pulp samples purchased at the cited markets. Results showed the absence of *Salmonella* sp. and *Staphylococcus* positive coagulase. Nevertheless 100% were contaminated by moulds and yeast and 12% contaminated by coliforms at 45°C. Some strains of human pathogenic enterobacteria were identified, such as *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Erwinia uredovora* and *Proteus mirabilis*.

KEY-WORDS: FRUIT-PULP; COLIFORMS; *Salmonella* sp.; *Staphylococcus* POSITIVE COAGULASE; ENTEROBACTERIA.

REFERÊNCIAS

- 1 APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological of foods.** 4th ed. Washington, 2001.
- 2 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de janeiro de 2001. n.7, seção 1, p. 45-53.
- 3 BARRET, R.L.C.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Choque a frio e atmosfera modificada no aumento da vida pós-colheita de tomates: coloração e textura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 1, n. 14, p. 14-26, 1994.
- 4 BEAN, N.H.; GOULDING, J.S.; DANIELS, M.T.; ANGELO F.J. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 1988-1992. **Journal of Food Protection**, v. 60, p. 1265-1286, 1997.

- 5 BEUCHAT, L. R. Pathogenic microorganisms associated to fresh produce. **Journal of Food Protection**, v. 59, p. 204-216, 1996.
- 6 BOYCE, T.G.; SWERDLOW, D.L.; GRIFFIN, P.M. *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ and the hemolytic uremic syndrome. **The New England Journal of Medicine**, v.333, p. 364-368, 1995.
- 7 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 01, de 7 de janeiro de 2000. Aprova padrões de identidade e qualidade para polpas de frutas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 janeiro de 2000, seção 1, p. 54.
- 8 BUENO, S.M.; LOPES, M.R.V.; GRACIANO, R.A.S.; FERNANDES, E.C.B.; GARCIA-CRUZ, C.H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.62, n.2, p. 121-126, 2002.
- 9 FEITOSA, T.; BASTOS, M.S.R.; OLIVEIRA, M.E.B.; MUNIZ, C.R. Perfil microbiológico de polpas de frutas produzidas e comercializadas nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.15, n. 1, p. 65-74, jan/jun. 1997.
- 10 FLORENTINO, E.R.; LEITE JUNIOR, A.F.; SÁ, S.N.; ARAÚJO, M. S. O.; MARTINS, R.S. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande-PB. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 47, p.38-41, jan/fev, 1997.
- 11 FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- 12 JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 6th ed. Maryland: Aspen, 2000.
- 13 LEITE, C.C.; SANTANA, L.R.R.; SILVA, M.D.; SANT'ANNA, M.E.B.; ASSIS, P.N. Avaliação microbiológica de polpas congeladas de frutas produzidas no Estado da Bahia. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n. 78/79, p.69-79, nov./dez. 2000.
- 14 NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK FILHO, V.E; MOUCHREK FILHO, J.E.; CANTANHEDE, F.B. Perfil microbiológico das polpas de acerola (*Malpighia glabra*) e abacaxi (*Ananas comosus*), produzidas e comercializadas na Ilha de São Luís/MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 62, p. 44-47, jun. 1999.

- 15 PARISH, M.E. Public health and nonpasteurized fruit juices. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 23, p. 109-119, 1997.
- 16 PELCZAR, M.J. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill, 1996.
- 17 SANTOS, F.A.; SALLES, J.R.J.; CHAGAS FILHO, E.; RABELO, R.N. Análise qualitativa de polpas congeladas de frutas, produzidas pelo SUFRUTS, MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n. 119, p.14-22, abr. 2004.
- 18 SANTOS, I.A.; MARTINS, S.S. Avaliação microbiológica de polpas de frutas tropicais congeladas fabricadas e comercializadas em Petrolina-PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1999, Salvador-BA. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1999. v.1. p.52.
- 19 TRABULSI, L.C.; CAMPOS, L.C.; RODRIGUES, S.J.; GONÇALVES, A.G. Traditional and non traditional enteropathogenic *Escherichia coli* serogroups. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, n. 27, supl. 1, p.1-6, 1998.