



LAÍS FRAGALI MACHADO

**SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA NA INDUSTRIALIZAÇÃO DE
SUCO DE LARANJA**

LAVRAS - MG

2020

LAÍS FRAGALI MACHADO

**SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA NA INDUSTRIALIZAÇÃO DE
SUCO DE LARANJA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
curso de Engenharia de Alimentos para a
obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Luis Roberto Batista

Orientador

Profa. Dra. Luisa Pereira Figueiredo

Coorientadora

LAVRAS - MG

2020

LAÍS FRAGALI MACHADO

**SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA NA INDUSTRIALIZAÇÃO DE
SUCO DE LARANJA**

**MICROBIOLOGICAL SAFETY IN ORANGE JUICE
INDUSTRIALIZATION**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
curso de Engenharia de Alimentos para a
obtenção do título de Bacharel.

Aprovada em 31 de Julho de 2020.

Prof^a Dr. Luis Roberto Batista DCA/UFLA

Profa. Dra. Luisa Pereira Figueiredo DCA/UFLA

Ms. Felipe Furtini Haddad DCA/UFLA

Prof. Dr. Luis Roberto Batista

Orientador

Profa. Dra. Luisa Pereira Figueiredo

Coorientadora

LAVRAS - MG

2020

RESUMO

O suco de laranja é considerado um produto de grande importância nutricional e econômica no Brasil, assim como um alimento presente nos hábitos alimentares de pessoas de todo o mundo. O Brasil é líder mundial na produção de laranja e exportação de suco concentrado e congelado (FCOJ, frozen concentrate orange juice). Estima-se a produção total de suco de laranja na safra 2019/20 em 1.202.702 toneladas de FCOJ. Os microrganismos comumente encontrados no suco de laranja são fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido-láticas, por se adaptarem facilmente ao baixo pH e elevada concentração de açúcares do suco de laranja. Nesta revisão bibliográfica apresentam-se os microrganismos presentes no processo produtivo do suco de laranja, abordando microrganismos advindos de contaminação externa, assim como pontos críticos de contaminação na indústria. Também são apresentadas perspectivas para o controle de microrganismos no processo industrial, como *Alicyclobacillus*, que apresenta um grande desafio à indústria processadora de suco de laranja, por apresentar esporos com alta resistência aos tratamentos térmicos aplicados no processamento, pasteurização e evaporação.

Palavras-chave: suco, microrganismos, contaminação.

ABSTRACT

The orange juice is regarded as a product of great nutritional and economic importance in Brazil, as well as a food present in the eating habits of people all over the world. Brazil is a world leader in orange production and export of frozen concentrate orange juice (FCOJ). The total orange juice production in the 2019/20 harvest is estimated at 1.202.702 tons of FCOJ. The microorganisms commonly found on the orange juice industry process are filamentous fungi, yeasts and lactic acid bacteria, as they adapt easily to the low pH and high sugar concentration of orange juice. This bibliographic review presents the microorganisms presents in the orange juice production process, addressing microorganisms from external contamination, as well as critical points of contamination in the industry. Prospects for the control of microorganisms in the industrial process are also presented, such as *Alicyclobacillus*, which presents a great challenge to the orange juice processing industry, as it presents spores with high resistance to the heat treatments applied in the processing, pasteurization and evaporation.

Keywords: juice, microorganisms, contamination.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padrões microbiológicos para o suco de laranja	27
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exportação brasileira de suco de laranja.....	16
Figura 2. Histórico de rendimento industrial - Caixas de 40,8 Kg por tonelada de FCOJ 66°	18
Figura 3. Fluxograma genérico do processamento de citros	20
Figura 4. Infográfico da indústria de suco de laranja com os pontos críticos de contaminação	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	13
3 METODOLOGIA	14
4 REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1 Importância e produção.....	15
4.2 Processamento industrial do suco	19
4.3 Qualidade do suco	23
4.4 Segurança microbiológica.....	25
4.4.1 Microrganismos deterioradores.....	28
4.4.1.1 Bactérias ácido-termofílicas	31
4.4.1.2 Microrganismos fermentadores	33
4.4.2 Microrganismos patogênicos.....	34
4.4.3 Microrganismos benéficos	36
4.5 Pontos críticos de contaminação na indústria de suco de laranja	37
4.6 Novas tecnologias para conservação do suco de laranja	38
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	40
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O suco de laranja originário do Brasil é conhecido por sua elevada qualidade. O Brasil é o maior produtor e exportador, as exportações brasileiras de suco de laranja avançaram 26,6% em volume e 14% em receita no primeiro semestre da safra 2019/20, entre julho e dezembro de 2019, quando comparado a igual período da safra anterior. O volume saiu de 512.388 toneladas para 648.751 toneladas e o faturamento foi de US\$ 967,1 milhões para US\$ 1,104 bilhão (CITRUSBR, 2020).

O Ministério da Agricultura define suco de laranja como uma bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja (*Citrus sinensis*) através de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2018). Obtido da parte comestível da laranja (*Citrus sinensis*), por meio de processo tecnológico adequado, o suco de laranja é a bebida à base de frutas mais tomada no mundo, com 35% de participação entre os sucos (NEVES, 2010). Corrêa Neto & Faria 1999, descrevem o suco como um produto complexo formado pela combinação de diversos componentes orgânicos voláteis e instáveis, os quais são responsáveis pelo sabor e aroma além de açúcares, ácidos, sais minerais, vitaminas e pigmentos.

O suco de laranja é um produto amplamente consumido, tanto no mercado nacional quanto no internacional. O desenvolvimento do comércio de suco de laranja e o amplo consumo deste produto se devem a fatores como o baixo custo de produção, fácil acesso ao público assim como a aceitabilidade proporcionada pelo seu sabor agradável combinada à conscientização sobre as propriedades nutricionais advindas do consumo desta fruta e dos seus derivados, pois é uma importante fonte de vitamina C, minerais e carboidratos (IHA et al 2000; OLIVEIRA et al. 2006; RUSCHEL et al. 2001).

A qualidade do suco pode ser influenciada por diferentes fatores, basicamente enzimáticos, químicos, físicos e microbiológicos. A influência destes promove alterações no produto comprometendo as características organolépticas e nutricionais. Estas modificações são suscetíveis de ocorrerem nas diferentes etapas da fabricação até o consumo final do suco (CORRÊA NETO & FARIA, 1999).

O aumento na produção e no consumo de frutas e sucos de frutas pode afetar a economia não apenas positivamente, aumentando os lucros da indústria de alimentos e as

exportações estrangeiras, mas também negativamente, quando ocorrem surtos de doenças transmitidas por alimentos e problemas de deterioração. Surtos de doenças transmitidas por sucos de frutas ou problemas de deterioração foram relatados principalmente nos últimos vinte anos. Nesses episódios, agentes patogênicos de origem alimentar, como *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella spp* e *Cryptosporidium parvum* (CDC 1996, 1999, 2007), estiveram envolvidos e microrganismos deteriorantes, como *Alicyclobacillus acidoterrestris* (CERNY et al. 1984).

Isso representa um grande desafio para a indústria de suco de frutas e para as autoridades de saúde pública. Esses problemas requerem esforços a fim de desenvolver estratégias e medidas mais rigorosas para controlar a qualidade microbiológica e a segurança dos sucos de frutas, resultando na publicação de várias orientações pelas agências nacionais de padrões alimentares. Exemplos relevantes são o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC/HACCP) para sucos processados e os tratamentos de redução de 5 logs para sucos (FDA 2001, 2004).

Além disso, várias medidas de controle aplicadas do plantio à mesa do consumidor foram estudadas, a fim de controlar ou reduzir a ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos ou episódios de deterioração, respectivamente (HSIAO & SIEBERT 1999; KENNEY E BEUCHAT 2002; YAUN et al. 2004; GRANDE et al. 2005; LEE et al. 2006; BUZRUL et al. 2008).

A microbiologia alimentar apresentou um desenvolvimento considerável nos últimos anos e isso pode ser parcialmente atribuído às abordagens de modelagem preditiva (MCMEEKIN et al. 2008) e avaliação de risco (Hoornstra e Notermans 2001). Apesar disso, sua aplicação em sucos de frutas com o objetivo de melhorar sua segurança e qualidade microbiológica ainda é muito limitada. Apesar de várias medidas, estudos e esforços realizados pelas indústrias de sucos de frutas e órgãos de saúde pública, é evidente a necessidade de mais pesquisas para que a qualidade microbiológica e o status de segurança do suco de frutas melhorem e evoluam.

As questões mencionadas levaram ao desenvolvimento e à necessidade de estudos sobre a microbiologia dos sucos de frutas. Além da adoção de regras ou diretrizes restritivas

(como o HACCP), estudos com novos métodos de preservação, com o objetivo de preservar os produtos o mais fresco possível e os aspectos nutricionais e sensoriais de sucos de frutas, eles representam um desafio para os cientistas de alimentos. Isso foi reforçado pelo aumento da pesquisa e consumo de frutas exóticas, que têm um apelo funcional. No contexto atual, esses estudos devem considerar os aspectos microbianos, nutricionais e sensoriais dos sucos de frutas em conjunto, a fim de melhorar a qualidade e segurança microbiológica dos sucos de frutas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente estudo tem por objetivo geral realizar uma revisão bibliográfica sobre a contaminação microbiológica no processo produtivo do suco de laranja e os microrganismos mais importantes. Além de relatar a importância da produção de suco de laranja no Brasil, e a segurança microbiológica deste produto.

2.2 Objetivos específicos

a) mostrar a importância da produção brasileira de suco de laranja, assim como a sua exportação,

b) discutir os principais conceitos que envolvem a segurança microbiológica do suco de laranja industrializado;

c) identificar os microrganismos deterioradores, benéficos e toxigênicos do suco de laranja;

d) descrever a importância da segurança alimentar no produto final.

3 METODOLOGIA

Realizou-se um estudo através de uma pesquisa bibliográfica, considerando a relevância do tema, buscando aprofundar nos conhecimentos sobre a contaminação do suco de laranja, mais precisamente em seu processo de industrialização. A revisão bibliográfica foi fundamentada através de consulta em fontes como artigos, periódicos científicos, livros, teses, dissertações, revistas científicas, páginas de associações de citricultores, indústrias e exportadores de suco de laranja e sites de empresas processadoras de suco de laranja.

Os dados foram coletados a partir de uma pesquisa qualitativa em bases de dados, sendo os principais instrumentos para a coleta de dados Scielo (Scientific Electronic Library) e Google Acadêmico, utilizando como descritores: suco de laranja, microbiologia, contaminação, segurança alimentar, segurança microbiológica e qualidade.

O trabalho foi conduzido a partir da primeira etapa, a qual foi a definição do tema da pesquisa e o seu objetivo. Posteriormente iniciou-se a segunda etapa, a de pesquisa na literatura e a seleção das bibliografias, através de pesquisas realizadas nas bases de dados, como Scielo, Google Acadêmico e Web of Science. Para isso escolheram-se os trabalhos mais relevantes na área em estudo e os mais atuais, selecionados quanto a pertinência com os temas de interesse desta revisão.

Na terceira etapa realizou-se o estudo, avaliação e montagem de um banco de dados para otimizar a leitura, contextualização e avaliação do trabalho da pesquisa. Junto a isso organizou-se as informações do estudo e se concretizou a montagem do banco de dados com todos os trabalhos utilizados na pesquisa.

Portanto, para realizar a quarta etapa, a de escrita da revisão de literatura, foram selecionadas de forma criteriosa apenas as literaturas que atendiam aos critérios de inclusão definidos neste estudo, afim de garantir a credibilidade do trabalho desenvolvido e então foi escrito a redação do tema proposto baseada nos trabalhos encontrados, dando um grande enfoque na parte de industrialização, consumo e exportação do suco de laranja.

4 REVISÃO DE LITERATURA

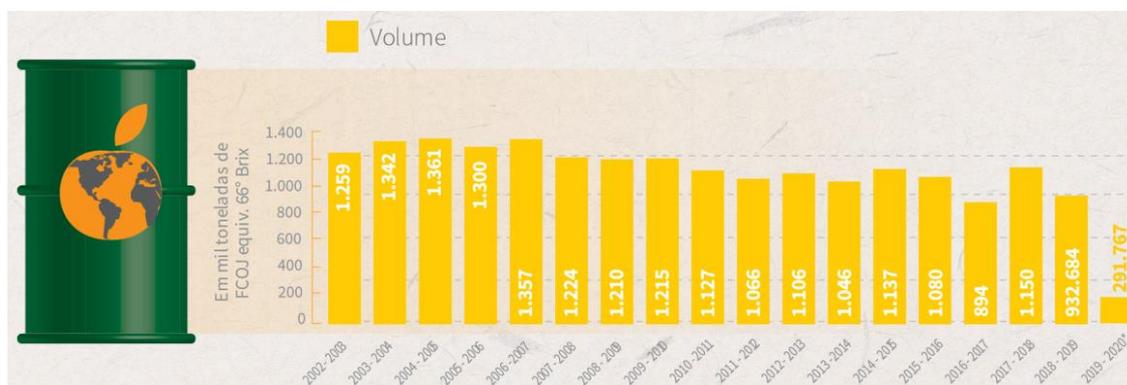
4.1 Importância e produção

O Brasil é líder mundial na produção de laranja e exportação de suco concentrado e congelado (FCOJ, *frozen concentrate orange juice*) tendo produzido na safra de 2019/20, 15.821,832 toneladas de laranja (FUNDECITRUS, 2020), representando 81,5% do comércio mundial de suco de laranja. É notória a importância do suco de laranja na economia brasileira, favorecendo superávit da balança comercial do país.

O alto consumo e a alta produção vêm demonstrando a preferência da população por frutas cítricas, dentre as quais se destacam a laranja e a tangerina, que passaram a ser indispensáveis na dieta dos brasileiros. Essas frutas, bem como o suco delas extraídos são reconhecidos por conterem antioxidantes importantes para a nossa nutrição como flavonoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e limonoides (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

O Brasil mostra sua liderança na produção de suco de laranja, de cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, três são produzidos no Brasil. Em nenhuma outra commodity, o país tem expressividade semelhante. A força da indústria brasileira de suco de laranja não está só nas exportações. O seu caráter empreendedor impulsionou, na década de 1990, o surgimento das primeiras agroindústrias brasileiras a atuarem em solos estrangeiros, o que fortaleceu ainda mais a sua posição competitiva frente ao cenário internacional. A força do suco de laranja brasileiro no comércio internacional é motivo de orgulho e tem sabor e respeito único para o Brasil no mundo (NEVES, 2010).

Entretanto, na última década, o Brasil tem conseguido diversificar os mercados em que atua. Na safra 2009/10, o Brasil exportou o suco para 70 países diferentes, dos quais 12 receberam NFC. Isso demonstrou a capacidade de inovação da indústria ao reorientar as exportações para mercados não saturados, encontrando novos canais para o escoamento da produção nacional (NEVES, 2010). Na figura 1 encontram-se as quantidades em mil toneladas de FCOJ 66° Brix exportado ao longo dos anos.

Figura 1. Exportação brasileira de suco de laranja

Fonte: CitrusBr, 2020.

As exportações totais de suco de laranja brasileiro (FCOJ Equivalente a 66° Brix) registraram um volume total de 1.071.946 toneladas nos doze meses da safra 2019/2020, de acordo com os dados da Secretaria de Comércio Exterior (Secex) compilados pela CitrusBR. O número representa um aumento de 17% em relação à safra 2018/2019, quando foram embarcadas 920.029 toneladas. Em faturamento, as vendas fecharam com US\$ 1,751 bilhão, crescimento de 3% ante a receita de US\$ 1,707 bilhão na safra anterior. (CITRUSBR, 2020).

Entre os mercados, a Europa continua sendo o principal destino das exportações brasileiras de suco de laranja, com uma participação de 69,7%, seguida de EUA, com 16,3%, Japão 5,3% e China com 3,9%. Outros mercados correspondem a 4,9% (CITRUSBR, 2020).

Para a Europa, os embarques de suco de laranja fecharam a safra 2019/2020 com um volume total de 746.731 toneladas, 23% a mais que o volume embarcado na safra anterior, 604.724 toneladas. O faturamento somou US\$ 1,2 bilhão, 9% acima dos US\$ 1,1 bilhão na safra passada (CITRUSBR, 2020).

Já em relação aos Estados Unidos, as exportações brasileiras recuaram 10% nos 12 meses do ano-safra, com volume de 174.652 toneladas ante as 193.683 toneladas no período anterior. Em receitas, as vendas foram de US\$ 276,6 milhões, 19% de queda em comparação com os US\$ 340,9 milhões da safra 2018/2019. A tendência de queda, que marcou as exportações para os EUA, principalmente por conta dos altos estoques americanos de suco,

teve uma leve desaceleração nos últimos meses da safra. Relatórios do instituto Nielsen, que faz o acompanhamento das vendas de suco de laranja no mercado americano, apontam para tendência de alta entre os meses de março e junho. No acumulado do ano, a alta, segundo essas pesquisas é de 17%. (CITRUSBR, 2020).

Os embarques de suco de laranja para o Japão registraram alta na safra 2019/2020, em relação ao mesmo período do ano anterior. Nesta temporada, foram exportadas para o país, 56.642 toneladas, 21% a mais que na safra 2018/2019, com 46.990 toneladas. O faturamento cresceu 8%, com US\$ 98,7 milhões ante os US\$ 91,5 milhões (CITRUSBR, 2020).

Já a China importou na safra 2019/2020, o total de 41.279 toneladas, 26% a mais do que o registrado na safra 2018/2019, com embarques de 32.655 toneladas. Em faturamento, houve queda de 9%, com US\$ 57,9 milhões ante os US\$ 63,9 milhões faturados na safra anterior. Este incremento pode ser explicado devido a uma desvalorização do suco devido à grande oferta do produto, e ao mercado chinês ser bem sensível a preço (CITRUSBR, 2020).

Quando observamos as exportações por produto pode se verificar um recuo nos embarques de suco de laranja NFC (Equivalente FCOJ a 66° Brix). O volume total exportado na safra 2019/2020 foi de 248.747 toneladas, uma redução de 5,39% na comparação com as 262.916 toneladas registradas na safra 2018/2019. Esse resultado deve-se, principalmente, ao recuo das exportações para os EUA. As vendas de suco NFC (Equivalente FCOJ a 66° Brix) para o mercado americano caíram 24,20% para 79.514 toneladas em comparação com as 104.901 toneladas na safra passada (CITRUSBR, 2020).

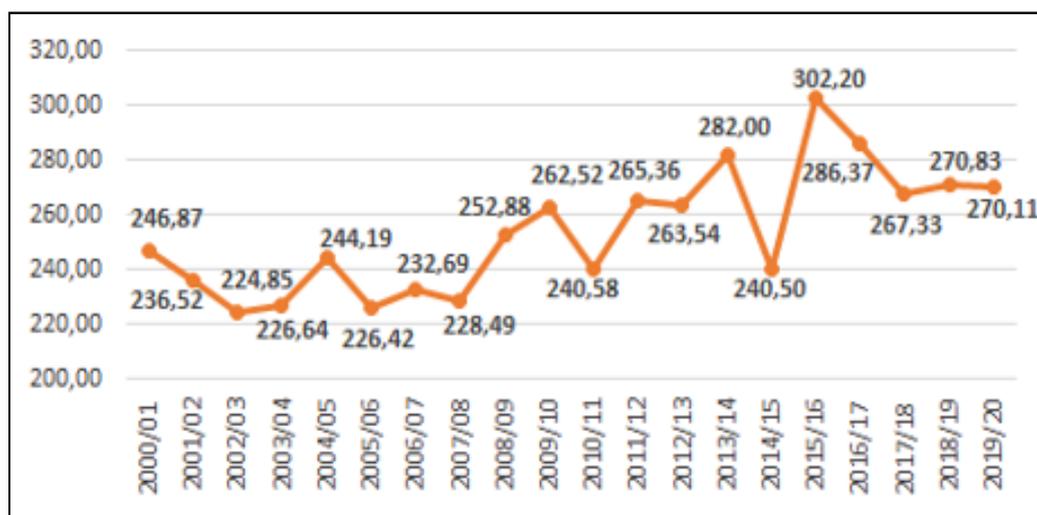
Já em relação ao suco FCOJ, as vendas cresceram 25,28%, somando 823.199 toneladas ante as 657.113 toneladas da safra anterior.

Arábia Saudita e Emirados Árabes começam a ganhar importância como mercados destinatários. Juntos compraram 8% do volume exportado pelo Brasil na safra 2009/10. Se o velho continente é tido como um tradicional cliente brasileiro, países do Oriente Médio, em função do poder aquisitivo e do hábito da população de não consumir bebidas alcoólicas; e da Ásia, pela elevada população, representam potenciais mercados para o crescimento do consumo de produtos cítricos. Embora a maior parte dos países dessas regiões consuma atualmente suco bastante diluído, na forma de refresco (NEVES, 2010).

A safra de laranja 2019/20 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro se encerrou em 386,79 milhões de caixas de 40,8 kg, de acordo com a Pesquisa de Estimativa de Safra (PES) do Fundecitrus. O valor apresenta redução de 0,54% em relação à primeira estimativa, de 388,89 milhões de caixas, divulgada em maio de 2019. Esta safra foi 35,3% maior do que a anterior (2018/19), o que evidencia o ciclo bienal de produção das laranjeiras, ou seja, safras maiores alternadas com safras menores (FUNDECITRUS, 2020).

A Compilação realizada pelo Fundecitrus indica que o rendimento industrial médio para a safra 2019/20 é estimado em 270,29 caixas de 40,8 quilos para a produção de uma tonelada de FCOJ equivalente para safra 2019/20, como indicado na figura 3.

Figura 2. Histórico de rendimento industrial - Caixas de 40,8 Kg por tonelada de FCOJ 66°



Fonte: CitrusBr, 2020.

É possível estimar o mercado interno de fruta in natura em cerca de 61 milhões de caixas de 40,8 quilos (FUNDECITRUS, 2020). A recuperação da produtividade dos pomares foi desencadeada pelo clima favorável para a floração e para o pegamento dos frutos. O controle do HLB intensificou o monitoramento e os tratamentos culturais (HORTI&FRUTI, 2019).

4.2 Processamento industrial do suco

O tipo de suco produzido é exigido pelo comportamento do consumidor em mercados de mais alto poder aquisitivo, que nos últimos anos passou a preferir o suco não concentrado (NFC - not from concentrate), suco pasteurizado sem retirada de água, ao suco concentrado congelado (FCOJ - frozen concentrate orange juice), cuja água é retirada do suco natural, por ser um produto de paladar mais agradável, com sabor mais aproximado ao do suco espremido na hora e por possuir uma imagem de mais saudável. As primeiras produções de NFC no Brasil começaram em 1999/00 ainda em caráter experimental, em 2000 foram realizadas as primeiras exportações, mas só em 2002/03 o NFC passou a ser registrado pela Secex separadamente das exportações do FCOJ (NEVES, 2010.).

Para atender à crescente demanda do consumidor, a produção de FCOJ aos poucos foi dando lugar à produção de NFC. De 2003 a 2009, houve um investimento da ordem de U\$ 900 milhões por parte das indústrias na produção, armazenamento e distribuição internacional do NFC. Estima-se que para cada caixa processada, armazenada e levada em forma desse suco ao cliente no exterior seja necessário um investimento três vezes superior ao necessário para o FCOJ. Foi graças a esse investimento nesse novo produto a 11,5° Brix que as exportações de NFC saltaram de 278.572 toneladas em 2003 para 939.442 toneladas em 2009, o equivalente a aproximadamente 171 mil toneladas de FCOJ a 66° Brix ou a 13% do total de suco exportado pelo Brasil. Tais investimentos para a produção de NFC devem ser amortizados durante um período de dez a 15 anos, segundo especialistas entrevistados (NEVES, 2010).

A Figura 3 apresenta um fluxograma genérico do processamento de laranja, destacando as principais etapas, os subprocessos e seus produtos.

Os principais subprodutos do processamento industrial do suco de laranja são (CITRUSBR, 2020):

- Comminuted Citrus Base: Produto resultante da moagem da fruta inteira ou de um pouco de suco concentrado misturado à casca moída, utilizado como ingrediente para bebidas à base de frutas.
- Polpa: São os gomos de suco rompidos e paredes internas do fruto que sobram após o processo de extração do suco. Pode ser re-adicionada ao suco.
- Suco extraído da polpa: Suco obtido após a lavagem da polpa, contendo sólidos provenientes da fruta. Pode ser usado em bebidas à base de frutas ou como fonte de açúcares.
- Óleo da casca de laranja (Cold-Pressed Oil): Óleo extraído da casca de laranja, utilizado na produção de compostos para bebidas, cosméticos e produtos químicos.
- Essência: Composta pelos componentes resultantes do processo de evaporação, separados em uma fase aquosa e uma oleosa. Ambas as fases são matérias primas para as indústrias de bebidas e alimentos e podem ser re-adicionadas ao suco.
- D-Limoneno ou Terpeno Cítrico: O principal componente do óleo da casca da laranja. É utilizado nas indústrias de plásticos como matéria-prima para a fabricação de resinas sintéticas e adesivos.
- Farelo de Polpa Cítrica: Produto resultante do processamento do suco, formado a partir dos resíduos úmidos do fruto, que passam por processo de secagem e formam uma forragem concentrada transformada em Pellets, os quais servem de alimentação fibrosa de ovelhas e gado.
- Pectina: Produto menos comum, proveniente da casca de laranja e utilizado em geléias, marmelada e gelatinas.
- Álcool: A prensagem do bagaço de laranja produz um líquido cuja fermentação resulta em álcool.

Para a fabricação do suco concentrado - FCOJ (from concentrate orange juice), após a filtração, o suco segue para um evaporador especialmente desenvolvido para a indústria de cítricos, onde os componentes voláteis são separados e depois recuperados, ao passo que o suco propriamente dito é concentrado para um grau Brix de 66. Os componentes recuperados são as essências, em fase aquosa e oleosa, que são vendidas para misturadores, embaladores de suco ou companhias que produzem aromas e sabores. Em alguns casos, o suco passa por um processo de homogeneização, diminuindo a viscosidade do produto para otimizar a evaporação. O suco concentrado é refrigerado e misturado a outras quantidades do mesmo produto para chegar a um equilíbrio de qualidade satisfatório. Em seguida, vai para tanques de armazenamento refrigerado, denominados Tank Farms (KHARFAN, 2012.)

O suco de laranja concentrado é mantido sem adição de conservantes, produto 100% natural e não fermentado (CITROSUCO, 2020). Por meio do processo de extração e concentração, o FCOJ é produzido sem qualquer perda de suas qualidades e sem qualquer uso de aditivos, sendo, após este processo, congelado a baixas temperaturas para preservar suas propriedades naturais, principalmente quanto à vitamina C. Quando reconstituído, o suco conserva seu sabor e qualidade original. (CUTRALE, 2020).

Para a fabricação do suco integral - NFC (Not From Concentrate), o suco filtrado é pasteurizado e pode passar por processos adicionais para remoção de parte do óleo existente e desaeração para remover oxigênio. O NFC é o Suco de Laranja Integral produzido a partir de rigorosa seleção de frutas, sendo submetido a leve pasteurização para a obtenção de sabor semelhante ao suco fresco, é 100% natural, não tem adição de água, açúcar e não contém nenhum conservante (CITRI, 2020).

A pasteurização é feita através de trocas térmicas do suco com vapor aquecido em trocadores de calor do tipo de placas ou de tubos, onde o vapor transfere calor latente para o suco aumentando, assim sua temperatura. O suco de laranja também sofre um resfriamento dentro mesmo equipamento. Esse resfriamento é feito através de contato indireto do suco que está saindo do pasteurizador com o suco que está entrando, provocando, assim, uma redução na temperatura do produto de saída (RIBAS, 2013).

Para o suco de laranja normalmente é usado uma temperatura de 90°C durante 3 segundos. A pasteurização não modifica praticamente em nada o sabor do suco e afeta muito pouco o valor nutricional, é aplicado com a finalidade de desativar enzimas, eliminar microrganismos indesejáveis, como patogênicos, deteriorantes e células vegetativas de bolores e leveduras e além disso estabilizar o suco saída (RIBAS, 2013).

O produto final é armazenado por até um ano, congelado ou refrigerado. Como o suco não concentrado ocupa um volume 5 a 6 vezes maior que o concentrado, o custo de armazená-lo congelado é alto. Para grandes quantidades, o armazenamento geralmente é feito utilizando tanques assépticos com capacidade para até 4 milhões de litros. O suco deve ser agitado periodicamente para evitar a separação entre o suco e os sólidos dissolvidos e para manter a uniformidade do grau Brix (KHARFAN, 2012.).

No Brasil, onde a maior parte do suco é destinada para exportação, os tanques assépticos são instalados nos terminais portuários e não nas fábricas. Para evitar a repasteurização do suco antes do embarque, foram desenvolvidas tecnologias que permitem o transporte em navios especialmente designados para este fim. Outra alternativa de armazenamento é o uso de contêineres com sacos assépticos de capacidade de até 1000 litros (conhecidos como Bag- in-Box). Quando o NFC é transportado para longas distâncias, pode haver mistura com outros sucos e polpa em instalações localizadas nos terminais que recebem o suco, ou em empresas misturadoras (blending houses) (KHARFAN, 2012.).

4.3 Qualidade do suco

A qualidade do suco de laranja é influenciada basicamente por fatores microbiológicos, enzimáticos, químicos e físicos, que comprometem suas características organolépticas (aroma, sabor, cor, consistência, estabilidade da turbidez, separação de fases sólido/líquido) e nutricionais (vitaminas). Em conjunto, esses fatores e as alterações durante o acondicionamento, distribuição e estocagem irão influenciar a vida de prateleira do produto (CORRÊA NETO & FARIA).

O mercado consumidor do suco de laranja concentrado congelado brasileiro é composto principalmente pela Europa, Japão e EUA, que correspondem a praticamente 91,7% do suco exportado pelo Brasil no período de 1994/95. O Japão e a Europa podem ser considerados como os mercados consumidores mais exigentes em relação à qualidade do produto. A Europa demanda padrões de qualidade de vários órgãos reguladores, inclusive do USDA – United States Department of Agriculture. O Japão é considerado um país muito exigente em relação à qualidade, e não adota os padrões estabelecidos e utilizados internacionalmente. Este país formula padrões próprios que são considerados mais restritos e específicos, dificultando o cumprimento das exigências. As empresas de processamento alegam que esses dois mercados consumidores apresentam uma maior gama de exigências em relação ao suco, por não apresentarem conhecimento e experiência suficiente, como o Brasil e os EUA, no processamento do suco. Com isso, os EUA, frente a esses dois mercados, não podem ser caracterizado como um país com elevado grau de exigência (BORGES & TOLEDO, 1999).

Em conjunto aos padrões exigidos pelo mercado consumidor, as empresas processadoras precisam relevar as exigências demandadas pelos órgãos reguladores internacionais (Codex Alimentarius e AIJN – European Fruit Juice Association) e governamentais (JAS – Japanese Agricultural Standard e USDA). Esses órgãos regulam a qualidade do suco de laranja, permitindo ou não a importação do suco brasileiro pelos países consumidores (BORGES & TOLEDO, 1999).

O consumidor final do suco de laranja brasileiro não tem contato direto com o segmento de processamento do suco no Brasil. Esta relação é intermediada pelas empresas de diluição e envasilhamento, no exterior, as quais acrescem suas exigências às dos consumidores e repassam-nas às empresas processadoras, que acrescentam as exigências dos órgãos reguladores. As empresas de diluição e envasilhamento compram o suco das empresas processadoras e, após manipular, revendem ao consumidor final ou aos distribuidores (BORGES & TOLEDO, 1999).

As exigências do consumidor final são identificadas e traduzidas pelas empresas de diluição e envase. Após, acrescentam suas exigências e repassam-nas para as empresas de processamento. Esta etapa de tradução, realizada pelas empresas de diluição e envase e,

posteriormente, pelas empresas de processamento, deve ser realizada com precisão, para que o suco produzido atenda às exigências do consumidor. Vale salientar que, como a empresa processadora não está em contato direto com o consumidor final, precisa confiar na capacidade das empresas de diluição e envase em acrescentar as suas exigências aquelas que são efetivamente provenientes das expectativas do consumidor final (BORGES & TOLEDO, 1999).

As características essenciais que compõem a qualidade do suco de laranja e que estão relacionadas com as exigências estabelecidas pelos órgãos regulamentadores e demandadas pelas empresas processadoras de suco de laranja, são dos seguintes tipos:

- físico-químicas-químicas: ratio (índice de acidez), Brix (porcentagem de sólido existente em um determinado produto líquido), vitaminas, ácidos, compostos nitrogenados, porcentagem da polpa, óleo;
- organolépticas: sabores, cor, aroma;
- microbiológicas: limitação da quantidade de microrganismos contidos no suco;
- práticas de processo: autenticidade do produto, controle de pesticidas na fruta, controle de metais pesados (BORGES & TOLEDO, 1999).

4.4 Segurança microbiológica

As condições microbiológicas dos sucos a base de frutas são decorrentes desde o momento primário da produção da fruta até a extração do suco para o consumo (FURLANETTO et al., 1982). A segurança microbiológica dos sucos processados depende muito dos cuidados anteriores da fruta como o processo de sanitização, estocagem e extração do suco. A laranja possui uma elevada acidez criando assim um ambiente seletivo e inóspito para muitos patógenos. Entre os microrganismos patogênicos que podem ocorrer estão *E.coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella*, pois estes são capazes de sobreviver a meios ácidos (OLIVEIRA et al., 2006).

Os microrganismos mais encontrados são bolores, leveduras e bactérias ácido-láticas, devido suas características que conferem melhor adaptação ao ambiente de baixo pH e a altas concentrações de açúcares que o suco de laranja proporciona. Entre os representantes mais frequentes de bactérias lácticas estão os gêneros *Leuconostoc* e *Lactobacillus* (PARISH, HIGGINS, 1988).

A análise microbiológica de produtos alimentícios industrializados, como é o caso de sucos concentrados de laranja, envolve a detecção de contaminantes específicos e potenciais deterioradores, como bactérias lácticas, bolores e leveduras (HATCHER et al., 1992).

A Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019 estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2019). O suco de laranja se enquadra na categoria de bebidas não alcoólicas, e para cada tipo de suco estabelece diferentes padrões microbiológicos, como descrito na tabela 1.

Tabela 1. Padrões microbiológicos para o suco de laranja

Categorias específicas	Microrganismo/Toxina/Metabólito	n	c	m	M
Refrescos, sucos, néctares e outras bebidas não carbonatadas, adicionadas de conservadores, não refrigeradas	Bolores e Leveduras/mL	5	2	10	10 ²
Sucos desidratados e pós para o preparo de bebidas	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Enterobacteriaceae</i> /mL	5	2	10	10 ²
Sucos concentrados adicionados de conservadores ou congelados	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Enterobacteriaceae</i> /mL	5	2	10	10 ²
	Bolores e Leveduras/mL	5	2	10 ²	10 ³
Sucos e outras bebidas submetidas a processos tecnológicos para redução microbiana, que necessitam de refrigeração	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>B. cereus</i> presuntivo/mL, somente para bebidas à base de cereais, sementes e grãos	5	1	10 ²	5 x 10 ²
	<i>Enterobacteriaceae</i> /mL	5	2	10	10 ²
	Bolores e Leveduras/mL	5	2	10	10 ²
Sucos e outras bebidas "in natura" ou reconstituídas	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /mL	5	2	10	10 ²

Devido às suas características físico-químicas, incluindo pH ao redor de 3,0, baixa atividade de água, teor de açúcar elevado (65° Brix) e baixo potencial de oxigênio dissolvido, o suco concentrado de laranja não é um substrato adequado para o desenvolvimento da grande maioria dos microrganismos deteriorogênicos comumente associados aos alimentos. Contudo, estas mesmas características, associadas ao processamento industrial do suco,

podem selecionar os microrganismos que são capazes de sobreviver aos tratamentos térmicos empregados e de crescer em baixos valores de pH (FARAH, 2004.).

No caso de sucos de laranja concentrado congelado, armazenado sob baixas temperaturas (-18° C), a ação deteriorogênica dos microrganismos é inibida. Entretanto, quando o suco concentrado (65° Brix) é reconstituído com água, ficando com uma concentração de 11° Brix, o produto fica susceptível à eventual contaminação e à ação deteriorogênica dos microrganismos (FARAH, 2004.).

Após sua reconstituição, o suco é pasteurizado e as formas dormentes de bactérias (esporos) encontram condições adequadas para germinação e crescimento, o que pode, em determinadas condições, levar à deterioração do produto (EGUCHI et al., 1999). A deterioração pode ocorrer de diversas formas, incluindo a degradação de componentes do produto, como carboidratos e vitaminas, produção de odores, sabores ou coloração indesejáveis, e alterações de pH e textura (UBOLDI EIROA et al., 1989).

4.4.1 Microrganismos deterioradores

As espécies de bactérias deterioradoras frequentemente associadas aos sucos de frutas processados (alimentos ácidos pH < 4,5) incluem microrganismos pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e bactérias acetogênicas (MURDOCK & HATCHER, 1975). A maioria desses organismos é acidofílico estrito ou acidotolerante, termotolerante ou termofílico, tendo como característica comum elevada resistência à temperatura.

A deterioração de natureza microbiológica do suco de laranja limita-se aos microrganismos tolerantes ao meio ácido, com predomínio de bactérias lácticas, leveduras e fungos. As bactérias produtoras do ácido láctico, como os *Lactobacillus* e *Leuconostoc*, apresentam resistência térmica muito baixa, sendo geralmente destruídas quando submetidas ao tratamento térmico, são microaerófilas e toleram pH baixos. O produto da degradação pelas bactérias é o diacetil, que induz odor forte e sabor desagradável ao suco, o CO₂ e ácido láctico (SALZBERG & PEREIRA 1985).

A degradação por leveduras é a causa mais comum da deterioração dos sucos de frutas, devido à sua elevada tolerância aos ácidos e à particularidade de muitas delas se desenvolverem anaerobicamente e apresentarem maior resistência térmica que as bactérias e a maioria dos fungos. Sua multiplicação é acompanhada de produção de CO₂ e etanol, mas também pode manifestar-se pela formação de películas e floculação que diminuem a turvação dos sucos. Podem também produzir acetaldeído, que contribui para o odor fermentado (VITALI & RAO 1984).

Os fungos da microbiota natural das frutas são capazes de desenvolverem-se em uma ampla faixa de pH e de atividade de água, são pouco exigentes em nutrientes, fundamentalmente aeróbios e, em geral, apresentam baixa resistência térmica, de forma que em produtos pasteurizados, sua presença é facilmente evitada. A deterioração por estes microrganismos se manifesta pela produção de CO₂ e, conseqüente, estufamento da embalagem. Em sucos processados e preservados por tratamentos térmicos, a presença desses microrganismos não é tolerada. Quando ocorrem fungos viáveis nesse tipo de produto, o fato deve-se, geralmente, ao subprocessamento ou à recontaminação. Porém, existem alguns fungos termorresistentes, como os do gênero *Byssochlamys*, que podem vir a deteriorar o produto (LEITÃO 1973).

As temperaturas em torno de 90°C, normalmente empregadas no tratamento térmico para a preservação do suco, podem não ser suficientes para inativar fungos termorresistentes. Temperaturas mais elevadas afetam as características físico-químicas dos sucos e, portanto, o controle da deterioração por fungos termorresistentes baseia-se fundamentalmente na adoção de práticas higiênico-sanitárias adequadas, visando diminuir a possibilidade de contaminação das matérias-primas (SIZER et al 1988; VITALI & RAO 1984).

Tocchini et al. (1995) afirmam que a vida útil do suco de laranja pasteurizado refrigerado, segundo uma tecnologia que se baseia na inativação enzimática, seguida de imediato resfriamento até a temperatura em que o produto é armazenado, é encerrada quando a contagem de mesófilos totais alcança níveis próximos a 10⁴ UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por mililitro de produto, quando em embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD) ou cartonadas do tipo Tetra-Rex (sem alumínio em sua estrutura).

O *Alicyclobacillus.sp* (ACB) são bactérias que podem produzir esporos, que sobrevivem aos meios ácidos (pH 2,2 a 6,0) e temperaturas altas (30-60°C) (YUAN et al.,2014). Essa bactéria por ter a capacidade de desenvolver esporos, pode sobreviver ao processo atual de pasteurização de sucos de cítricos (TORLAK, 2014). O ACB é um tipo de bactéria que tem origem na própria plantação de laranja, proveniente do próprio solo (EGUCHI et al., 1999). Esta bactéria é do gênero chamado *Alicyclobacillus*, devido à presença exclusiva dos ácidos graxos ω -alicíclicos (ω -ciclohexano; ω -cicloheptano) em sua membrana celular. E também devido a uma série de análises comparativas, que demonstraram como resultado a sequência do RNA ribossomal 16S (rRNA) (WISOTSKEY et al., 1992). Existem 17 espécies de *Alicyclobacillus*, e dessas, 3 espécies são mais relevantes quando levantamos a questão de produtos alimentícios ácidos a base de frutas, essas espécies são *Alicyclobacillus pomorum*, *Alicyclobacillus acidocaldarius* e *Alicyclobacillus acidoterrestris* (GROENEWALD et al., 2009; GOTO et al., 2003; JENSEN; WHITFIELD, 2003).

O *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT), é uma espécie que produz guaiacol que é um produto de seu metabolismo e que pode ser causa da deterioração em sucos a base de frutas (ORR et al., 2000). É o AAT que confere um odor e sabor desagradável ao suco. Vale ressaltar que não são microrganismos patogênicos, são deteriorantes e quando presentes podem alterar o sabor, a cor e a textura do produto (SILVA, GIBBS, 2001; LEE et al., 2002; JENSEN, WHITFIELD, 2003). Pois mesmo sendo o AAT que altera as características do suco, a quantidade encontrada de Unidades formadoras de colônias (UFC) de ACB é um indicativo de sanitização. Se há uma quantidade alta de ACB, isso indica que as frutas não foram corretamente sanitizadas (SILVA, GIBBS, 2001; VIEIRA et al., 2002).

A prevenção da deterioração pela bactéria AAT é um desafio para as indústrias que processam suco de frutas, devido a sua capacidade de crescimento. Uma vez que é difícil garantir a ausência de esporos dessa bactéria sobre a superfície dos frutos utilizados para o processamento de suco, pois o nicho primário de ACB é o solo (EGUCHI et al., 1999). Algumas substâncias estão sendo utilizadas para a prevenção da deterioração, como, por exemplo, bacteriocinas isoladas de bactérias ácido-láticas (ANSARI et al. 2012), mas estudos mais aprofundados são necessários.

A deterioração causada pela bactéria AAT se deve a um aroma desagradável proporcionado por uma substância proveniente do próprio metabolismo desta bactéria que é o guaiacol, que pode ser detectado pelo homem a partir de uma concentração tão baixa quanto 2 partes por bilhão, sendo este tipicamente o primeiro sinal da deterioração (PETTIPHER et al., 1997).

Quando há uma contaminação com um pequeno número de esporos viáveis de AAT já é o suficiente para contaminar grandes volumes de suco, e conseqüentemente se não houver cuidados haverá perda econômica. Por isso são realizados estudos sobre temperaturas adequadas para o armazenamento de modo que uma determinada temperatura possa inibir a germinação e crescimento de microrganismos que prejudiquem ou alterem as propriedades organolépticas do produto industrializado, pois a temperatura mínima do crescimento vai depender da composição do respectivo produto. Segundo estudos realizados sobre temperatura de estocagem em sucos pasteurizados demonstram que normalmente estas bactérias não crescem em temperaturas menores de 20°C (JENSEN, 2003).

4.4.1.1 Bactérias ácido-termofílicas

A sigla ATSB (*Acidothermophilic sporofforming bactéria*) foi cunhada para representar o grupo de bactérias capazes de sobreviver e crescer em condições ácidas e de temperatura elevada (EGUCHI et al, 2001a). As ATSB não são patogênicas (SILVA & GIBBS, 2001) e tem sido detectada em vários episódios de deterioração de bebidas ácidas em diferentes países (PETTIPHER et al, 1997). Os esporos destas bactérias, além de possuírem resistência à pasteurização nas condições de tratamento normalmente aplicadas aos sucos de fruta ácidos, podem germinar e causar a deterioração do produto final reconstituído, caso este seja armazenado sob condições de temperatura elevada (EGUCHI et al., 2001c).

As alterações de sabor e odor do suco fazem com que a comercialização destes seja inviável. Episódios de contaminação podem comprometer a imagem do produto em uma escala internacional, independente do fabricante, e comprometer a comercialização, como foi verificado nos episódios de contaminação de sucos ocorridos no verão de 1994-95 na Europa (EGUCHI et al., 2001a).

Devido à ocorrência amplamente disseminada de esporos e células vegetativas de ATSB na superfície da própria laranja em fruta colhida no campo e no ambiente de indústria, principalmente nas águas de condensação (água taste) recicladas utilizadas na lavagem das frutas e equipamentos, e muitas vezes na diluição do próprio suco concentrado (EGUCHI et al., 2001b), se torna fundamental monitorar e controlar o nível de contaminação nas amostras durante o processo e equipamentos da indústria, visando evitar a contaminação do suco processado por ATSB.

Os *Alicyclobacillus* foram considerados, recentemente, organismos-alvo na avaliação da qualidade de produtos ácidos termoprocessados, sendo associados à deterioração de sucos de frutas, bebidas acidificadas e água isotônica em diversas regiões do mundo (YAMAZAKI et al., 1996). Trabalhos iniciais, como o de DEINHARD (1987), relatam o isolamento destes organismos em sucos de maçã na Alemanha. No Brasil, os trabalhos de EGUCHI et al. (2001a,b,c) demonstraram o isolamento de *Alicyclobacillus* de vários substratos e etapas do processamento industrial de suco de laranja no Estado de São Paulo.

Esporos de *Alicyclobacillus* podem estar presentes em todos os pontos de coleta da linha de produção do suco concentrado de laranja (EGUCHI et al., 2000b). A resistência térmica de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris*, também foi investigada por MURAKAMI et al., (1998), com testes em tampão citrato, tampão fosfato e pH, a resistência térmica dos esporos de *A. acidoterrestris* foi pouco afetada pela variação de pH e calor.

A alta resistência de esporos de *Alicyclobacillus* em suco de laranja foi verificada por Eiroa et al., (1999), na qual a cultura pura de suspensão de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 2498 foi submetida a diferentes tratamentos térmicos (60°C por 60 min, 60°C por 30 min, 70°C por 20 min, 80°C por 10 min, 80°C por 30 min e em fervura por 5 min) para determinar a melhor condição de ativação dos esporos do suco de laranja concentrado de 11 diferentes fornecedores. Foi avaliada a presença de esporos acidotermofílicos pela técnica do número mais provável, utilizando o *Bacillus acidocaldarius*, inoculado em caldo e incubado a 44°C por cinco dias, após uma ativação dos esporos. Das amostras de suco de laranja examinadas, 14,7% foram positivas para *Alicyclobacillus*. Os resultados demonstraram a ocorrência de *Alicyclobacillus* em suco de laranja e a alta

resistência ao calor dos esporos, que podem sobreviver aos tratamentos térmicos normalmente usados no processamento de suco de laranja nas indústrias.

Resultados preliminares obtidos revelam que os *Alicyclobacillus* são resistentes ao tratamento por cloração, necessitando de dosagens muito elevadas de cloro para a sua inativação. Este fato, associado à extrema termorresistência e termofilia, tem se instalado como um problema tecnológico muito grande, em especial no processamento de sucos. Sucos de laranja, por exemplo, não toleram tratamento térmico severo, devido à perda das suas características organolépticas (CERNY, 1984).

Estudos mais recentes incluem o isolamento de linhagens de bactérias esporuladas acidotermofílicas com características similares às de *A. acidoterrestris* de sucos de frutas não-deteriorados na Itália (PREVEDI et al., 1995), de amostras de bebida ácida e bebida isotônica deteriorada no Japão (YAMAZAKI et al., 1996) e de amostras não deterioradas de sucos de frutas e de tomate enlatado (WEBSTER et al., 1996).

A participação da ATSB na deterioração de sucos de laranja concentrados foi uma descoberta relativamente recente, trazendo a necessidade de se conhecer mais profundamente o comportamento deste grupo de microrganismos e de se estudar as possíveis formas de controlar ou eliminar as contaminações, seja na sua origem (solo, água, etc.) e/ou nas etapas de industrialização dos sucos ácidos (SPLITTSTOESSER, 1994).

A presença de ATSB é indesejável devido à produção de off-flavor em produtos acabados, afetando as características organolépticas do suco (CERNY, 1984). As características de deterioração são a presença de um sabor e odor desagradáveis, o aumento da turbidez do produto e a formação de uma sedimentação branca no fundo da embalagem (EGUCHI et al., 2000a).

4.4.1.2 Microrganismos fermentadores

De acordo com Graumlich et al. (1986) as bactérias ácido-láticas (LAB) não são resistentes ao calor ($D_{60^{\circ}\text{C}} = 0,1 - 0,3$ minutos) e a temperatura de pasteurização de sucos é capaz de destruí-los. Isso foi definido por Gressoni e Massaguer (2003), que observaram um

tratamento térmico de 95°C/ 30 s foi capaz de destruir totalmente uma carga de 10⁶ log UFC / mL de LAB existente no suco de laranja após a extração em uma planta industrial. Embora a presença do LAB seja frequentemente relatada em sucos não pasteurizados (Oliveira et al.2006a), a recontaminação após o processamento térmico de sucos de frutas desempenha um papel importante.

Atualmente, a LAB representa um dos desafios mais importantes para a sanitização das indústrias de frutas e bebidas. As ocorrências de deterioração em que esses microrganismos estão envolvidos, são o resultado de falhas nos programas de limpeza e sanitização, principalmente em equipamentos que estão após o pasteurizador na linha de produção (por exemplo, máquinas de envase, devido à complexidade da limpeza e higienização de suas válvulas de enchimento). Além disso, as LAB são capazes de secretar exopolissacarídeos (Martínez-Viedma et al. 2008), resultando na formação de biofilmes e aumentando os riscos de uma pós-contaminação e deterioração. Um episódio de deterioração causado pelo LAB é normalmente caracterizado por um grande número de embalagens de suco de frutas com uma alta proporção de amostras estragadas do início da produção (que indica falhas na sanitização) (Tetra Pak 1998). As medidas mais importantes usadas para controlar a LAB em instalações de suco de frutas são, respectivamente, a aplicação de sanitizantes na etapa de lavagem das frutas, pasteurização e uma sistema de sanitização eficaz (Guzel-Seydim et al. 2004; Silva e Gibbs 2004; Bastos et al. 2005). A eficiência da conjunção dessas medidas ainda não foi determinada.

4.4.2 Microrganismos patogênicos

A capacidade das bactérias patogênicas de sobreviver/crescer em sucos de frutas está bem documentado (ZHUANG et al., 1995; JANISIEWICZ et al., 1999; PENTEADO & LEITÃO, 2004b; UCHIMA et al., 2008). Além disso, a incapacidade de protozoários e vírus se multiplicarem nesses produtos também é reconhecido (DAWSON 2005; FAO / OMS 2008).

No entanto, ao longo dos anos, todos esses agentes etiológicos têm sido constantemente e cada vez associado a surtos de doenças do suco de frutas (PARISH 1997),

destacando sua persistência. Apesar disso, um número restrito de bactérias, protozoários e agentes etiológicos virais têm sido associados a esses produtos (BEUCHAT 2002), em comparação com os microrganismos encontrados em outros alimentos (LYNCH et al. 2006).

O aumento do envolvimento de frutas/sucos de frutas como veículos de surtos de doenças podem ser devidos a: (1) Melhorias nas ferramentas epidemiológicas e programas, tornando-se mais fácil e possível conectar agentes etiológicos e alimentos; (2) conhecimento atual por epidemiologistas e profissionais da saúde que sucos de frutas são potenciais veículos de infecções; (3) mudanças no consumidor e nos hábitos de consumo de alimentos, principalmente com a crescente demanda por sucos de frutas frescas; (4) sucos de frutas originários de locais do mundo todo com melhor distribuição geográfica devido à globalização; (5) o surgimento de patógenos anteriormente não reconhecida por sua associação com sucos de frutas (PARISH, 1997; BEUCHAT, 2002). Além disso, (6) o número restrito de microrganismos patogênicos associados a sucos de frutas pode ser devido principalmente à sua capacidade de adaptar, sobreviver ou crescer sob condições de elevada acidez encontradas nesses produtos (BEALES, 2004).

Dados sobre a capacidade de patógenos sobreviverem sob condições ácidas (LEYER et al., 1995; LEYER & JOHNSON, 1993), ou sua capacidade de crescer em diferentes sucos de frutas com baixo teor de ácido (PENTEADO & LEITÃO, 2004b; UCHIMA et al., 2008), se provou que, quando existe contaminação, a ocorrência de surtos é altamente provável. No entanto, a ocorrência de um surto também depende das condições que determinarão a sobrevivência, crescimento ou morte dos patógenos, ou seja, tempo antes do consumo, condições de armazenamento (refrigeração) e a quantidade consumida.

Microrganismos patogênicos entéricos como *E. coli* O157: H7 e *Salmonella spp.* se adaptam facilmente às condições ácidas de frutas cítricas, também gerando implicações na segurança alimentar, podendo causar uma infecção subsequente após a ingestão do suco (GOODSON & ROWBURY, 1989). O curto período (~ 15 min) necessário para que cepas de *E. coli* O157: H7 sensíveis ao ácido se tornem resistentes ao ácido (JONGE et al., 2003). A adaptação e crescimento de *Salmonella spp.* e *E. coli* em valores baixos de pH é possível se ocorrer uma adaptação sequencial de ácidos (FOSTER & HALL, 1990; BROWN et al., 1997).

Foster (2001) revisou os mecanismos das respostas ao estresse ácido em *Salmonella e E. coli* 0157: H7, como os patógenos mais importantes envolvidos na segurança alimentar do suco de fruta. Esses patógenos entéricos podem se proteger de ambientes ácidos de várias maneiras, como: (1) impedir a entrada de prótons nas células; (2) bombear prótons para fora da célula ou (3) quando o pH interno entrou em uma zona perigosamente ácida, os patógenos podem proteger ou reparar os danos à macromolécula. (4) síntese de isoformas de enzimas-chave com pH ótimo na faixa de ácido para que eles possam funcionar quando o pH interno cai (Foster 2001).

4.4.3 Microrganismos benéficos

Em estudo realizado por Brasili (2019), primeiro estudo mundial sobre os efeitos do suco de laranja das variedades baía e cara-cara no intestino humano, obtiveram-se resultados animadores: a ingestão desses sucos produz mudanças benéficas na composição da microbiota intestinal.

“Após a ingestão do suco de laranja-baía foi observado um aumento das famílias de bactérias *Veillonellaceae* e *Ruminococcaceae* que possuem diversas funções benéficas ao organismo humano, incluindo a redução das patologias inflamatórias intestinais”, segundo Brasili, 2019. Houve o aumento destas famílias de bactérias, que pertencem ao gênero *Clostridium*, o qual não é composto apenas de bactérias patogênicas, como a espécie que causa o botulismo. Algumas têm efeitos positivos no intestino, auxiliando na manutenção de suas funções e em seu equilíbrio.

Já após a ingestão do suco de laranja cara-cara foi observado um aumento significativo nas famílias das bactérias *Mogibacteriaceae* e *Tissierellaceae*, cuja abundância relativa se encontra alterada em várias doenças, tais como a doença de Parkinson. Apesar da cara-cara ainda não ser uma variedade comercializada, há empresas investindo na produção do suco para que se conheça melhor sua composição (BRASIL, 2019.)

Para chegar a esses resultados, Brasili trabalhou com 21 voluntários, todos saudáveis, com idade entre 20 e 43 anos, homens e mulheres. Primeiro caracterizou-se a microbiota

intestinal de cada um e depois ministrou-se os sucos em diferentes períodos, de forma randomizada, analisando a microbiota após uma semana de ingestão de cada uma das bebidas. Cada usuário ingeriu 500 mililitros (ml) de suco diariamente. A mudança operada na microbiota com a ingestão dos sucos de laranjas baía e cara-cara é transitória. Quando o indivíduo muda de novo seu padrão de dieta, a microbiota se altera novamente. “É como tomar probióticos. Quando você ingere, há benefícios. Quando para de tomar, os benefícios diminuem.” (BRASIL, 2019).

4.5 Pontos críticos de contaminação na indústria de suco de laranja

Figura 4. Infográfico da indústria de suco de laranja com os pontos críticos de contaminação



Fonte: CitrusBr, 2010.

Na figura 4 encontram-se indicados os pontos críticos de contaminação do suco de laranja durante o processo de fabricação, que são eles (EGUCHI et al., 2001a):

- 1- Lavagem das frutas que entram no processo: etapa primordial, pois afeta diretamente o nível de ATSB no suco e também contribui para a introdução contínua de contaminantes ao sistema, sendo um foco de contaminação. Porém, o uso de cloro para o controle microbiológico da fruta na etapa de lavagem não apresenta eficiência comprovada sobre as ATSB.

- 2- Primeira fase do processamento do suco: entrada, extrator e centrífuga, em temperaturas acima de 30°C pode propiciar um intenso crescimento de ATSB. Desta forma, procedimentos de higiene adequados deverão eliminar a instalação de focos de ATSB.
- 3- Tubulações e válvulas presentes nas etapas subsequentes: o gradativo aumento de temperatura durante o processo pode resultar em germinação e crescimento de ATSB, criando focos de contaminação.

Condições climáticas influenciam o desenvolvimento de ATSB. Climas mais secos (índice pluviométrico baixo) propiciam sua disseminação com a poeira e com as chuvas, o índice de contaminação é reduzido, pois as frutas são "lavadas", ou seja, resíduos do solo presentes na superfície das frutas e folhas são lixiviados, diminuindo assim a contaminação por ATSB (EGUCHI et al., 2000a).

4.6 Novas tecnologias para conservação do suco de laranja

Adotar tecnologias que mantenham a qualidade físico-química e minimizem as perdas sensoriais do suco de laranja é importante e necessária, para motivar os brasileiros a consumir sucos processados. Estudos estão sendo realizados a fim de se otimizar a aplicação de novas tecnologias, como radiação gama, ultra-violeta, altas pressões e ultrassom em suco de laranja, com o intuito de se reduzir a contagem microbiológica e que não comprometa suas características físico-químicas e sensoriais.

Em estudo realizado por Ortiz 2012, o tratamento com radiação gama mostrou-se eficiente na diminuição das contagens de bactérias psicrotróficas em amostras de suco de laranja integral, com o suco irradiado com 6,0 kGy não apresentando contagem microbiana. O aumento da dose de radiação gama contribuiu gradativamente para a diminuição de psicrotróficos e de bolores e leveduras nas amostras de suco. Porém, Verruma-Bernardi e Spoto (2003) estudaram o efeito da radiação gama em suco de laranja, os resultados mostraram que as doses de 1,5 e 3,0 kGy afetaram as características sensoriais de aparência, aroma, sabor e textura.

Efeitos das radiações gama e ultra-sônica foram estudados na aplicação de sucos contaminados por *Alicyclobacillus acidoterrestris*. O aumento da dose de radiação e das frequências ultra-sônicas houve diminuição deste microrganismos, além da diminuição da contagem total de microrganismos e de fungos e leveduras. O suco de laranja quando irradiado com a dose de 8kGy atingiu a esterilização (PIRES, 2006).

O uso de ultrassom em sucos é uma tecnologia não térmica considerada promissora, juntamente com a tecnologia de alta pressão. A técnica de ultrassom é aplicada na inativação de microrganismos e enzimas, vem sido estudada como método para a conservação de alimentos, a fim de substituir o tratamento térmico convencional geralmente aplicado à sucos. A vantagem do ultrassom sobre a pasteurização térmica incluem a minimização da perda de sabor, maior homogeneidade e economia significativa de energia (SCHUINA, 2014).

O processamento de alta pressão (HPP) pode ser uma ferramenta útil para a obtenção de produtos alimentícios mais saudáveis e seguros (CARBONELL-CAPELLA et al. 2013). Diante disso, esta tecnologia foi adaptada às necessidades específicas da indústria de alimentos e, atualmente, uma gama de produtos tratados por pressão, incluindo o sucos de laranja.

No que diz respeito à qualidade de ingestão do produto acabado, a aplicação da tecnologia de altas pressões pode apresentar vantagens sobre os processamentos térmicos. Isso ocorre porque as moléculas pequenas, tais como compostos voláteis de aroma e pigmentos relacionados com a qualidade sensorial dos alimentos não são afetados pelo processamento de alta pressão (PATRAS et al. 2009). Com esse tipo de processamento não-térmico é possível, ainda, ativar e inibir microrganismos, ativar e inativar enzimas a baixas temperaturas, enquanto que os compostos de baixo peso molecular, tais como vitaminas e compostos relacionado com a pigmentação e aroma, permanecem inalterados. Em alimentos fluidos, a pressão é transmitida uniformemente e instantaneamente, isto é, não há gradientes.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A partir desta revisão bibliográfica, é possível dizer que os principais fatores apontados por favorecer a contaminação dos sucos estão relacionados à estocagem e à qualidade insatisfatória da matéria-prima, a superfície externa da fruta e a etapa de extração do suco como a inadequada higienização de equipamentos extratores e utensílios, podendo estes, serem fontes de contaminação principalmente por bolores e leveduras.

O tipo de processamento irá determinar a segurança microbiológica do produto, para que este permaneça estável durante a sua vida útil, ou seja, apresente suas características físico-químicas e sensoriais inalteradas.

Alguns fatores, como o Brix e adição de óleos essenciais, não estão associados à qualidade microbiológica da fruta em processamento, mas podem representar uma forma de introdução de microrganismos ao produto final. A contaminação também pode ocorrer em tubulações e instalações em contato com o suco, devido a existência de um ou mais focos de contaminação. Muitas vezes, as etapas de pasteurização/evaporação não são eficazes para a eliminação dos esporos de ATSB (EGUCHI et al., 2000c).

Os fatores mais importantes no controle de ATSB no processo industrial são: origem e qualidade da água utilizada na indústria, sistema de lavagem dos frutos, limpeza e assepsia das instalações e a existência de focos de proliferação de contaminação.

As águas da etapa de lavagem dos frutos e as que são recicladas na produção podem afetar a enumeração de *Alicyclobacillus* do produto final, uma vez que o contato pode ocorrer na fase inicial do processo. Qualquer introdução de ATSB nesta fase influi no processo como um todo, pois o contaminante não só é carregado no suco, mas também pode se instalar na linha de processamento e tubulações, originando fontes contínuas de contaminação.

Foi possível entender sobre a ocorrência de *Alicyclobacillus* em suco de laranja e a alta resistência ao calor dos esporos, que podem sobreviver aos tratamentos térmicos normalmente usados no processamento de suco de laranja nas indústrias.

A prevenção da deterioração pela bactéria AAT é um desafio para as indústrias que processam suco de frutas, devido a sua capacidade de crescimento. Uma vez que é difícil

garantir a ausência de esporos dessa bactéria sobre a superfície dos frutos utilizados para o processamento de suco, pois o nicho primário de ACB é o solo (EGUCHI et al., 1999). Algumas substâncias estão sendo utilizadas para a prevenção da deterioração, como, por exemplo, bacteriocinas isoladas de bactérias ácido-láticas (ANSARI et al. 2012), mas estudos mais aprofundados são necessários.

Por outro lado, a pasteurização de sucos de frutas sofreu mudanças drásticas em relação às condições de processamento, principalmente devido ao aparecimento de microrganismos termofílicos acidófilos (*Alicyclobacillus spp*). Embora os sistemas de notificação e vigilância de surtos de doenças transmitidas por alimentos tenham se desenvolvido consideravelmente nos últimos 20 anos, o mesmo não pode ser dito sobre os episódios que envolvem deterioração do suco de frutas.

O relato de episódios de deterioração deve ser mais incentivado pelos pesquisadores, uma vez que informações adicionais sobre comportamento microbiano, respostas aos métodos de processamento e condições ambientais poderia ser obtido com eles. Isso poderia resultar no desenvolvimento de estratégias para melhorar a estabilidade dos sucos de frutas, uma vez que são comumente usados no desenvolvimento de ações para melhorar sua segurança microbiológica.

A globalização facilita a produção e o uso de frutas/sucos de frutas no exterior. A microbiologia preditiva e a avaliação de risco podem desempenhar um papel importante como alternativa para melhorar a microbiologia dos sucos de frutas, fornecendo medidas otimizadas e cientificamente válidas em relação ao comportamento de patógenos ou microrganismos deteriorantes.

No entanto, estudos sobre a microbiologia dos sucos de frutas devem concentrar-se em preocupações relevantes e crescentes, a fim de proteger a saúde pública e reduzir os custos com episódios de deterioração.

REFERÊNCIAS

ANSARI, A., AMAN, A., SIDDIQUI, N.N., IQBAL, S., QADER, S.A. Bacteriocin (BAC-IB17): screening, isolation and production from *Bacillus subtilis* KIBGE IB-17. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, 125:195–201, 2012.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS - CITRUSBR. **Estatísticas de exportação**. São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/comercio/exportacoes-totais-de-suco-de-laranja-fcoj-equivalente-249531-1.asp>>. Acesso em: 10 mar. 2020.

BASTOS M. S. R, SOARES N. F F, ANDRADE N. J, ARRUDA A. C, ALVES R. E. (2005). The effect of the association of sanitizers and surfactant in the microbiota of the Cantaloupe (*Cucumis melo* L) melon surface. **Food Control**, 69, 369–73.

BEALES N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures weak acid preservatives low pH and osmotic stress: a review. **Compr Rev Food Sci**, 3, 1–20. 2004.

BEUCHAT L.R. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. **Microbes Infect**, 4, 413–23. 2002.

BNDES. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. Laranja. Informe Setorial, n. 7, 25 mar.1996. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br>>. Acesso em: 10 mar. 2020.

BORGES, A. C. G. & TOLEDO, J. C. O Processo para Obtenção da Qualidade do Suco de Laranja. **GESTÃO & PRODUÇÃO** v.6, n.2, p. 97-110, ago. 1999.

BRASIL. Instrução Normativa nº37 de 1º de outubro de 2018. **Parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de suco de fruta**. Disponível em:< http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304943/do1-2018-10-08-instrucao-normativa-n-37-de-1-de-outubro-de-2018-44304612>. Acesso em: 20 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Decreto nº 6871, de 4 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em:< <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1265102>>. Acesso em: 17 fev. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada. **Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019**. Instrução Normativa estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF. 2019. Disponível em: Acesso em: 21 jun. 2020.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 1, 07 de janeiro de 2000**. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2000. p. 54.

BRASIL, E.; AYMOTO, N. M. H.; DEL CHIERICO, F.; MARINI, F.; QUAGLIARIELLO, A.; SCIUBBA, F.; ALFREDO, M.; PUTIGNANI, L.; LAJOLO, F. Daily Consumption of Orange Juice from *Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Cara Cara and cv. Bahia Differently Affects Gut Microbiota Profiling as Unveiled by an Integrated Meta-Omits Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 5, p. 1381-1391, FEB 6 2019.

BUZRUL S, ALPAS H, LARGETEAU A, DEMAZEAU G. (2008). Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in kiwifruit and pineapple juices by high hydrostatic pressure. **Int J Food Microbiol**, 124, 275–8.

CARBONELL-CAPELLA, J. M., BARBA, F.J., ESTEVE, M.J., and FRÍGOLA, A. 2013. “High Pressure Processing of Fruit Juice Mixture Sweetened with Stevia Rebaudiana Bertoni: Optimal Retention of Physical and Nutritional Quality.” **Innovative Food Science & Emerging Technologies** 18:48–56. Retrieved November 22, 2014. Disponível em:<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856413000295>>. Acesso em 14 jun 2020.

CERNY, G.; HENNLICH, W. & PORALLA, K. **Fruchtsaftverderb durch Bacillen: Isolierung und Charakterisierung des Verderbers Z Lebens Unters Forsch.** 179: 224-227. 1984.

CITRI. Citri Agroindustrial S/A. **Suco de laranja pasteurizado congelado (NFC)**. Disponível em:< <http://www.citri.com.br/mobile/sucopausterizado.php>>. Acesso em: fev. 2020.

CITROSUCO. **Extração e Filtração**. Disponível em:< <http://www.citrosuco.com.br/pt/fabrica.php>>. Acesso em: Abr. 2020.

CITROSUCO, 2009. **Controle de qualidade**. Disponível em: <http://www.citrosuco.com.br/fischer/qualidade/controlodequalidade.html>. Acesso em: Abr. 2020.

CITRUSBR – Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. **A indústria de suco de laranja**. Disponível em: <http://www.citrusbr.com.br/>. Acesso em: 12 mar. 2020.

CITRUSBR. Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Citrícola. **Exportação de suco de laranja FCOJ Equivalente (2016)**. Disponível em: <[http://www.citrusbr.com.br/exportadores-citricos/comercio/exportações-totais-desuco-de-laranja-fcoj-equivante](http://www.citrusbr.com.br/exportadores-citricos/comercio/exportacoes-totais-desuco-de-laranja-fcoj-equivante)>. Acesso em: Abr. 2020.

CORRÊA NETO, R. S. & FARIA, J. A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 153-161, jan. 1999 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611999000100028&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 21 mar. 2020.

CORRÊA-NETO R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Cienc. tecnol. aliment.**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 153-161, 1999.

DAWSON D. (2005). Foodborne protozoan parasites. **Int J Food Microbiol**, 103, 207–27.

DEINHARD, G.; BLANZ, P.; PORALLA, K.; ALTAN, E. **Bacillus acidoterrestris sp. nov., a new thermotolerant acidophile isolated from different soils**. *Systematic and Applied Microbiology* 10, 47–53, 1987.

EGUCHI, S. Y.; MANFIO, G. P.; PINHATTI, M. E. M.; AZUMA, E. H.; VARIANE, S. F.; CANHOS, V.P. & ABECitrus Technical Committee. (1999). **Report of the Research Project - Ecological study of Acidothermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in the citrus industry**.

EGUCHI, S. Y.; MANFIO, G. P.; PINHATTI, M. E. M.; AZUMA, E. H.; VARIANE, S. F. & ABECitrus Technical Committee. (2001a). **Report of the Research Project Part I – Acidothermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juice: detection methods, ecology and involvement in the deterioration of fruit juices (2001)**. *Fruit Processing* 1/2001: 12-18.

EGUCHI, S. Y.; MANFIO, G. P.; PINHATTI, M. E. M.; AZUMA, E. H.; VARIANE, S. F. & ABECitrus Technical Committee. (2001b). **Report of the Research Project Part II – Acidothermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juice: detection methods, ecology and involvement in the deterioration of fruit juices (2001)**. *Fruit Processing* 2/2001: 55-62.

EGUCHI, S. Y.; MANFIO, G. P.; PINHATTI, M. E. M.; AZUMA, E. H.; VARIANE, S. F. & ABECitrus Technical Committee. (2001c). **Report of the Research Project Part III – Acidothermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juice: detection methods,**

ecology and involvement in the deterioration of fruit juices (2001). *Fruit Processing* 3/2001: 95-101.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization). (2008). **Viruses in food: scientific advice to support risk management activities: Meeting report Microbiological risk assessment.** Series No 13 Rome 79pp.

FARAH, M. I. S. S. **Avaliação da eficácia de saneantes frente a bactérias ácido-termorresistentes isoladas do processamento de sucos de laranja.** Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 2004.

FDA. (2001). **Hazard Analysis and Critical Control Point (HAACP). Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Juice Final Rule.** Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). January 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr01119a.html> Acesso em: 19 abr. 2020.

FDA. (2004). **Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables.** First Edition Guidance for Industry US. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). February 2004. Disponível em: <<http://http://www.cfsan.fda.gov/~dms/juicgu10.html>> Acesso em: 20 abr. 2020.

FOSTER, J. W. (2001). Acid stress response of Salmonella and E coli: survival mechanisms regulation and implications for pathogenesis. **J Microbiol**, 39, 89–94.

FURLANETTO, S.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W.; NASCIMENTO, D. **Ocorrências de bolores e leveduras em sucos de laranja ao natural.** *Rev. Bras. Microbiol.*, v. 13, p. 31-34, 1982.

GOODSON, M., ROWBURY, R. J. (1989). Resistance of acid-habituated Escherichia coli to organic acids and its medical and applied significance. **Lett Appl Microbiol**, 8, 211–14.

GOTO, K., MOCHIDA, K.; ASAHARA, M.; SUZUKI, M.; KASAI, H.; YOKOTA, A. *Alicyclobacillus pomorum* sp. nov., a novel thermo-acidophilic, endospore-forming bacterium that does not possess-alicyclic fatty acids, and emend description of the genus *Alicyclobacillus*. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol**, p.53,1537 1544, 2003.

GRANDE M J, LUCAS R, ABRIOUEL H, BEN OMAR N, MAQUEDA M, MARTÍNEZ BUENO M, MARTÍNEZ-CAÑAMERO M, VALDIVIA E, GÁLVEZ A. (2005). Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by enterocin AS-48. **Int. J. Food Microbiol.**, 104, 289–97.

GRAUMLICH, T.R., MARCY, J.E. & ADAMS, J.P.. Aseptically packaged orange juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 34, n. 3, p. 402-405, 1986.

GRESSONI J. I., MASSAGUER P. R. (2003). Generic HACCP system applied to fruit juices thermal processes. **Fruit Proc.** July, Aug. 282–90.

GROENEWALD, W.H.; GOUWS, P.A.; WITTHUHN, R.C. Isolation, identification and typification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Alicyclobacillus acidocaldarius* strains from orchard soil and the fruit processing environment in South Africa. **Food Microbiol.**, p. 26, 71-76, 2009.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. **LWT–Food Sci Technol**, 37, 453–60.

HACTHER, W. S.; WEIHE, J. L.; SPLITTSTOESSER, D. F.; HILL, E. C. & PARISH, M. E. Fruit beverages. **Compendium for the microbiological examination of foods**. 3^a. Ed. American Public, Health Association, London. 1992.

HOORNSTRA E, NOTERMANS S. (2001). Quantitative microbiological risk assessment. **Int J Food Microbiol**, 66, 21–9.

HORTI&FRUTI. KIST B. B. et al., **Anuário Brasileiro de Horti & Fruti 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 96 p.

HSIAO C-P, SIEBERT KJ. (1999). Modeling the inhibitory effects of organic acids on bacteria. **Int J Food Microbiol**, 47, 189–201.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, Rio de Janeiro, v. 21, n. 12, p. 22-23, 2010.

IHA, M. H. et al. Avaliação físico-química e higiênico-sanitária do suco de laranja fresco engarrafado e do suco pasteurizado. **Inst. Adolfo Lutz.**, São Paulo, v. 59, n. 1/2, p. 39-44, 2000.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

JANISIEWICZ, W. J.; CONWAY, W. S.; BROWN, M.W.; SAPERS G. M.; FRATAMICO. P, BUCHANAN, R. L. (1999). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh- cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies. **Appl. Environ. Microbiol.**, 65, 1–5.

JENSEN, N.; WHITFIELD, F. B. Role of *Alicyclobacillus acidoterrestis* in the development of a disinfectant taint in shelf-stable fruit juice. **Letters in Applied Microbiology** v.36, p.9-14, 2003.

JONGE, R.; TAKUMI, K.; RITMEESTER, W. S.; VAN LEUSDEN, F. M. (2003). The adaptive response of *Escherichia coli* O157 in an environment with changing pH. **J. Appl. Microbiol.**, 94, 555–60.

KENNEY SJ, BEUCHAT LR. (2002). Comparison of aqueous commercial cleaners for effectiveness in removing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella muenchen* from the surface of apples. **Int J Food Microbiol**, 74, 47–55.

KHARFAN, D. **Proposta de método para avaliação do processo de extração de sucos cítricos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 2012.

LEE S-Y, HYUN-JUNG C, KANG D-H. (2006). Combined treatment of high pressure and heat on killing spores of *Alicyclobacillus acidoterrestis* in apple juice concentrate. **J Food Prot**, 69, 1056–60.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de sucos e produtos ácidos. **Boletim do ITAL**, Campinas, n. 33, p. 9-42, 1973.

LEYER, G. J. & JOHNSON, E. A. (1993). Acid adaptation induces cross-protection against environmental stresses in *Salmonella Typhimurium*. **Appl Environ Microbiol**, 59, 1842–7.

LEYER, G. J.; WANG, L. L.; JOHNSON, E. A. (1995). Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increases survival in acidic foods. **Appl Environ Microbiol**, 61, 3752–5.

LYNCH, M.; PAINTER, J.; WOODRU, R.; BRADEN, C. (2006). **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks**. United States 1998–2002. **MMWR Morb Mort Week Rep** 55, 1–34.

MARTÍNEZ-VIEDMA P., ABRIOUEL, H., OMAR N. B., VALDIVIA, E., LÓPEZ R. L., GÁLVEZ A. (2008). Inactivation of exopolysaccharide and 3-hydroxypropionaldehyde-producing lactic acid bacteria in apple juice and apple cider by enterocin. AS-48. **Food Chem Toxicol**, 46, 1146–51.

MURDOCK, D. I. & HATCHER, W. S. (1975). **Survey of Midwest grapeconcentrate plant for heat resistant mold**. Unpublished lab. data. 8. Disponível em:<
<http://www.sci epub.com/reference/111297>>. Acesso em: 06 abr. 2020.

NEVES, M. F. et al. **O Retrato da Citricultura Brasileira**. In: NEVES, M. F (Coord.). 1 ed. Ribeirão Preto: Markestrat, 2010. Disponível em:<

http://www.citrusbr.com.br/download/retrato_citricultura_brasileira_marcos_fava.pdf.>
Acesso em: 10 abr. 2020.

OLIVEIRA, J.C.; SETTI-PERDIGÃO, P.; SIQUEIRA, K.A.G.; SANTOS, A.C.; MIGUEL, M. A.L. Características microbiológicas do suco de laranja *in natura*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.26 n.2 Campinas, 2006. (2006a)

OLIVEIRA, M. C. S.; SILVA, N. C. C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. (2006b). Evaluation of apple juice extraction by the enzyme liquefaction method. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 26, 906–15.

ORR, R.V.; SHEWFELT, R.L.; HUANG, C.J.; TEFERA, S.; BEUCHAT, L.R. Detection of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestis* in apple juice by sensory and chromatographic analysis, and comparison with spore and vegetative cell populations. **Journal of Food Protection**. V.11, p.1517–1522, 2000.

PARISH, M. Relevancy of *Salmonella* and Pathogenic *E. coli* to Fruit Juices. 2000. **Journal Fruit Processing**. Volume 10, Number 7, July 2000.

PARISH, M. E.; HIGGINS, D. Isolation and identification of lactic acid bacteria from samples of citrus molasses and unpasteurized orange juice. **J. Food Sci.**, v. 53, p. 645-646, 1988.

PARISH, M. E. (1998). Food and environmental sanitarians coliforms *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars associated with a citrus-processing facility implicated in a salmonellosis out-break. **J Food Prot**, 61, 280–4.

PARISH, M. E. (1997). Public health and non-pasteurized fruit juices. **Crit Rev Microbiol**, 23, 109–119.

PARISH, M. E.; NARCISO, J. A.; FRIEDRICH, L. M. (1997). Survival of *Salmonella* in orange juice. *J Food Saf*, 17, 273–81. Penteado AL, Leitao MFF. (2004a). Growth of *Listeria monocytogenes* in melon watermelon and papaya pulps. **Int J Food Microbiol**, 92, 89–94.

PATRAS, A., BRUNTON, N., PIEVE DA S., BUTLER, S., AND DOWNEY, G. 2009. **Effect of Thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental color of tomato and carrot purées.** 10:16–22

PENTEADO, A. L.; LEITAO, M. F. F. (2004b). Growth of *Salmonella* Enteritidis in melon watermelon and papaya pulp stored at different times and temperatures. **Food Control**, 15, 369–73.

PETTIPHER, G. L.; OSMUNDSON, M. E.; MURPHY, J. M. Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestis* and investigation of growth and production of

taint in fruit juice and juice-containing drinks. **Letters of Applied Microbiology**, n. 24, p. 185-189, 1997.

PIRES, C. C. **Efeitos das radiações gama e ultra-sônica em suco de laranja contaminado por *Alicyclobacillus acidoterrestis***. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.

PREVEDI, P.; COLLA, F. & VICINI, E. (1995). Characterization of *Alicyclobacillus*, a sporeforming thermophilic acidophilic bacterium. **Industrial Conserve** 70: 128-132.

RIBAS, Alexandre F.; FLORES, Luis F. **Suco de laranja: pasteurização**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/prfruta/sucolara/past.htm>> Acesso em: 20 mar. 2020.

RUSCHEL, C. K. et al. Qualidade microbiológica e físico-química de sucos de laranja comercializados nas vias públicas de Porto Alegre/RS. **Cienc. tecnol. aliment.**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 94-97, 2001.

SALZBERG, S.P. & PEREIRA, J.L. **Microbiologia de alimentos**. Campinas: Unicamp/FEA, 1985. p. 1-73. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000151&pid=S0101-2061199900010002800041&lng=pt>. Acesso em: 02 mar. 2020.

SCHUINA, G. L., **Utilização de ultrassom na conservação de suco de laranja: efeito sobre características físico-químicas, enzimáticas, microbiológicas e sensoriais**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias. 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/1254/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Guilherme%20Lorencini%20Schuina.pdf>>. Acesso em 02 de jun. 2020.

SILVA, K. S. & FARIA, J. A. F. (2006). Quality of sugarcane (*Sacharum ssp*) juice packed by hot fill and aseptic processes. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 26, 754–8.

SILVA, F.V.; GIBBS, P. *Alicyclobacillus acidoterrestis* spores in fruit products and design of pasteurization processes. **Trends in Food Science and Technology**, v.12, p. 68–74, 2001.

SIZER, C.E. WAUGH, P.L. EDSTAM, S. & ACKERMANN, P. Maintaining flavor and nutrient quality of aseptic orange juice. **Food Technology**, Chicago, v. 42, n. 6, p. 152-159, 1988.

SPLITTSTOESSER, D. F.; CHUREY, J. J. & LEE, C. Y. (1994). Growth characteristics of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. **Journal of Food Protection** 57(12): 1080-1083.

TETRA PAK. Tetra Pak Processing Systems AB. (1998). The Orange Book. Sweden: Ruter Press 1998.

TOCCHINI, R.P., NISIDA, A.L.A.C. & MARTIN, Z.J. Industrialização de polpas, sucos e néctares de frutas. Manual do ITAL, Campinas, 1995, p. 44-63.

TORLAK, E. Inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in aqueous suspension and on apples by neutral electrolyzed water. **International Journal of Food Microbiology**, 18;185:69-72, 2014.

TRIBST, A. A. L.; SANT'ANA, A. S.; MASSAGUER, P. R. (2009) Review: Microbiological quality and safety of fruit juices—past, present and future perspectives', *Critical Reviews in Microbiology*, 35:4,310 — 339. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3109/10408410903241428>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

UBOLDI EIROA, M.N. Microrganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. **Boletim SBCTA**. Campinas, v. 23, n. 3/4, p. 141-160, 1989.

UCHIMA, C. A.; CASTRO, M. F. P. M.; GALLO, C. R.; REZENDE, A. C. B.; BENATO, E. R.; PENTEADO, A. L. (2008). Incidence and growth of *Listeria monocytogenes* in persimmon (*Diospyros kaki*) fruit. **Int J Food Microbiol**, 126, 235–9.

VIEIRA, M. C.; TEIXEIRA, A. A.; SILVA, F. M.; GASPAR, N.; SILVA, C. L. M. Alicyclobacillus acidoterrestris spores as a target for Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) néctar thermal processing: kinetic parameters and experimental methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 77, p. 71-81, 2002.

VITALI, A.A. & RAO, M.A. Flow properties of low-pulp concentrated orange juice: serum viscosity and effect of pulp content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 3, p. 876-881, 1984.

WEBSTER, J. A; WALLS, I.; McDOWELL, C. I.; NEWBAUER, J. J. & HUBNER, R.J. (1996). Use of normalized ribotyping to describe acidophilic, sporeformers, isolated from fruits and fruit juices. Annals of the 96th. **General meeting of the American Society for Microbiology**, New Orleans LA, May, 1996.

WISOTZKEY, J.D.; JURTSCHUK, P.; GEORGE, J.R.; FOX, E., DEINHARD, G., PORALLA, K. Comparative sequence analyses on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol**, v.42, p. 263-269, 1992.

YAMAZAKI K., MURAKAMI M., KAWAI Y., INOUE N. & MATSUDA T. (2000). Use of nisin for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks. **Food Microbiology** 17: 315-320.

YAMAZAKI K., TEDUKA H. & SHINANO H. (1996). Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages. *Bioscience*. **Biotechnology and Biochemistry** 60: 543-545.

YAUN BR, SUMMER SS, EIFERT JD, MARCY JE. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. **Int J Food Microbiol**, 90, 1–8.

ZHUANG R-Y, BEUCHAT LR, ANGULO FJ. (1995). Fate of *Salmonella* Montevideo on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. **Appl Environ Microbiol**, 61, 2127–31.