

Análise de *Alicyclobacillus sp.* e *Alicyclobacillus acidoterrestris* em plantação, comercialização e produtos industrializados de laranja, tangerina, tomate e uva

(Analysis of *Alicyclobacillus sp.* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* in plantations, commercialization and industrial products of orange, tangerine, tomato and grape)

Ana Claudia Laforga de Toledo¹; Anaira Denise Caramelo^{1,2}; Wellington Marcelo Queixas Moreira^{1,2}

¹Centro Universitário UNIFAFIBE – Bebedouro SP
hollow_garden@hotmail.com

²UNESP – Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal SP
anairacaramelo@yahoo.com.br; moreira_wellington@yahoo.com.br

Abstract. *The Alicyclobacillus sp. is a bacterium that survives to acids and high temperatures, and have the ability to develop spores, can survive the current process of pasteurization. Alicyclobacillus acidoterrestris the, is a species that can be cause of deterioration of juices and fruit based products. The objective is the analysis and quantification of the bacterium Alicyclobacillus sp., as well as identifying the presence or absence of Alicyclobacillus acidoterrestris. He was employed the method of isolation and detection using the YSG Agar culture medium. As a result, most of the products analyzed showed a low contamination, this however little interferes with the quality of the product provided that appropriate temperatures are respected, and specific to each of them.*

Keywords: *Alicyclobacillus; ysg agar; fruit juices; quality.*

Resumo. *O Alicyclobacillus sp. é uma bactéria que sobrevive aos meios ácidos e temperaturas altas, e por ter a capacidade de desenvolver esporos, pode sobreviver ao processo atual de pasteurização. O Alicyclobacillus acidoterrestris, é uma espécie que pode ser causa da deterioração de sucos e produtos a base de frutas. O objetivo é a análise e a quantificação da bactéria Alicyclobacillus sp., bem como identificação da presença ou não de Alicyclobacillus acidoterrestris. Foi empregado o método de isolamento e detecção utilizando o meio de cultura YSG Agar. Como resultado, a maioria dos produtos analisados apresentaram uma*

baixa contaminação, esta porém pouco interfere na qualidade do produto desde que seja respeitada as temperaturas adequadas, e específicas de cada um deles.

Palavras-chave: *Alicyclobacillus; ysg agar; suco de frutas; qualidade.*

Introdução

Os sucos a base de frutas possuem sabor agradável e seu consumo está relacionado como um componente poderoso contra doenças e conseqüentemente com uma vida mais sadia, sendo que, os sucos possuem fontes de minerais, vitaminas, carboidratos entre outros componentes que são indispensáveis em uma dieta saudável (BLENFORD, 1996; BROEK, 1993; SHILS et al., 2004).

Segundo estudos realizados, o suco de laranja apresenta efeito protetor contra doenças cardiovasculares, processos alérgicos e até mesmo contra o câncer, devido à alta taxa de concentração de flavanonas nele encontrada (GIL-IZQUIERDO et al., 2002).

A uva é uma fruta que contém compostos fenólicos variados e presentes em grandes concentrações, sendo que os flavonoides são um deles. Além do que a fruta apresenta atividades antioxidantes, antiinflamatória e anticancerígena (NEGRO et al., 2003; AMICO et al., 2004; SILVA et al., 2005).

O tomate vem sendo relatado por meio de pesquisas como um contribuinte para a redução dos ricos cardíacos devido aos antioxidantes dos carotenos (BORGUINI, 2002; RESENDE, 2004).

A 'Poncã' é uma das tangerinas mais apreciadas pela população brasileira e também pela população asiática. E com isso, as exportações para esses países vêm ganhando um acréscimo. No Brasil, mais especificamente no Estado de São Paulo, seu período de maturação ocorre a partir do mês de abril (PIO et al., 2001).

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).

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).

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 a 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).

Já se acreditou por certo tempo, que os esporos de bactérias não seriam capazes de germinar, e que suas células vegetativas não iriam se reproduzir em sucos de frutas ou qualquer outro alimento ácido (SPLITTSTOESSER et al., 1994). No ano de 1982, a partir da deterioração de suco de maçã embalado assepticamente na Alemanha, foi

isolada uma bactéria que a principio recebeu o nome de *Bacillus acidocaldarius* (CERNY et al., 1984). Mais tarde, foi novamente nomeada e classificada como *Bacillus acidoterrestris* (DEINHARD et al., 1987), e, em 1992, foi reclassificada com um novo gênero, *Alicyclobacillus acidoterrestris* (WISOTZKEY et al., 1992). 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 resaltar 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.

O objetivo do trabalho é a análise e a quantificação da bactéria *Alicyclobacillus sp.*, bem como identificação da presença ou não de *Alicyclobacillus acidoterrestris* em frutas do pomar, comercializadas, e em sucos e outros produtos industrializados de laranja, tangerina (poncã), tomate e uva, assim podendo verificar a qualidade do produto.

Materiais e Métodos

Para este trabalho foi utilizada a metodologia de isolamento e detecção baseada nos métodos da Japan Fruit Juice Association (2003) para a realização das análises.

Neste estudo as frutas utilizadas foram: laranja (*Citrus sinensis* Osebeck), tangerina (*Citrus reticulada* Blanco), tomate (*Solanum lycopersicum*) e uva (*Vitis vinifera*

L.). As análises foram realizadas utilizando: frutas do pomar (laranja, tangerina, tomate); frutas comercializadas em mercados (laranja, tangerina, tomate e uva); e produtos industrializados (sucos de fruta concentrado e pasteurizado; extrato de tomate, molho de tomate e polpas), em um total de 18 amostras, como segue listado na tabela 1:

Tabela 1: Amostras utilizadas (laranja, tangerina, tomate e uva) e sua respectiva forma de apresentação analisada (fruta, suco, polpa, molho ou extrato).

Fruta	Amostra	Tratamento
Laranja	Fruta coletada em pomar	1
Laranja	Fruta adquirida em mercado	2
Laranja	Suco concentrado	3
Laranja	Suco pasteurizado	4
Tangerina	Fruta coletada em pomar	5
Tangerina	Fruta adquirida em mercado	6
Tangerina	Suco concentrado	7
Tangerina	Suco pasteurizado	8
Tangerina	Polpa congelada	9
Tomate	Fruta coletada em pomar	10
Tomate	Fruta adquirida em mercado	11
Tomate	Molho industrializado	15
Tomate	Extrato industrializado	13
Tomate	Polpa industrializada	14
Tomate	Suco Integral	12
Uva	Fruta adquirida em mercado	16
Uva	Suco concentrado	17
Uva	Polpa congelada	18

Para a realização das análises foi utilizado o Meio YSG Agar recomendado pela Japan Fruit Juice Association (2003), o qual é composto por 4g/l de extrato de levedura, 2g/l de glicose e 4g/l de amido solúvel, tendo o pH ajustado para 3,7 com ácido sulfúrico 1N -2N e acrescentado o Agar para a solidificação. As amostras foram diluídas em Caldo

YSG, cuja composição é a metade da composição do Meio YSG. Para as frutas coletadas a diluição foi de 1 kg fruta para 100 ml de Caldo YSG, e para os sucos e outros produtos industrializados a diluição foi de 90 ml para 10 ml da amostra (10^{-1}), estas foram colocadas em “bag’s” (bolsa estéril de 120 ml). Após a diluição as amostras foram submetidas ao banho-maria em uma temperatura de 70 °C durante 20 minutos, e em seguida foram colocadas em um recipiente com água e gelo para o choque térmico (simulando o processo de pasteurização) alcançando uma temperatura de 15°C. Logo após foram inoculadas 1 ml da amostra na placa de petri e depois o acréscimo do Meio YSG Agar ainda liquefeito, utilizando a técnica “Pour Plate” (método imersão de profundidade), em um total de 3 repetições por amostra. Estas após a solidificação do meio, e as “bag’s” com as amostras diluídas (para análise de Enriquecimento) foram armazenadas em estufa de incubação a 45°C por 5 dias.

Na técnica de Enriquecimento foram utilizadas as amostras diluídas incubadas durante cinco dias em “bag’s” a 45°C. Para esta inoculação foi utilizada a técnica “Spread Plate” (método de superfície) onde foram inoculados 0,1 ml da amostra sobre o Meio YSG Ágar solidificado e espalhado com o auxílio de uma alça de Drigalski. Logo após foram armazenadas em uma estufa de incubação a 45°C por 3 dias.

A análise se constitui em duas partes, sendo que na primeira foi verificada a presença de ACB na qual se realizou a contagem de UFC/ml ou UFC/kg com o auxílio de um contador digital de colônias. E a segunda que através da técnica de Enriquecimento foi possível detectar a presença ou não de AAT.

Os resultados da primeira etapa experimental foram multiplicados pelo fator de diluição, e os da segunda foram registrados como positivo ou negativo, isto é, dependendo do crescimento ou não da bactéria, para confirmar como positivo foi observado à placa esbranquiçada devido ao crescimento intenso que ocorre devido ao enriquecimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de detecção, enumeração e contagem das bactérias ACB e AAT nas amostras pelos métodos de plaqueamento com incorporação do meio seletivo YSG Agar, seguem nas tabelas 2 e 3:

Tabela 2. Amostras positivas para AAT (+ ou -) a partir de suco (3, 4, 7,15 e 17), polpas (14,18), extrato (13), molho (12) e para ACB (UFC) a partir de suco (3, 4, 7, 15,17) polpas (9,14,18).

Fruta	Amostra	Tratamento	ACB UFC/ml	AAT
Laranja	Suco concentrado	3	300	+
Laranja	Suco pasteurizado	4	30	+
Tangerina	Suco concentrado	7	100	+
Tangerina	Suco pasteurizado	8	0	-
Tangerina	Polpa congelada	9	10	-
Tomate	Molho industrializado	12	20	+
Tomate	Extrato industrializado	13	20	+
Tomate	Polpa industrializada	14	10	+
Tomate	Suco Integral	15	30	+
Uva	Suco concentrado	17	20	-
Uva	Polpa congelada	18	10	+

O ACB e AAT estão presentes em muitas bases de bebidas e sucos de frutas pasteurizados (BEVILACQUA et al., 2012), mas geralmente em níveis inferiores a 100 UFC/ml (EGUCHI et al., 1999; PETTIPHER et al., 1997).

Dentre todas as amostras de produtos industrializados apenas o tratamento 8 (suco pasteurizado de tangerina) não apresentou ACB e AAT, este produto analisado portanto revela uma alta qualidade, tendo em vista a isenção destes microrganismos, demonstrando que durante todas as etapas de produção até o produto final foram realizadas de modo extremamente adequado.

Os tratamentos 9 (polpa congelada de tangerina) e 17 (suco concentrado de uva) não foram positivos para AAT, isto significa que estão livres da deterioração causada por esta bactéria.

Na tabela 2 observou-se uma contagem baixa de UFC nas diluições adotadas para o plaqueamento, este resultado sugere que a bactéria ACB encontra se presente em um pequeno número nas amostras. Com exceção do tratamento 3 (suco concentrado de laranja), que possui uma alta contagem de UFC/ml, indicando uma baixa qualidade para este produto, devido o valor de contaminação.

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).

Tabela 3. Amostras positivas para AAT (+ ou -) e ACB (UFC) a partir de frutas do pomar (1,5,10) frutas adquiridas em mercado (2,6,11,16)

Fruta	Amostra	Tratamento	ACB UFC/kg	AAT
Laranja	Fruta coletada em pomar	1	400	+
Laranja	Fruta adquirida em mercado	2	100	+
Tangerina	Fruta coletada em pomar	5	200	+
Tangerina	Fruta adquirida em mercado	6	200	+
Tomate	Fruta coletada em pomar	10	200	+
Tomate	Fruta adquirida em mercado	11	400	+
Uva	Fruta adquirida em mercado	16	400	+

A partir de amostras de solo de um pomar é possível se obter contagens elevadas que vão de 10^4 - 10^6 UFC/g. A fruta no pomar pode facilmente entrar em contato com estas bactérias que podem se aderir a sua superfície. Sobre a superfície dos frutos e folhas contagens $< 10 - 10^2$ UFC/Kg do produto (EGUCHI et al., 1999).

Os dados apresentados na tabela 3 demonstram que as amostras obtidas no pomar apresentaram uma contagem aceitável devido ao ambiente.

A contaminação de frutas por ACB e AAT pode ocorrer devido à microflora primária ou secundária contaminada. A microflora primária ocorre possivelmente

através de forças interativas entre a estrutura da parede celular dos microrganismos com a planta, levando a adesão na superfície das frutas. E a microflora secundária que ocorre por meio de agentes externos, tais como, solo, chuva, vento e poeira (DOORES, 1983; KOMITOPOULOU, 1999).

Considerações Finais

A presença de tanto de ACB quanto de AAT foi verificada na maioria dos tratamentos, podendo assim aferir que realmente há uma grande dificuldade de eliminar totalmente essa bactéria durante do processo industrial e conseqüentemente do produto final.

Considerando os valores encontrados para as amostras de frutas obtidas no pomar, a contagem obtida através das amostras do mercado é considerada muito alta, pois estas possuem valores iguais ou até mesmo superiores aos encontrados nas amostras de frutas do pomar, revelando assim uma falta de cuidados anteriores como o processo de estocagem e sanitização antes da exposição na prateleira para a venda. Exceto pelo tratamento 2 (fruta laranja adquirida no mercado), pois esta apresentou um valor pertinente por se tratar de uma fruta comercializada, indicando que esta passou por uma assepsia razoável antes de ser exposta para a venda.

Referências

AMICO, V. et al. Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar 'Nerello Mascalese'. *Food Chemistry*, v. 88, n. 4, p. 599-607, 2004.

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.

BEVILACQUA, A., CAMPANIELLO, D., SPERANZA, B., SINIGAGLIA, M., CORBO, M.R. Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by citrus extracts and a mild heat-treatment. *Food Control*, 31(2):553-559, 2012.

BLENFORD, D.E. Winner drinks: use of amino acids and peptides in sports nutrition. *International Foods Ingredients*, n. 3. p. 20 jun. 1996.

BORGUINI, R. G. Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) orgânico: o conteúdo nutricional e a opinião do consumidor. 2002. 110 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2002.

BROEK, A.V.D. Functional Foods. The Japanese Approach. *International Food Ingredients*. n. 1/2. p. 4-10, 1993.

CERNY, G.; HENNLICH, W.; PORALLA, K. Fruchtsaftverderb durch Bacillen: isolierung und charakterisierung des verderbserrengers. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 179, 224–227, 1984.

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

DOORES, S. The microbiology of apples and apple products. *Critical Reviews Food Sciences*, v.19, p. 133, 1983.

EGUCHI, S.; PINHATTI, M.E.C.; AZUMA, E.H.; MANFIO, G.P.; CANHOS, V.P. An ecological study of acidothermophilic sporulating bacteria (*Alicyclobacillus*) in the citrus industry. In *Annals of the 23rd IFU Symposium*, p. 257–270. Havana, Cuba, 2000.

EGUCHI, S. Y.; MANFIO, G. P.; PINHATTI, M. E.; AZUMA, E.; VARIANE, S. F. *Acidothermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in Orange Juices*: detection methods, ecology and involvement in the deterioration of fruits juices. Campinas: Fundação André Tosello & ABECITRUS, p.52, 1999.

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.

GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M.I. & FERRERES, F. Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. *J. Agric. Food. Chem.*, v. 50, p. 5.107-5.114, 2002.

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.

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

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.

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.

KOMITOPOULOU, E.; BOZIARIS, I. S.; DAVIES, E.A.; DELVES-BROUGHTON, J.; ADAMS, M. R.; *Alicyclobacillus acidoterrestis* in fruit juices and its control by nisin. *International Journal Food Sciences Technologies*, v.34, p. 81-88, 1999.

LEE, S.; DOUGHERTY, R.H.; KANG, D. Inhibitory effects of high pressure and heat on *Alicyclobacillus acidoterrestis* spores in apple juice. *Applied and Environmental Microbiology* v.68, p.4158-4161, 2002.

NEGRO, C.; TOMMASI, L.; MICELI, A. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, v. 87, n. 1, p. 41-44, 2003.

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.

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.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.

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.

PIO, R. M.; MINAMI, K.; FIGUEIREDO, J.O. Características do fruto da variedade Span Americana (*Citrus reticulata* Blanco): Uma tangerina do tipo 'poncã' de maturação precoce. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 325-329, 2001.

RESENDE, J.M et al. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. *Hort. Brás.*, Brasília, v.22, n.2, p.206-212, 2004.

SHILS, M.E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M. *Modern nutrition in health and disease*. 8ª ed. Philadelphia, Lea & Febiger, v. 2, 1994.

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.

SILVA, S.; MATIAS, A.; NUNES, A. Identification of flavonol glycosides in winemaking by-products by HPLC with different detectors and hyphenated with mass spectrometry. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, v. 20, n. 1, p. 17-33, 2005.

SPLITTSTOESSER, D.F.; CHUREY, J.J.; LEE, C.Y. Growth characteristics of aciduric spore forming bacilli isolated from fruit juices. *Journal of Food Protection* v.57, p. 1080-1083, 1994

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.

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

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.

YUAN, Y., PEI, J., YUE, T. Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices by a newly discovered bacteriocin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30:855-863, 2014.

Recebido em 15/05/2014

Aprovado em 29/10/2014