Avaliação microbiológica da polpa de cajá conservada por métodos combinados

Microbiological evaluation of the yellow mombin pulp preserved by combined methods

RIALA6/1322

Leônidas Francisco de Queiroz TAVARES FILHO^{1*}, Rossana Catie Bueno de GODOY², Elisa TESHIMA³, Ricardo Luís CARDOSO¹, Paloma Romeiro Sampaio BARBOSA⁴, Dimitri Neiva Lemos de SANTANA⁴

*Endereço para correspondência: Rua Prof° Antônio Luiz M. Eloy, 113 A (1°andar), Primavera, Cruz das Almas, BA, Brasil. CEP 44.380-000. E-mail: leonidas76@gmail.com

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA, Brasil

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Florestas, Colombo, PR, Brasil

³Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, Brasil

⁴Laboratório de Qualidade de Alimentos (LABOTEC II), Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, Brasil

Recebido: 28.09.2010 - Aceito para publicação: 29.12.2010

RESUMO

Neste estudo foi avaliada a estabilidade microbiológica da polpa de cajá conservada por métodos combinados e armazenada em temperatura ambiente por um período de 90 dias. A análise foi realizada por meio de determinações do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp. O delineamento foi inteiramente randomizado em esquema fatorial de 4 x 2 x 4 (tratamentos x processamento x tempo) com cinco repetições. Os processamentos de polpa sem pasteurização e polpa pasteurizada (90-93°C/15min) foram combinados aos tratamentos: controle, metabissulfito de sódio (200 ppm), benzoato de sódio (500 ppm) e metabissulfito (200 ppm) + benzoato (500 ppm). O produto mostrou estar de acordo com a regulamentação técnica da legislação brasileira, que estabelece os padrões de identidade e qualidade para polpa de cajá, quanto aos limites microbiológicos. Com exceção das polpas sem pasteurizar, controle e combinada com benzoato de sódio, os demais tratamentos combinados promoveram o controle de bolores e leveduras da polpa durante o período avaliado. Entre estes, a formulação da polpa pasteurizada combinada com metabissulfito de sódio, apresentou maior eficácia no controle da carga fúngica com manutenção do produto apto ao consumo aos 90 dias.

Palavras-chave. Spondias mombin L., conservação de alimentos, coliformes, Salmonella spp, tecnologia de obstáculos.

ABSTRACT

This work assessed the microbiological stability of the yellow mombin pulp preserved by combined methods stored at room temperature for a storage period of 90 days. The most probable number of thermotolerant coliforms, mould and yeast counting and Salmonella spp isolation were carried out. The experiment was in a completely randomized factorial scheme in 4 x 2 x 4 (treatments x processing x time) design with five replicates. Pulp processed without pasteurization and those pasteurized pulps (90-93°C/15 min) were combined to the treatments: control, sodium metabisulfite (200 ppm), sodium benzoate (500 ppm), sodium and metabisulfite (200 ppm) + sodium benzoate (500 ppm). The analyzed product was in agreement with the technical regulation of Brazilian Laws, which establishes the identity and quality standards for yellow mombin pulp regarding to the microbiological limits. Excluding the pulps without pasteurization, the control and the combined with sodium benzoate, all of the other combined treatments promoted the control of mould and yeast in the pulp during the evaluation period. Among them, the formulation of pasteurized pulp combined with sodium metabisulfite showed highest efficacy in controlling fungal loads, maintaining the product for proper consumption at 90 days.

Key words. Spondias mombin L., food preservation, faecal coliforms, Salmonella spp, hurdle technology

INTRODUÇÃO

O mercado de frutas processadas está em franca expansão. Atualmente, o Brasil é um dos três maiores produtores de frutas do mundo. Sua produção superou 43 milhões de toneladas em 2008, o que representa 5% da produção mundial¹.

Os incentivos ao desenvolvimento da fruticultura nacional surgem da consciência do potencial econômico que o setor encerra, da sua viabilidade e expansão do mercado internacional de frutas frescas e sucos. Além desses fatores, a grande diversificação associada à qualidade dos frutos permite desenvolver pesquisas com vistas à geração de novos produtos².

O cajá (*Spondias mombin* L.), também denominado de taperebá e cajá-mirim, é um fruto nuculânio perfumado com mesocarpo carnoso, amarelo, contendo carotenóides, açúcares, vitaminas A e C. A procura pelos frutos da cajazeira deve-se principalmente às boas características para a industrialização, aliadas ao aroma e seu sabor agridoce. A polpa de cajá é utilizada na fabricação de sorvetes, geleias, polpas congeladas, produção de bebidas alcoólicas e consumo *in natura*, despertando interesse não apenas para o mercado regional, mas também para outros locais do país, onde a fruta é escassa^{3,4}.

As polpas de fruta têm grande importância como matéria-prima em indústrias de conservas de frutas, que podem produzi-las nas épocas de safra, armazená-las e reprocessá-las para doces em massa, geleias e néctares nos períodos mais propícios, ou segundo a demanda do mercado consumidor⁵.

Para ampliar cada vez mais este mercado é necessário atender o apelo entre os consumidores por produtos funcionais, alimentos práticos e de qualidade. Neste caso, a qualidade engloba os aspectos físicos, químicos, microbiológicos, nutricionais e sensoriais.

A microbiologia é fator essencial na avaliação da qualidade de alimentos processados e, de acordo com Franco e Landgraf⁶, os micro-organismos que desempenham papel importante na produção de alimentos podem ser classificados em deteriorantes (promove alterações sensoriais prejudiciais como consequência da atividade metabólica natural), patogênicos (representam risco à saúde podendo afetar o homem e os animais) e micro-organismos que causam alterações benéficas nos alimentos modificando suas características originais, de modo a transformá-los em um novo alimento.

Dentre os principais micro-organismos potencialmente patogênicos encontrados em vegetais estão a Salmonella spp e Escherichia coli, ambos associados à contaminação fecal7. Para Siqueira8, os coliformes diferenciam-se em coliformes totais e coliformes fecais, nos quais o índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento e estocagem. Já os coliformes fecais/termotolerantes, cujo principal componente é Escherichia coli, relacionam-se às condições higiênico-sanitárias e conferem melhor indicação da presença de matéria fecal e da eventual presença de enteropatógenos, quando comparados aos coliformes totais⁶.

A estabilidade e a segurança dos alimentos são baseadas em muitos fatores, os quais visam evitar a multiplicação dos micro-organismos contaminantes, impedindo a deterioração e a veiculação de doenças de origem alimentar^{9,10}. Entre esses fatores podem ser destacados aqueles relacionados com as características do alimento (fatores intrínsecos) e os relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (fatores extrínsecos). São considerados fatores intrínsecos a atividade de água, a acidez (pH), o potencial de oxiredução, a composição química, a presença de fatores antimicrobianos naturais e as interações entre os microorganismos presentes nos alimentos⁶.

Estes fatores, separada e/ou conjuntamente, funcionam como barreiras para impedir que os microorganismos encontrem condições favoráveis ao seu desenvolvimento e/ou à produção de toxinas. Deste modo, combinando-se intensidade e tipo de obstáculo com o produto adequado pode-se promover a estabilidade microbiológica necessária para a segura comercialização. Das interações entre os fatores extrínsecos e intrínsecos originou o conceito dos obstáculos de Leistner (Hurdle Technology); a tecnologia dos obstáculos ou dos métodos combinados é um conceito amplamente empregado no processamento de alimentos e consiste em um conjunto de técnicas aplicadas simultaneamente, visando a estabilização bioquímica e microbiológica do produto em escala industrial^{11,12,13}.

A aplicação da tecnologia por emprego de métodos combinados é utilizada como técnica alternativa à refrigeração, congelamento, desidratação e outros procedimentos que, geralmente, necessitam de alto investimento em equipamentos e ainda consomem muita energia¹⁴.

O objetivo do trabalho foi avaliar a estabilidade microbiológica da polpa de cajá conservada por métodos combinados e armazenada em temperatura ambiente por um período de 90 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

Foram utilizados frutos da cajazeira adquiridos diretamente de produtores do município de Muritiba, Bahia. O processamento foi realizado na Planta-piloto de Processamento de Frutas do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos (LCTA) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia.

Processamento

A matéria-prima foi encaminhada para a Plantapiloto do LCTA da Embrapa onde iniciou-se o seu processamento, conforme descrito em fluxograma (Figura 1). Foi pré-lavada em água corrente e selecionada, de acordo com seus atributos de qualidade: grau de maturação e isenção de doenças. Após nova pesagem, realizou-se a sanitização com hipoclorito de sódio (NaOCl) e lavagem por imersão em água clorada a 100 ppm de cloro ativo por 20 minutos. Em seguida, os frutos foram novamente lavados em água corrente para retirar o excesso de cloro, branqueados a 100°C por 60 segundos e despolpados utilizando despolpadeira elétrica.

Após extração da polpa utilizou-se peneira doméstica com malha fina de náilon, visando o refinamento, para a retirada das impurezas (fibras, pedaços de semente etc.), com a finalidade de melhorar o seu aspecto visual.

Foram utilizados dois tipos de processamentos (polpa sem pasteurizar e polpa pasteurizada) combinados aos aditivos químicos que compuseram os quatro tratamentos: controle (testemunha), metabissulfito de sódio, benzoato de sódio e metabissulfito de sódio + benzoato de sódio, resultando em oito formulações. As concentrações dos conservantes utilizados foram estabelecidas conforme legislação brasileira¹⁵.

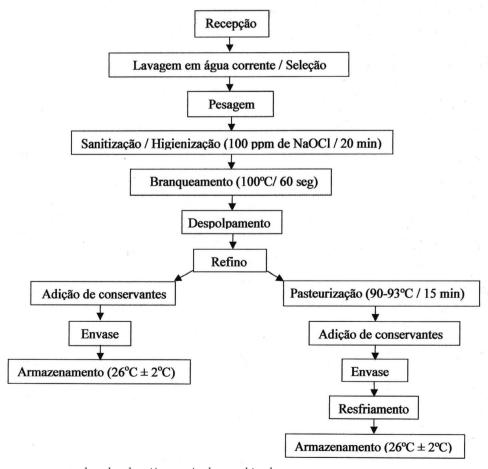


Figura 1. Fluxograma de processamento da polpa de cajá por métodos combinados

No processamento para polpa de cajá pasteurizada utilizou-se tacho aberto, onde a polpa permaneceu em banho-maria até alcançar a temperatura de 90-93°C no centro do tacho, ficando sob essa temperatura por mais 15 minutos. As amostras foram acondicionadas em potes de poliestireno (120 mL), previamente higienizados com solução de cloro (100 ppm) e solução de álcool 70°GL. Posteriormente, as amostras foram pesadas e resfriadas.

Análise microbiológica

As amostras de polpas envasadas foram enviadas para o Laboratório de Qualidade de Alimentos (LABOTEC II) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), em Feira de Santana, Bahia, onde foram realizadas as análises microbiológicas. As amostras ficaram armazenadas sob temperatura ambiente de 26° C \pm 2° C até a realização das análises.

As análises microbiológicas para determinação do NMP de coliformes a 45°C, contagem de bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no APHA¹⁶.

Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 4 x 2 x 4 (tratamentos x processamento x tempo), tratamentos com cinco repetições para cada variável. As análises foram realizadas por um período de 90 dias em intervalos regulares de 30 dias de armazenamento. Os dados foram submetidos a análises de variância e ajustaram-se equações de regressão linear para as médias dos tratamentos no tempo, utilizando-se o programa estatístico SAS¹⁷. O critério para a escolha do modelo foi definido por meio da significância do teste F (p < 0,05) e do maior valor de coeficiente de determinação (R²), segundo Gomes¹⁸.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação do NMP de coliformes a 45°C e Pesquisa de Salmonella spp

A análise microbiológica da polpa de cajá indicou que durante o período de avaliação, o produto estava em conformidade com a legislação vigente, com índices de coliformes fecais (< 0,3 NMP g⁻¹) e *Salmonella* spp (ausente) em todos os tratamentos disponíveis, com exceção do tratamento controle sem pasteurizar, conforme Tabela 1.

Os resultados encontrados estão de acordo com os padrões exigidos para a categoria: frutas, produtos de frutas e similares, da Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹9, e do regulamento técnico geral para a fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000²0, que estabelecem um número máximo de 2x10² NMP/g (ANVISA), e 1.g¹ (MAPA) de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella* spp 25.g¹, para polpas de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Nascimento et al²¹, que avaliando polpas de frutas comercializadas *in natura* não detectaram a presença de *Salmonella* spp em nenhuma das amostras analisadas. Borges et al²² avaliando polpas de frutas de acerola, goiaba, graviola e manga, também registraram a ausência de *Salmonella* spp e de coliformes fecais durante o período de armazenamento. O resultado dos tratamentos combinados pode ser atribuído às condições higiênicosanitárias satisfatórias durante o processamento, atestando a sanidade do produto.

Contagem de bolores e leveduras

De acordo com os valores obtidos para bolores e leveduras (Figuras 2a e 2b), com exceção dos tratamentos controle e benzoato de sódio de polpa sem pasteurizar, todas as amostras submetidas aos demais tratamentos se mantiveram dentro dos padrões microbiológicos, exigidos pela Instrução Normativa do MAPA²⁰, que estabelece 2 x 10³.g⁻¹ para polpa conservada quimicamente e/ou que sofreu tratamento térmico, durante o período avaliado. A mais recente resolução da ANVISA que regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos, RDC nº 12, não estabelece limites máximos para bolores e leveduras¹⁹. As curvas foram estimadas de acordo com a equação que melhor explicou a variação existente entre os tratamentos (Tabela 2).

O tratamento controle não pasteurizado apresentou contaminação no início das atividades laboratoriais, extrapolando o limite estabelecido pela legislação do MAPA, impossibilitando as análises microbiológicas. Condição contrária foi observada no processamento de polpa pasteurizada, em que as contagens, embora tenham variado ao longo da armazenagem, não ultrapassaram o limite estabelecido.

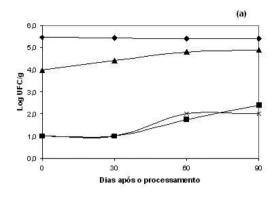
Este comportamento pode ser atribuído à eficácia do tratamento térmico para alguns tipos de fungos sensíveis a temperaturas elevadas. Borges et al²² obtiveram resultados semelhantes com polpa de frutas, para as quais verificaram redução da carga de bolores e leveduras, quando utilizaram o processamento térmico do branqueamento. Da mesma maneira, Furtado et al²³, trabalhando com

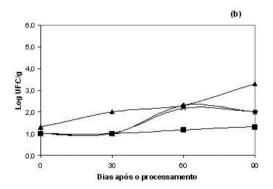
polpa de goiaba, observaram a diminuição da quantidade de fungos filamentosos e leveduras com o emprego da pasteurização. Deve-se ressaltar que muitas vezes o uso de temperaturas mais elevadas afeta as características físico-químicas do produto, portanto, devem-se associar outros métodos como os cuidados higiênico-sanitários durante o processamento.

Tabela 1. Qualidade microbiológica das polpas de cajá conservadas em temperatura ambiente por métodos combinados no período de 90 dias de armazenamento

				Tratamento	testemunha			
Análises	Dias Após Processamento (DAP)							
	0		30		60		90	
	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP
Coliformes a 45°C (NMP g ⁻¹)	ND	< 0,3	ND	< 0,3	ND	< 0,3	ND	< 0,3
Salmonella spp	ND	ausente	ND	ausente	ND	ausente	ND	ausente
			Tratam	nento metabissu	lfito de sódio (2	00 ppm)		
Análises	Dias Após Processamento (DAP)							
	0		30		60		90	
	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP
Coliformes a 45°C (NMP g ⁻¹)	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Salmonella spp	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
			Trata	amento benzoat	to de sódio (500	ppm)		
Análises	Dias Após Processamento (DAP)							
	0		30		60		90	
	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP
Coliformes a 45°C (NMP g-1)	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Salmonella spp	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
		Tratame	ento metabissul	fito de sódio + l	penzoato de sód	io (200 ppm +	500 ppm)	
Análises	Dias Após Processamento (DAP)							
	0		30		60		90	
	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP	PSP	PP
Coliformes a 45°C (NMP g ⁻¹)	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
Salmonella spp	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

PSP - Polpa sem Pasteurizar; PP - Polpa Pasteurizada; ND = Não Determinado.





Figuras 2a e 2b. Contagem de bolores e leveduras para os tratamentos testemunhas (◆), metabissulfito de Na(■), benzoato de Na(▲) e metabissulfito de Na + benzoato de Na (X) em polpas de cajá sem pasteurizar (Figura 2a) e polpa pasteurizada (Figura 2b) armazenadas a 26°C± 2°C por 90 dias. (*significativo, segundo o teste F (p<0,05) da análise de variância

Tabela 2. Equações de regressão linear das análises de bolores e leveduras para os tratamentos de métodos combinados testemunha, metabissulfito de Na, benzoato de Na e, metabissulfito de Na + benzoato de Na em polpas de cajá sem pasteurizar e polpa pasteurizada

Variável -	Equações de Regressão				
variavei	Polpa sem Pasteurizar	Polpa Pasteurizada			
Testemunha	$\hat{\mathcal{Y}} = -0.0007x + 5.4562$ $R^2 = 0.8914^*$	$\hat{\mathcal{Y}} = 0.0143x + 0.9301$ $R^2 = 0.6756^*$			
Metabissulfito de Sódio	$\hat{\mathcal{Y}}_{=0,0165x+0,7927}$ $R^2 = 0,8951^*$	$\hat{\mathcal{Y}} = 0.0036x + 0.9576$ $R^2 = 0.8999^*$			
Benzoato de Sódio	$\hat{\mathcal{Y}} = 0.0105x + 4.051$ $R^2 = 0.9386^*$	$\hat{\mathcal{Y}} = 0.021x + 1.2808$ $R^2 = 0.9600^*$			
Metabissulfito + Benzoato	$\hat{Y} = 0.0133x + 0.9$ R ² = 0.8000*	$\hat{\mathcal{Y}} = 0.0139x + 0.9176$ $R^2 = 0.7271^*$			

^{*}significativo, segundo o teste F (p < 0,05) da análise de variância

Tanto no processamento de polpa pasteurizada quanto no de polpa não pasteurizada, a concentração de bolores e leveduras na polpa conservada com benzoato de sódio evoluiu durante o período de armazenamento, sendo que a combinação de benzoato e pasteurização contiveram com eficiência a evolução dos bolores e leveduras permanecendo dentro dos padrões estabelecidos, o que não ocorreu no processamento não pasteurizado, possivelmente, devido a alguma contaminação no preparo deste tratamento. Esse resultado diverge dos encontrados por Costa et al²⁴ que obtiveram o controle de bolores e leveduras, em polpa de cupuaçu utilizando o aditivo na concentração de 500 ppm. Já Coelho e Ferreira Neto²⁵ concluíram que na conservação de polpa de caju in natura, o benzoato de sódio não mostrou a eficiência esperada, ficando o produto final com alta carga microbiana, possivelmente, pela presença de alguma espécie resistente ao aditivo.

O tratamento de metabissulfito + benzoato apresentou comportamento semelhante em ambos os processamentos, indicando que a ação dos aditivos combinados foi suficiente para o controle dos bolores e leveduras presentes nas polpas de cajá, independente da amostra ser submetida ou não à prévia pasteurização.

Para a polpa pasteurizada, o metabissulfito de sódio foi o aditivo que apresentou melhor comportamento, mantendo certa estabilidade na população de bolores e leveduras durante o período de 90 dias, indicando a eficiência da combinação entre o tratamento térmico e esse aditivo. Da mesma forma, Jorge²⁶ utilizando a concentração de 100 ppm de metabissulfito em polpa pasteurizada de umbu, controlou a população microbiana de forma satisfatória. Até os 30 dias de armazenamento, o metabissulfito controlou de maneira semelhante os bolores e leveduras em ambos os processamentos. A partir desse ponto, houve um aumento da população na polpa não pasteurizada, sem, no entanto, ultrapassar os limites aceitáveis.

CONCLUSÃO

A análise microbiológica da polpa de cajá indicou que o produto estava em conformidade com a legislação vigente, revelando ausência de *Salmonella* spp e índices de coliformes fecais (< 0,3 NMP $\rm g^{-1}$) dentro dos padrões exigidos para a categoria frutas, produtos de frutas e similares.

Com exceção das polpas sem pasteurizar controle e combinada com benzoato de sódio, os demais tratamentos combinados promoveram o controle dos níveis de bolores e leveduras da polpa durante o período avaliado.

A formulação da polpa pasteurizada combinada com metabissulfito de sódio apresentou maior eficácia no controle da carga fúngica mantendo o produto apto ao consumo aos 90 dias.

AGRADECIMENTOS

À Capes, ao CNPq, LABOTEC II/UEFS, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias da UFRB e a Embrapa Mandioca e Fruticultura que possibilitaram a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Instituto Brasileiro de Frutas IBRAF. O Brasil é um dos três maiores produtores de frutas do mundo; 2009 [acesso 14 ago 2009]. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/.
- Assis MMM, Maia GA, Figueiredo EAT, Figueiredo RW, Monteiro JCS. Processamento e estabilidade de geléia de caju. Rev Ciên Agron. 2007; 38 (1): 46-51.
- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 1999.
- Anselmo GCS, Cavalcanti-Mata MERM, Arruda PC, Sousa MC. Determinação da higroscopicidade do cajá em pó por meio da secagem por atomização. Rev Biol Ciên da Terra. 2006; 6 (2): 58-65.
- Hoffmann FL, Garcia-Cruz CH, Pagnocca FC, Vinturim TM, Mansor AP. Microrganismos contaminantes de polpas de frutas. Ciên Tecnol Aliment. 1997; 17 (01): 32-7.
- 6. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2005.
- World Health Organization WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Who Farm. 1992; 71.
- 8. Siqueira RS, Borges MF. Microbiologia de frutas e produtos derivados. In: Torrezan R, editor. Curso de processamento de frutas. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA; 1997. p. 2-13.
- 9. Satin M. Food Irradiation. A Guidebook. Lancaster USA: Technomic Publishing Company, Inc.; 1993. 146p.
- 10. McNab WB. A general framework illustrating an approach to quantitative microbial food safety risk assessment. J. Food Prot. 1998; 61: 1216-28.

- 11. Leistner L. Shelf stable products and intermediate moisture foods based on meats. *In*: Rockland LB, Beuchat LR, ed. Water activity: theory and applications to food. New York: Mercel Dekker; 1987. p. 295-327.
- 12. Chirife J, Favetto GJ. Some physico-chemical basis of food preservation by combined methods. Food Res Internat 1992; 25: 386-96.
- 13. Leistner L, Gorris LGM. Food preservation by hurdle technology. Trends Food Sci Technol. 1995; 6: 41-6.
- 14. Tapia de Daza MS, Alzamora SM, Welti-Chanes J. Minimally processed high-moisture fruit products by combined methods. Results of a multinational project. *In*: Fito P, Ortega-Rodriguez E, Barbosa-Canovas GV, editors, Food Engineering 2000. New York: Chapman & Hall; 1997. p. 161-80.
- 15. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Dispõe sobre o regulamento técnico de aditivos intencionais. Aprova a revisão das tabelas referentes a aditivos intencionais e considera alguns aditivos como coadjuvantes da tecnologia da fabricação. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 19 dez 1988. Seção 1, p. 24716-23.
- American Public Health Association (US) APHA. Compendium of methods for the microbiological of foods. 4 ed. Washington (DC): APHA; 2001.
- 17. SAS Institute Inc. Statistical Analysis System. Release 9.1. [Software]. Cary: Sas Institute Inc; 2002 2003.
- 18. Gomes FP. Curso de Estatística Experimental. 14 ed. Piracicaba: Frederico Pimentel Gomes; 2000.
- 19. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45-53.

- 20. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000. Aprova o Regulamento técnico geral para a fixação dos padrões de Identidade e qualidade para polpa de fruta. Anexo I e Anexo PIQ para polpa de cajá. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54-8.
- Nascimento AR, Mouchrek Filho JE, Marinho SC, Martins AGLA, Sousa MR, Silva WAS et al. Incidência de microrganismos contaminantes em polpas de frutas comercializadas in natura em feiras livres da cidade de São Luís/MA. Curitiba: B Ceppa. 2006; 24(01): 249-58.
- 22. Borges MF, Oliveira MEB, Lemos, EH, Muniz CR, Assunção GB, Oliveira AM. Condições higiênico-sanitárias durante o processamento e a vida de prateleira de polpas de frutas tropicais. 18º Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos; 2002(1); Porto Alegre: Soc Bras Ciênc Tecnol Alim. p. 2088-91.
- 23. Furtado AAL, Cabral LMC, Rosa MF, Modesta RCD, Pontes SM. Avaliação microbiológica e sensorial da polpa de goiaba tratada termicamente. Rev Bras Frutic. 2000; 22 (especial): 91-5.
- 24. Costa MC, Maia GA, Souza Filho MSM, Figueiredo RW, Nassu RT. Conservação de polpa de cupuaçu *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng. Schum) por métodos combinados. Rev Bras Frutic. 2003; 25 (2): 213-5.
- 25. Coelho RRP, Ferreira Neto CJ. Comportamento de aditivos químicos na conservação da polpa de caju Anacardium occidentale, Linn. 17º Congresso Brasileiro de Fruticultura; 2002; Belém: Soc Bras Frut. p. 891-7.
- 26. Jorge EC. Preservação de polpa de umbu (Spondias tuberosa Arr. Câmara) verde e madura por métodos combinados [dissertação de mestrado]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2003.