

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Fungos Filamentosos Termorresistentes em Linha de
Esterilização “Comercial” e Envase Asséptico de
Suco de Abacaxi

DELIO GUERRA FILHO



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

FUNGOS FILAMENTOSOS TERMORRESISTENTES EM
LINHA DE ESTERILIZAÇÃO "COMERCIAL" E ENVASE
ASSÉPTICO DE SUCO DE ABACAXI

DELIO GUERRA FILHO

Sob a Orientação do Doutor
Amauri Rosenthal

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em
Ciências e Tecnologia de Alimentos,
Área de Concentração em Ciências de
Alimentos.

Seropédica, RJ.
Setembro de 2002

663.63
G934-4
T

Guerra Filho, Delio

Fungos Filamentos Termorresistentes em Linha de Esterilização
"Comercial" e Envase Asséptico de Suco de Abacaxi/tese. Seropédica. Rio
de Janeiro. UFRRJ. Instituto de Tecnologia. 2002.

xv. nº f: 53

Orientador: Amauri Rosental

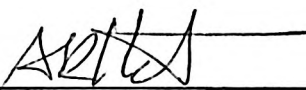
I. Pesquisador-Engenheiro de Alimentos. II. Embrapa. Instituto. III. PhD

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

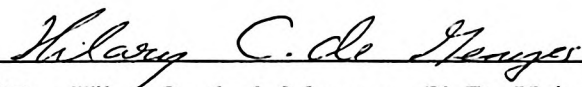
DELIO GUERRA FILHO

Dissertação/Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimento, área de Concentração em Ciências de Alimento, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TESE APROVADA EM 16/07/2002



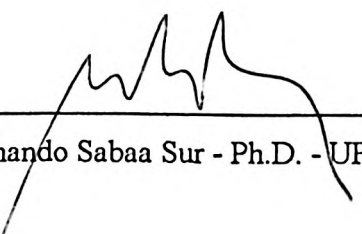
Amauri Rosental - Ph.D - Embrapa
(Orientador)



Profª Dra. Hilary Castle de Menezes – Ph.D - Unicamp



Profª Dra. Rosa Luchese - Ph.D - UFRRJ



Prof. Dr. Armando Sabaa Sur - Ph.D. - UFRJ

A minha esposa pelo amor, dedicação, incentivo e apoio.

As minhas filhas pelo estímulo e carinho.

Aos demais familiares com muito amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS pela força para concluir tal trabalho.

Ao Dr. Amauri Rosental pela orientação e incentivo.

Ao pessoal do laboratório da EMBRAPA – Agroindústria de Alimentos, pela convivência e ajuda no que foi preciso. Em especial a Eng^a Simone Duarte, Eng^o Antonio Xavier, Eliane Santos da Rocha, pesquisador Otaniel Freitas, técnico Ivan Alcântara, auxiliar de laboratório Luiz Martins (bigode) e ao pessoal de apoio e oficinas.

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões.

Aos funcionários do laboratório de termobacteriologia da UNICAMP, a professora Dr^a Pilar Rodrigues, a técnica Rosa Maria Tavares (rosinha), a professora Cristiana Pacheco e aluna de mestrado Vanessa.

À FUNCAMP pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que diretamente ou indiretamente acreditaram em meu propósito.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2 1 Aspectos Botânicos e Características do Fruto.....	03
2 1 1 Grupo cayenne.....	03
2 1 2 Grupo Pernambuco	04
2 1 3 Fisiologia pós – colheita.....	06
2 2 Industrialização.....	06
2 2 1 Matéria prima.....	06
2 3 Processamento	08
2 3 1 Processamento da polpa - “Crush”	08
2 3 2 Processamento do suco.....	09
2 3 3 Sucos concentrados	10
2 3 4 Características do suco concentrado comercial.....	11
2 4 Aspectos Microbiológicos	12
2 4 1 Classificação dos alimentos em função do pH	13
2 4 2 Fungos Filamentosos e Leveduras.....	13
2 4 3 Bactérias Láticas	15
2 4 4 Alicyclobacillus	15
2 5 Processamento Térmico.....	16
2 5 1 Cinética de degradação térmica.....	17
2 5 2 Destruição térmica.....	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3 1 Procedência das Amostras.....	23
3 1 1 Pontos de amostragem na linha de suco de abacaxi	23
3 2 Análises Físico e Químicas.....	23
3 2 1 Açúcares totais e redutores.....	23
3 2 2 Proteína bruta.....	25
3 2 3 Cinzas.....	25
3 2 4 Sólidos solúveis ou Brix.....	25
3 2 5 Acidez titulável.....	25
3 2 6 "Ratio".....	25
3 2 7 pH.....	25

3 2 8 Vitamina C.....	25
3 2 9 Turbidez.....	25
3 3 Análises Microbiológicas.....	26
3 3 1 Fungos filamentosos e leveduras.....	26
3 3 2 Fungos filamentosos termorresistentes.....	26
3 3 2 1 Determinação do tempo de aquecimento.....	27
3 3 2 2 Esporulação.....	27
3 3 2 3 Coletas dos esporos.....	27
3 3 2 4 Aplicação de choques térmicos para seleção do fungo filamentoso mais termorresistente.....	27
3 3 2 5 Condições ótimas de ativação dos ascósporos... ..	27
3 3 2 6 Termorresistência dos ascósporos.....	28
3 3 3 Bactérias lácticas.....	29
3 3 4 <i>Alicyclobacillus sp.</i>	29
3.3.5 Coliformes fecais.....	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1 Análises Físico e Químicas dos Sucos e Matéria-prima.....	31
4.2 Análise da Microbiota Proveniente das Amostras de Suco Abacaxi.....	34
4.2.1 Fungos filamentosos não termorresistentes e leveduras.....	34
4.2.2 Fungos filamentosos termorresistentes.....	35
4.2 3 Bactérias Lácticas... ..	36
4.2.4 <i>Alicyclobacillus</i>	36
4.2.5 Coliformes Fecais e Totais... ..	36
4.3 Seleção do Isolado Fúngico mais Termorresistente	37
4.4 Resistência Térmica do Isolado Fúngico mais Termorresistente.....	38
5 CONCLUSÕES.....	43
6 SUGESTÕES.....	44
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
8 ANEXOS.....	51

TABELAS

Tabela 1 – Principais Características de Abacaxizeiro, Grupos “Cayenne” e “Pernambuco”	04
Tabela 2 – Principais Variedades de Abacaxizeiro Presentes em Diversos Países, dos Grupos “Cayenne” e “Pernambuco”	05
Tabela 3 - Composição Química do Abacaxi das Variedades Pérola ou Branco de Pernambuco e Smooth Cayenne no Estado Verde e Maduro.....	07
Tabela 4 – Composição Química dos Valores Nutritivos do Abacaxi Fresco e Maduro	08
Tabela 5 – Resumo das Análises Efetuadas Durante os 3 Anos em Sucos Concentrados.....	12
Tabela 6 – Resistência Térmica de vários Constituintes dos Alimento.....	20
Tabela 7 – Condições dos Choques Térmicos Realizados nos Fungos Filamentosos.....	28
Tabela 8 – Condições de Ensaio em Tubos TDT	29
Tabela 9 - Análises Físico e Químicas – Valores Médios	31
Tabela 10 – Códigos dos fungos filamentosos termorresistentes e limite de sobrevivência.....	37
Tabela 11 – Regressão dos Dados para Cálculo do Valor de D	39
Tabela 12 - Regressão dos Dados para o Cálculo do Parâmetro “a”.....	40
Tabela 13 – Regressão da Curva Linearizada de Alderton & Snell	41

FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma de Produção de Suco Concentrado de Abacaxi.....	10
Figura 2 – Produção do Suco de Abacaxi	24
Figura 3 - Variação do Brix com o Processamento do Suco de Abacaxi.....	32
Figura 4 - Variação do pH com o Processamento do Suco de Abacaxi	32
Figura 5 - Teor de Ácido Cítrico no Suco de Abacaxi	33
Figura 6 - Variação do Ratio no Suco de Abacaxi	33
Figura 7 - Variação do Teor de Vitamina C com o Processamento do Suco de Abacaxi	34
Figura 8 - Enumeração de Fungos Filamentosos não Termorresistentes e Leveduras, em Amostras de Linhas de Suco de Abacaxi.....	34
Figura 9 - Enumeração de Fungos Filamentosos Termorresistentes em Linha de Suco de Abacaxi.....	35
Figura 10 - Enumeração de Bactérias Lácticas em Linha de Suco de Abacaxi	36
Figura 11 - Curva Experimental de Sobrevivência do L6AP2A.....	38
Figura 12 - Gráfico para o Cálculo do Parâmetro "a".....	40
Figura 13 - Curva Linearizada de Alderton & Snell.....	41

ABREVIações

FDA – Food Drug Administration

UFFVA – United Fresh Fruit & Vegetable Association

TRT – Tempo Redução Térmica

TMT – Tempo Morte Térmica

MP – Matéria Prima

CIP – Cleaning in Place

AP – Água de Preparo

PA – Produto antes da Pasteurização

PF – Produto Final

P₃M – Produto com 3 Meses de Armazenamento

BDA – Agar Batata Dextrose

MEA – Agar Extrato Malte

MRS – de Man Rogosa e Sharpe

OSA – Orange Serun Agar

Tween – Polioxetileno sorbitan monolaureato

BAM – Meio Bacillus Acidoterestris

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

R E S U M O

Guerra Filho, Delio - **Fungos Filamentosos Termorresistentes em Linha de Esterilização “Comercial” e Envase Asséptico de Suco de Abacaxi**, Seropédica: UFRRJ, 2002. 53p. (Dissertação, Mestrado em Ciências dos Alimentos)

Este trabalho objetivou a determinação dos parâmetros cinéticos de resistência térmica do fungo mais termorresistente isolado de uma linha industrial de “esterilização comercial” e envase asséptico de suco de abacaxi. Para tanto foram coletadas várias amostras, proveniente de 6 lotes de produção, em diferentes pontos de amostragem em uma indústria processadora de suco. Inicialmente foi efetuado a enumeração e o isolamento dos bolores termorresistentes em cada amostra de produto final, bem como de outros pontos da linha de processo. Numa segunda etapa foi selecionado o isolado mais termorresistente a parti de choques térmicos em condições cada vez mais intensas. O isolado de maior resistência sobreviveu à temperatura de 100 °C por até 5 minutos. A terceira fase consistiu na determinação da resistência térmica em tubos TDT nas temperaturas de 85, 90, 95 e 98 °C, por tempos variáveis. Com os dados cinéticos obtidos foi calculado o valor D, conforme linearização da curva de Alderton, sendo comparado à efetividade do processo baseado em tal dado com o nível de sobrevivência microbiana de fato verificada nas amostras coletadas.

Palavras chaves: Fungos filamentosos, termorresistência, envase asséptico, abacaxi

ABSTRACT

GUERRA FILHO, Delio. **Heat Resistant Mold in Aseptically Processed Commercial Pineapple Juice** - Seropédica: UFRRJ, 2002. 53p. (Dissertation, Master Science in Food)

This research aimed at determining the kinetic parameters of heat resistant molds isolated from commercial pineapple juice. Samples were collected at different points of an aseptic industrial line. The first step was to count isolate heat resistant molds from each sample of final product and from the samples taken at the different points. The most resistant mold isolate was selected based on its resistance in terms of time x temperature. The most resistant mold survived a heat treatment of 100° C for up to 5 minutes. The last stage was the determination of the heat resistance of the most resistant mold in thermal death tubes under different temperatures of 85, 90, 95 and 98° C, using various times at each temperature. The "D" parameters were calculated from the kinetic data according to the thermal curve linearization based on Alderton. The effectiveness of the industrial heat process was evaluated based on the kinetic parameters and the molds survival in the samples collected.

Key word: molds, heat resistance, processing aseptically, pineapple

1 INTRODUÇÃO

A planta de abacaxi, botanicamente conhecida pela denominação de *Ananas Comosus* (L) Merrill, pertence à Família Bromeliáceas e teve sua origem no Brasil ou no Paraguai, tendo se disseminado na América Central, antes de ser introduzido na Europa. É cultivado em países de clima tropical e subtropical, destacando-se o Brasil, Havai, Taiwan, Malásia, Austrália, Filipinas, China, Índia, Tailândia e alguns países da África (CARVALHO, 1994).

O abacaxi é, em termos folclóricos, considerado, em certas regiões, a “rainha das frutas”, não apenas por possuir uma coroa que lhe adorna o ápice, mas também pelo seu sabor, por seu aroma e pelas qualidades nutritivas de sua polpa e de seu suco. Foi, talvez, com base nessas qualidades que os índios guaranis denominaram esta fruta de “ananás”, que em seu idioma significa “a” = fruta e “nana” = excelente (MONTENEGRO & CANTARELLI, 1983).

Apresenta sua polpa sucosa e ligeiramente ácida, sendo muito apreciada e consumida “in-natura” não somente nas regiões produtoras, bem como em diversos países que a importam. Apesar da classificação como não climatério trata-se de uma fruta que pode ser colhida em diferentes estágios de maturação, normalmente chegando em boas condições de conservação e consumo, mesmo aqueles situados em regiões não tão próximos à região produtora. Pode ser industrializado na forma de compota, consistindo no denominado abacaxi em calda, apresentando-se fatiado, em pedaços ou em cubos. Outros derivados obtidos da fruta são também encontrados no mercado, tais como geléias e sucos, estes últimos podendo ser concentrados ou não. Os princípios básicos que se aplicam à preservação dos produtos manufaturados de abacaxi são praticamente idênticos aos demais produtos de frutas de características ácidas (KATO et al, 1975).

As variedades de abacaxi de maior valor comercial são: Smooth Cayenne, Red Spanish, Queen, Singapore Spanish e Selangor Green. No Brasil, apesar do grande número de variedades cultivadas no mundo, são encontrados somente a Smooth Cayenne e a Pérola ou Pernambuco (COUTO, 1981).

A cultura do abacaxi reveste-se de grande importância para a economia brasileira, quando se verifica a possibilidade de expansão do seu cultivo na região do cerrado, a ampliação de sua industrialização e o incremento na exportação (MOURA, 1981).

A qualidade do abacaxi e de seu suco depende de um número de fatores importantes, como: variedade, tipo de adubação, tempo de exposição à luz, tempo/intensidade de luz, temperatura diurna e noturna, chuva/irrigação, estação do ano, estágio de maturação, ausência de manchas, insetos ou doenças (TRESSLER & JOSLYN, 1971).

Duas regulamentações foram propostas pela Food Drug Administration (FDA) em abril de 1998, destinadas a promover a segurança dos sucos de frutas não pasteurizados, assegurando uma redução de 5 ciclos do número de microrganismo patogênicos no produto final, quando comparados com o nível de contaminação inicial. Estas regulamentações estão sendo aplicadas nas plantas processadoras nos E.U.A. e também nos processadores do exterior que vendem seus produtos aos E.U.A. Sendo assim, as indústrias produtoras brasileiras de suco estão procurando adequar seus processos de produção para ficarem aptas a competirem no mesmo nível de segurança que as demais do mercado internacional.

O mercado de sucos prontos, em 1999, foi de 206 milhões de litros. A venda de embalagens para sucos, neste período, alcançou 270 milhões de unidades, sendo que a participação do suco de abacaxi foi de 9% desse total. Por outro lado, a produção de sucos prontos para beber, em 1998, atingiu 65,7 milhões de litros, correspondendo uma cifra de US \$ 109,9 milhões, na qual o suco de abacaxi participou em 5,3%. Dessa forma, podemos observar um incremento, em apenas um ano, de 140,3 milhões de litros de sucos (TETRA PAK –2002).

A produção nacional de abacaxi é quase toda direcionada para o mercado interno, em que predomina o consumo “in natura”, sendo uma pequena parte destinada à industrialização. Em 2000 a exportação alcançou cerca de 16.023 toneladas, que corresponde a um valor de US\$ 4 milhões (Fonte Secex/DTIC).

Este trabalho apresenta o estudo da microbiota, abrangendo enumeração de bactérias lácticas, fungos não termorresistentes e leveduras, *Alicyclobacillus*, coliformes totais e fecais e principalmente fungos termorresistentes em suco de abacaxi. Visando assegurar a qualidade do suco processado termicamente, foi efetuado o isolamento e a caracterização da termorresistência do fungo de maior resistência.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos Botânicos e Características do Fruto

O Abacaxizeiro, *Ananas Comosus* (L) Merrill, da família das Bromeliaceae, é uma planta herbácea, semiperene, podendo ser epífita ou terrestre. Os que produzem frutos de maior valor comercial pertencem aos gêneros *Ananas* e *Pseudoananas*, que se diferenciam dos demais desta família por apresentarem um fruto do tipo sincarpo, formado pela coalescência dos frutos individuais, das brácteas adjacentes e do eixo da inflorescência, enquanto nos outros gêneros os frutos permanecem livres (SILVA, 1997).

O fruto do abacaxizeiro é uma infrutescência do tipo sorose formada pela concrecência de um grande número de frutos simples, os frutílios, tipo baga, inseridos em uma haste central ou miolo em disposição espiralada e intimamente soldados uns aos outros.

A parte comestível é constituída por uma polpa suculenta, formada pelos ovários, bases das sépalas e das brácteas, e pelo córtex do eixo. Logo abaixo da casca encontra-se o lóculo da flor que são em número de três por frutílio e, caso haja sementes, estas estarão nestes lóculos. Esses são fatores de depreciação do fruto e, quando profundos, seus espaços diminuem a massa da polpa do fruto, o vaso da flor do abacaxizeiro. A coroa, formada por um tufo de folhas no ápice do fruto, quando o mesmo está maduro, entra em repouso e só continua a desenvolver quando for plantada (SILVA, 1997).

A escolha de cultivares depende da finalidade da produção, ou seja, se o consumo será "in-natura" ou na forma industrializada, sob a forma de rodela ou sob a forma de sucos, geléias e outras formas, e se atenderá o mercado interno ou externo. Quando se trata de abacaxi para ser consumido "in natura", deve-se conhecer as exigências do consumidor, avaliando-se as características do fruto, como o tamanho ou peso, a forma, a coloração externa, a cor da polpa, o teor de açúcares e a acidez.

Os abacaxizeiros que produzem frutos de valor comercial pertencem à espécie *Ananás Comosus* (L) Merrill, existindo mais de 150, que se reúnem em 5 grupos distintos: Cayenne, Spanish, Queen, Pernambuco e Perolera - maipure (SILVA, 1997).

2.1.1. Grupo cayenne

O Grupo Cayenne é considerado o principal grupo cultivado no mundo, compreendendo cerca de 70% da produção mundial. Suas variedades apresentam características consideradas adequadas ao mercado internacional, bem como à industrialização, especialmente sob a forma de abacaxi em caldas.

A principal variedade é a "Smooth Cayenne", denominada no Brasil de Caiena, Liso, Havaiana ou Ananás. As Tabelas 1 e 2 apresentam as características dos cultivares mais utilizados no Brasil e suas variedades.

Sua fruta apresenta forma cilíndrica com 1,5 – 2,5 Kg, polpa amarela, elevado teor de açúcar e média acidez, coloração externa amarelo - alaranjada e um pouco fibrosa. O consumidor brasileiro faz restrições ao consumo natural desta variedade (SILVA, 1997), considerando-a "azedada", sendo, porém, a principal variedade em termos de industrialização e exportação.

2.1.2. Grupo pernambuco

Neste grupo se destaca a variedade “Pérola”, também denominada de “Pernambuco” ou “Branco de Pernambuco”, que tem a preferência do consumidor brasileiro em seu estado natural.

Tabela 1 – Principais Características de Abacaxizeiro, Grupos “Cayenne” e “Pernambuco”

Características	Grupo	Grupo
	Cayenne	Pernambuco
Filhotes	Cultivares com e sem filhotes	Numerosos
Rebentões	Alguns	Raros
Comprimento das folhas	Relativamente Curtas	Longas
Espinhos	Apenas nas extremidades	Em toda superfície
Pedúnculo	Relativamente Curto	Mais longo que Cayenne
Peso médio do fruto	Elevado	Menor que Cayenne
Forma do Fruto	Cilíndrica	Cônica
Olhos	Grandes e chatos	Pequenos e proeminentes
Coloração da Polpa	Amarelo pálido	Branca
Teor de Açúcar	Elevado	Menor que Cayenne
Acidez	Elevada	Menor que Cayenne

Fonte: SILVA(1997)

Seu fruto apresenta forma cônica pesando de 1 – 1,5 Kg, possui polpa branca, muito suco, pouca acidez e coroa grande. Não apresenta característica para industrialização, embora seja processado por certas indústrias. Sua forma externa e sua

coloração esverdeada na casca não atendem aos padrões exigidos pelo mercado internacional.

No cultivo desta variedade apareceu uma mutação que os agricultores estão denominando de variedade Jupi, que tem alcançado boa aceitação no mercado nacional, pois sua planta se assemelha ao Pérola e seu fruto apresenta forma cilíndrica, considerada uma característica superior quando comparada à cônica (SILVA, 1997).

Tabela 2 – Principais Variedades de Abacaxizeiro Presentes em Diversos Países, dos Grupos “Cayenne” e “Pernambuco”

Grupo Cayenne		Grupo Pernambuco	
Países	Variedades	Países	Variedades
Havai	Champaka 133	Brasil	Perola
	Champaka 180		Paulista
	Hilo		Boituva
	F – 200		Jupi
	59 – 656		
África do Sul	Cayenne	África Ocidental	Abacaxi
	Africa do Sul	América Central	Pão de Açúcar
Guiné e África Ocidental	G- 25	Florida	Eleuthera
	G –32		
	Cayenne de Guiné		
	Cayenne de Guadalupe		Piña de Valera
Antilhas	São Domingos	Venezuela	Venezolana
	Champaka		Papelon
Australia	Queesland		
Cuba	Cayenne do Oriente		
Índia	Kew		

Fonte: SILVA(1997)

2.1.3. Fisiologia pós - colheita

A classificação do fruto do abacaxi como não climatérico ainda não está bem definida, pois apresenta comportamento e reações metabólicas típicas dos frutos climatéricos. As certas características dos frutos são típicas de não climatéricos como, por exemplo, amadurecimentos mais lentos, necessidade de um intervalo maior de tempo para completar o processo, sem mudança súbita na sua demanda de energia. De modo geral, em condições ambientes normais, os cultivares Pérola e Smooth Cayenne apresentam respectivamente índices de respiração entre 10 – 75 e 60 – 110 mg CO₂/Kg/h (SILVA, 1997).

Durante o desenvolvimento e nas fases de amadurecimento dos frutos ocorrem mudanças nas características físico-químicas, incluindo o aumento acentuado no Brix, dos teores de carotenóides e açúcares redutores, seguido de uma diminuição da acidez da polpa (CARVALHO & CLEMENTE, 1981). Estas modificações conduzem os constituintes a teores responsáveis pelo ponto ótimo de colheita do fruto, o qual estará enquadrada nos padrões de qualidade exigidos, quer para o consumo "in-natura", quer para a industrialização.

2.2. Industrialização

2.2.1. Matéria prima

Devido a grande comercialização do abacaxi no mercado interno e no externo, como também destinado à indústria de processamento, os produtores devem ter em mente a preocupação em manter um determinado padrão de qualidade. Para isto é necessário observar as seguintes características na fruta (BLEINROTH, 1985):

I – Aspectos Físicos

a) Cor

A cor revela nas frutas o seu grau de maturação e apesar de ser uma observação subjetiva, permite distinguir a qualidade do produto. A fruta deverá apresentar uma coloração uniforme, característica de amadurecimento parcial, o que é desejável.

b) Tamanho

Sua uniformidade é bastante importante, pois esta reflete no rendimento e na regulação dos equipamentos de processo. Devem ser observados os comprimentos, o diâmetro, o peso específico – real e aparente, e o peso total da fruta.

c) Forma

A forma afeta principalmente o descascamento mecânico e conseqüentemente o seu rendimento, devendo a fruta ser cilíndrica para evitar uma perda de polpa excessiva nesta etapa operacional. A variedade Smooth Cayenne apresenta frutas mais uniformes e cilíndricas do que a Pérola, o que facilita muito o trabalho das ginacas.

II – Aspectos químicos

É importante conhecer as características físico-químicas, pois elas influenciam no sabor e variam de acordo com as condições climáticas e também com as estações do ano. Portanto, é conveniente saber as seguintes características químicas e físicas para caracterização do fruto: pH, teor de sólidos solúveis, acidez total titulável, relação Brix/acidez total, teor de açúcares redutores e totais, bem como o teor de vitamina C (KATO, et al., 1975).

Pelo fato da fruta ser constituída de 100 a 200 pequenas bagas ou frutinhos, fundidos entre si sobre o eixo central ou âmago, formando a grande infrutescência, ela não apresenta uniformidade em relação à composição química de suas diversas partes (BLEINROTH, 1985).

O valor nutricional das frutas de abacaxi depende, principalmente, dos seus teores de açúcares solúveis, das vitaminas e dos sais minerais presentes, uma vez que a presença de proteínas, aminoácidos e de lipídios são relativamente baixos. O teor de nitrogênio total no suco de abacaxi é constante e situa-se em torno de 500 mg por litro, sendo encontrado sob a forma nítrica e amoniacal e, em pequenas proporções, sob a forma orgânica. As vitaminas estão presentes em uma grande variedade, porém em pequenas quantidades na maioria delas. A polpa do abacaxi é constituída de pró - vitaminas insolúveis, que fazem parte do material corante da mesma, os carotenóides, e parte das vitaminas hidrossolúveis, tais como a tiamina, riboflavina, nicotinamida, ácido ascórbico e ácido pantotênico.

A composição da cinza do fruto do abacaxi, diferentemente daquilo verificado em relação à cinza da folha, sofre bastante influência da composição do solo, (BLEINROTH, 1985).

Os açúcares do abacaxi representam uma fração muito importante na parte comestível, correspondendo a cerca de 9 a 10 % da matéria seca do seu suco. Dos açúcares existentes, 66% são de sacarose e o restante, frutose e glicose. BLEINROTH (1985) relatou resultados de análises das transformações ocorridas durante o amadurecimento com os açúcares e ácidos orgânicos nas frutas, das variedades Pérola ou Branco de Pernambuco e Smooth Cayenne, que são mostradas na Tabela 3. Na Tabela 4 é mostrada uma análise da composição em minerais e vitaminas, publicada pela United Fresh Fruit & Vegetable Association, mencionada em BLEINROTH (1985), sem especificar a variedade.

Tabela 3 - Composição Química do Abacaxi das Variedades Pérola ou Branco de Pernambuco e Smooth Cayenne no Estado Verde e Maduro.

Composição	Pérola		Smooth Cayenne	
	Fruta	Fruta	Fruta	Fruta
	Verde	Madura	Verde	Madura
pH	3,6	4,15	3,20	3,70
Brix	11,6	16,2	11,6	18,2
Acidez total(% ácido cítrico)	0,81	0,35	0,96	0,47
Açúcares redutores(%)	2,82	5,06	4,16	5,35
Açúcares totais(%)	9,73	15,01	9,85	16,17
Vitamina C				
(ácido ascórbico mg/100g)	32	9	17	10

Fonte: BLEINROTH.E(1985)

A acidez do abacaxi varia muito, segundo as variedades, o seu estado de maturação e os outros fatores já mencionados, sendo um dos elementos muito importante no sabor da fruta e suco. Os principais ácidos responsáveis pela acidez são o cítrico, representando cerca de 87% da fruta madura, e o málico, com 13%. Quando expressa em termos de ácido cítrico anidro, a acidez média é de 0,78, tendo como máximo 1,11 % e um mínimo de 0,39% (BLEINROTH, 1985).

2.3. Processamento

Conforme mencionado anteriormente, o suco e o “crush” eram considerados por muitas indústrias até certo tempo atrás como subprodutos da produção de fatias e das extremidades do fruto que sobram da operação da ginaca, sendo tais subprodutos submetidos à erradicação da polpa para obtenção do suco, enquanto os resíduos gerados eram destinados à fabricação de ração e, eventualmente, de álcool.

Ainda hoje, a fruta em calda e o seu suco são os dois principais produtos da industrialização do abacaxi.

2.3.1. Processamento da Polpa - “Crush”

O material das linhas de produção das frutas em calda, geralmente formada por pedaços de tamanhos diversos fora da especificação para envase, e mais a parte da polpa erradicada da casca e as extremidades das frutas, eram comumente matérias-primas para a produção do “crush” (DE MARTIN et al., 1985).

Tabela 4 – Composição Química dos Valores Nutritivos do Abacaxi Fresco e Maduro

Composição	U.F.F.V.A.*	Watt & Merrill**
Água (%)	85,3	--
Calorias	52,0	123,0
Proteína (g/100g)	0,4	0,9
Matéria graxa(g/100g)	0,2	0,5
Carboidratos(g/100g)	13,7(incluído 0,4 de fibra)	32,3
Cinzas(g/100g)	0,04	--
Cálcio(mg/100g)	17,0	40,0
Fósforo(mg/100g)	8,0	19,0
Ferro(mg/100g)	0,5	1,2
Sódio(mg/100g)	1,0	2,0
Potássio(mg/100g)	146,0	344,0
Magnésio(mg/100)	13,0	--
Vitamina A (U.I.)	70	170
Tiamina(mg/100g)	0,09	0,21
Riboflavina(mg/100g)	0,03	0,06
Niacina(mg/100g)	0,2	0,6
Ácido ascórbico(mg/100g)	17,0	40,0

*U.F.F.V.A = United Fresh Fruit & Vegetable Association

**Agriculture Handbook nº 6 December 1963 - Fonte: BLEINROTH(1985)

Os pedaços que passam pelo picador, “crushing machine”, eram reduzidos em frações de tamanho previamente estabelecido. A seguir eram submetidos ao aquecimento, de 90 – 91 °C, para inativação das enzimas, onde ocorreria liberação de uma certa quantidade de suco, que drenado era enviado para fabricação de suco.

A etapa seguinte consistia em adicionar xarope, 18 – 22° Brix, com objetivo de dar ao produto um teor de açúcar necessário, evitando a separação das fases, sempre mantendo a temperatura em torno de 90°C e, em seguida, o produto era envasado e pasteurizado. O “crush” de abacaxi continua ser um produto muito usado na culinária, principalmente em confeitaria e sobremesas diversas.

Atualmente, as indústrias processam o suco diretamente a partir do fruto.

2.3.2 - Processamento do suco

Para o processamento do suco, dentro de uma indústria que trabalhe com todos os tipos de enlatados de abacaxi, a matéria prima utilizada é da mesma qualidade para todos os derivados.

A variedade Smooth Cayenne é a mais utilizada, pois tem a preferência do mercado internacional, devido suas características de cor, acidez e formato, que é mais adequado para a industrialização. Entretanto, no Brasil, a indústria do nordeste tem usado também a variedade Pérola no processamento de suco (DE MARTIN et al., 1985), enquanto que no sudeste tem-se utilizado quase que somente a Smooth Cayenne.

Podemos descrever as principais etapas do processamento da seguinte forma:

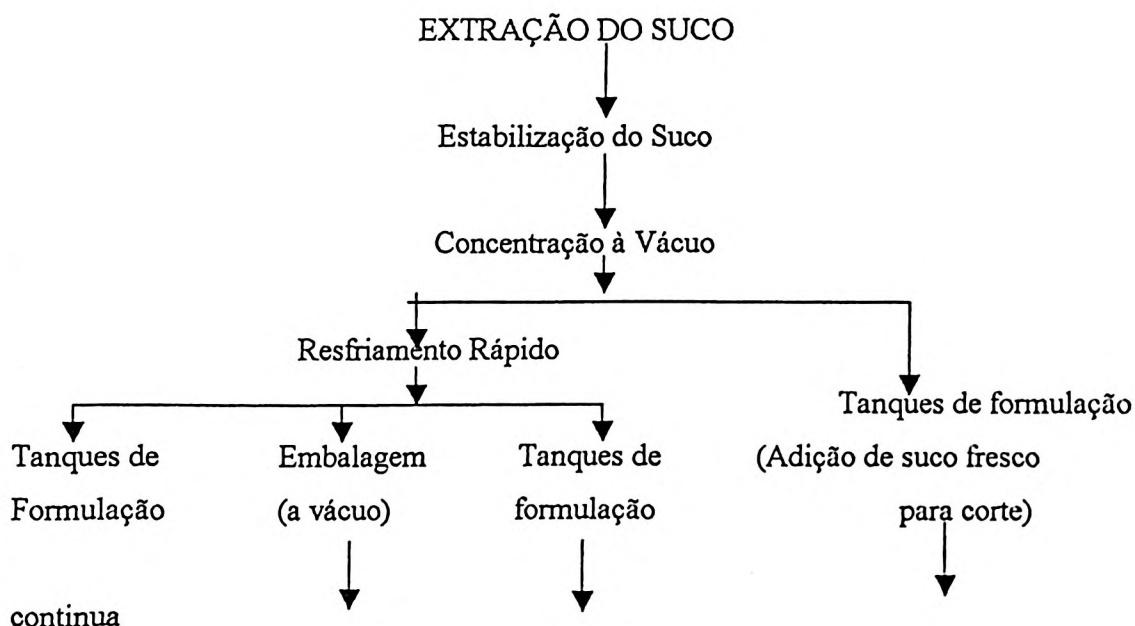
- A) Inspeção – a inspeção da qualidade deve ser feita em todos os constituintes do suco gerado.
- B) Primeiro Estágio de Prensagem – deve ser usada para remoção do suco propriamente dito. Nesta operação ocorre a geração das partículas finas que mais tarde devem ser removidas para não interferirem na qualidade do suco.
- C) Extração - produtos dos desintegradores/extratores geram um líquido que é levado para o tanque formando uma polpa grossa, que é levada para a etapa seguinte.
- D) Segundo Estágio de Prensagem – usada para separar a parte sólida remanescente no suco.
- E) Mistura – os sucos oriundos dos constituintes líquidos e da etapa anterior são misturados. Os tanques de misturas devem ser desaerados a frio com nitrogênio. Nesta etapa deve ser eventualmente adicionado um antiespumante, para facilitar a saída do ar e, em alguns casos, antioxidantes, ou os sucos podem ainda passar por um branqueamento.
- F) Aquecimento – como o suco é proveniente de várias fontes, é necessário um aquecimento, em trocadores de calor, aproximadamente a 60 °C.

- G) Acabamento – O suco quente é passado em centrífugas para remoção das fibras e de outros materiais que possam comprometer a qualidade do suco. O controle da quantidade e das características dos sólidos em suspensão é fator importante na qualidade do produto final.
- H) Pasteurização – Após a mistura, o suco pode ter duas alternativas de pasteurização:
- 1) Na primeira alternativa o suco passa diretamente para a máquina de envasar a uma temperatura de 60 °C, onde recebe a pasteurização final. Geralmente é feito em um tambor de cozimento e resfriamento. O tempo de processamento varia com o tamanho da embalagem, em uma temperatura não inferior a 88 °C.
 - 2) Na segunda alternativa, o suco é levado a um pasteurizador, com uma temperatura de 91°C, sendo mantido por 1 a 3 minutos e resfriado em seguida (TRESSLER & JOSLYN, 1971). Aplicações de temperaturas, até 100 °C, por menor tempo têm sido verificadas em certas indústrias.

2.3.3. Sucos concentrados

O fluxograma de produção do suco concentrado é o apresentado na Figura 1 (DE MARTIN et al., 1985), sendo um passo seguinte da operação de centrifugação como mostrado nesta figura. A primeira etapa de concentração é a retirada do material volátil, os aromáticos, que no final pode ser adicionado ao suco. Os evaporadores podem ser de baixa temperatura ou de alta temperatura com curto tempo de residência.

O concentrado é produzido como um produto, onde o teor de água pode ser reduzido nas seguintes proporções: 3 para 1, possuindo cerca de 46,5° Brix; 4,5 para 1, com 61° Brix ou 6 para 1, com 72° Brix (TRESSLER & JOSLYN, 1971).



continuação Figura 1

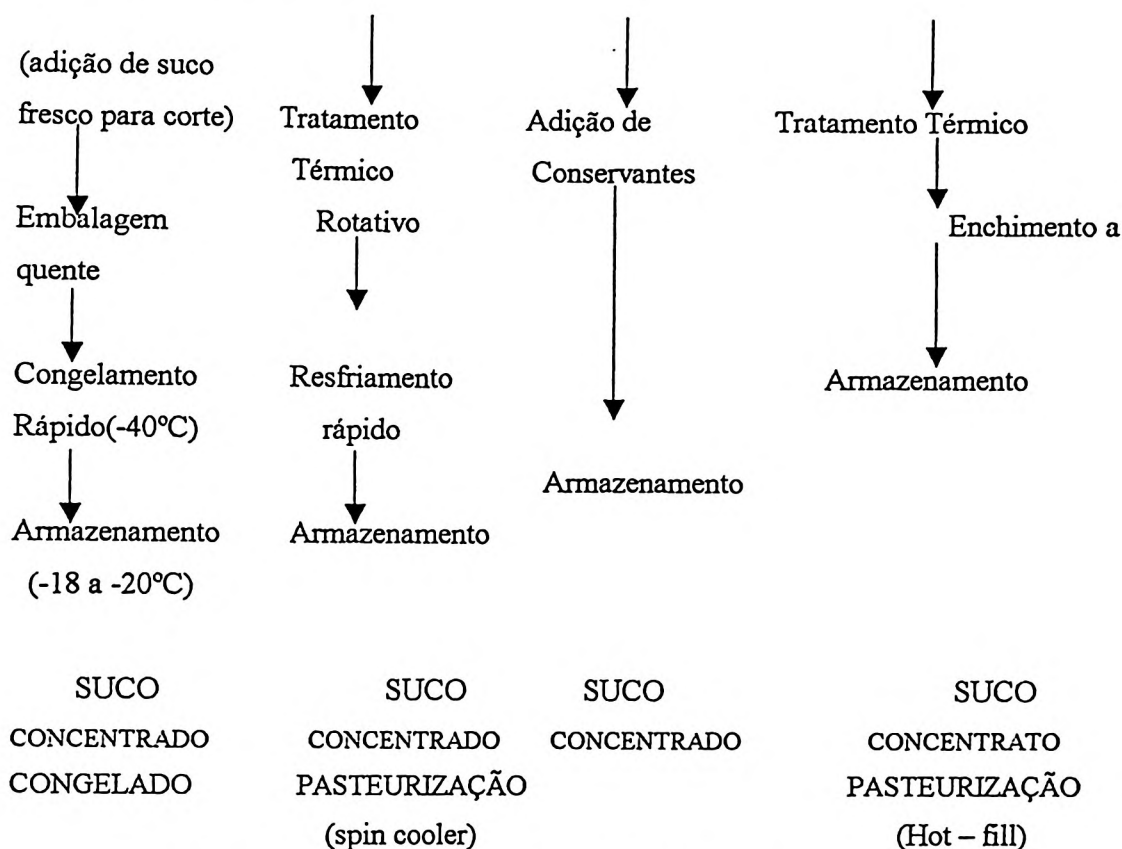


Figura 1 – Fluxograma de Produção de Suco Concentrado de Abacaxi
 Fonte: DE MARTIN (1985)

2.3.4. Características do suco concentrado comercial

Seja qual for o processo utilizado para produzir o suco é fundamental a manutenção de suas características químicas, físicas e organolépticas. ELKINS et al.(1997) procuraram comparar a qualidade de sucos concentrados comerciais, produzidos e comercializados pela Associação Nacional dos Processadores de Alimentos (NFPA), nos Estados Unidos, durante três anos, onde avaliaram: a variedade, dados de colheita, região produtora, processo e equipamento e/ou procedimentos utilizados. Foram utilizados cerca de 54 amostras e 7 laboratórios foram envolvidos. A Tabela 5 mostra os resultados das análises deste trabalho (ELKINS et al., 1997).

Tabela 5 – Resumo das Análises Efetuadas Durante os 3 Anos em Sucos

Concentrados

Parâmetro	Médias do 1º Ano (n=24)	Média do 2º Ano (n=20)	Média do 3º Ano (n=10)
° Brix	63 (4.7)	62 (4.2)	61 (4.0)
Cinza	1.5 (0.303)	1.5 (0.338)	1.5 (0.299)
PH	3.6 (0.115)	3.5 (0.164)	3.6 (0.19)
Acidez Titulável	3.4 (0.636)	3.1 (0.794)	2.8 (0.628)
Sacarose	28 (4.2)	28 (5.1)	28 (3.3)
Glicose	13 (2.6)	13 (2.9)	13 (1.9)
Frutose	12 (2.5)	13 (2.6)	13 (2.0)
Ac. Málico	1.2 (0.20)	1.2 (0.303)	0.76 (0.176)
Ac. Cítrico	3.5 (0.563)	3.3 (0.691)	2.2 (0.41)
Ac.Isocitríco	0.06 (0.015)	0.055 (0.011)	0.06 (0.009)
Ac.Fumárico	3.76 (1.32)	5.5 (10.13)	-----
Na – mg/100g	8.0 (7.78)	15.3 (11.9)	7.1 (5.5)
K – mg/100g	695 (133)	619 (144)	591 (136)
Fe – mg/100g	1.11 (0.774)	1.0 (0.505)	0.84 (0.349)
Ca – mg/100g	57 (17.9)	61 (13.4)	55 (7.97)
Mg – mg/100g	61 (10.5)	61 (9.9)	58 (8.7)
Cu – mg/ 100g	0.2 (0.05)	0.2 (0.04)	0.2 (0.03)
Mn – mg/100g	7.8 (4.92)	6.3 (2.20)	4.5 (2.35)
Al – mg/100g	1.7 *(1.4)	1.6* (0.76)	2.2 *(1.3)
Zn – mg/100g	0.36 (0.064)	0.38 (0.055)	0.34 (0.088)
P – mg/100g	38 (6.9)	38 (5.54)	36 (6.48)
Cl – mg/100g	101 (37.5)	80 (30.4)	875 (226.0)

* Média calculada somente valores positivos; Média(desvio padrão)

** Fonte: ELKINS (1997)

2.4. Aspectos Microbiológicos

As frutas podem alterar suas características físico-químicas e organolépticas devido a presença de microrganismos de origem diversas. Sua presença é indesejada por causar um estado de deterioração nas frutas, tornando-as inadequadas ao consumo humano.

As bactérias, leveduras e mofo são os agentes causadores das alterações

microbianas e o controle de suas presenças representa a segurança microbiológica do produto. Portanto, é necessário e conveniente em todo ciclo produtivo, observar e controlar a presença destes microrganismos.

As frutas e seus sucos, devido aos teores de agentes nutricionais, o pH e atividade da água, apresentam um meio bastante propício para o crescimento de determinados tipos de microrganismos e seus controles são imprescindíveis na sua vida útil.

2.4.1. Classificação dos alimentos em função do pH

A acidez de um alimento expressa pelo seu pH, é de suma importância na determinação do agente deteriorador, bem como dos microrganismos nele envolvidos.

Cameron & Esty, citado por LEITÃO (1992) apresentaram uma classificação dos alimentos, de acordo com o pH:

Grupo 1: alimentos pouco ácidos – pH maior que 5,0; tais como ervilha, milho, vagens, carnes, peixes, leite, etc.

Grupo 2: alimentos meio ácidos – pH entre 5,0 a 4,5; tais como espinafre, aspargo, beterraba, sopas, molhos, etc.

Grupo 3: alimentos ácidos – pH entre 4,5 a 3,7; tais como tomate, pêra, abacaxi, figo e outros frutos.

Grupo 4: alimentos muito ácidos – pH menor que 3,7; tais como chucrute, pickles, sucos de frutas cítricas, etc..

2.4.2. Leveduras e fungos filamentosos

Leveduras e bolores têm sido frequentemente responsáveis pela deterioração de frutas enlatadas ou em vidro, bem como em sucos de fruta e néctares durante armazenamento e sua distribuição.

No entanto, algumas leveduras osmofílicas desenvolvem-se em alimentos com baixa atividade de água e são tolerantes à acidez. Nestas condições, sua presença pode ocorrer em alimentos envasados, nos quais a preservação se baseia na elevação da acidez ou na baixa atividade de água (LEITÃO, 1992).

A espécie *Byssoschlamys fulva* é apontada como responsável pela deterioração de frutas enlatadas, apresentando intensa atividade pectinolítica, causando desintegração da fruta e podendo haver estufamento da lata. Sua resistência térmica é alta, 30 minutos a 85 °C, e tolera uma baixa tensão de oxigênio, sendo capaz de suportar e crescer em vácuo de 20 lb/pol². Este gênero pode produzir patulina, byssotoxina A e ácido bissoclâmico, todos reconhecidamente tóxicos para os animais (GRESSONI, 2002). Portanto, além de deteriorador é responsável por problemas de saúde pública (SPLITTSTOESSER et. al. 1998).

ENIGL, KING & TOEROEK (1993) enocularam em oito sucos de frutas diferentes, 3 sucos de mistura de frutas, um suco de abacaxi concentrado, um suco de abacaxi normal, um suco de maçã concentrado, um suco de amora concentrado e um

suco de tomate, com fungos resistentes ao calor. Eles encontraram o *Talaromyces trachyspermus*, que não era relatado como um fungo termorresistente, em um empacotado resfriado e congelado do suco de abacaxi, mas não em outros sucos de fruta. *Neosartorya fischeri* e *Talaromyces flavus* foram também isolados após o tratamento térmico. Os fungos termorresistentes foram encontrados nas culturas de sucos puros e misturados.

TOURNAS & TRAXLER (1994) isolaram do suco concentrado de abacaxi o ascósporo de *Neosartorya fischeri*, e testaram a sua resistência em água deionizada, no suco de abacaxi normal e no suco de abacaxi concentrado, bem como o efeito da idade do ascósporo na resistência à inativação térmica. Os valores da resistência térmica encontrada foram para D_{85} de 19,6 a 29,5 minutos, D_{88} de 12,4 a 17,0 minutos, para o D_{90} de 4,7 a 7,6 minutos e para o D_{95} de 1,7 a 2,3 minutos. Os valores de z determinados foram de 9,1; 9,2 e 8,9 °C quando avaliadas em placa com água deionizada, suco de abacaxi normal e suco de abacaxi concentrado, respectivamente. Eles observaram que aquecendo a 100 °C os ascósporos são destruídos além do limite detectado. Concluíram que a resistência térmica aumenta com a idade dos ascósporos de 1 a 6 meses.

KOTZEKIDOU (1997) isolou fungos de pastas de tomate estragados com objetivo de estimar a eficiência da pasteurização aplicada aos produtos enlatados comercialmente. Ascósporos de 9 cepas cresceram no extrato de agar maltado por 30 dias a 30 °C e sobreviveram ao aquecimento de 85 °C durante 20 minutos, quando o número inicial foi perto de $10^5/\text{mL}$. Neste estudo as cepas resistentes a este aquecimento foram identificadas como duas de *Byssoschlamys nivea*, três de *Byssoschlamys fulva* e 4 de *Neosartorya fischeri*. Ascósporos de todas as culturas foram mais resistentes ao calor em suco de tomate que no tampão de fosfato. A taxa da curva de morte térmica foi determinada como monologaritmica mas a taxa da curva apropriada da morte foi logaritmica para uma temperatura mais alta. O tempo de destruição térmica por 1 log a 90 °C foi determinado e seu valor foi de 1,5 minutos para a *Byssoschlamys nivea*; 8,1 minutos para *Byssoschlamys fulva* e de 4,4 a 6,6 minutos para *Neosartorya fischeri*.

TCHANGO, TCHANGO et al. (1997) isolaram e estudaram a resistência térmica das leveduras *Candida pelliculosa* e *Kloeckera apis*, de suco pasteurizado de goiaba, maracujá e de abacaxi. Resultados obtidos sugeriram que *Kloeckera apis* é menos resistente ao calor que *Candida pelliculosa*. Tempo de redução decimal (D_T) é dependente da bebida e temperatura; o D_T foi de 1.03 - 4.9 minutos para *Candida pelliculosa* para temperatura entre 60 e 75 °C e 1.41 - 2.49 minutos para *Kloeckera apis* na temperatura entre 55 e 60 °C. A 70 °C o tempo mínimo de pasteurização para *Candida pelliculosa* em suco de abacaxi, maracujá e goiaba foram calculados a 27.81, 20.25 e 16.83 minutos, respectivamente. A 75 °C o tempo mínimo de pasteurização obtido para *Candida pelliculosa* foi de 13.5 e 9.27 minutos para o suco de abacaxi e maracujá, respectivamente.

OBETA & UGWUANYI (1997) estudando a vida de prateleira dos sucos de manga, laranja e de abacaxi que continham várias concentrações de sacarose, distribuíram em frascos cônicos de 100 mL com rolha. Em cada frasco inocularam ascósporos de *Neosartorya fischeri*, *Neosartorya fischeri* var de spinosa ou *Neosartorya quadricincta* para uma população final de 120 -140 ascósporos/mL de suco, e depois pasteurizaram a 80 °C por 30 minutos. Um conjunto de 36 frascos inoculados com 12 tipos de controles foi armazenado a 4 - 5 °C e em 2 outros conjuntos adicionou-se 100

mg/L de benzoato de sódio e armazenou-os a temperatura ambiente (25 - 28 °C) durante 64 dias. Após este tempo, somente os sucos de fruta armazenados a 4 - 5 °C e os que continham benzoato de sódio não apresentaram deterioração por estes fungos.

TCHANGO et al. (1998) também estudaram sucos de fruta fermentados e néctares durante armazenamento para isolar e identificar as leveduras responsáveis pela deterioração. Eles calcularam o crescimento de leveduras através da turbidimetria (densidade óptica a 630 nm) ao longo do armazenamento, após a inoculação de suco de abacaxi comercial centrifugado (pH 3.95), néctar de goiaba (pH 3.15) e néctar de maracujá (pH 3.03). Estas leveduras foram identificadas como *Candida pelliculosa*, *Candida holmii* e *Kloeckera apis*. Eles observaram que o crescimento de leveduras foi mais significativo em néctar de maracujá e suco de abacaxi, pois contém níveis mais altos de açúcares, sujeito à fermentação, que o néctar de goiaba. A 25 e 32 °C o *Candida pelliculosa* e *Candida holmii* mostraram uma taxa de crescimento mais alta no suco e néctares comparados a *Kloeckera apis*. Eles constataram que as propriedades microbiológicas e sensoriais dos sucos de fruta e néctares foram alteradas devido ao crescimento de leveduras que as tornaram inadequadas para consumo. Eles sugeriram que a utilização da pasteurização combinada com envase asséptico limita este tipo de contaminação.

2.4.3. Bactérias Lácticas

São bactérias Gram positiva, microaerofilicas, não esporuladas, usualmente não apresentam motilidade, são catalase-negativa, apresentam colônias pequenas e apigmentadas. São bactérias acidófilas, portanto, toleram baixos valores de pH (LEITÃO, 1992).

Um dos grupos importantes produtores de ácidos nos alimentos é formado pelos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*. No gênero *Lactobacillus* pode haver alguma espécie homofermentativa, sendo dessa forma produtora de gás carbônico, portanto, haverá problemas de estufamento da embalagem. O mesmo acontece com as espécies *Streptococcus* e *Pediococcus*. A espécie *Leuconostoc* é sempre heterofermentativa, ou seja além de produzir o gás pode excretar ácido acético e etanol. Todos eles estão relacionados com a produção de alimentos de média para alta acidez, nos quais podem participar como coadjuvantes ou como deteriorantes, responsáveis pelas perdas significativas dos sucos e/ou polpas de frutas (PINHATTI, 1998).

2.4.4. Alicyclobacillus

As bactérias do gênero *Bacillus* são largamente distribuídas na natureza. Originárias do solo e água estão presentes nas matérias-primas a serem processadas. Muitas dessas bactérias, especialmente as termófilas apresentam esporos com excepcional resistência térmica, algumas são estritamente anaeróbicas, enquanto outras são anaeróbicas facultativas, devendo ser consideradas, por isso, como agentes de deterioração. São capazes de metabolizar os carboidratos apenas com produção de ácidos.

Os *Alicyclobacillus* são esporegêneos acidúricos que podem germinar, crescer e causar deterioração em alimentos ácidos. Podem sobreviver ao processo de pasteurização comumente dados aos sucos de frutas (SPLITTSTOESSER et al., 1998) e resultando em alteração no odor e aromas dos mesmos (BORLINGHAUS & ENGEL, 1997 a,b). Crescem em vários meios de culturas, numa faixa de pH de 2,4 a 6,0 e a temperaturas de 25 a 70 °C (PREVIDI et al., 1997).

PREVIDI, COLLA & VICINI (1995) conduziram estudos conforme as características de várias cepas de *Alicyclobacillus* spp, onde constataram o deterioramento de sucos de fruta com a presença desse microrganismo.

YAMAZAKI, TEDUKA & SHINANO (1996) isolaram bactérias termofílicas de bebidas ácidas deterioradas, sucos ácidos, água isotônica, limonada misturada com sucos de frutas e mistura de suco de frutas com cenoura, onde concluíram que em bebidas ácidas deveriam ser analisadas as presenças do *Alicyclobacillus acidoterrestris*, bem como outros organismos deteriorantes.

PREVIDI et al.(1997) isolaram e avaliaram a resistência ao calor dos esporos de 3 cepas de *Alicyclobacillus* spp do suco de maçã pronto para beber e concentrado, suco de fruta tropical e em suco de laranja.

PINHATTI et al (1997 - 1998) estudaram sucos de laranja concentrados congelados, sucos de fruta concentrados e simples sucos de fruta reforçados existente no mercado internacional com objetivo de detectar o *Alicyclobacillus*. Eles confirmaram que a ocorrência de *alicyclobacilli* em sucos de fruta não deteriorados e o seu rápido ciclo de crescimento culminam com a esporulação, que requer uma combinação de condições adequadas para o crescimento dos organismos no suco, como pH baixo e temperaturas altas, para levar à deterioração do mesmo.

PETTIPHER, OSMUNDSON & MURPHY (1997) desenvolveram métodos para detectar a presença do *Alicyclobacillus acidoterrestris* e observaram que seus esporos sobrevivem à pasteurização, crescem e se multiplicam a uma taxa semelhante a células vegetativas em sucos de laranja, de maçã e uma bebida não carbonatada.

PONTIUS, RUSHING & FOEGENDING (1998) verificaram as causas de deterioração nos sucos de fruta que tinham sido tratados por processos térmicos e avaliaram os efeitos de pH, acidez e temperatura na resistência térmica dos esporos de sucos de fruta, onde constataram a presença de *Alicyclobacillus*.

SPLITTSTOESSER, LEE & CHUREY (1998) apresentaram resultados de interesse para a indústria de sucos e mostraram os fatores que afetam o crescimento e a morte do *Alicyclobacillus*.

2.5. Processamento Térmico

O acompanhamento do processo térmico é um requerimento essencial na indústria de alimento usado para garantir a segurança microbiológica e a qualidade sensorial do produto, como a organoléptica. Medidas incorretas resultam na obtenção de produtos de baixa qualidade, oferecendo riscos à saúde do consumidor. É fundamental o

conhecimento e o domínio do processo, bem como instalações adequadas e instrumentação de medições confiáveis.

Desta forma, a medição e o monitoramento do processo de esterilização de alimentos é uma tarefa de grande responsabilidade, pois depende do conhecimento prévio dos parâmetros de controle do processo, da segurança e da qualidade desejadas, que são determinadas, experimentalmente, em laboratórios especializados. Dessa forma, é possível ajustar aos processos térmicos modelos otimizados baseados na cinética das reações químicas, que em muitos dos casos, aplica-se adequadamente à destruição de microrganismos e a outras reações biológicas.

O processo de esterilização comercial tem sido usado pela indústria de sucos para reduzir a carga microbiana bem como aumentar a vida-de-prateleira, pois resulta em condições desfavoráveis para o crescimento dos microrganismos causadores da deterioração, transmissores de doenças e/ou efeitos prejudiciais a qualidade sensorial dos produtos.

Teixeira & Madson (1982) apud FERREIRA (1999), desenvolveram um modelo que faz uma interligação matemática das cinéticas de reação de primeira ordem, que descreve a inativação térmica de esporos bacterianos com uma solução numérica da equação de transferência de calor. O modelo faz uso dos dados da curva de destruição térmica e dados de penetração de calor (valores de D , z , e f_h). O valor de D é denominado tempo de redução decimal (TRD), ou seja, é o tempo necessário para reduzir o número de microrganismos a um décimo do inicial a uma dada temperatura. Também pode ser definido como o tempo, em minutos, necessário para a curva de sobrevivência térmica a uma dada temperatura atravessar um ciclo logarítmico na escala de sobrevivência térmica. O valor de z é de natureza empírica (TEIXEIRA NETO, 1992) e nasceu a partir de observações do pesquisador Bigelow, daí às vezes ser chamado de modelo Bigelow. O valor de f_h é dado pela inclinação da curva de penetração de calor.

2.5.1. Cinética de degradação térmica

O principal objetivo do processo de esterilização é a destruição dos microrganismos patogênicos que causam deterioração dos alimentos nas condições de armazenamento. Para tal, é necessário conhecer a cinética de destruição e a resistência térmica dos microrganismos.

Segundo HOLDSWORTH (1992), a resistência térmica do esporo é tomada como base para estabelecer os parâmetros do processo, juntamente com a probabilidade estatística de sua sobrevivência. Cita ainda que certos microrganismos, tais como *Bacillus* e leveduras, são usados como referência nos processos de esterilização de alimentos.

Estudos das cinéticas de reações químicas relacionadas com a perda da qualidade, assim como na destruição térmica microbiana, têm geralmente indicado reações de primeira ordem com relação ao tempo (Lund, 1982, apud Durance e referido por FERREIRA, 1999; MWANGI et al, 1992).

De acordo com Teixeira (1992), conforme apud FERREIRA (1999), quando uma população homogênea de esporos viáveis ou um fator de qualidade, tais como a cor, o teor de vitamina, entre outros são expostos a uma temperatura letal, o número de

esporos que permanecem viáveis (ou comumente também outros índices de qualidade) diminui exponencialmente ou logaritmicamente com o tempo.

Como a morte é logarítmica, podemos descrevê-la matematicamente como uma reação química unimolecular ou bimolecular de primeira ordem. Em uma reação unimolecular, apenas uma substância reage e sua velocidade de decomposição é diretamente proporcional à sua concentração. Na reação bimolecular de primeira ordem um dos reagentes está em excesso, de modo que a variação de sua concentração é desprezível e a velocidade de decomposição do segundo reagente é diretamente proporcional à sua concentração.

MWANGI et al (1992) descreve que todas as reações paramétricas de qualidade ocorridas nos processamentos de alimentos são consideradas de primeira ordem.

Apresentando este comportamento como uma reação química de primeira ordem, podemos expressá-la pela seguinte equação:

$$\frac{dC}{dt} = KC \quad (1)$$

ou

$$\frac{dC}{C} = Kdt$$

onde:

C – Concentração de esporos ou fator de qualidade;

K – Constante de velocidade da reação;

t – Tempo.

Rearranjando os termos e integrando, em relação ao tempo, temos:

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

Expressando em forma de logaritmo natural obtem-se:

$$\ln C = \ln C_0 - Kt \quad (3)$$

Como toda velocidade de reação depende da temperatura, que também é uma

função exponencial, podemos transcrevê-la por uma linha reta em um gráfico semilogarítmico, quando o logaritmo natural da velocidade da reação é plotado com o inverso da temperatura absoluta. A equação que descreve esta reta é conhecida como equação de Arrhenius. Substituindo na equação (3) a concentração pela constante de velocidade de reação, e integrando fica:

$$\ln K = \ln K_0 - \frac{E_A}{RT} \quad (4)$$

Ou expressando em função da temperatura de referência, temos:

$$\ln K = \ln K_r - \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_r} \right) \quad (5)$$

ou

$$K = K_0 \exp - \frac{E_A}{RT} \quad (6)$$

onde

K – constante de velocidade da reação (min^{-1});

K_0 – fator pré-exponencial (min^{-1});

E_A – energia de ativação (kcal/mol);

R – constante dos gases (1,986 cal/mol);

T – Temperatura absoluta ($^{\circ}\text{K}$).

Tendo em vista que o tempo de redução decimal (D) e a inclinação da curva de destruição térmica (z) são utilizados na avaliação de processo térmico e que a velocidade de reação e a energia de ativação podem ser expressas em termos de D e z , segundo Shin & Bhowmik apud FERREIRA (1999), e baseado em suas relações entre D e K , temos:

$$C = C_0 10^{-1/D} = C_0 \exp^{-(2,303 t / D)} \quad (7)$$

Das equações (2) e (7) encontramos:

$$K = 2,303/D \quad (8)$$

E como existem dependências da temperatura com D, pode-se expressar por:

$$D = D_r 10^{(T_r - T)/z} \quad (9)$$

A equação (9) é conhecida como equação do “Tempo de Morte Térmica” (TMT) e o D, conforme mencionado anteriormente, é o tempo de redução decimal (TRD), que é recíproco da inclinação logarítmica da curva de destruição microbiana ou ao fator de qualidade em uma dada temperatura; D_r , é o tempo de redução decimal em uma temperatura de referência, T_r ; z é a diferença de temperatura necessária para mudar o valor de D por um fator de 10 e importante na determinação do valor da esterilização ou valor F do processo, e T é a temperatura de aquecimento. Segundo Shin & Bhowmil, apud FERREIRA (1999), os valores de D e z podem ser comparados e substituídos em qualquer método para avaliar processo térmico, sem qualquer modificação.

Na Tabela 6, LUND (1977) mostra a resistência térmica de vários componentes de alimentos com relação aos fatores vulneráveis de qualidade, incluindo reações que podem ser desejadas como mudança de textura e inativação enzimática, outras indesejáveis mas inevitáveis, como perda de qualidade, flavor, cor e vitaminas e a destruição de nutrientes. Tais reações são de até 6 ordens de grandeza mais resistentes à destruição térmica dos esporos e células vegetativas, como pode ser visto pela tabela. LUND (1977) constatou, ainda, que para destruição dos microrganismos, devido maior energia de ativação requerida, mais elevada é a temperatura, mas a perda dos nutrientes não é tão significativa.

Tabela 6 – Resistência Térmica de vários Constituintes dos Alimentos

Constituintes	z (°F)	E_a (kcal/mol)	$D_{121,1}$ (min)
Vitaminas	45 – 55	20 – 30	100 – 1000
Cor, textura, flavor	45 – 80	10 – 30	5 – 500
Enzimas	12 – 100	12 – 100	1 – 10
Células Vegetativas	8 – 12	100 – 120	0,002 – 0,02
Esporos	12 – 22	53 – 83	0,1 – 5,0

Fonte: Lund (1977)

A relação D/D_r é conhecida como taxa letal (L), que mede a quantidade de microrganismo destruída a uma dada temperatura.

Comparando as equações (5) e (9) pode-se chegar a:

$$F_A = 2,303 (R T T_r)/z \quad (10)$$

Onde a $T_r = 121.1^\circ\text{C}$ e, considerando que a faixa de temperatura está em $110 - 150^\circ\text{C}$, segundo HOLDSWORTH (1992), pode concluir que:

$$E_A \approx 2,303 (RT^2)/z \quad (11)$$

De acordo com HOLDSWORTH (1992), reações com baixa E_A , 1,9 a 14,3 Kcal/mol, são relativamente insensíveis a mudanças de temperatura como é o caso da destruição de clorofila, carotenóides e a oxidação dos ácidos graxos. Reações com valores médios de E_A , 19,1 a 29,9 Kcal/mol, são mais sensíveis à temperatura, sendo que nesta situação incluem-se as destruições das vitaminas, a perda de pigmentos solúveis em água e escurecimento devido às reações de Maillard. Para valores de E_A altos, 47,8 a 95,6 Kcal/mol, estão as desnaturações das enzimas e destruição dos esporos.

2.5.2. Destruição térmica

Tradicionalmente, segundo MWANG et al (1992), na destruição térmica, o F_0 é definido para uma certa temperatura e uma dada concentração de bactérias, no processo de esterilização, mas o seu valor pode ser usado no cálculo dos nutrientes ou de outros componentes termicamente vulneráveis. A definição técnica de F_0 é o tempo, a uma determinada temperatura, com respeito à sua capacidade de destruir esporos ou células de um microrganismo específico.

Durante o processamento térmico, a penetração do calor é mais fácil nos alimentos líquidos que nos sólidos e/ou semi - sólidos. O tempo de aquecimento e o resfriamento contribuem com a letalidade do tratamento. O efeito letal desses períodos faz parte da avaliação do processo.

Vários métodos foram desenvolvidos para a avaliação do processo e determinação do valor de F_0 . Bigelow e colaboradores (1920), apud GAVA (1986), TEIXEIRA NETO (1992) e FERREIRA (1999), apresentaram um procedimento essencialmente gráfico, onde integra os efeitos letais da relação tempo - temperatura existentes num dado ponto do alimento, durante o processamento térmico. A temperatura de referência é $121,1^\circ\text{C}$ e matematicamente é expresso pela equação:

$$F_0 = t 10^{(\Delta T/z)} \quad (12)$$

Onde

F_0 – é o tempo letal para 121,1 °C (1 minuto para *Clostridium botulinum*);

$\Delta t = T - 121,1$;

t – é o tempo letal em minutos na temperatura de referência;

T – é a temperatura em °C;

z – é a inclinação da curva de destruição térmica, sendo 10°C para o *Clostridium botulinum*.

Hersom e Hulland (1980) apud HOLDSWORTH (1992) consideraram os valores mínimos de F_0 de 3,0 minutos e 0,7 minuto, para alimentos com pH >4,5 e pH <4,5, respectivamente, para mesofílicos (tais como *Bacillus polymyxa*, *Bacillus macerans*) e anaeróbicos butílicos.

De acordo com TELXEIRA NETO (1992), genericamente, pode-se calcular o valor de F_0 , em um processo de esterilização, como o somatório das contribuições letais de cada estágio de temperatura pelo qual passou o produto.

Um outro método foi idealizado por Ball (1923), apud GAVA (1986), JARDIM (1992) e FERREIRA (1999), baseado na equação matemática que espelha o perfil tempo – temperatura, no centro do recipiente, que plotado em escala semilogarítmica, pode ser expressa como:

$$B = f_h (\log j_h I - \log g) \quad (13)$$

onde

B – é o tempo de processo, em minutos, necessário para atingir a temperatura do processo;

f_h – é o tempo, em minutos, necessário para a porção linear da curva de penetração de calor efetuar um ciclo logarítmico da temperatura;

j_h – é o fator de lag de aquecimento, $(T_r - T_0)/(T_r - T_i)$;

I – é a diferença de temperatura entre a temperatura do autoclave e a temperatura inicial do produto $(T_r - T_i)$;

g – é a diferença de temperatura entre a temperatura do autoclave e a temperatura máxima atingida pelo produto no centro do recipiente.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Procedência das Amostras

As amostras foram coletadas em uma linha de processamento de uma indústria produtora de suco asséptico. Em seguida foram colocadas e transportadas em caixas térmicas até os laboratórios da Embrapa – Agroindústria de Alimentos onde, imediatamente após a chegada, foram realizadas as análises.

3.1.1. Pontos de amostragem na linha de suco de abacaxi

Foram coletados materiais provenientes de 6 lotes da linha de produção de suco de abacaxi, incluindo os seguintes pontos de amostragem por lote: 2 amostras de matéria prima (MP), 1 amostra de água de preparo ou formulação (AP), 1 amostra proveniente da limpeza CIP (“cleaning in place”), 1 amostra da água de lavagem dos frutos, 2 amostras de produto formulado antes da pasteurização (PA), 5 amostras do produto final após a pasteurização e envase (PF), 5 amostras do produto final após pasteurização e envase submetidas a 3 meses de armazenamento (P3M) conforme mostrado na Figura 2. As análises microbiológicas das amostras provenientes dos pontos assinalados foram feitas no máximo em 24 horas após a coleta, sendo estas mantidas à temperatura de -1°C a $+1^{\circ}\text{C}$ para transporte e estocagem no laboratório.

3.2. Análises Físicas e Químicas

Foram realizadas as seguintes determinações físico e químicas:

3.2.1. Açúcares totais e redutores

As determinações dos açúcares redutores e não redutores foram efetuadas conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), procedimentos 4.13.2 e 4.13.3, respectivamente.

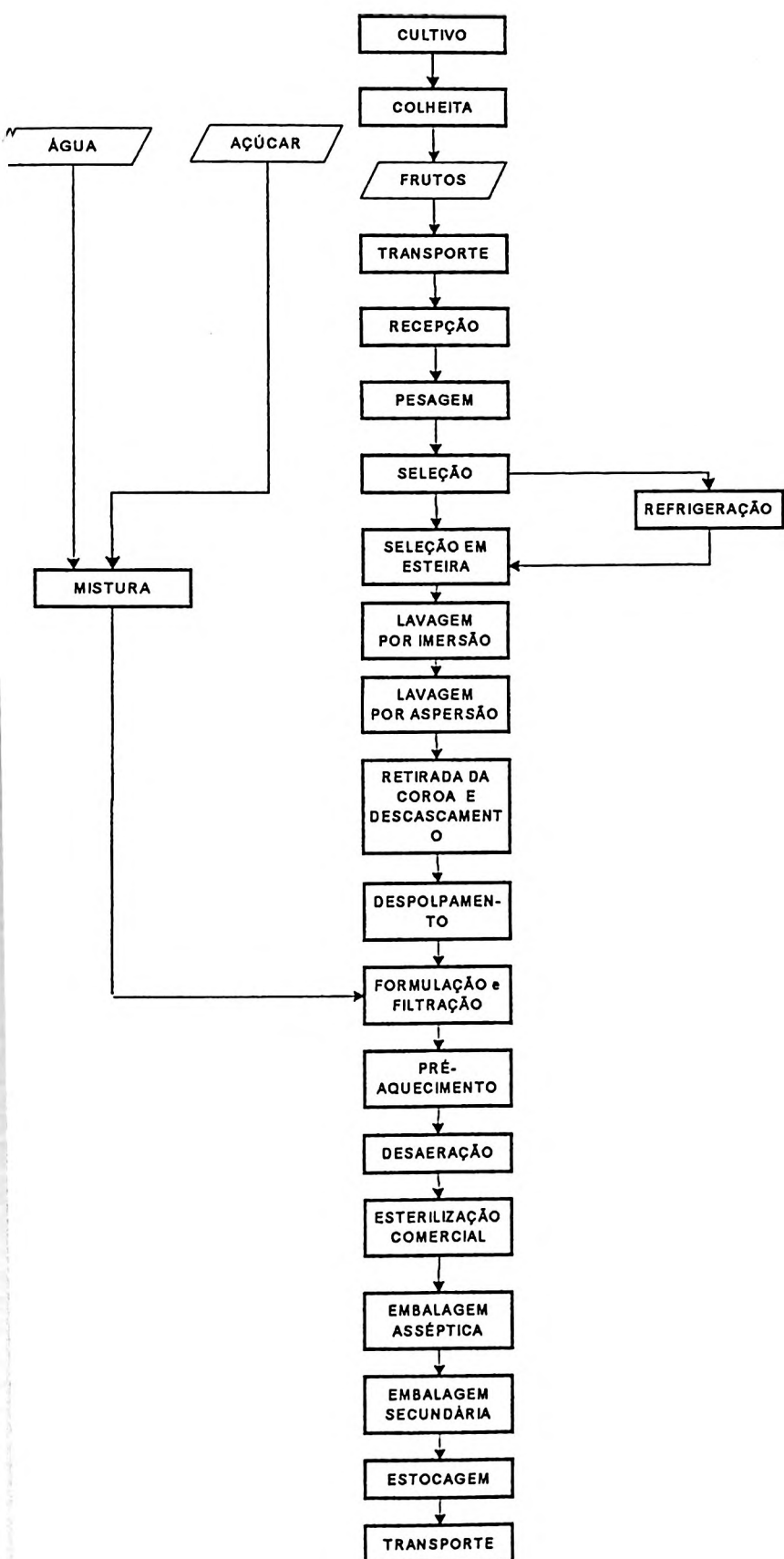


Figura 2 – Produção do Suco de Abacaxi

3 . 2 . 2 . Proteína bruta

O teor de proteína bruta foi determinado de acordo com o teor de nitrogênio total, conforme AOAC, 1997 – Método 991.20, considerando-se o fator de conversão de 6,25.

3 . 2 . 3 . Cinzas

O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração da amostra de suco conforme método descrito em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), procedimento 4.9.1.

3 . 2 . 4 . Sólidos solúveis ou Brix

O teor de sólidos solúveis foi determinado em um refratômetro portátil conforme descrito em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), procedimento 4.3.

3 . 2 . 5 . Acidez titulável

A acidez titulável foi feita conforme o descrito em AOAC, 1997 – método 940 - 15.

3 . 2 . 6 . "Ratio"

O "Ratio" foi calculado com base nos resultados de análises da acidez (item 3 . 2 . 5) e os valores de sólidos solúveis ou Brix (item 3 . 2 . 4).

3 . 2 . 7 . pH

O pH foi determinado em um pH-metro, conforme Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), procedimento 4.7.2.

3 . 2 . 8 . Vitamina C

O teor de vitamina C foi determinado por cromatografia, HPLC, utilizando padrão interno, conforme descrito em POLESELLO e RIZZOLO (1990).

3 . 2 . 9 . Turbidez

A turbidez foi efetuada conforme descrito no manual Pocket Turbidimeter Instrument, da Hach Instrument, Lovenland – Colorado – USA.

3.3. Análises Microbiológicas

Foram efetuadas as seguintes análises nas amostras coletadas:

3.3.1. Fungos filamentosos e leveduras

Os fungos filamentosos e leveduras foram determinados conforme Compendium de Métodos Microbiológicos (1992) e modificada por BAGLIONI (1998), utilizando-se meio BDA (agar batata dextrose), com solução de rosa de bengala e clorafenicol acidificada com solução de ácido tartárico. Usou-se plaqueamento em profundidade e incubação em estufa a 30°C por 5 dias. Decorrido este tempo, foi escolhida uma placa com maior característica de crescimento, com ausência de contaminação. O resultado foi expresso em UFC/g.

3.3.2. Fungos filamentosos termorresistentes

Conforme BAGLIONI (1998), foi utilizado o método de plaqueamento para detecção dos fungos filamentosos termorresistentes nas amostras.

Cerca de 100 mL da amostra do suco foram distribuídas, assepticamente, em 4 tubos com tampas rosqueáveis. Para facilitar a troca térmica, foram imersos em banho térmico, $80 \pm 0,5$ °C, por 30 minutos, conforme procedimento descrito em 3.3.2.1. A contagem do tempo de aquecimento foi efetuada a partir do atingimento da temperatura da amostra para eliminação dos conídios, das células vegetativas e ativação dos ascósporos dormentes (TOURNAS & TRAXLER, 1994). Após ativação, os tubos foram resfriados a ± 45 °C, em água com gelo, e foram transferidos seus conteúdos para erlenmeyer contendo meio BDA, utilizando-se concentração dupla, onde foram adicionadas soluções de rosa de bengala (83 mg/100 mL), de cloranfenicol (0,4g/100 ml) e de ácido tartárico 10% (p/v), conforme PITT & HOCKING (1985) e referida por BAGLIONI (1998), para alcançar um pH final de 3,5.

Em seguida, o conteúdo foi distribuído em 8 placas de Petri, e resfriado. Após solidificação, as placas foram envolvidas em sacos plásticos para evitar ressecamento, e incubadas a 30 °C, por 30 dias. Semanalmente, as placas foram observadas quanto ao crescimento e possíveis contaminações.

Todo os procedimentos foram feitos em triplicata e, quando o manuseio asséptico era necessário, este foi realizado em câmara de fluxo laminar.

Os fungos filamentosos que resistiram ao choque térmico de 80 °C foram escolhidos como os mais termorresistentes. Seus ascósporos foram guardados sob refrigeração, tendo sido preparadas suspensões onde a concentração final, padronizada e avaliada através da contagem em Câmara de Neubauer, estivesse na ordem de 10^6 ascósporos/mL. Tal suspensão foi mantida sob refrigeração (4 °C) até sua utilização final.

A suspensão de esporos foi inoculada, posteriormente, em tubos contendo suco de abacaxi, estéril, aos quais aplicou-se o choque térmico em determinadas condições, e resfriado em água gelada, por imersão.

3.3.2.1. Determinação do tempo de aquecimento

Em tubos com tampa rosqueável, com dimensões de 15x150 mm, foram adicionados 9 mL do suco e inseriu-se um termopar, no centro da amostra, acoplado a sistema Ellab, modelo CTF 9008. Este conjunto foi colocado em banho térmico, ajustado a $80 \pm 0,1$ °C (Lauda, modelo RM 6, da Brinkmann) com base em PITT & HOCKING (1985), acionando-se no mesmo instante um cronômetro. Quando a amostra atingiu 80 °C registrou-se o tempo. O mesmo procedimento foi adotado para as temperaturas de 85, 87, 90, 95 e 100 °C, na etapa posterior de seleção do fungo filamentosos mais termorresistente, obtendo-se dessa forma o tempo de elevação da temperatura.

3.3.2.2. Esporulação

Garrafas de Roux contendo cerca de 200 mL de MEA (agar extrato de malte) formulado segundo citado em BAGLIONI (1998), foram inoculadas com 0,5 mL de suspensão previamente preparada de cada placa descrita no item 3.3.2 A prévia preparação desta suspensão consistiu em transferir fragmentos dos fungos formados para tubos com tampa rosqueável, com auxílio de uma alça em "L" estéril, contendo 2 mL de solução 0,05% de Tween 80, para dispersar os esporos, seguidos de agitação. Tais procedimentos foram efetuados em câmara de fluxo laminar e as inoculações nas garrafas foram realizadas em duplicatas, com incubação a 30 °C, por 30 dias.

3.3.2.3. Coletas dos esporos

Após o período de incubação de 1 mês, em cada garrafa de Roux foi adicionada cerca de 25 mL de água estéril e com auxílio de uma bastão estéril raspou-se, levemente, a superfície de crescimento dos fungos. A suspensão, formada de esporos com hifas, foi filtrada através de uma camada de gaze estéril e recolhida em um frasco rosqueável, estéril, contendo micro-esferas de vidro, sendo posteriormente guardada sob refrigeração a 4 °C. Todo procedimento foi efetuado em condições assépticas em câmara de fluxo laminar.

3.3.2.4. Aplicação de choques térmicos para seleção do fungo filamentoso mais termorresistente

Colocou-se 9 mL de amostra de suco, estéril, em tubos de tampa rosqueável com 1 mL da suspensão de esporos, proveniente do procedimento descrito no item anterior, os quais foram submetidos a choques térmicos, conforme condições mostradas na Tabela 7 O tempo de aquecimento para cada condição foi determinado conforme descrito em 3.3.2 sendo que, para temperatura de 100 °C, utilizou-se um banho térmico contendo solução 1:1 de etilenoglicol. Após cada choque térmico, os tubos foram resfriados, imediatamente, a uma temperatura de aproximadamente de 45 °C, por imersão em água gelada. Para cada frasco foi preparado um tubo de referência/controle, sem tratamento térmico.

Em seguida, o conteúdo de cada tubo foi transferido para placa de Petri, com cerca de 10 mL meio de BDA, previamente esterilizado, com concentração dupla e

homogeneizada. Após solidificação da mistura, as placas foram revestidas com um filme de polietileno e incubadas a 30 °C por 7 a 10 dias. O crescimento do fungo filamentososo no final desse período foi a determinante da sua resistência ao choque térmico.

Tabela 7 – Condições dos Choques Térmicos Realizados nos Fungos Filamentosos

Temperatura - °C	Tempo – minutos
80	20
85	15
90	10
95	5
	10
	20
100	5
	10
	20
	22
	25

3.3.2.5. Condições ótimas de ativação dos ascósporos

A seleção da condição ótima de ativação dos ascósporos foi efetuada à temperatura de 85 °C, conforme BAGLIONI (1998), e os tempos de 0 (controle), 5, 10, 15, 20 e 25 minutos, dos quais foi selecionado a melhor condição. Tubos de TDT estéreis foram preenchidos com 1,8 mL do suco de abacaxi estéril e inoculados com 0,2 mL da suspensão preparada no item 3.3.2. Os tubos de TDT foram, previamente protegidos com algodão estéril, e selados, utilizando-se um maçarico de O₂/GLP, e colocados no banho termostático (Lauda), cuja temperatura foi ajustada para 85 ± 0,1 °C, onde receberam os choques térmicos. O tempo de subida da temperatura foi determinado conforme descrito em 3.3.2, onde utilizou-se um termopar compatível com seu diâmetro. Ao completar seu tempo de aquecimento os tubos foram retirados e resfriados em água gelada.

Os tubos TDT foram abertos assepticamente e seu conteúdo foi diluído em sua respectiva série. Em seguida foi feito o plaquamento em profundidade com MEA, em duplicata. As placas foram incubadas a 30 °C e suas leituras, contagens das colônias formadas, foram feitas a partir do terceiro dia até o décimo de incubação, e expressa em UFC/mL.

3.3.2.6. Termorresistência dos ascósporos

Para o ensaio de termorresistência dos ascósporos, foram utilizadas as temperaturas de 85, 90, 95 e 98 °C, as quais estão dentro da faixa da temperatura de pasteurização da indústria processadora do suco. Para tanto, utilizou-se diferentes tempos de aquecimento e os tubos TDT foram selados assepticamente, utilizando-se um maçarico de O₂/GLP, em câmara de fluxo laminar.

Os tubos de TDT foram preparados conforme o descrito no item 3 . 3 . 2 e colocados em banho termostático, onde foi ajustado às temperaturas e computado o tempo a partir do atingimento da temperatura considerada. Decorrido este tempo, os tubos foram retirados e resfriados em água gelada, imediatamente. A Tabela 8 apresenta as condições do ensaio da termoresistência em tubos TDT.

Como em 3 . 3 . 2 . 5, foram feitas as diluições em série respectivas e o plaqueamento com MEA. As placas foram incubadas a 30 °C e as leituras com contagens das colônias formadas, expressa em UFC/mL, a partir do terceiro até o vigésimo primeiro dia de incubação. Conhecendo-se o número de sobreviventes e o tempo de aquecimento, pode-se construir as curvas mortes para cada temperatura. Como o comportamento dessas curvas não é logarítmico nas temperaturas utilizadas, foi

Tabela 8 – Condições de Ensaio em Tubos TDT

Temperatura - °C	Tempo – minutos
85	0, 80, 160, 240, 320, 400
90	0, 20, 40, 60, 80, 100
95	0, 5, 10, 15, 20, 25
98	0, 2, 4, 6, 8, 10

aplicado o método de linearização descrito por Aderton & Snell, citado por BAGLIONI (1998) e GRESSONI (2002), obtendo-se os parâmetros equivalentes a "D", o 1/K, e, a partir deste, tem-se o parâmetro equivalente a "Z".

3 . 3 . 3 . Bactérias lácticas

Bactérias lácticas foram determinadas segundo metodologia descrita no Compendium de Métodos Microbiológicos (1992), utilizando-se meio agar MRS (De Man Rogosa e Sharpe) para contagem, incubadas a 30°C por 5 dias, em atmosfera contendo 5% de CO₂.O resultado foi expresso em UFC/mL

3 . 3 . 4 . *Alicyclobacillus* sp

Foi aplicada a metodologia descrita por PETTIPHER et al. (1997) para detecção de bactérias do gênero *Alicyclobacillus* sp. As amostras foram incubadas por 48 h à temperatura de 50 °C, em meio BAM. Em caso de detecção de colônias, a confirmação dos *Alicyclobacillus* sp. foi feita usando a prova bioquímica, a degradação de açúcares, com kit API-50CHB da Bio-Merieux.

3 . 3 . 5 . Coliformes fecais

Foi efetuado de acordo com a metodologia descrita por SIQUEIRA (1995), tendo sido realizado em meio caldo E.C.(Merck). Os conteúdos dos tubos positivos do teste presuntivo foram transferidos para tubos contendo caldo E.C., os quais foram incubados a 35°C por 48 horas. Os tubos que apresentaram produção de gás, em tubos de Durham invertidos, foram considerados positivos e a partir desse resultado foi feito o teste confirmativo, usando caldo E.C, incubados em banho-maria a 44,5°C por 24 horas. Para os coliformes totais também foi usado caldo E.C. incubado a 35°C por 48 horas. Os números mais prováveis (NMP) de coliformes fecais e totais foram determinados em tabela para série de três tubos com diluições diferentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Análises Físico e Químicas dos Sucos e Matéria-prima

Os resultados de análises físico e químicas das amostras dos lotes 1, 2, 3, 4, 5 e 6, procedentes dos diferentes pontos da linha de processo, previamente determinados, são apresentadas na Tabela 9 sendo representados pelos valores médios de alguns parâmetros físico-químicos.

Tabela 9 - Análises Físico e Químicas – Valores Médios

Determinação	Matéria-prima (polpa)	Suco embalado
Sólidos totais (%)	12,54	12,81
Açúcares totais (%)	9,53	10,54
Açúcares redutores (%)	8,23	7,48
Açúcares não redutores (%)	1,30	3,06
Proteína (%)	0,44	0,25
Cinzas (%)	0,24	0,09

Os resultados das análises de Brix para os diferentes lotes analisados, abrangendo avaliação da matéria-prima, suco formulado não pasteurizado e suco formulado pasteurizado, são apresentados na Figura 3. Pode-se verificar pela figura que a oscilação verificada de valores de Brix para matéria-prima foi estabilizada para o produto formulado, resultando em valores próximos de 12 ° Brix.

Observando-se o pH dos sucos amostrados a partir da Figura 4, pode-se constatar que esses são ligeiramente maiores que o mostrado por ELKINS (1997), em torno de 3,5, apesar de serem considerados adequados para um produto ácido (pH < 4,5). A mesma observação pode ser considerada nos valores da acidez titulável expressa em teores de ácido cítrico (Figura 5).

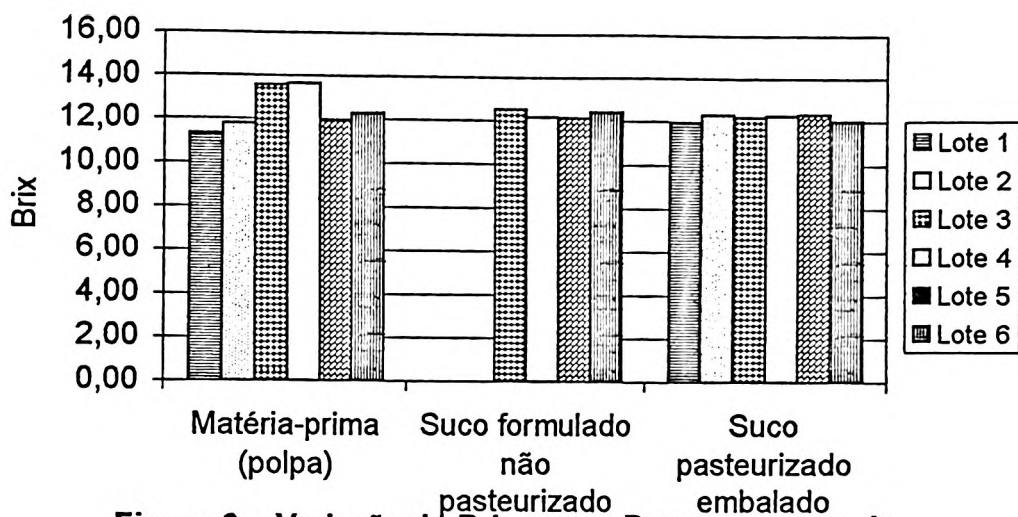


Figura 3 - Variação do Brix com o Processamento do Suco de Abacaxi

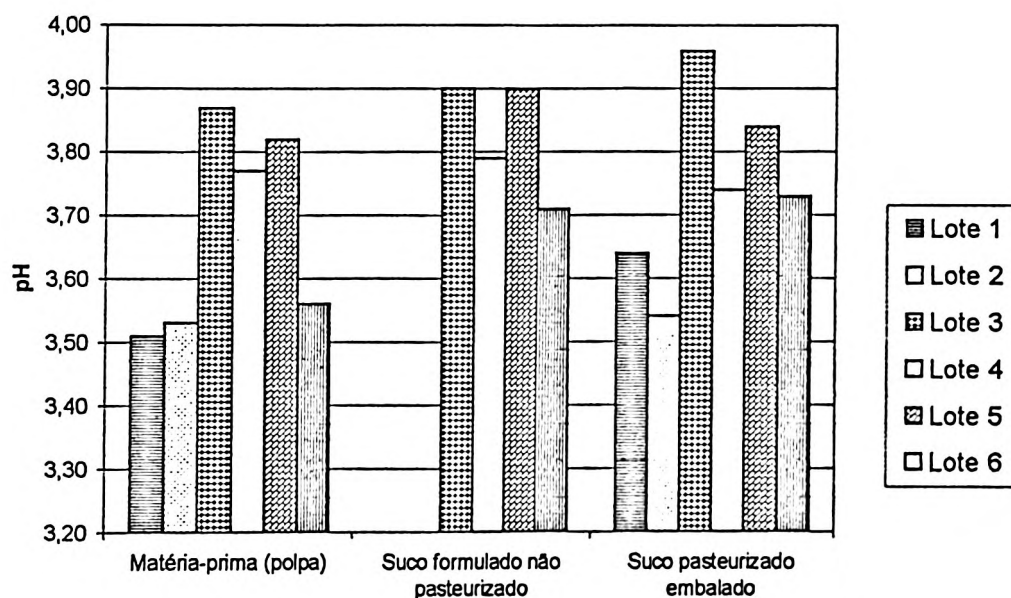


Figura 4 - Variação do pH com o Processamento do Suco de Abacaxi

Na Figura 6 são apresentados os resultados dos cálculos do ratio para as várias amostras consideradas. É possível se verificar uma variação nos valores para a matéria-prima e o produto formulado não pasteurizado, bem como no produto final. Tal fato

deve-se à diluição efetuada a partir da formulação do suco, onde ocorre adição de calda de açúcar, o que leva a uma diminuição mas não uma correção da acidez, com correções somente dos teores de açúcares solúveis, conforme verificado nos valores de Brix

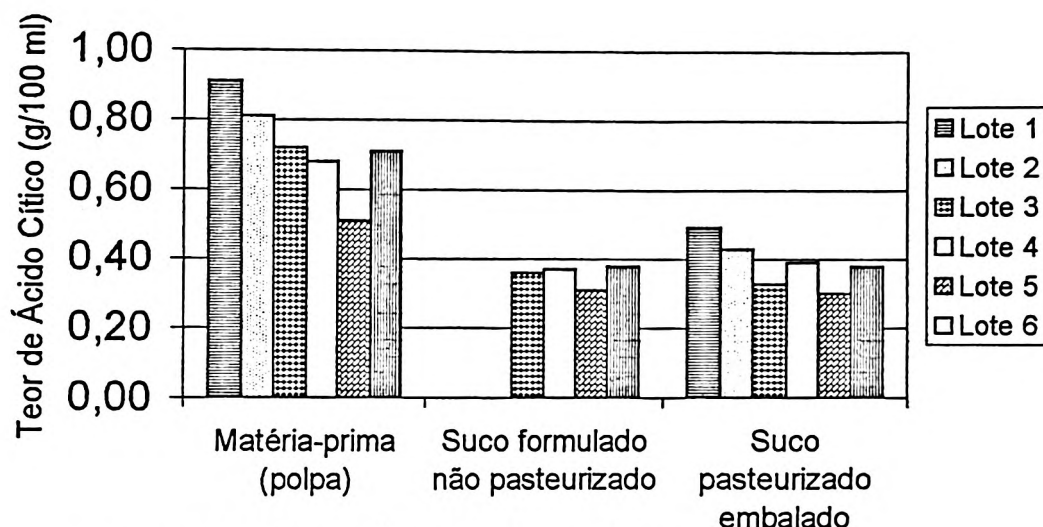


Figura 5 - Teor de Ácido Cítrico no Suco de Abacaxi

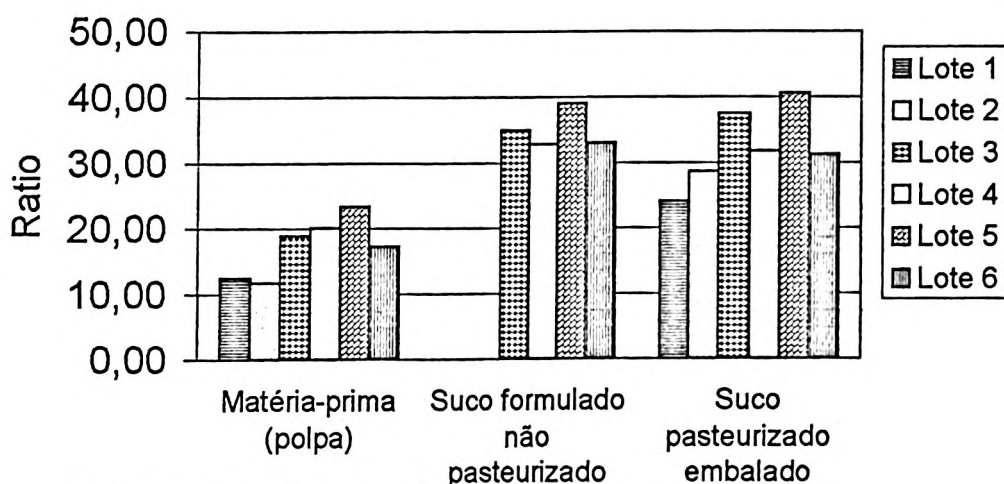


Figura 6 - Variação do Ratio no Suco de Abacaxi

Os teores de vitamina C, mostrados na Figura 7, apresentaram elevação no produto formulado em relação à matéria-prima, possivelmente em função de adição

dessa substância durante a etapa de formulação. Após a pasteurização ocorreu uma redução dos níveis da vitamina, como pode ser visto principalmente nos lotes 5 e 6.

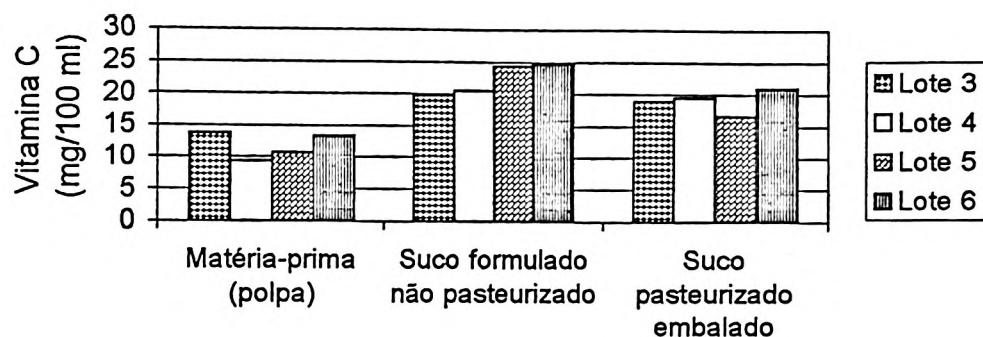


Figura 7 - Variação do Teor de Vitamina C com o Processamento do Suco de Abacaxi

4.2 – Análise da Microbiota Proveniente das Amostras de Suco Abacaxi

4.2.1 - Fungos filamentosos não termorresistentes e leveduras

Na Figura 8 pode-se observar os resultados de análises dos 6 lotes dos diferentes pontos de amostragem, onde é possível verificar valores elevados na contagem de fungo filamentosos não termorresistentes e leveduras nas matérias primas (MP) de todos os lotes ($\geq 10^4$ UFC/mL). No entanto não se verificou tal nível de contagem no produto final, demonstrando a eficiência do tratamento térmico efetuado.

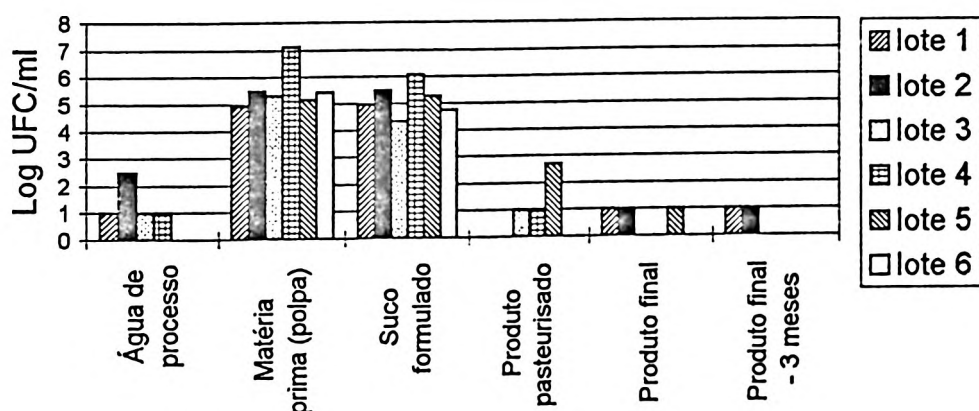


Figura 8 - Enumeração de Fungos Filamentosos não Termorresistentes e Leveduras, em Amostras de Linhas de Suco de Abacaxi

4.2.2 – Fungos filamentosos termorresistentes

Analisando a Figura 9 verifica-se uma contagem relativamente baixa de

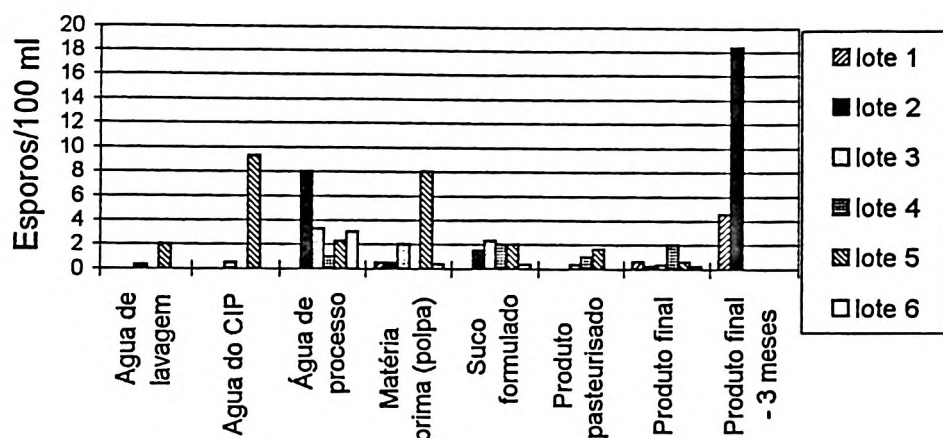


Figura 9 - Enumeração de Fungos Filamentosos Termorresistentes em Linha de Suco de Abacaxi

fungos filamentosos termorresistentes, sendo que sua ocorrência na matéria prima resultou em contagens de 2 e 8 UFC/100 mL para os lotes 3 e 5 - respectivamente, resultando para os demais lotes, contagens abaixo de 1 UFC/100 mL. Tal fato é resultante de possíveis práticas agrícolas e de colheita inadequadas, agravada pelo não emprego de processamento térmico no início do processo. Tal observação foi igualmente feita por BAGLIONI (1998) para o caso de processamento de polpa de tomate. Apesar da menor contagem verificada nos produtos formulados, produtos pasteurizados (coletados na linha de retorno do pasteurizador) e produtos finais embalados, em todos foram detectados a presença de bolores termorresistentes, inclusive na água proveniente do sistema CIP. Tais resultados mostram a possível ineficiência do sistema CIP e do processo térmico na destruição dos bolores termorresistentes, indicando uma suposta necessidade de revisão nos procedimentos operacionais.

Assim sendo, não se pode excluir a possibilidade de existência de ascósporos de bolores termorresistentes no suco envasado assepticamente, a partir do processamento efetuado, uma vez que algumas linhagens podem sobreviver ao tratamento térmico empregado no suco de abacaxi, conforme citado por GONÇALVES et al (1992), TOURNAS & TRAXLER (1994) e KOTZIDOU (1997).

A elevada contagem no produto armazenado por 3 meses (lote 2) possivelmente pode ser atribuída a uma ocorrência esporádica ou pontual ou à contaminação pós-processo. Esta contagem elevada pode ser resultante da ruptura de ascósporos durante o processo, o que aumentaria uma incidência maior resultante de um nível de contaminação efetiva. Além disso, uma possível penetração de oxigênio nas embalagens, originalmente preenchidas com nitrogênio durante a operação de envase,

pode acarretar o desenvolvimento dos bolores termorresistentes com potencial toxígeno durante o armazenamento.

4.2.3 – Bactérias Lácticas

A Figura 10 mostra os resultados de análises dos 6 lotes dos diferentes pontos do processo, onde se pode observar que os lotes 2 e 4 apresentaram um teor de bactérias acima de $1,9 \times 10^5$ UFC/mL, antes do processamento do suco (PA), e que em todos os lotes, no produto final envasado, zero dia (PF2), este teor ficou abaixo de 10 UFC/mL, que é o limite de detecção do método empregado.

Pode-se dizer que a incidência das bactérias lácticas verificadas na matéria-prima e no suco formulado não pasteurizado não se repetiu nas amostras tratadas termicamente, o que indica uma redução entre 3,5 a 5,5 ciclos logaritmos e uma efetividade adequada do tratamento térmico.

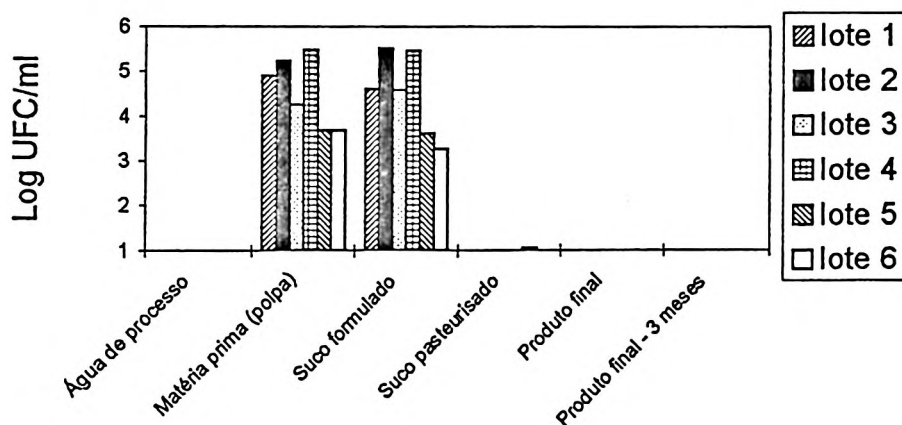


Figura 10 - Enumeração de Bactérias Lácticas em de Linha Suco de Abacaxi

4.2.4 – Alicyclobacillus

Análises realizadas em todos os lotes constataram a ausência total de *Alicyclobacillus* em todos os pontos analisados.

4.2.5 – Coliformes Fecais e Totais

A contagem do número mais provável (NMP) de coliformes totais ficou abaixo de 3, em todos os lotes de acordo com a diluição empregada ou seja partindo-se de

amostras diluídas 10x. Já no produto final e no produto após 3 meses de estocado a contagem ficou abaixo de 0,3.

4.3 – Seleção do Isolado Fúngico mais Termorresistente

No levantamento e identificação da contaminação, foi obtido um total de 18 isolados de bolores termorresistentes, cujos esporos de 1 mês de idade, cultivados em meio sintético (MEA), foram submetidos a diferentes choques térmicos variando de 80 °C/20 min. a 100 °C/5 min., com objetivo de selecionar o isolado mais termorresistente.

A Tabela 10 apresenta o resultado dessa seleção de resistência térmica, destacando a procedência da amostra bem como o limite de sobrevivência aos choques térmicos. Dessa forma, a partir de tal codificação, pode-se identificar os fungos mais termorresistente, ou seja, o L₆AP₂A (proveniente do produto, originado da segunda embalagem do lote 6) e o L₅AP₃A (proveniente do produto, originado da terceira embalagem do lote 5).

Tabela 10 – Códigos dos fungos filamentosos termorresistentes e limite de sobrevivência

CÓDIGO DA AMOSTRA*	SOBREVIVÊNCIA ATÉ
L ₁ AP ₃ A	80°C / 20 minutos
L ₁ AP ₁ A	80°C / 20 minutos
L ₁ AP ₃ D	80°C / 20 minutos
L ₂ AP ₁ A	80°C / 20 minutos
L ₂ AP ₁ B	95°C / 15 minutos
L ₂ AP ₂ A	95°C / 15 minutos
L ₂ AP ₃ A	95°C / 5 minutos
L ₂ AP ₂ B	95°C / 15 minutos
L ₂ AP ₅ A	95°C / 20 minutos
L ₃ AP ₅ A	90°C / 10 minutos
L ₄ AP ₂ A	80°C / 20 minutos
L ₄ AP ₂ B	80°C / 20 minutos
L ₄ AP ₁ A	80°C / 20 minutos
L ₄ AP ₃ A	80°C / 20 minutos
L ₄ AP ₅ A	90°C / 10 minutos
L ₅ AP ₄ A	80°C / 20 minutos
L ₅ AP ₃ A	100°C / 5 minutos
L ₆ AP ₂ A	100°C / 5 minutos

*A codificação utilizada foi LzAP_xX onde: L – lote com respectivo número; A – abacaxi; P – produto, com o número da embalagem coletada e X refere-se a seleção do fungo em determinada amostra.

4.4 – Resistência Térmica do Isolado Fúngico mais Termorresistente

Foram feitas as determinações da resistência térmica dos ascósporos com 1 mês de idade, do isolado L6AP2A, e o resultado é apresentado na Figura 11, onde é mostrado o log da contagem do número de sobreviventes com o tempo de aquecimento na temperatura de 98° C.

Na Tabela 11 é apresentado o resultado da análise estatística correspondente à regressão dos dados obtidos na Figura 11.

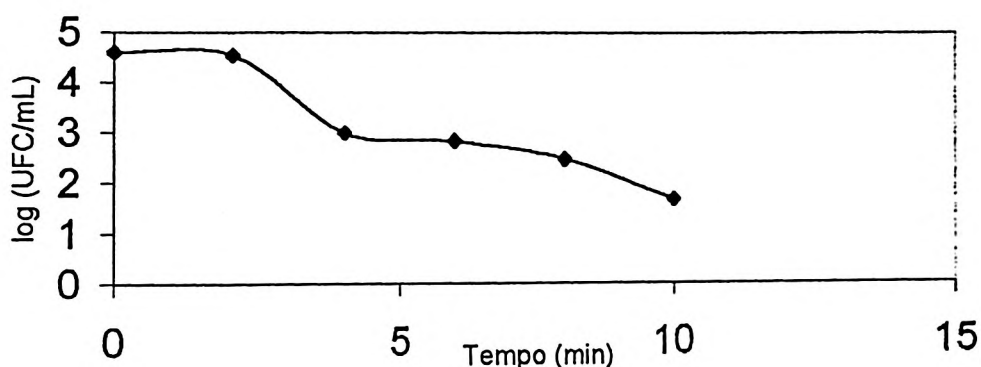


Figura 11 - Curva Experimental de Sobrevivência do L6AP2A

Analisando a Tabela 11 pode-se perceber que a regressão para o cálculo dos Índices de Redução Decimal apresenta um valor de R^2 razoavelmente elevado que, no entanto, não se ajusta perfeitamente bem ao modelo logarítmico da cinética de morte térmica, com base em tal modelo, o valor de D resultante corresponde a 3,34 minutos, ou seja 1/0,2994. Considerando-se o resultado encontrado, é conveniente a adequação dos dados ao Modelo de Alderton & Snell (1970, apud GRESSIONI, 2002) de linearização da curva de sobreviventes

Tabela 11 – Regressão dos Dados para Cálculo do Valor de D

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,963032
R-Quadrado	0,92743
R-quadrado ajustado	0,909288
Erro padrão	0,350386
Observações	6

ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	6,275925	6,275925	51,11935	0,002025
Resíduo	4	0,49108	0,12277		
Total	5	6,767005			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>
Interseção	4,688729	0,25359	18,48938	5,04E-05	3,984648	5,392811
Variável X 1	-0,29943	0,041879	-7,14978	0,002025	-0,4157	-0,18315

usando a seguinte equação:

$$(\log N_0 - \log N)^a = Kt + C \quad (14)$$

Onde:

N_0 = Contagem inicial da população (UFC/mL)

N = Número de sobreviventes no choque térmico (UFC/mL)

K = Taxa de Morte (min^{-1}) = Coeficiente Angular da Curva Linearizada

C = Coeficiente Linear da Curva Linearizada

a = Expoente de Linearização de Alderton & Snell

t = Tempo (minutos)

Considerando que esta equação deve traduzir mais exatamente a taxa de destruição térmica, caso não haja erros experimentais, o valor de C esta próximo de zero. Assim, podemos reorganizar a equação da seguinte forma:

$$\log ((\log N_0 - \log N)^a) = \log (Kt) \quad (15)$$

$$a \log (\log N_0 - \log N) = \log K + \log t \quad (16)$$

$$\log (\log N_0 - \log N) = (1/a) \log K + (1/a) \log t \quad (17)$$

Dessa forma, o valor de "a" é obtido pelo inverso da inclinação do gráfico $\log (\log N_0 - \log N)$ versus $(\log t)$. O gráfico que expressa o cálculo do parâmetro "a" está representado na Figura 12 e sua regressão dos dados para este cálculo está mostrada na Tabela 12. Assim sendo, podemos afirmar que o valor do parâmetro "a" de Alderton & Snell é de 1,61, ou seja 1/0,622.

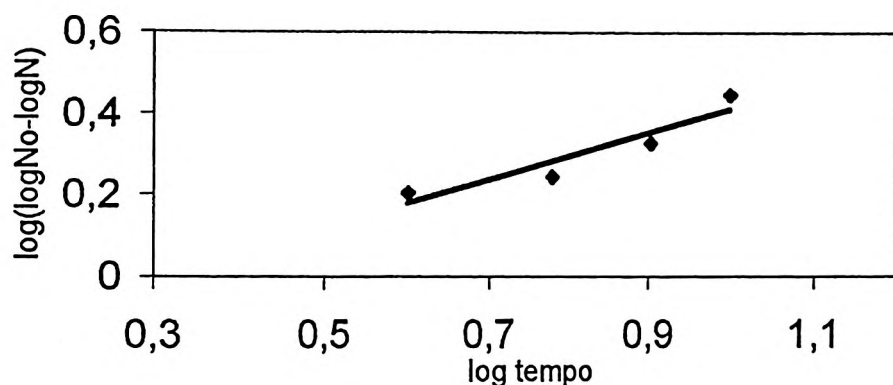


Figura 12 - Gráfico para o Cálculo do Parâmetro "a"

Tabela 12 - Regressão dos Dados para o Cálculo do Parâmetro "a"

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,928033
R-Quadrado	0,861244
R-quadrado ajustado	0,791867
Erro padrão	0,052568
Observações	4

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	0,034304	0,034304	12,41384	0,071967
Resíduo	2	0,005527	0,002763		
Total	3	0,03983			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	-0,2003	0,147365	-1,35924	0,307044	-0,83436	0,433755
Variável X 1	0,622408	0,176654	3,523328	0,071967	-0,13767	1,382488

A partir do valor do parâmetro "a" pode-se construir a curva linearizada de Alderton & Snell colocando-se o $\log (\log N_0 - \log N)^a$ no eixo do Y e no eixo do X o

tempos de choques. Tal curva esta representada na Figura 13 e sua regressão na Tabela 13.

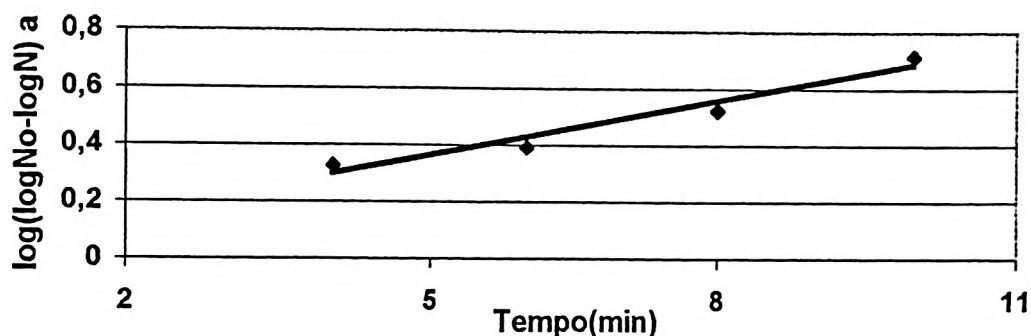


Figura 13 - Curva Linearizada de Alderton & Snell

Tabela 13 – Regressão da Curva Linearizada de Alderton & Snell

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,976476
R-Quadrado	0,953505
R-quadrado ajustado	0,930258
Erro padrão	0,04511
Observações	4

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	0,083464	0,083464	41,0155	0,023524147
Resíduo	2	0,00407	0,002035		
Total	3	0,087534			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	0,038319	0,074124	0,516961	0,65667	0,280609601	0,357248
Variável X 1	0,0646	0,010087	6,404332	0,02352	0,021199506	0,108001

A partir da Tabela 13 pode-se calcular o valor “D₉₈” para o processo, ou seja, o inverso da variável X1 (0,0646), que resulta em 15,48 minutos.

Os valores de “D₉₈” encontrados (3,34 e 15,48 minutos) são bastante diferentes. O valor de “D₉₈” igual a 3,34 minutos é mais razoável do que o obtido com a linearização de Alderton & Snell, tendo em vista o valor de sobrevivência ao choque térmico para a seleção do isolado fúngico mais termorresistente (100 °C/5 minutos). Considerando um valor de z igual a 5°C (faixa dos fungos filamentosos

termorresistentes) pode-se obter um valor de “D₉₈” igual a 2,1 minutos. Por outro lado, a linearização utilizada resulta um valor de R² (0,8612) inadequado, o que torna desnecessário tal procedimento.

No processo industrial aplicado na fabricação do suco asséptico utiliza-se 98°C por 30 segundos, o que não é eficiente na eliminação dos fungos. Como pode-se observar utilizando os valores encontrados para D₉₈=3,34 minutos aplicando a equação citada por GRESSONI (2002), para estimar o números de reduções, ou seja:

$$\gamma = F / D_{98} \quad (18)$$

onde F é o tempo utilizado em processo industrial.

$$\gamma = 0,5 / 3,34$$

$$\gamma = 0,15 \text{ reduções logarítmicas.}$$

Pode-se observar pelo valor encontrado acima que o número de reduções logarítmicas neste processo não atinge a 1 redução. Analisando a Figura 9 e considerando uma contagem inicial suposta de 800 esporos/mL no suco formulado, resultaria em um produto final com cerca de 780 esporos/mL.

Portanto, fica patente a necessidade de um ajuste nos parâmetros do processo térmico aplicado à fabricação do suco. Para tanto, seria necessário um aumento da temperatura ou do tempo de processamento para atingir 5 reduções decimais, sendo que, no entanto, tal solução certamente comprometeria a qualidade sensorial do suco. Por conseguinte, é necessário tomar outras medidas preventivas com finalidade de evitar a contaminação do suco produzido, como adoção de Boas Práticas Agrícolas (BPA) para redução da carga microbiana inicial no fruto e Boas Práticas de Fabricação (BPF), incluindo melhoria da sanitização da linha e uma cloração efetiva da água de lavagem e processo.

5 - CONCLUSÕES

As análises realizadas no suco envasado assepticamente não detectaram a presença de bactérias lácticas dentro do limite de detecção do método empregado e, portanto, pode-se considerar que o tratamento térmico aplicado foi adequado para a destruição de tais microrganismos.

Analogamente, não foi constatada a presença de *Allicyclobacillus* em nenhuma das amostras analisadas, e não foi detectada a presença de coliformes fecais e totais nos produtos dos lotes analisados.

Por outro lado, ficou comprovada a presença de fungos filamentosos termorresistentes, o que leva a necessidade de algum ajuste nos parâmetros de processo térmico aplicado na fabricação do suco. Apesar da linearização de Alderton & Snell não se aplicar aos resultados encontrados, é necessária e conveniente à identificação do fungo filamentoso mais termorresistente para que se possa redimensionar o tratamento térmico para produção do suco com maior segurança microbiológica, ou rever as normas de Boas Práticas Agrícolas (BPA) e Boas Práticas Fabricação (BPF) de forma minimizar a contaminação do produto.

6 SUGESTÕES

A nível de trabalhos futuros podemos sugerir:

- 1 - Identificação do fungo filamentoso mais termorresistente.
- 2 - Controle mais efetivo das normas de Boas Práticas de Fabricação, principalmente na estocagem dos do suco envasado.
- 3 - Pesquisar outro tipo de processo de redução da carga microbiana, como alta pressão.
- 4 - Pesquisar a possibilidade de adição de enzimas e/ou aditivos químicos/ conservantes, conforme legislação vigente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists International) – Official Methods of Analysis. Washington: AOAC International, Ed. Patricia Cumiff, 1997, 16th ed., v. II, cap. 17, 37 e 45
2. APHA (American Public Health Association) Compendium of methods for microbiological examination, 2001, Ed. Downes, F.P. e Ito, K., 4ª ed, p. 217 – 222.
3. BAGLIONE, F. Estudo da Ocorrência de Fungos Filamentosos Termorresistentes em Polpa de Tomate Envasada Assepticamente, 1998, 94 p. Tese de Mestrado Ciência de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
4. BLEINROTH, E.W. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Série Frutas Tropicais, Campinas, 2ª ed., p 69 – 94, 1985.
5. BORLINGHAUS, A. & ENGEL, R. Occurrence of Alicyclobacillus sp. in commercial apple juice concentrates - method development and validation, *Fluessiges-Obst*, v. 6, n. 64, p 306 - 309, 1997.
6. BORLINGHAUS, A. & ENGEL, R. Alicyclobacillus incidence in commercial apple juice concentrate (AJC) supplies - method development and validation. *Fruit Processing*, v. 7, n.7, p 262 - 265, 1997.
7. CARVALHO, L. M.J. Clarificação de Suco de Abacaxi por Microfiltração. 1994, 96p, Tese de Mestrado - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

8. CARVALHO, V.D. & CLEMENTE, P.R. Qualidade, Colheita, Industrialização e Consumo de Abacaxi, *Informe Agropecuário*, v. 74, n. 7, p 37 – 42, 1981.
9. COUTO, F. A. D. Variedades e Melhoramento do Abacaxizeiro, *Informe Agropecuário*, v.74, n. 7, p 12 - 14, 1981.
10. DE MARTIN, Z. J. et al. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Série Frutas Tropicais, Campinas, 2 ed., p 95 – 133, 1985
11. ELKINS, E. R. et al. Characterization of Commercially Produced Pineapple Juice Concentrate. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 10, p 285 – 298, 1997.
12. ENIGL, D.C.; KING, A.D. JR.; TOEROEK, T. *Talaromyces trachyspermus*, a heat-resistant mold isolated from fruit juice. *Journal of Food Protection*, v. 12, n. 56, p 1039 - 1042, 1993.
13. FERREIRA, L. F. D. Degradação Térmica da Textura e Cor no Processamento de Lula, 1999, 77p. Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
14. GAVA, A. J. Princípios de Tecnologia de Alimentos; São Paulo: Nobel, 7ª ed. p 137 – 153, 1986.
15. HOLDSWORTH S.D. Aseptic Processing and Packaging of Food Products, Elsevier Applied Science, 412 p, 1992.
16. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos de análise de alimentos. 3ª ed. . São Paulo, v.1, 533 p., 1985.

17. JARDIM, D. C. P. Método Matemático para o Cálculo da Penetração de Calor e da Letalidade do Processo Térmico. Manual Técnico nº 10; Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, p 57 – 68, 1992.
18. GRESSONI JUNIOR, I. APPCC Base para Sucos Processados Assepticamente, 2002, 110 p. Tese de Mestrado Ciência de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
19. KATO, K. De MARTIN; Z. J.; ZUCCHINI; A.; DA SILVA, S. D.; MIYRA, E.E. e YOKOMOTO, Y.. Industrialização do Abacaxi em Fatias em Calda, *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 6, p 513 – 531, 1975.
20. KOTZEKIDOU, P. Heat resistance of *Byssoschlamys nivea*, *Byssoschlamys fulva* and *Neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. *Journal of Food Science*, v. 62, n. 2, p 410 – 413, 1997.
21. LEITÃO, M. F. F. Microbiologia Aplicada à Esterilização de Alimentos . Princípios de Esterilização de Alimentos. Manual Técnico nº 10. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, p 1 – 30, 1992.
22. LUND, D.B. Maximizing Nutrient Retention, *Food Technology*, v. 31, n. 2. p 71 – 78, 1977.
23. MONTENEGRO, H. W. S. & CANTARELLI, P. R.. Abacaxi – Produção, Pré – Processamento e Transformação Agroindustrial – Série Extensão Agroindustrial; Secretaria da Indústria , Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, p 31 – 48, 1983.
24. MOURA, P. A. M.. Aspectos Econômicos da Cultura do Abacaxizeiro, *Informe Agropecuário*, v. 74, n.7, p 3 - 5, 1981.

- 25.MWANGI, J. M.; DATTA, A. K. ; RIZVI S. S. H. Heat transfer in Aseptic Processing of Particulate Foods. *Advances in Aseptic Processing Technologies*. Ed. por Singh,R.K and Nelson, P.E.. Elsevier Applied Science, p. 73 – 102, 1992.

- 26.OBETA, J. & UGWUANYI, J. Shelf life study of some Nigerian fruit juices inoculated with ascospores of *Neosartorya* spp.. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 4, n 50, p 325 - 331, 1997.

- 27.PETTIPHER, G. L.; OSMUNDSON, M.; MURPHY, J. M. Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. *Letters-in-Applied-Microbiology*, v. 3, n. 24, p 185 - 189, 1997.

- 28.PINHATTI, M.E.M.C; VARIANE; S.; EGUCHI; S.Y. and MANFIO; G. P. Detection of acidothermophilic bacilli in industrialized fruit juices, *Fruit Processing*, v. 9, n. 7, p 350 - 353, 1997.

- 29.PINHATTI, M.E.M.C. Detecção e Cultivo de Bactérias Termoacidófilas em Alimentos Ácidos. *Fundação André Tosello Campinas* , p 1 – 6, 1998.

- 30.PITT, J.I. & HOCKING, A.D. *Fungi and Food Spoilage* , 1985; Ed. Academic Press, p 5 -65, 169-191.

- 31.PONTIUS, A. J.; RUSHING, J.E.; FOEGEDING, P. M. Heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores as affected by various pH values and organic acids. *Journal of Food-Protection*, v.1, n. 61, p 41 - 46, 1998.

- 32.POLESELLO, A. & RIZZOLO, A. Application of HPLC to the determination of water-soluble vitamins in food: 2 (A Review 1985-9). *Journal of Micronutrient Analysis*, v.8, p. 105 – 158, 1990.

33. PREVIDI, M. P.; COLLA, F.; VICINI, E. Characterization of Alicyclobacillus, a spore-forming thermophilic acidophilic bacterium. *Industria Conserve*, v. 2, n. 70, p 128 - 132, 1995.
34. PREVIDI, M. P.; QUINTAVALLA, S.; LUSARDI, C. and VICINI, E.. Heat resistance of Alicyclobacillus spores in fruit juices. *Industria Conserve*, v. 4, n. 72, p 353 - 358, 1997
35. SILVA, C. R. R. Fruticultura Tropical, UFLA/FAEPE, Lavras, p 151 - 242, 378p -1997.
36. SIQUEIRA, R.S. Manual de Microbiologia de Alimentos, Ministério de Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasília, 159p, 1995.
37. SPLITTSTOESSER, D. F.; LEE, C. Y.; CHUREY J. J. Control of Alicyclobacillus in the juice industry. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, v. 9, n.18, p 585 - 587, 1998.
38. TETRA PAK – Informações pessoais, 2002.
39. TCHANGO TCHANGO, C; TAILLIEZ; R.; EB; P.; NJINE; T. and HORNEZ; J. P.. Heat resistance of the spoilage yeasts *Candida pelliculosa* and *Kloeckera apis* and pasteurization values for some tropical fruit juices and nectars. *Food Microbiology*, v. 1, n. 14, p 93 - 99, 1997.
40. TCHANGO, J. T.; NJINE; T; EB; P.; TAILLIEZ; R. and HORNEZ; J. P.. Identification and growth of some spoilage yeasts in tropical fruit juices and nectars. *Fruits*, v. 2, n. 53, p 119 - 126, 1998.

41. TEIXEIRA NETO, R. O. Avaliação dos Processos Térmicos Utilizados o Método Genérico. Manual Técnico nº 10. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, p 41 – 56, 1992.
42. TOURNAS, V. & TRAXLER, R.W.. Heat resistance of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. **Journal of Food Protection**, v. 57, n. 9, p 814 – 816, 1994.
43. TRESSLER, D.K.; JOSLYN; M.A. Fruit and Vegetable Juice – Processing Technology; ; Connecticut: Ed. The Avi Publishing Company, INC, 2nd ed., p 155 - 185; 1971.
44. YAMAZAKI, K.; TEDUKA, H.; SHINANO, H. Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 3, n.60, p 543 - 545, 1996.

8 - ANEXOS

I - Meios de Cultura

Os seguintes meios foram preparados e usados:

- 1) Agar Batata Dextrose (PDA) – da MERCK, pré - preparado na razão de 39 g/L.

ou

- Agar Batata Dextrose(PDA) com a seguinte composição:

Infusão de batata	200 g	Merck
D(+) glicose	20 g	Merck
Agar	15 g	Merck
Água destilada	1 litro	

- 2) Agar Extrato de Malte(MEA)

Extrato de malte	20 g	Malt Extract – OXIDID Ltd
Peptona	1 g	Merck
Glicose	20 g	Merck
Agar	20 g	Merck
Água destilada	1 litro	

3) BAM

$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,25 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,50 g
$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4$	0,20 g
KH_2PO_4	3,00 g
Extrato de Levedura	2,00 g
Glicose	5,00 g
Sol. Elementos Traços (B)	1,00 mL
Ágar	15,00 g
Água destilada	500 mL

4) Solução Elementos Traços (B)

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,10 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,01 g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,03 g
$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,20 g
H_3BO_3	0,30 g
$\text{Na}_2\text{MO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,03 g
$\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,02 g
Água Destilada	1000 mL

Todos os meios foram aquecidos em microondas, para dissolução total dos componentes, autoclavados a 121 ° C por 15 minutos e em seguida resfriados a, aproximadamente, 45 °C.

II - Fórmula usada para cálculo/contagem de esporo na Câmara de Neubauer.

$$N_0(\text{g ou mL}) = \frac{N \times F \times 10^6}{0,25 \times 16}$$

Onde :

N_0 = número de células presentes no inoculo;

N = número de células contadas;

F = fator de diluição;

N = número de quadrados contados;

16 = número de quadrados da câmara.