

MARIA LUIZA SILVA FAZIO

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E
OCORRÊNCIA DE LEVEDURAS EM POLPAS
CONGELADAS DE FRUTAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos (Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

Orientador: Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann

São José do Rio Preto
2006

MARIA LUIZA SILVA FAZIO

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E OCORRÊNCIA DE
LEVEDURAS EM POLPAS CONGELADAS DE FRUTAS**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann
Presidente e Orientador

Dra. Miyoko Jakabi
2º . Examinador

Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz
3º . Examinador

São José do Rio Preto, 10 de Fevereiro de 2006.

DADOS CURRICULARES

MARIA LUIZA SILVA FAZIO

NASCIMENTO: 23.11.1974 - Catanduva - SP
FILIAÇÃO: Alcides Tinti Fazio
Zaira Aparecida Silva Fazio

1994/1998: Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos -
Universidade Estadual Paulista - UNESP - SP

2004/2006: Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de
Alimentos (Área de Concentração: Ciência e Tecnologia
de Alimentos), nível de Mestrado, no Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas - Universidade
Estadual Paulista (UNESP) - Campus de São José do Rio
Preto - SP

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP).

À Deus, que está sempre presente em todos os momentos de minha vida dando saúde, perseverança e força;

Aos meus pais, Alcides e Zaira, e irmã Ana Paula, pelo amor, compreensão, colaboração e incentivo em mais uma etapa de minha vida;

Aos meus sobrinhos, Victor e Jullia, por existirem, sendo sempre razão de alegria e incentivo em tudo o que faço.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Leite Hoffmann, pela incomparável orientação, colaboração, confiança, paciência, compreensão e amizade, sem as quais este trabalho não seria concretizado;

Ao Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro;

Aos membros titulares, Dra. Miyoko Jakabi e Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz, e suplentes, Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka e Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi, da banca examinadora, pelas valiosas sugestões que contribuíram para a melhoria desta Dissertação;

À Tânia Maria Vinturim Gonçalves, pelo apoio, carinho, paciência e amizade para comigo;

À amiga Andréia Aparecida Jacomassi Carneiro, pela amizade e apoio constantes;

Às colegas do Curso de Pós-Graduação Sandra Isabel Franzotti Gubolino, Fátima Aparecida Carnicel, Jacqueline Tanury Macruz Peresi, Patrícia Guedes Yonemoto e Janaína Alves dos Reis, pelo incentivo, amizade e auxílio;

Ao Dr. Alexandre Rodrigo Coelho, pelo auxílio prestado;

Ao amigo João Paulo, pela amizade e auxílio prestado na área de informática;

Aos professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, pelo apoio e incentivo;

À minha família e amigos que sempre acreditaram e torceram por mim;

Ao meu cunhado Valdir, pela colaboração;

À minha irmã Ana Paula, pelo amor, cumplicidade, confiança e por estar sempre me incentivando;

Aos meus pais Alcides e Zaira, pelo amor, exemplo de vida e esforços realizados para a minha formação.

*”O covarde nunca começa,
o fracassado nunca termina,
o vencedor nunca desiste”.*

Norman Vicent Peale

RESUMO

As frutas são constituintes importantes da dieta humana devido aos seus valores nutritivos e por satisfazerem os hábitos alimentares de grande parte dos consumidores. A polpa é o produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por meio de processos tecnológicos adequados. As frutas com atividade de água (Aa) maior que 0,98 são muito susceptíveis à deterioração por bactérias, bolores ou leveduras. O desenvolvimento e o metabolismo microbiano exigem a presença de água numa forma disponível e a Aa é um índice desta disponibilidade. As polpas de frutas apresentam como características gerais: elevada Aa, potencial de óxido-redução positivo e baixo pH. Destes fatores a elevada acidez restringe a microbiota deterioradora, que se limita principalmente a bactérias lácticas e acéticas, bolores e leveduras; sendo que os dois últimos constituem os mais importantes agentes de deterioração de polpas e sucos de frutas. Neste trabalho objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica de 62 amostras de polpas congeladas de frutas comercializadas na região de São José do Rio Preto - SP. Os resultados obtidos para coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp revelaram que todas as amostras (100%) encontravam-se em conformidade com o padrão federal em vigor, sendo consideradas, portanto, “produtos em condições sanitárias satisfatórias”. Foram ainda isoladas 136 leveduras, as quais foram submetidas, para identificação, aos testes taxonômicos (morfológicos, fisiológicos e de assimilação de fontes de carbono). Os resultados destes testes mostraram a ocorrência de 57 (41,90%) culturas classificadas como *Saccharomyces cerevisiae*, 24 (17,65%) *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi*, 13 (9,55%) *Dekkera bruxellensis*, 13 (9,55%) *Torulaspota delbrueckii*, 6 (4,40%) *Rhodotorula mucilaginosa*, 4 (2,94%) *Rhodotorula glutinis*, 4 (2,94%) *Trichosporon beigelii*, 2 (1,47%) *Hanseniaspora*

vineae, 2 (1,47%) *Sporidiobolus johnsonii*, 2 (1,47%) *Candida apis*, 1 (0,74%)
Cryptococcus albidus, 1 (0,74%) *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii*, 1 (0,74%)
Stephanoascus ciferrii, 1 (0,74%) *Rhodotorula minuta*, 1 (0,74%) *Pichia farinosa*, 1
(0,74%) *Debaryomyces vanriijae* var. *vanriijae*, 1 (0,74%) *Bullera variabilis*, 1 (0,74%)
Schizosaccharomyces pombe, 1 (0,74%) *Sporobolomyces roseus*. Foi também
verificada a resistência dessas culturas em relação aos conservantes alimentícios
sorbato de potássio, benzoato de sódio e metabissulfito de sódio em diferentes
concentrações e ao tratamento térmico (90°C/60 segundos). O conservante sorbato
de potássio não inibiu nenhuma das leveduras testadas. O metabissulfito de sódio
apresentou maior eficácia que o benzoato de sódio, uma vez que inibiu 100% das
culturas a partir da concentração de 0,06%, contra a de 0,10% do outro conservante.
O tratamento térmico empregado inibiu 81 (70,40%) leveduras. Sob condições
experimentais, benzoato de sódio a partir de 0,05% e metabissulfito de sódio a partir
0,04% inibiram maior número de leveduras testadas do que o tratamento térmico.

ABSTRACT

The fruits are important constituents of the human diet due to their nutritional values and because they satisfy the food habits of large number of the consumers. The fruit pulp is obtained by crushing the edible parts of fruits by right technological process. Fruits that have water activity (a_w) over 0.98 are susceptible to deterioration by bacteria, molds and yeasts. The development and the microbial metabolism require the presence of water in an available way and a_w is an indicator of this availability. Fruit pulps have the general characteristics: high a_w , positive oxide - reduction potential and low pH. Of these factors the high acidity limits the decay agents, mainly to acetic and lactic bacteria, molds and yeasts; but molds and yeasts are the most important deterioration agents in fruit pulps and juices. In this study was evaluated the microbiological quality of 62 samples of fruit frozen pulps commercialized in the region of São José do Rio Preto - SP. The results obtained for fecal coliforms and *Salmonella* spp revealed that all samples (100%) were in accordance with the current federal standard, being considered therefore "products in satisfactory sanitary conditions". One hundred and thirty six yeasts were isolated from the samples, which were submitted, for identification, to taxonomic tests (morphological, physiological and to carbon sources assimilation). The results of the taxonomic tests showed the occurrence of 57 (41.90%) cultures classified as *Saccharomyces cerevisiae*, 24 (17.65%) *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi*, 13 (9.55%) *Dekkera bruxellensis*, 13 (9.55%) *Torulasporea delbrueckii*, 6 (4.40%) *Rhodotorula mucilaginosa*, 4 (2.94%) *Rhodotorula glutinis*, 4 (2.94%) *Trichosporon beigeli*, 2 (1.47%) *Hanseniaspora vineae*, 2 (1.47%) *Sporidiobolus johnsonii*, 2 (1.47%) *Candida apis*, 1 (0.74%) *Cryptococcus albidus*, 1 (0.74%) *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii*, 1 (0.74%)

Stephanoascus ciferrii, 1 (0.74%) *Rhodotorula minuta*, 1 (0.74%) *Pichia farinosa*, 1 (0.74%) *Debaryomyces vanriijae* var. *vanriijae*, 1 (0.74%) *Bullera variabilis*, 1 (0.74%) *Schizosaccharomyces pombe*, 1 (0.74%) *Sporobolomyces roseus*. The cultures were tested for resistance to food preservatives potassium sorbate, sodium benzoate and sodium metabisulphite in different concentrations, and to thermal treatment (90 °C/60 seconds). The food preservative potassium sorbate didn't inhibit any of the yeasts tested. The sodium metabisulphite was more efficient than sodium benzoate, because it inhibited 100% of the cultures from the concentration of 0.06%, against the one of 0.10% of the other preservative. The thermal treatment used inhibited 81 (70.40%) of the yeasts. Under experimental conditions, sodium benzoate from 0.05% and sodium metabisulphite from 0.04% inhibited more yeasts tested than the thermal treatment.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. JUSTIFICATIVA	25
3. OBJETIVOS	26
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
5. MATERIAIS E MÉTODOS	46
5.1. Obtenção das amostras	46
5.2. Preparo das amostras	46
5.3. Enumeração de bolores e leveduras	46
5.4. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais	47
5.5. Determinação do NMP de coliformes termotolerantes	47
5.6. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	47
5.7. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp	48
5.8. Isolamento das culturas de leveduras	48
5.9. Provas taxonômicas	49
5.10. Provas morfológicas	49
5.11. Provas fisiológicas	49
5.11.1. Capacidade fermentativa	49
5.11.2. Desenvolvimento em diversas temperaturas	50
5.11.3. Desenvolvimento em meio de cultura contendo nitrato	50
5.11.4. Resistência à pressão osmótica	51
5.11.5. Desenvolvimento em meio de cultura contendo cicloheximida (actidione)	51
5.11.6. Síntese de amido	51

5.11.7. Provas de assimilação de fontes de carbono	52
5.12. Ensaio de resistência aos principais conservantes alimentícios contidos na legislação vigente para produtos de frutas e frutos	52
5.13. Prova de sensibilidade ao tratamento térmico (90° C/60 segundos)	53
5.14. Técnica de <i>replica-plate</i>	53
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
6.1. Análises microbiológicas	54
6.2. Isolamento das culturas de leveduras	62
6.2.1. Marca B	63
6.2.2. Marca C	64
6.3. Ensaio de resistência aos principais conservantes alimentícios contidos na legislação para produtos de frutas e frutos	104
6.3.1. Sorbato de potássio (INS - 202)	104
6.3.2. Benzoato de sódio (INS - 211)	105
6.3.3. Metabissulfito de sódio (INS - 223)	109
6.4. Prova de sensibilidade ao tratamento térmico (90° C/60 segundos)	113
7. CONCLUSÕES	116
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca A)	58
TABELA 2. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca B)	59
TABELA 3. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca C)	61
TABELA 4. Distribuição das leveduras segundo a origem (marca B)	74
TABELA 5. Distribuição das leveduras segundo a origem (marca C)	76
TABELA 6. Freqüência relativa das leveduras isoladas	77
TABELA 7. Freqüência relativa das leveduras isoladas (marca B)	79
TABELA 8. Freqüência relativa das leveduras isoladas (marca C)	81
TABELA 9. Freqüência relativa dos cinqüenta e oito grupos de leveduras isolados	82
TABELA 10. Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras	87
TABELA 11. Leveduras sensíveis ao benzoato de sódio nas diferentes concentrações empregadas	108
TABELA 12. Leveduras sensíveis ao metabissulfito de sódio nas diferentes concentrações empregadas	111
TABELA 13. Freqüência relativa dos sete gêneros de leveduras resistentes ao tratamento térmico (90° C/60 segundos)	115

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fluxograma do processamento de polpas congeladas de frutas 22



1. INTRODUÇÃO

Alimentos de origem vegetal, por exemplo frutas, têm grande importância na nutrição humana devido ao grande conteúdo de vitaminas e sais minerais (NASCIMENTO *et al.*, 1999).

Existe uma grande diversidade de frutas no Brasil e muitas delas são utilizadas como alimento. Devido à falta de conhecimento dos produtores com relação ao processamento de alimentos, freqüentemente ocorrem perdas na produção de frutas, especialmente por meio da ação deteriorante de microrganismos (TRINDADE *et al.*, 2002).

Mesmo não havendo evidências de que os tecidos das frutas abriguem qualquer tipo de microrganismo, na superfície das mesmas em estado fresco, tem sido encontrada uma grande variedade; portanto, havendo rompimento de forma natural ou mecânica, os mesmos penetram e proliferam rapidamente nos tecidos internos (GRAY, 1959; EVANGELISTA, 1989).

A ocorrência e multiplicação de microrganismos no meio ambiente são comuns, e as reações químicas e enzimáticas associadas a eles resultam em decomposição de materiais, inclusive alimentos. Essa decomposição causa modificações na aparência, sabor, textura, cor, consistência e qualidade nutricional do produto. Além disso, certos microrganismos são patogênicos para o ser humano, podendo causar infecções ou toxinfecções quando proliferam em alimentos. Portanto, exceto em fermentações microbiológicas úteis, o desenvolvimento de microrganismos em alimentos é indesejável, sendo necessário evitá-lo ou inibi-lo por meio de métodos de conservação (SOFOS, 1995).

As frutas são importantes microhabitats para uma variedade de espécies de leveduras na natureza devido à alta concentração de açúcares simples, baixo pH e intensa visitação por insetos vetores (LACHANCE; STARMER, 1998). Prováveis vetores nos trópicos podem incluir animais envolvidos em polinização como beija-flores, morcegos e insetos como abelhas e lepidópteros que visitam flores abertas. *Drosophila* está entre os mais importantes vetores de leveduras de frutas maduras e apodrecidas (SANTOS *et al.*, 1996). No Nordeste do Brasil, muitas frutas têm importância econômica, e elas são comercializadas ou são congeladas para futura utilização em sucos e alimentos processados (TRINDADE *et al.*, 2002).

Devido aos seus valores nutritivos e por satisfazerem os hábitos alimentares de grande parte dos consumidores as frutas são constituintes importantes da dieta humana. A polpa é o produto obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas por meio de processos tecnológicos adequados. Constituem o melhor meio para se reverter o problema de manuseio, transporte e armazenamento de frutas *in natura* em função das condições climáticas, da distância e da perecibilidade. Seu processamento deve se apresentar dentro dos padrões de higiene e qualidade (ABREU; NUNES; OLIVEIRA, 2003).

A legislação (BRASIL, 2001) estabelece os seguintes padrões microbiológicos para polpa de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas:

- ↪ Coliformes termotolerantes (fecais): $10^2/g$
- ↪ *Salmonella* spp: ausência em 25 g

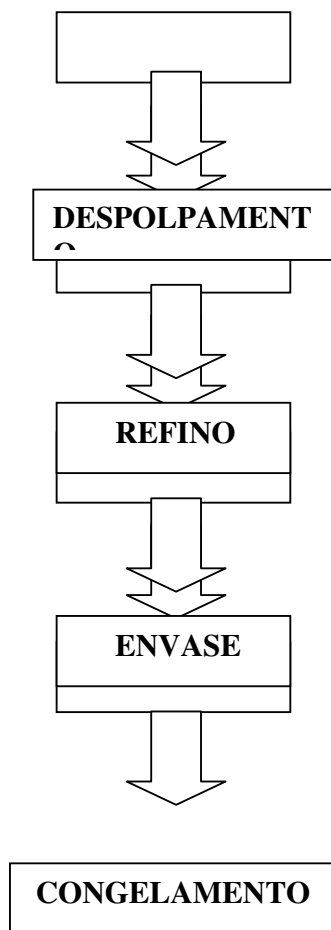
A produção de polpas congeladas de frutas (FIGURA 1) engloba as seguintes etapas:

1. Recepção: as frutas devem ser pesadas e selecionadas quanto ao seu ponto de maturação. Aquelas sem condição de despulpamento devem ser dispensadas neste momento.
2. Lavagem, que deve ser feita em duas fases:
 - 2.1. Banho por imersão: onde os frutos são submetidos à imersão em água com elevadas concentrações de cloro por determinado tempo. Para as que são colhidas ao invés de apanhadas do chão e que apresentem incrustações leves em sua superfície se empregam baixas concentrações por um tempo reduzido. Em contra partida, para aquelas em condições de recepção muito ruins se utilizariam máximas concentrações de cloro por tempos maiores.
 - 2.2. Aspersão: para a remoção das impurezas remanescentes além da retirada do excesso de cloro. Esta deve ser realizada com água tratada em quantidades ideais retirando o excesso de cloro da lavagem anterior sem desperdícios de água.
3. Seleção: muito importante, pois é a responsável pela classificação final da fruta que será processada. Nesta fase as frutas são expostas sobre mesas ou esteiras apropriadas onde são avaliadas quanto à maturação, firmeza, machucaduras, defeitos causados por fungos, roedores e insetos. São retiradas todas aquelas que venham comprometer a qualidade do produto final.
4. Preparo: alguns frutos exigem uma preparação prévia ao despulpamento envolvendo descasque, retirada de talos e de sementes. Após esta etapa são levados ao despulpamento ou prensagem.

5. Despolpamento: retirada da polpa do fruto por meio do esmagamento de suas partes comestíveis, processado em centrífuga horizontal. Para despolpar se utilizam peneiras com furos a partir de 1,0 mm. Deve ser realizado em equipamentos fabricados em aço inox e materiais apropriados.
6. Refino: a polpa, após sua extração, pode exigir um refinamento para melhorar o seu aspecto visual, podendo ser feito utilizando-se a despolpadeira com peneiras de furos pequenos (1,0 mm ou menor), onde serão retiradas as impurezas da polpa (fibras, pedaços de semente, etc.). Além da substituição da peneira, trocam-se as palhetas de borracha por escovas e cerdas. Nesta etapa a redução da massa não deve ultrapassar os 3%.
7. Envase: realizado em sistema semi-automático. A polpa é colocada no tanque do dosador e para preenchimento adequado regula-se a máquina para a medida desejada. A embalagem colocada neste equipamento pelo operador é em seguida levada à bandeja. Outro operário fecha os sacos plásticos na seladora. O produto é normalmente comercializado em embalagens contendo 100 gramas. Os tanques de equilíbrio com parede dupla para um pré-resfriamento são recomendados para a manutenção da qualidade da polpa além da economia do sistema de congelamento. Outra opção é o sistema de embaladeira automática, onde o fluxo é semelhante, porém não há manuseio das embalagens.
8. Congelamento: na produção de polpa congelada, o produto não é submetido a nenhum outro tratamento visando à inibição de reações químicas e enzimáticas e/ou redução da atividade de microrganismos que possam levar a perda de qualidade. Portanto deve ser efetuado o mais rápido possível para manter as características da fruta fresca. Existem várias maneiras de se efetuar o congelamento. O uso de freezer, do tipo doméstico, apresenta limitação quanto

ao tempo exigido para congelar um determinado lote de produto, pois neste tipo de equipamento a retirada de calor da massa é feita por meio do contato direto com as paredes do mesmo e por condução no interior da polpa. Desse modo o processo se torna bastante lento. O emprego de câmaras de congelamento com ventilação forçada é mais eficiente, e portanto, deve ser preferido. A temperatura recomendada para polpa se situa na faixa de $- 23 \pm 5^{\circ} \text{C}$, no entanto, o tempo necessário para abaixar a temperatura do produto para $- 5^{\circ} \text{C}$ não deve ultrapassar 8 horas. A temperatura de $- 18^{\circ} \text{C}$ deverá ser atingida em um tempo máximo de 24 horas e deve ser mantida durante todo o tempo de armazenamento e transporte até o momento do consumo (www.itametal.com.br).

FIGURA 1. Fluxograma do processamento de polpas congeladas de frutas.



Todos os alimentos, independente de sua origem, podem apresentar uma microbiota natural extremamente variável, concentrada principalmente na região superficial, embora os tecidos internos, tanto de vegetais como de animais, possam eventualmente, apresentar formas microbianas viáveis. As frutas com atividade de água (Aa) maior que 0,98 são muito susceptíveis à deterioração por bactérias, bolores ou leveduras. O desenvolvimento e o metabolismo microbiano exigem a presença de água numa forma disponível e a Aa é um índice desta disponibilidade para utilização em reações químicas e multiplicação microbiana (ABREU; NUNES; OLIVEIRA, 2003).

Leveduras são fungos unicelulares capazes de reproduzir-se vegetativamente por meio de brotamento das células ou, mais raramente, por fissão celular. Essa característica confere às leveduras a capacidade de multiplicar-se rapidamente em ambientes líquidos, que favorecem a dispersão das células. Muitas leveduras desenvolvem-se sob condições anaeróbias, o que também favorece o seu desenvolvimento em líquidos. Por outro lado, a reprodução vegetativa das células não é favorável ao espalhamento das colônias na superfície dos alimentos sólidos ou à sua penetração nesse tipo de produto, nos quais os fungos filamentosos são favorecidos (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Como todos os fungos, as leveduras multiplicam mais lentamente do que as bactérias, não competindo bem em ambientes que permitam o desenvolvimento bacteriano, ou seja, condições de alta atividade de água, pH próximo ao neutro e temperaturas ótimas de bactérias mesófilas (TANIWAKI; SILVA, 2001).

A multiplicação de leveduras é normalmente acompanhada da produção de CO₂ e etanol, mas a deterioração também pode manifestar-se pela formação de película, turvação, floculação e, em alguns casos, podem esses microrganismos

produzir pectinesterases que atacam a pectina e eliminam a turvação natural dos sucos (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF, 1980). Podem utilizar os ácidos orgânicos, resultando em elevação do pH e também produzir acetaldeído, que contribui para o odor fermentado. As exigências nutricionais são mínimas, sendo que muitas podem sintetizar uma ampla variedade de substâncias essenciais para o desenvolvimento, como vitaminas, aminoácidos e carboidratos, utilizam fontes simples de nitrogênio e são relativamente resistentes à inibição pelo CO₂ (UBOLDI EIROA, 1989).

Assim, conforme destacam Pitt e Hocking (1997), as leveduras são deteriorantes associados principalmente aos alimentos ácidos líquidos ou semi sólidos, no interior dos quais a dispersão das células é facilitada e a disponibilidade de oxigênio é reduzida.

As leveduras integram a microbiota natural de frutas e vegetais, embora os números relativos da população variem de um habitat para outro, sendo influenciados pelo meio ambiente e pelas condições de colheita e armazenamento (UBOLDI EIROA, 1989).

As vinte leveduras mais comuns em alimentos são: *Candida glabrata*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *C. versatilis*, *Cryptococcus albidus*, *Debaryomyces hansenii*, *Issatchenkia orientalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia anomala*, *P. fermentans*, *P. guilliermondii*, *P. membranaefaciens*, *Rhodotorula glutinis*, *R. mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S. exiguus*, *Sporobolomyces roseus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces bailii* e *Z. rouxii* (DEAK; BEUCHAT, 1986).

A microbiota natural de leveduras em frutas é geralmente constituída por espécies de *Kloeckera*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*,

Hanseniaspora, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Trichosporum*, etc. (UBOLDI EIROA, 1989).

Infelizmente, a maioria dos dados sobre as espécies de leveduras disponíveis na literatura é de regiões temperadas, havendo a necessidade de mais estudos que explorem melhor a grande diversidade de espécies encontradas nos trópicos, já que importantes linhagens utilizadas biotecnologicamente são resultantes destes estudos. Ao lado do clássico exemplo representado pela exploração comercial de diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* para produção de álcool combustível e bebidas, vários outros produtos metabólicos como, enzimas, vitaminas, carotenóides, lipídeos e ácido cítrico já são produzidos comercialmente por várias linhagens de leveduras, enquanto outras representam potencial para futuras explorações (DEMAIN; PHAFF; KURTZMAN, 1998).

2. JUSTIFICATIVA

Uma grande e variada população de microrganismos, incluindo os esporos de muitos tipos de fungos, contaminam a superfície durante o desenvolvimento e maturação das frutas. Relativamente poucos fungos são capazes de atacar o fruto antes da colheita. O processo de amadurecimento aumenta a susceptibilidade do fruto à invasão.

Frutos colhidos do chão apresentam uma biota mais variada do que os apanhados na árvore. A queda causa machucaduras, e o contato com grama e solo fornece uma fonte adicional de inóculo.

A presença de bolores e leveduras pode ocasionar alterações (principalmente sensoriais), sendo a rejeição do produto a principal consequência.

O isolamento e identificação de leveduras de polpas de frutas permitem o conhecimento da microbiota potencial de contaminação; sendo possível por meio de processamento específico (temperatura e tempo adequados) reduzir tal contaminação.

3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivos, considerando os aspectos abordados:

- Realizar as análises microbiológicas prescritas na legislação brasileira vigente, assim como a enumeração de bolores e leveduras, em diferentes amostras de polpas congeladas de frutas,
- Identificar as diversas leveduras isoladas deste tipo de produto,
- Verificar a resistência das mesmas em relação aos principais conservantes alimentícios contidos na legislação brasileira e
- Investigar a sensibilidade dessas leveduras frente ao tratamento térmico.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As polpas de frutas apresentam como características gerais: elevada Aa, potencial de óxido-redução positivo e baixo pH. Destes fatores a elevada acidez restringe a microbiota deterioradora, que se limita principalmente a bactérias lácticas e acéticas, bolores e leveduras; sendo que os dois últimos se constituem nos mais importantes agentes de deterioração de polpas e sucos de frutas (LEITÃO, 1968; CARR, 1975).

Foram analisadas as características microbiológicas das polpas congeladas de abacaxi, cajá, caju, goiaba, manga e maracujá de alguns produtores do estado da Bahia. As polpas de caju (70% apresentaram contagens $> 10^3$ UFC/g), cajá (62,5% entre 10^3 e 10^5 UFC/g), goiaba (63% entre 10^3 e 10^5 UFC/g), manga (50% $> 10^3$ UFC/g) e maracujá (70% entre 10^3 e 10^6 UFC/g) mostraram contaminação média por bolores e leveduras relativamente alta; além de evidenciarem, com freqüência, a presença de bactérias indicadoras de contaminação fecal. A polpa de abacaxi (67% entre 10^1 e 10^3 UFC/g) apresentou também contaminação por bolores e leveduras e ausência de coliformes termotolerantes (LEITE *et al.*, 2000).

Avaliaram-se as amostras de diferentes polpas de frutas congeladas comercializadas no estado do Ceará quanto à presença de bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes. Os resultados indicaram que 32 amostras (74,5%) atendiam aos padrões e 11 (25,5%) apresentaram-se fora dos limites estabelecidos (LIMA; MARTINS; SILVA, 2001).

Setenta e uma amostras de polpas congeladas de frutas sendo 28 de acerola, 21 de cajá e 22 de caju produzidas e comercializadas nos estados da Paraíba e Pernambuco foram analisadas quanto ao aspecto microbiológico. Os resultados indicaram que 83,9% das amostras atenderam ao padrão para bolores e leveduras, e que 2,8% apresentaram coliformes termotolerantes. Em relação à contagem de bactérias aeróbias mesófilas, observou-se que as amostras apresentaram resultados dentro dos limites aceitáveis pela legislação. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp em nenhuma das amostras analisadas (FEITOSA *et al.*, 1999b).

Bueno *et al.* (2002) avaliaram a qualidade de polpas de frutas congeladas de uma única marca comercial. Os resultados obtidos indicaram que, do ponto de vista microbiológico, todas as amostras avaliadas (abacaxi, açaí, acerola, cacau, cajá, caju, cupuaçu, goiaba, mamão, manga, melão, morango, siriguela, umbu e uva) atendiam a legislação em vigor.

Avaliou-se a qualidade higiênico-sanitária de amostras de polpas congeladas de acerola, cajá e caju produzidas e comercializadas nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco; sendo 51 de polpa de acerola, 41 de cajá e 38 de caju. Constatou-se que 31 amostras apresentaram contagens de bolores e leveduras acima do permitido pela legislação. A presença de coliformes termotolerantes foi constatada em 3% das amostras de polpa de caju num intervalo de 4 a 23 UFC/g. Não foi constatada a presença de *Salmonella* spp em 100% das amostras (FEITOSA *et al.*, 1999a).

Foram determinados os parâmetros microbiológicos de 10 amostras diferentes de polpas de frutas (abacaxi, acerola, cacau, coco, graviola, manga, morango, murici, umbu e uva) encontradas no comércio de São José do Rio Preto - SP. Verificou-se que 90% estavam de acordo com todos os padrões estabelecidos pela legislação estadual e 1 (10% - polpa de coco) continha *Salmonella* spp (HOFFMANN *et al.*, 1997).

Analisou-se o perfil microbiológico de 43 polpas de frutas produzidas e comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Inicialmente foram avaliados os sabores acerola, cajá e caju. Do ponto de vista sanitário constatou-se

que 49,02% das amostras de polpa de acerola; 25% das de cajá e 51,42% das de caju apresentavam-se fora dos padrões quanto à contagem de bolores e leveduras; e que 8,11% das de polpa de caju apresentavam coliformes termotolerantes. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. De acordo com os resultados obtidos concluiu-se que a maioria das amostras apresentavam condições higiênicas insatisfatórias (FEITOSA *et al.*, 1997).

Realizou-se a análise microbiológica de 9 amostras de polpa de abacaxi e 10 de acerola produzidas e comercializadas na ilha de São Luís, MA. Os resultados indicaram que 20% das polpas de acerola (2) e 100% das de abacaxi (9) encontravam-se fora dos padrões quanto à contagem de bolores e leveduras e 10% das de acerola (1) apresentavam coliformes termotolerantes. Não foi observada a presença de *Salmonella* spp nas amostras analisadas (NASCIMENTO *et al.*, 1999).

Foi realizada a monitorização da qualidade microbiológica de polpas de caju e abacaxi durante o processamento. Os resultados indicaram contagens relativamente altas de bolores e leveduras no abacaxi *in natura*, fato considerado normal, visto que estes tipos de microrganismos estão presentes naturalmente no fruto. No caso do caju, foram encontradas contagens elevadas de coliformes a 35 e 45°C, indicando que o produto chega contaminado do campo. Porém, foi observado que após tratamento térmico preliminar a 72°C, a contagem de coliformes foi reduzida a níveis aceitáveis. O tratamento térmico utilizado foi satisfatório para eliminar os microrganismos estudados (BRUNO; NASSU; MORAIS, 2004).

Morais, Nassu e Bruno (2004) avaliaram requisitos relacionados a Boas Práticas de Fabricação (BPF) em indústria de polpa e sucos de frutas. Os resultados da análise do produto final indicaram a presença de *Salmonella* spp e elevada contagem de bolores e leveduras para a polpa de caju no início do período, porém a qualidade foi melhorando no decorrer do ano. Este fato reflete que medidas adotadas surtiram efeito na qualidade microbiológica dos produtos. O mesmo ocorreu em relação à elevada contagem de bolores e leveduras na de abacaxi. No que se refere à análise de água, ambiente e manipuladores, os resultados foram satisfatórios. Na avaliação dos equipamentos, utensílios e superfícies constatou-se que 88,2% dos pontos avaliados estavam na região limpa.

Um estudo do perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina - PI realizado por Abreu, Nunes e Oliveira (2003) mostrou que das 265 amostras coletadas, 85% não estavam contaminadas e 15% apresentaram níveis de contaminação por coliformes a 45°C acima do limite estabelecido. Nenhuma amostra apresentou *Salmonella* spp. Tais fatos demonstram que a grande maioria das indústrias produtoras de polpas de frutas comercializadas em Teresina oferece à população produtos de qualidade.

Foram isoladas e identificadas leveduras de frutas, polpas de frutas e ambiente industrial. Entre as linhagens identificadas a de maior ocorrência foi a do gênero *Candida*. Nos diferentes produtos foram encontradas:

- *Candida pelliculosa* - polpa de morango congelada adicionada de açúcar;
- *Candida inconspicua*, *Kloeckera apiculata*, *Trichosporon pullulans* - polpa de maracujá;

- *Torulopsis magnoliae*, *Yeast like fungi* (levedura com micélio verdadeiro) - maracujá *in natura*;
- *Candida magnoliae* (também isolada da sala próxima ao preparo e do desintegrador), *Kloeckera apiculata* (isolada ainda do desintegrador) - morango *in natura* (TORREZAN; UBOLDI EIROA; PFENNING, 2000).

Bastos *et al.* (2002) realizaram a avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de polpas de frutas congeladas; sendo as amostras coletadas em 3 empresas (A, B e C) por meio de *swab*. Com relação à contagem de *Staphylococcus aureus* observou-se que 94% das amostras apresentaram resultados < 10 UFC/mão, sendo constatada a presença desta bactéria em 6% das provenientes de uma das empresas. Observou-se, ainda, a ausência de coliformes termotolerantes em 100% das amostras analisadas. Concluiu-se que o plano de higienização estabelecido nas BPF está sendo rigorosamente seguido pelas empresas B e C, enquanto que a A precisa ainda assumir um maior comprometimento em relação ao que foi proposto, para assim melhorar a qualidade de seus produtos.

Estudou-se o comportamento da *Escherichia coli* O157:H7, inoculada em polpas de abacaxi, cacau, goiaba, graviola, manga e umbu. As mesmas foram contaminadas, armazenadas em temperaturas de 6 e - 10°C e analisadas durante um período de 13 dias. Os resultados mostraram que os baixos valores de pH das polpas de frutas e as temperaturas empregadas para o armazenamento não foram fatores limitantes para a sobrevivência desse patógeno durante o período de armazenamento. Assim sendo, mediante a possibilidade de *E. coli* O157:H7 vir a

contaminar as frutas utilizadas para o processamento de polpas, esse produto pode representar um perigo para a população consumidora (LEITE *et al.*, 2002).

Foram avaliadas as condições higiênico-sanitárias de três empresas produtoras de polpas congeladas de frutas, na cidade de Fortaleza. Em relação à qualidade microbiológica de equipamentos, as empresas A, B e C mostraram resultados satisfatórios em 75, 83 e 74% das amostras, respectivamente. Para utensílios não houve diferença significativa para as empresas A e C, sendo satisfatório em aproximadamente 73% das amostras; para a empresa B verificou-se que 50% das amostras apresentaram resultados satisfatórios. Para a qualidade do ar, a contagem de colônias teve alta variação, apresentando colônias que caracterizam presença de fungos. Com a variabilidade obtida nos resultados, concluiu-se que as empresas necessitam adotar corretamente as BPF e estabelecer planos de higiene e sanitização em todos os estágios do processo (BASTOS *et al.*, 2001).

Trabalho desenvolvido por Cunha *et al.* (2000) teve como objetivo diagnosticar as condições higiênico-sanitárias dos equipamentos utilizados na linha de produção de polpa de fruta congelada de três indústrias (A, B e C) localizadas na região metropolitana de Fortaleza. Foram coletadas 46 amostras em equipamentos (despolpadeiras e dosadoras), sendo 12, 20 e 14 das empresas A, B e C, respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram que as empresas avaliadas não estão padronizando os procedimentos de higiene e sanitização. Embora a contaminação observada, principalmente nas empresas A e B não implique em

riscos à saúde pública; prejudica a qualidade do produto final. A empresa C apresentou equipamentos com as melhores condições higiênico-sanitárias.

Bastos *et al.* (1997) caracterizaram 7 empresas produtoras de polpa de fruta congelada nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará em relação ao controle de qualidade no processamento de polpas de acerola, cajá e caju. Quanto à procedência da matéria prima, 70% das empresas recebem frutas de terceiros. Os procedimentos de controle de qualidade restringem-se à matéria prima e ao produto acabado. Os principais problemas encontrados dizem respeito à dificuldade na seleção de frutas, perda de coloração das frutas e polpa, oxidação das frutas e falta de equipamentos ideais para processo eficiente. Concluiu-se que a maioria das indústrias trabalha com fornecedores variados, dificultando a padronização dos processos (produtos), além do risco de fechamento das que não se adequam às exigências dos consumidores. Vale ressaltar que a maioria dos produtores está utilizando os procedimentos básicos de controle de qualidade e enviando amostras para órgãos oficiais efetuarem avaliações físico-químicas e microbiológicas.

Beckenkamp (1997) analisou 24 amostras de polpas de frutas, sendo 12 não pasteurizadas e 12 pasteurizadas para o isolamento de leveduras das seguintes frutas: abacaxi, acerola, cajá, caju, cupuaçu, goiaba, graviola, manga, mangaba, maracujá, morango e uva. Entre as leveduras isoladas de polpas não pasteurizadas foram identificadas 10 espécies pertencentes aos gêneros *Brettanomyces*, *Candida*, *Dekkera* e *Hansenula*; entre aquelas isoladas de polpas pasteurizadas foram identificadas 11 espécies pertencentes aos gêneros *Brettanomyces*, *Candida*,

Dekkera, *Hansenula*, *Rhodotorula* e *Trichosporon*. A espécie prevalente foi *Candida pelliculosa*.

Ivo (1982) isolou do abacaxi 99 amostras de leveduras pertencentes por ordem decrescente aos gêneros *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Hansenula* e *Kloeckera*.

De frutas cítricas tais como laranjas, limas, tangerinas produzidas na região de Tucuman na Argentina foram isoladas as espécies *Kloeckera apiculata*, *K. apiculata*, *Candida guilliermondii*, *C. stellata*, *Pichia kluyveri*, *P. membranaefaciens* e *Geotrichum candidum* consideradas responsáveis pelo apodrecimento de referidas frutas (SPENCER *et al.*, 1992).

Kamra e Madan (1987) isolaram leveduras de polpas de frutas, constatando a existência de 16 gêneros e 38 espécies. Predominaram os gêneros *Candida* (23,98%) e *Hansenula* (12,82%); as espécies *Kloeckera apiculata* (11,5%) e *Hanseniaspora uvarum* (8,95%) foram as mais freqüentes.

Em trabalho desenvolvido por Silva *et al.* (2005) foram isoladas e identificadas as seguintes leveduras presentes na superfície do cacau: *Zygosaccharomyces fermentati*, *Candida krusei*, *Pichia guilliermondii* e *Zygosaccharomyces cidri*.

De La Torre *et al.* (1999) informaram que leveduras tais quais *Sporobolomyces roseus*, *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula rubra* e *Candida* spp compunham a microbiota natural de certas variedades de uvas.

Determinou-se a microbiota da superfície de bananas colhidas do ambiente árido e subtropical de Carnarvon (Austrália). Leveduras pertencentes ao gênero *Cryptococcus* foram as mais encontradas (45%) (*Cryptococcus laurentii*, *C. albidus*, *C. uniguttulatus*, *C. neoformans*). Além disso, 27% pertenceram ao gênero *Candida*, 16% foram identificadas como *Rhodotorula glutinis* e 12% representaram outros gêneros (POSTMASTER; SIVASITHAMPARAM; TURNER, 1997).

Davenport (1976) estudou as populações de leveduras em maçã e uva, encontrando uma variedade de espécies, dentre as quais *Rhodotorula glutinis* e *Cryptococcus albidus*.

Sancho *et al.* (2000) identificaram 19 espécies de leveduras, representando 12 gêneros; leveduras estas isoladas de polpas e concentrados de frutas. Aquelas mais frequentemente isoladas pertenceram aos gêneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Kluyveromyces* e *Candida*.

- concentrado de laranja: *Pichia ohmeri*, *P. anomala*, *P. farinosa*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Cryptococcus humicolus*, *C. laurentii*, *Saccharomyces cerevisiae*;
- concentrado de maçã: *Cryptococcus albidus*;
- polpa de pêsego: *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus laurentii*, *C. albidus*;
- polpa de pêra: *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *Debaryomyces hansenii*.

Foram isolados os seguintes gêneros de leveduras da casca do abacaxi: *Candida*, *Cryptococcus*, bem como *Rhodotorula aurantiaca*, *R. glutinis* e *Pichia guilliermondii* (REYES; ROHRBACH; PAULL, 2004).

Parish e Higgins (1989) pesquisaram uma variedade de produtos cítricos, incluindo casca seca de laranja utilizada como forragem de gado, suco de laranja pasteurizado e não pasteurizado, e suco de laranja refrigerado com relação à microbiota fúngica. As seguintes leveduras foram isoladas: *Candida maltosa*, *C. sake*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Hanseniaspora* spp.; *Pichia membranaefaciens*, *Saccharomyces cerevisiae* (suco de laranja não pasteurizado - comercial); *Saccharomyces cerevisiae* e *Torulaspota delbrueckii* (suco de laranja não pasteurizado - experimental) e *Rhodotorula* spp (casca de laranja seca).

A presença de leveduras foi investigada em 4 grupos de alimentos: frutas frescas, frutas processadas, derivados de leite e carne industrializada. Foram isoladas 392 leveduras pertencentes aos gêneros: *Candida*, *Debaryomyces* e *Pichia*. De frutas frescas foram isoladas as seguintes leveduras: pitanga - *Debaryomyces polymorphus* e *Debaryomyces* spp; mangaba - *Candida diddensiae*, *C. haemulonii*, *Candida* spp, *Debaryomyces* spp e *Pichia membranaefaciens* (MAGALHÃES; QUEIROZ, 1991).

Saccharomyces cerevisiae, *S. carlsbergensis*, *S. fragilis*, *Candida utilis*, *C. tropicalis* e *Lipomyces kononenkoae* são exemplos de leveduras empregadas como suplemento alimentício devido ao seu alto valor protéico, assim como a presença de

vitaminas do complexo B em suas respectivas células (COOK, 1958; GRAY, 1959; ROSE; HARRISON, 1987; HORN; DU PREEZ; LATERGAN, 1988).

Deak e Beuchat (1993) determinaram as populações e a frequência da ocorrência de leveduras em concentrados de suco de abacaxi, cereja, laranja, maçã e uva congelados. Foram isoladas 154 leveduras de 33 amostras de sucos de frutas concentrados, que representaram 12 gêneros e 21 espécies. As espécies mais frequentemente isoladas foram *Saccharomyces cerevisiae* (24,7%), *Candida stellata* (22,1%) e *Zygosaccharomyces rouxii* (14,3%); seguida em ordem decrescente por *Torulaspota delbrueckii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Issatchenkia orientalis*, *Hanseniaspora occidentalis*, *Lodderomyces elongisporus*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Candida glabrata* e *Pichia anomala*. *Candida magnoliae*, *C. maltosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Clavispora lusitaniae*, *Cryptococcus humicolus*, *C. laurentii*, *Pichia membranaefaciens* e *Sporidiobolus salmonicolor* foram representados por isolados únicos. *Saccharomyces cerevisiae* e *Zygosaccharomyces rouxii* foram isoladas, respectivamente de 5 e 4 tipos de concentrados de frutas.

Trindade *et al.* (2002) investigaram a biodiversidade de leveduras em frutas maduras e polpas congeladas de acerola, mangaba, pitanga e umbu. Um total de 480 colônias foram isoladas e agrupadas em 405 linhagens diferentes. *Candida sorbosivorans*, *Pseudozyma antarctica*, *C. spandovensis-like*, *C. spandovensis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* (isolada apenas de polpa de mangaba congelada), *Kloeckera apis*, *Rhodotorula graminis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus laurentii*, *Metschnikowia* spp (isolada apenas de pitanga madura), *Issatchenkia occidentalis*

foram as mais freqüentes. A comunidade de leveduras de pitanga madura exibiu a mais alta freqüência de espécies, seguida pelas comunidades de acerola madura e polpa congelada de mangaba. Populações de leveduras de umbu maduro e polpa congelada de umbu tiveram o mais baixo número de espécies.

Santos *et al.* (1996) determinaram as comunidades de leveduras associadas a algumas frutas típicas (cajá, caju, manga e umbu) economicamente importantes da região Nordeste do Brasil. As espécies de leveduras presentes nas flores, no campo, e nos frutos (verdes e maduros) foram dominadas pelas “leveduras pretas” e *Cryptococcus laurentii*. A espécie *Metschnikowia pulcherrima* foi frequentemente isolada de flores de caju e das abelhas associadas a este substrato. Uma espécie fenotipicamente semelhante à *Candida entomaea* predominou em frutos de cajá coletados no campo. Nos frutos maduros prevaleceram as espécies *Issatchenkia orientalis* e *Kloeckera javanica*. Frutos de caju dos mercados do Rio de Janeiro apresentaram comunidades de leveduras dominadas por *Kloeckera apiculata*. Mangas destes mesmos mercados mostraram predominância de *Candida krusei*, *Issatchenkia terrícola* e *Kloeckera apiculata* na superfície. A levedura que prevaleceu na casca e polpa desses frutos foi *Candida krusei*.

Em trabalho realizado por Hoffmann *et al.* (1997) foram isoladas e identificadas leveduras de polpas de frutas, sendo também determinada a resistência das mesmas aos conservantes sorbato de potássio, benzoato de sódio e metabissulfito de sódio. As leveduras isoladas pertenciam aos gêneros *Candida*, *Rhodotorula* e *Saccharomyces*. Dos conservantes testados, o benzoato de sódio foi

o mais eficiente, pois todas as leveduras foram inibidas por ele na concentração de 0,05%.

A conservação de alimentos sempre foi de grande importância na vida do homem desde que ele começou a viver em grupos e a estocar sua colheita. Compostos como sal, açúcar, ácidos e fumaça de madeira têm sido usados como conservadores de alimentos há séculos. Atualmente, a conservação de alimentos é feita principalmente com o uso de conservadores químicos, os quais atuam como agentes antimicrobianos, protegendo os alimentos contra contaminação por bolores, leveduras e bactérias (KIMBLE, 1977; LÜCK, 1977; MARSH, 1966; SIMÃO, 1989).

Com o início da industrialização, esta conservação se tornou mais importante e o homem passou a questionar a qualidade dos conservadores, uma vez que muitos deles alteravam significativamente as propriedades e estruturas dos alimentos. Desta forma, aumentaram-se os esforços para que estas substâncias, além de conservar os alimentos, protegessem suas propriedades nutricionais e sensoriais (LÜCK, 1977).

A presença de conservadores associada à aplicação de calor leva a uma diminuição dos valores de tempo e temperatura necessários para destruir os microrganismos, assim como é necessária uma menor concentração do aditivo quando os alimentos são armazenados em uma câmara frigorífica e não em temperatura ambiente (LÜCK, 1977).

Muitos conservantes são efetivos sob baixos pHs: ácido benzóico (pH < 4,0), ácido propiônico (pH < 5,0) e ácido sórbico (pH < 6,5), além de sulfetos (pH < 4,5). Os parabenzenos (ácidos-ésteres benzóicos) são mais efetivos em condições de pHs neutros. Os ácidos acético, benzóico, láctico e sórbico são fracos, comumente utilizados na conservação de alimentos. Essas moléculas inibem o desenvolvimento de bactérias e fungos. Utiliza-se, geralmente, uma concentração de aproximadamente 500 ppm de ácido benzóico para a conservação de bebidas com base de sucos de frutas (FORSYTHE, 2002).

Em solução, os ácidos fracos conservantes existem em um equilíbrio pH-dependente (medido pelo valor pK) entre os estados associados e dissociados. A atividade ótima de inibição ocorre em condições de pH baixo, pois isso favorece o estado associado e não carregado da molécula que é livremente permeável através da membrana plasmática (lipolítica) e, assim, é capaz de penetrar na célula. A molécula se dissociará após entrar na célula, resultando em liberação de prótons e ânions carregados que não são capazes de atravessar a membrana plasmática. Dessa forma, a molécula de conservante difunde-se na célula até que o equilíbrio seja atingido. Isso resulta em acúmulo de ânions e prótons no interior da célula (BOOTH; KROLL, 1989).

O ácido benzóico foi o primeiro conservador utilizado em alimentos nos Estados Unidos da América do Norte, sendo atualmente bastante intensa a sua utilização. Normalmente, é empregado na forma de sal sódico, devido à pequena solubilidade do ácido livre. Quando em solução, o sal se converte na forma ácida, que é a forma ativa (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Devido ao seu baixo custo, facilidade de incorporação nos produtos, ausência de cor e relativa baixa toxicidade, o ácido benzóico tornou-se um dos conservadores mais utilizados no mundo (CHIPLEY, 1993).

Os vários sais, assim como o dióxido de enxofre, quando dissolvidos em água, resultam em misturas de íons sulfito e bissulfito, sendo que a proporção relativa de cada forma é dependente do pH do meio. Desta maneira, a escolha da forma química para sulfitar alimentos é uma questão de conveniência, já que todas as formas são quimicamente equivalentes (ARAÚJO, 1988).

O mecanismo de inibição do sulfito a nível celular se explica por meio das reações:

- Redução de ligações bissulfídricas essenciais em enzimas;
- Formação de compostos de adição que interferem na cadeia respiratória, envolvendo o NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo);
- Reação com acetaldeído (ARAÚJO, 1988).

Todos os sais de enxofre parecem atuar de maneira análoga (FÚRIA, 1968). Inibem o desenvolvimento de fungos e bactérias, mas são seletivos, no sentido de que as leveduras são mais resistentes do que as bactérias lácticas e acéticas, bem como muito bolores (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Os sais tendem a decrescer no teor de SO₂ disponível durante o armazenamento, em consequência da oxidação. O SO₂ é muito utilizado para a conservação de polpas em geral a nível doméstico. Este aditivo pode ser empregado

com certas vantagens no caso da conservação de purês para a fabricação de doces, principalmente, pois sendo o componente ativo (SO_2) volátil, a grande maioria dele é eliminada por ocasião da concentração do produto. Mesmo assim parte dele permanece combinado a radicais de compostos da polpa, não sendo, portanto, eliminado. No entanto, o aquecimento excessivo visando eliminar o SO_2 acaba alterando as características de cor, aroma e sabor da polpa (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Esse tipo de conservação de polpa ou purê é muito mencionado na literatura internacional e bastante utilizado em diversos países da África, Ásia e América Central que estudam a conservação das polpas de goiaba, mamão e manga, principalmente (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Os mercados externos têm, atualmente, severas restrições com relação à utilização de SO_2 . Os países da Europa (a Alemanha, por exemplo) sempre tiveram restrições com relação a conservadores à base de enxofre para diversos produtos. Nos Estados Unidos, porém, seu emprego era permitido para frutas desidratadas (frutas-passa), bases para bebidas (limonadas e laranjadas), polpas e outros manufaturados (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

O uso do ácido sórbico como conservador de alimentos é bastante amplo em todo o mundo, devido ao fato de não interferir no sabor e ser fisiologicamente inócuo (LÜCK, 1977).

Assim como para os benzoatos, a atividade antimicrobiana dos sorbatos está relacionada com a molécula não dissociada, o que determina sua maior atividade em alimentos ácidos ou acidificados. O ácido sórbico apresenta maior atividade em pH < 6. Em pH entre 4 e 6 o ácido sórbico e seus sais são mais eficientes que os benzoatos (JAY, 1996 e 2001).

Os sorbatos são mais eficientes principalmente contra fungos e leveduras, embora atuem também contra uma variedade ampla de bactérias (JAY, 1996 e 2001).

A principal desvantagem dos sorbatos é o seu custo relativamente maior que o dos benzoatos e propionatos. Entretanto, em produtos de maior pH eles são geralmente utilizados em quantidades menores do que os benzoatos e propionatos de modo a obter o efeito desejado (ROBACH, 1980).

Organismos resistentes a conservantes incluem uma grande variedade de espécies de leveduras do gênero *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Issatchenkia*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* e *Zygosaccharomyces* (PITT; HOCKING, 1985).

Determinou-se o efeito de vários agentes antimicrobianos (conservantes e compostos naturais) sobre o desenvolvimento de *Aspergillus flavus* em meio formulado com valores de pH e atividade de água selecionados. Importantes diferenças foram observadas, sendo em geral, os antimicrobianos naturais menos dependentes do pH do que os conservantes. *Aspergillus flavus* exibiu sensibilidade

mais elevada a timol, eugenol, carvacrol, sorbato de potássio, bissulfito de sódio e benzoato de sódio em pH = 3,5 (LÓPEZ-MALO; ALZAMORA; PALOU, 2005).

Tchango Tchango *et al.* (1997) examinaram a resistência térmica de *Candida pelliculosa* e *Kloeckera apis*, duas leveduras deteriorantes isoladas de sucos de frutas pasteurizados e néctares. *C. pelliculosa* demonstrou ser mais resistente ao calor do que *K. apis*. Os tempos mínimos de pasteurização (para destruir quase todas as formas vegetativas) de 27,81; 20,25 e 16,83 minutos foram obtidos para *C. pelliculosa*, respectivamente, em suco de abacaxi, néctar de maracujá e de goiaba, considerando-se 70°C como temperatura de referência para pasteurização daquelas bebidas. Empregando-se 75°C como temperatura de referência, os tempos mínimos foram 13,5 minutos para suco de abacaxi e 9,27 minutos para néctar de maracujá. Os tempos de tratamento térmico necessários a 80 e 94°C para se obter o mesmo resultado foram, respectivamente, 9,39 e 3,40 minutos para suco de abacaxi; 8,69 e 3,44 minutos para néctar de goiaba e 5,94 e 1,91 minutos para néctar de maracujá.

Ethiraj e Suresh (1988) estudaram a distribuição microbiana associada durante o processamento de manga. A lavagem de frutas em água corrente reduziu a biota superficial consideravelmente. Devido ao baixo pH e ao alto teor de açúcar, produtos de manga são altamente susceptíveis a leveduras deteriorantes. Espécies de *Kloeckera* e *Hyphopichia* em frutas não lavadas e *Kloeckera* e *Pichia* em frutas lavadas foram predominantes. No entanto, polpas de ambas as frutas, lavadas e não lavadas, continham espécies de *Kloeckera*, *Hyphopichia* e *Candida* como as principais leveduras. Espécies de *Candida*, *Kloeckera* e *Kluyveromyces* foram predominantes na polpa de manga não tratada termicamente, enquanto a polpa

tratada termicamente não mostrou a presença de nenhuma levedura. Foi avaliado o efeito do benzoato de sódio, sorbato de potássio e metabissulfito de potássio sobre o desenvolvimento de algumas leveduras predominantes. Verificou-se que benzoato de sódio a 500 ppm inibiu todas as leveduras, exceto *Saccharomyces ludwigii*; enquanto sorbato de potássio e metabissulfito de potássio na mesma concentração inibiram todas as leveduras. O efeito do aquecimento sobre o desenvolvimento dessas leveduras indicou que nenhuma sobreviveu ao tratamento térmico a 60°C/20 min., exceto *Pichia membranaefaciens*.

Em trabalho desenvolvido por Beuchat (1981) foi determinada a porcentagem de redução de células viáveis resultante de tratamento térmico durante 20 minutos, obtendo-se os seguintes resultados:

Leveduras	Temperatura (°C)	Redução - (%)
<i>Debaryomyces hansenii</i>	48	98
<i>Hansenula anomala</i>	45	74
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	51	99
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	51	93
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	45	76
<i>Pichia membranaefaciens</i>	48	51
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	50	50
<i>Brettanomyces anomalus</i>	45	88
<i>Candida krusei</i>	53	76
<i>Kloeckera apiculata</i>	45	87
<i>Rhodotorula rubra</i>	51	96
<i>Torulopsis lactis-condensi</i>	45	99

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Obtenção das amostras

Foram analisadas 62 amostras de polpas congeladas de frutas, em embalagens de 100 g, dentro do prazo de validade, sendo 7 da marca A, 38 da B e 17 da C. As mesmas foram acondicionadas em caixas de material isotérmico (isopor) contendo cubos de gelo e transportadas de imediato ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos (HARRIGAN; MC CANCE, 1976; ICMSF, 1978).

5.2. Preparo das amostras

No Laboratório cada amostra recebeu um código de identificação, ou seja, PF_n onde PF = polpa de fruta e n = número da amostra. A seguir, assepticamente 10 g da mesma foram colocados em um frasco de Erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada estéril sendo homogeneizados posteriormente (diluição 10^{-1}). A partir desta foram realizadas as demais diluições decimais seriadas, até 10^{-5} utilizando-se o mesmo diluente. As cinco diluições obtidas, assim como a 10^0 , foram usadas, conforme necessárias, nas análises subseqüentes (ICMSF, 1974; ICMSF, 1980).

5.3. Enumeração de bolores e leveduras

Foi pipetado assepticamente 1 mL de cada diluição e distribuído em placas de Petri esterilizadas e identificadas. Foi adicionado a cada placa 15 mL de ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico a 10% (pH = 4,0), ambos esterilizados; após

solidificação foram incubadas em estufa a 25°C por 5 dias. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram calculadas de acordo com as diluições (ICMSF, 1978).

5.4. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais

Foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, empregando-se o caldo lauril sulfato triptose com incubação a 35°C durante 48 horas.

5.5. Determinação do NMP de coliformes termotolerantes

Foi também usada a técnica dos tubos múltiplos, utilizando-se o caldo EC com incubação a 44,5°C durante 24 horas (BRASIL, 1981 e 2003). A determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes foi realizada empregando-se a tabela de Hoskins (ICMSF, 1978).

5.6. Pesquisa de *Escherichia coli*

A partir dos tubos de ensaio contendo caldo EC, usados na quantificação de coliformes termotolerantes que apresentaram turvação, com ou sem gás no interior do tubo de Durham foram realizadas sementeiras por esgotamento na superfície de placas de Petri contendo ágar eosina azul de metileno e incubação a 35°C durante 48 horas. As colônias suspeitas foram identificadas utilizando-se os testes bioquímicos (IMVIC), isto é, de indol/vermelho de metila/Voges-Proskauer/citrato (MARTH, 1978; SPECK, 1976).

5.7. Pesquisa de *Salmonella* spp

Em 225 mL de caldo lactosado e de água peptonada a 1% foram homogeneizados, respectivamente 25 g de cada amostra. Depois da incubação a 35°C por 24 horas, 1 mL de cada cultivo foi transferido para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo tetracionato de Kauffmann e 10 mL de caldo selenito cistina que foram incubados a 35°C. Após 24, 48 e 120 horas foram feitas sementeiras, em superfície de placas de Petri contendo ágar *Salmonella Shigella* e ágar verde brilhante, as colônias suspeitas foram submetidas aos testes bioquímicos (principalmente inoculação em ágar tríplice açúcar e ferro, ágar lisina e ferro, teste de urease, degradação do malonato, desaminação da fenilalanina e descarboxilação da lisina) e sorológicos (BRASIL, 1981 e 2003).

5.8. Isolamento das culturas de leveduras

A partir do experimento realizado para enumeração de bolores e leveduras, foram isoladas após cinco dias de incubação a 25°C, 136 culturas de todos os tipos morfológicos existentes, sendo que colônias mais numerosas no ágar batata dextrose acidificado foram isoladas em maior proporção, visando conhecer aquelas predominantes. Em seguida, cada cultura pura recebeu um código de identificação, ou seja, PF_{n,n1} onde PF = polpa de fruta, n = número da amostra e n1 = número da levedura isolada desta amostra e foi estocada em tubos de ensaio de 12 x 100 mm contendo meio *Gymp* (glicose, extrato de levedura, extrato de malte, NaH₂PO₄ e ágar), para posterior identificação, sendo então coberta com óleo mineral para evitar ressecamento e mantida a 8 ± 2°C.

5.9. Provas taxonômicas

Nos testes taxonômicos (morfológicos e fisiológicos) foram empregados os métodos descritos por Kreeger Van Rij (1984) e Barnett, Payne e Yarrow (1983 e 1990).

A identificação das culturas realizou-se segundo as chaves descritas por Barnett, Payne e Yarrow (1990) e Kurtzman e Fell (1998).

5.10. Provas morfológicas

Para a verificação da produção de esporos foram utilizados o meio de cultura de Gorodkova (glicose, peptona, NaCl e ágar) e o ágar acetato de McClary (glicose, KCl, extrato de levedura, acetato de sódio e ágar). As placas de Petri foram mantidas à temperatura ambiente e as observações feitas periodicamente entre 7, 14 e 21 dias.

5.11. Provas fisiológicas

5.11.1. Capacidade fermentativa

Para verificar a capacidade fermentativa das culturas foi utilizado o meio básico para fermentação (peptona e extrato de levedura). O mesmo foi colocado em tubos de ensaio de 12 x 100 mm contendo tubo de Durham invertido. Os açúcares foram esterilizados separadamente do meio de cultura.

Inicialmente foi testada a capacidade fermentativa frente à glicose. As culturas que apresentaram resultado positivo foram então submetidas a três dissacarídeos: sacarose, maltose e lactose.

Os tubos de ensaio foram mantidos à temperatura ambiente sendo as leituras feitas periodicamente entre 7 e 21 dias. Considerou-se resultado positivo quando 1/3 a 3/3 do tubo de Durham estivesse preenchido com gás e negativo quando não houvesse tal produção (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

5.11.2. Desenvolvimento em diversas temperaturas

Foi analisada a capacidade de desenvolvimento a 35, 40 e 42°C, utilizando-se o meio básico para fermentação (peptona e extrato de levedura) acrescido de 2,0% de glicose. Para a temperatura de 35°C, os tubos de ensaio foram mantidos em estufa de incubação e para as demais foi utilizado o banho-maria. As leituras foram feitas através do Cartão de Whickerham (KREEGER VAN RIJ, 1984), após 48-72 horas de incubação. Foi considerado desenvolvimento positivo quando as linhas do cartão não foram visíveis e negativo quando estas foram visualizadas.

5.11.3. Desenvolvimento em meio de cultura contendo nitrato

Utilizou-se o *Yeast Carbon Base* (YCB-Difco) contendo 0,078% de KNO_3 como fonte de nitrogênio e 2,0% de ágar (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

5.11.4. Resistência à pressão osmótica

Neste teste, foram utilizadas duas substâncias distintas. O meio básico para ambas foi o ágar Sabouraud glicose. Para um dos testes, foi acrescentado 50% de glicose e para o outro 10% de NaCl (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

5.11.5. Desenvolvimento em meio de cultura contendo cicloheximida (actidione)

Para esta prova foi empregado o *Yeast Nitrogen Base* (YNB-Difco) acrescido de 1,0% de glicose, 2,0% de ágar e alíquotas de cicloheximida que variaram de acordo com a concentração desejada (100 ou 1000 partes por milhão-ppm), segundo metodologia descrita por Kreeger Van Rij (1984).

5.11.6. Síntese de amido

Para a verificação da produção de compostos amilóides foi utilizado o ágar Sabouraud glicose. Após o desenvolvimento das culturas, foi gotejada sobre as mesmas uma solução de lugol. O aparecimento de coloração azul escura indicou resultado positivo (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

5.11.7. Provas de assimilação de fontes de carbono

Foram usadas as seguintes substâncias: glicose, galactose, L-sorbose, maltose, sacarose, celobiose, trealose, lactose, melibiose, rafinose, melezitose, inulina, amido solúvel, D-xilose, L-arabinose, D-arabinose, D-ribose, L-ramnose, etanol, glicerol, eritritol, ribitol (adonitol), galactitol (dulcitol), D-manitol, D-glucitol (sorbitol), salicina, citrato, m-inositol e glicosamina. Todas as substâncias foram utilizadas na concentração de 0,5%, exceto a rafinose que foi a 1,0%, acrescidas ao *Yeast Nitrogen Base* (YNB-Difco) mais 2,0% de ágar (KREEGER VAN RIJ, 1984; BARNETT; PAYNE; YARROW, 1983 e 1990).

5.12. Ensaio de resistência aos principais conservantes alimentícios contidos na legislação vigente para produtos de frutas e frutos

Para esta prova foi utilizado o ágar Sabouraud glicose, pH = 3,0; onde foram acrescentados os conservantes alimentícios sorbato de potássio (código INS - 202) nas concentrações 0,025; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4%; benzoato de sódio (código INS - 211) nas de 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,3 e 0,4% e metabissulfito de sódio (código INS - 223) nas de 0,005; 0,01; 0,015; 0,02; 0,03; 0,04; 0,06; 0,075; 0,15 e 0,3%. Para verificar o desenvolvimento microbiano foi empregado como controle o mesmo meio de cultura, porém sem a adição de conservante.

Para esta avaliação o pH do meio foi ajustado para 3,0; porque neste valor se obtém uma ótima atividade antimicrobiana dos conservantes empregados. Foram também esterilizados separadamente, por autoclavagem ou filtração em membrana filtrante (0,45 μ m), o meio básico (sem o ágar), o ágar e os conservantes, para se

evitar, em primeiro lugar, a hidrólise do ágar durante o aquecimento, com a perda do poder de gelificação e ainda no que se refere aos conservantes utilizados eventuais perdas por hidrólise ou evaporação.

5.13. Prova de sensibilidade ao tratamento térmico (90°C/60 segundos)

Neste teste as respectivas culturas puras isoladas foram previamente inoculadas em tubos de ensaio contendo caldo nutriente e incubadas a 25°C por 24 horas. Depois desse período tais culturas foram submetidas à temperatura de 90°C por 60 segundos (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995). Após o tratamento térmico as leveduras foram então semeadas em placas de Petri contendo ágar nutriente e incubadas a 25°C. As leituras foram feitas após 5 dias.

5.14. Técnica de *replica-plate*

A técnica de *replica-plate* foi usada para as provas descritas nos itens 5.10., 5.11.3. a 5.11.7., 5.12 e 5.13.

Nos testes onde foi utilizado este método, como inóculo, culturas de 24-48 horas em meio *Gymp*, foram transferidas e pré-incubadas durante 3 a 5 dias à temperatura ambiente em *Yeast Nitrogen Base* (YNB-Difco) líquido contendo 0,1% de glicose, sendo agitadas periodicamente para o consumo do endógeno (nutriente). A partir daí, cada inóculo foi transferido assepticamente para um sistema *replica-plate multitiped*, que permite a inoculação de vinte e cinco colônias/placa de Petri (LEDERBERG; LEDERBERG, 1952; SHEREE LIN, FUNG; COX, 1987).

As placas de Petri foram incubadas em estufa a 25°C com leituras de 7, 14 e 21 dias de incubação.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Análises microbiológicas

Os resultados obtidos após a enumeração de bolores e leveduras, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, NMP de coliformes fecais (termotolerantes), pesquisa de *Escherichia coli* e de *Salmonella* spp das 62 amostras de polpas congeladas de frutas das marcas A, B e C estão demonstrados respectivamente nas TABELAS 1, 2 e 3.

As contagens de bolores e leveduras apresentaram valores compreendidos nos intervalos de: < 1 a $4,0 \times 10^0$ UFC/g (marca A), < 1 a $1,2 \times 10^5$ UFC/g (B) e < 1 a $4,2 \times 10^2$ UFC/g (C).

Em estudos realizados por outros pesquisadores foram encontrados para esses microrganismos intervalos de respectivamente < 10 a $1,2 \times 10^5$; < 10 a $4,4 \times 10^2$; < 10 a $1,5 \times 10^6$; $5,4 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^6$; < 10 a $3,0 \times 10^6$ e < 10 a $6,2 \times 10^4$ UFC/g (FEITOSA *et al.*, 1999a; HOFFMANN *et al.*, 1997; FEITOSA *et al.*, 1999b; NASCIMENTO *et al.*, 1999; LEITE *et al.*, 2000; LIMA; MARTINS; SILVA, 2001); os quais são superiores aos obtidos para as marcas A e C, no entanto inferiores, iguais ou superiores aos da marca B.

A legislação atual (BRASIL, 2001) não apresenta padrão para esses microrganismos, contudo Feitosa *et al.*, 1999a demonstraram que 24% das amostras por eles analisadas estavam em desacordo com o padrão de $5,0 \times 10^3$ UFC/g vigente na época da realização do estudo (BRASIL, 1998). Apenas 5 amostras pertencentes à marca B (13,1%) apresentaram valores superiores ao mencionado.

Nascimento *et al.* (1999) ao analisarem polpas de abacaxi e acerola constataram que 100% das de abacaxi e 20% das de acerola encontravam-se em desacordo com o padrão em vigor (BRASIL, 1987), cujo limite máximo permitido era de 10^3 UFC/g. Se considerarmos este padrão, estariam em desacordo com o mesmo 6 amostras da marca B (15,8%).

Feitosa *et al.* (1997) analisaram polpas de acerola, cajá e caju comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Os seus resultados para bolores e leveduras variaram de < 10 a $2,1 \times 10^4$ (polpa de acerola); < 10 a $4,1 \times 10^5$ (cajá) e < 10 a $8,1 \times 10^3$ UFC/g (caju); estando os valores obtidos neste trabalho, para estas polpas, compreendidos nestes intervalos.

A avaliação microbiológica de polpas congeladas de frutas (abacaxi, cajá, caju, goiaba, manga e maracujá) produzidas no estado da Bahia foi realizada por Leite *et al.* (2000). O valor máximo foi encontrado na polpa de abacaxi ($3,0 \times 10^6$ UFC/g); resultado este superior aos obtidos para as polpas de abacaxi das marcas A, B e C.

Bruno, Nassu e Morais (2004) encontraram valores maiores para bolores e leveduras no abacaxi após lavagem ($3,5 \times 10^6$ UFC/g) e no resíduo de caju - despoldadeira ($7,2 \times 10^5$ UFC/g).

Coliformes totais foram encontrados respectivamente em 0; 5,2 e 0% das polpas congeladas de frutas das marcas A, B (açai e milho verde) e C.

Hoffmann *et al.* (1997) e Feitosa *et al.* (1999a) obtiveram, para estes microrganismos, resultados semelhantes aos exibidos pelas marcas A e C.

Polpas avaliadas por Lima, Martins e Silva (2001) e Feitosa *et al.* (1999b) apresentaram coliformes totais em respectivamente 6,9 e 18,8% das amostras.

Considerando o percentual (5,2%) obtido neste estudo para as amostras da marca B verifica-se que o mesmo foi inferior.

Leite *et al.* (2000) analisaram polpas de cajá, caju, goiaba, manga e maracujá, as quais apresentaram respectivamente os valores máximos de: $2,4 \times 10^3$; $2,4 \times 10^3$; $1,1 \times 10^3$; $4,3 \times 10^1$ e $4,3 \times 10^1$ NMP/g; estando estes acima dos obtidos para as polpas da mesma fruta das marcas A, B e C.

Não foi constatada a presença de coliformes termotolerantes em 100% das amostras pertencentes às marcas A e C.

Em estudos similares, Hoffmann *et al.* (1997) e Santos *et al.* (2004) também não detectaram a presença destas bactérias.

Com relação à marca B, estes microrganismos foram encontrados em 2,6% das amostras; contudo Feitosa *et al.* (1999a); Feitosa *et al.* (1999b); Abreu, Nunes e Oliveira (2003) e Feitosa *et al.* (1997) obtiveram percentuais superiores; sendo os mesmos respectivamente de 3; 2,8; 15 e 8,11%.

Polpas de goiaba e maracujá analisadas por Leite *et al.* (2000) apresentaram estes microrganismos em respectivamente 60 e 20% das amostras; as mesmas polpas avaliadas neste trabalho não apresentaram tais bactérias.

Coliformes termotolerantes foram encontrados em polpas de abacaxi, goiaba e mamão analisadas por Lima, Martins e Silva (2001); estando os índices dentro do padrão (1 NMP/g) permitido (BRASIL,1999), assim como as polpas das marcas A e C. Porém, uma amostra referente à marca B apresentou resultado superior à 1 NMP/g.

A presença de *Escherichia coli* não foi detectada em 100% das polpas referentes às marcas A e C; o mesmo pode ser verificado por meio de avaliações realizadas por Hoffmann *et al.* (1997) e Santos *et al.* (2004).

Este microrganismo foi confirmado em 2,6% das amostras (marca B), as quais foram representadas apenas pela polpa de açaí. Em estudos realizados por Nascimento *et al.* (1999), foi constatada a presença deste microrganismo em 10% das de acerola; estando em desacordo com o padrão (1 NMP/g) federal (BRASIL, 1987) e sendo este valor superior ao apresentado por uma amostra da marca B.

No que se refere à *Salmonella* spp, 100% das amostras das marcas A, B e C não apresentaram esta bactéria; o mesmo pode ser constatado em trabalhos semelhantes desenvolvidos por Nascimento *et al.* (1999); Feitosa *et al.* (1999b), Bueno *et al.* (2002); Abreu, Nunes e Oliveira (2003) e Feitosa *et al.* (1997).

No entanto, Hoffmann *et al.* (1997) em estudo similar constataram que 10% das amostras (polpa de coco) apresentavam o patógeno, assim como a polpa de caju analisada por Moraes, Nassu e Bruno (2004).

TABELA 1. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca A).

Polpa de:	Bolores e leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais ¹ (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella</i> spp (-/+)
Abacaxi	4,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Acerola	1,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Goiaba	0,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Graviola	2,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Maracujá	< 1	< 3	< 3	-	-
Seriguela	1,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Umbu	0,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Varição	< 1 a 4,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Padrão Federal ² (BRASIL, 2001)			10 ²		ausência em 25 g

¹termotolerantes.

²Resolução RDC n. 12/2001.

TABELA 2. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca B).

Polpa de:	Bolores e leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais ¹ (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella</i> spp (-/+)
Abacate	2,7 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Abacaxi	1,2 x 10 ⁵	< 3	< 3	-	-
Abacaxi + Hortelã	1,1 x 10 ⁵	< 3	< 3	-	-
Abacaxi + Laranja	1,0 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Açaí	5,7 x 10 ³	3	3	+	-
Acerola	1,1 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Amora	2,3 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Banana	5,9 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Cacau	< 1	< 3	< 3	-	-
Cajá	1,0 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Caju	1,2 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Carambola	< 1	< 3	< 3	-	-
Clorofila*	6,4 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Coco	< 1	< 3	< 3	-	-
Cupuaçu	0,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Framboesa	9,5 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Frutas Vermelhas**					
Goiaba	5,3 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Graviola	0,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Kiwi	1,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Laranja	1,9 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Laranja + Acerola	7,2 x 10 ³	< 3	< 3	-	-
Limão	1,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Maçã	0,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Mamão	5,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Manga	4,5 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Maracujá	4,1 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Melancia	1,1 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Milho Verde	5,1 x 10 ⁴	460	< 3	-	-

continua

TABELA 2. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca B) (continuação).

Polpa de:	Bolores e leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais ¹ (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella</i> spp (-/+)
Morango	$1,3 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
Pêra	< 1	< 3	< 3	-	-
Pêssego	$8,0 \times 10^0$	< 3	< 3	-	-
Pitanga	$0,5 \times 10^0$	< 3	< 3	-	-
Tamarindo	< 1	< 3	< 3	-	-
Tangerina	$4,4 \times 10^3$	< 3	< 3	-	-
Umbu	$1,0 \times 10^0$	< 3	< 3	-	-
Uva	$1,9 \times 10^2$	< 3	< 3	-	-
Vitamina ^{***}	$2,7 \times 10^1$	< 3	< 3	-	-
Varição	< 1	< 3	< 3	-	-
	a	a	a	a	
	$1,2 \times 10^5$	460	3	+	
Padrão Federal ² (BRASIL, 2001)			10^2		ausência em 25 g

* Polpa mista de kiwi, abacaxi, maçã e folhas verdes.

** Polpa mista de morango, amora e framboesa.

*** Polpa mista de banana, morango, maçã e mamão.

¹termotolerantes.

²Resolução RDC n. 12/2001.

TABELA 3. Apresentação dos resultados das diferentes análises microbiológicas (marca C).

Polpa de:	Bolores e leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais ¹ (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (confirmativo)	<i>Salmonella</i> spp (-/+)
Abacaxi	8,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Açaí	4,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Acerola	2,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Cacau	1,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Caju	8,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Cupuaçu	0,5 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Goiaba	4,2 x 10 ²	< 3	< 3	-	-
Limão	< 1	< 3	< 3	-	-
Mamão	4,8 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Manga	7,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Maracujá	< 1	< 3	< 3	-	-
Melão	6,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Morango	4,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Seriguela	1,5 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Tamarindo	0,5 x 10 ¹	< 3	< 3	-	-
Umbu	1,0 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Uva	1,5 x 10 ⁰	< 3	< 3	-	-
Varição	< 1	< 3	< 3	-	-
	a				
	4,2 x 10 ²				
Padrão Federal ² (BRASIL, 2001)			10 ²		ausência em 25 g

¹termotolerantes.

²Resolução RDC n. 12/2001.

6.2. Isolamento das culturas de leveduras

As leveduras são frequentemente associadas com o processo fermentativo relacionado com a produção de pães e bebidas, principalmente a cerveja e os vinhos. Entretanto, este conceito é muito restrito, pois muitas espécies não são fermentadoras e é mais prudente considerá-las como fungos cujo estágio vegetativo se reproduz principalmente por brotamento ou fissão, resultando em desenvolvimento onde a fase unicelular pode ser predominante (KURTZMAN; FELL, 1998).

As leveduras não ocorrem ao acaso por meio da biosfera. Elas formam comunidades de espécies, as quais podem ser definidas pelo habitat, que é o verdadeiro local onde um grupo de leveduras vive e pelos nichos de suas espécies componentes (LACHANCE; STARMER, 1998).

Uma das fontes alimentares utilizadas pelos insetos são os frutos, inclusive aqueles que estão em processo de apodrecimento os quais, geralmente, são colonizados por leveduras apiculadas (gêneros *Kloeckera*, *Hanseniaspora* e *Saccharomycodes*), fermentadoras e com grandes restrições quanto às suas capacidades de assimilação de diferentes fontes de carbono. Tais espécies são extintas nos estágios seguintes de sucessão, conforme suas fontes de alimento se esgotam (e a presença de etanol aumenta) e a diversidade de espécies presente nos frutos aumenta quanto mais o fruto se deteriora (MORAIS *et al.*, 1995). Também, os produtos secundários dessa fermentação podem ser outra fonte de energia para as leveduras, que são “inoculadas” por vetores que acabam visitando os frutos em decomposição, como vespas, besouros e moscas (LACHANCE, 1995; MORAIS *et al.*, 1995).

Um total de 136 (100,00%) leveduras foi isolado de 55 amostras de polpas congeladas de frutas, apesar de terem sido analisadas 62 amostras, sendo 87 culturas isoladas das polpas da marca B e 49 da C. A distribuição das leveduras segundo a origem está exibida, respectivamente, nas TABELAS 4 e 5.

Todas as leveduras isoladas estão na TABELA 6. Nas TABELAS 7 e 8 são apresentadas as freqüências das leveduras isoladas, respectivamente, das marcas B e C.

6.2.1. Marca B

O maior número de leveduras foi isolado das polpas de amora (10) e melancia (10).

Com relação às leveduras isoladas das polpas de frutas da marca B, o gênero *Saccharomyces* foi o mais numeroso, compreendendo 28 culturas (32,18%) e representado apenas pela espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Tais leveduras foram isoladas das polpas congeladas de abacaxi + laranja, banana, caju, clorofila, goiaba, laranja, melancia, pêssigo, pitanga, tangerina e uva. Em trabalho similar realizado por Hoffmann *et al.* (1997) o gênero *Saccharomyces* predominou, representando 46,1% das culturas.

O gênero *Debaryomyces* foi o segundo mais numeroso, sendo representado por 20 leveduras (22,99%), das quais 19 (21,84%) pertencentes à espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi* e 1 (1,15%) à espécie *Debaryomyces vanriijiae* var. *vanriijiae*.

As culturas pertencentes à espécie *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi* foram isoladas das polpas congeladas de abacate, abacaxi + hortelã, açáí, banana, frutas

vermelhas, goiaba, laranja, melancia, milho verde, tangerina e uva. Aquela pertencente à espécie *Debaryomyces vanriijiae* var. *vanriijiae* foi isolada também de polpa congelada de frutas vermelhas.

Dekkera bruxellensis representou 14,94% das culturas isoladas das polpas da marca B, sendo este percentual superior ao obtido (7,33%) por Beckenkamp (1997).

Leveduras dos gêneros *Saccharomyces* e *Rhodotorula* foram isoladas das polpas de laranja. Sancho *et al.* (2000) detectaram os mesmos gêneros ao analisar concentrado de laranja.

6.2.2. Marca C

Polpa de melão apresentou o maior número de culturas isoladas (12).

Culturas isoladas das polpas de frutas da marca C apresentaram como gênero mais numeroso o *Saccharomyces*. Este totalizou 29 culturas (59,19%), sendo representado apenas pela espécie *Saccharomyces cerevisiae*. As leveduras foram originadas de polpas congeladas de abacaxi, caju, mamão, melão e uva. Valor inferior (24,7%) foi obtido por Deak e Beuchat (1993).

O gênero *Torulaspota* foi o segundo mais numeroso, compreendendo 11 culturas (22,45%) e representado apenas pela espécie *Torulaspota delbrueckii*. As leveduras foram isoladas das polpas congeladas de goiaba, manga e melão.

Cultura pertencente ao gênero *Saccharomyces* foi isolada de polpa de abacaxi. O mesmo foi constatado em trabalho realizado por Ivo (1982).

Rhodotorula foi um dos gêneros isolados de polpa de manga, sendo também encontrado no mesmo produto analisado por Santos *et al.* (1996).

Saccharomyces cerevisiae foi isolada das polpas de caju e uva das marcas B e C, assim como *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi* foi isolada das de goiaba das marcas em questão.

Após serem submetidas aos testes taxonômicos as leveduras foram divididas em 58 grupos (TABELA 9) de acordo com a discordância em alguns dos resultados em relação à descrição padrão.

Do total de leveduras isoladas verificou-se que 57 (41,90%) representadas por *Saccharomyces cerevisiae* estavam contidas nos grupos I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X; 24 (17,65%) por *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi* incluídas nos grupos XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI; 13 (9,55%) por *Dekkera bruxellensis* contidas nos grupos XXVII, XXVIII, XXIX, XXX, XXXI, XXXII; 13 (9,55%) por *Torulaspota delbrueckii* contidas nos grupos XXXIII, XXXIV; 6 (4,40%) por *Rhodotorula mucilaginosa* contidas nos grupos XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII; 4 (2,94%) por *Rhodotorula glutinis* contidas nos grupos XXXIX, XL, XLI; 4 (2,94%) por *Trichosporon beigelii* contidas nos grupos XLII, XLIII, XLIV, XLV; 2 (1,47%) por *Candida apis* contidas no grupo XLVI; 2 (1,47%) por *Sporidiobolus johnsonii* contidas no grupo XLVII; 2 (1,47%) por *Hanseniaspora vineae* contidas nos grupos XLVIII, XLIX; 1 (0,74%) por *Bullera variabilis* contida no grupo L; 1 (0,74%) por *Cryptococcus albidus* contida no grupo LI; 1 (0,74%) por *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii* contida no grupo LII; 1 (0,74%) por *Debaryomyces vanriijiae* var. *vanriijiae* contida no grupo LIII; 1 (0,74%) por *Pichia farinosa* contida no grupo LIV; 1 (0,74%) por *Rhodotorula minuta* contida no grupo LV; 1 (0,74%) por *Schizosaccharomyces pombe* contida no grupo LVI; 1 (0,74%) por *Sporobolomyces roseus* contida no grupo LVII e 1 (0,74%) por *Stephanoascus ciferrii* contida no grupo LVIII, como exibido na TABELA 9.

Pode-se constatar que tais leveduras apresentaram variações em seus resultados, em relação à descrição padrão, conforme demonstra a TABELA 10.

As leveduras do grupo I diferiram da descrição padrão, por não fermentar glicose e usar nitrato. O grupo II diferiu por não fermentar glicose, assimilar sorbose, inulina e nitrato. O III por não fermentar glicose, assimilar salicina, eritritol e nitrato. O IV por utilizar nitrato. O V diferiu do padrão por não fermentar glicose, assimilar inulina e nitrato. O VI por não fermentar glicose, usar salicina, lactose, galactitol e nitrato. O VII diferiu por não fermentar glicose, utilizar salicina, galactitol e nitrato. O VIII por não fermentar glicose, e por assimilar sorbose, glicosamina, lactose e nitrato. O IX por não fermentar glicose, assimilar galactitol e nitrato. O X por não fermentar glicose, utilizar eritritol e nitrato.

As culturas do grupo XI diferiram da descrição padrão por assimilar nitrato e se desenvolver a 40°C. O grupo XII diferiu por assimilar nitrato e m-inositol, se multiplicar a 40°C e não usar citrato. O XIII por não utilizar xilose, ribitol e citrato, usar nitrato e se desenvolver a 40°C. O XIV por utilizar m-inositol e nitrato e por se desenvolver a 40°C. O XV diferiu por usar nitrato, se multiplicar a 40°C e produzir pigmento ("pink" = rosa intenso). O XVI por não assimilar xilose, usar nitrato e se desenvolver a 40°C. O XVII por assimilar nitrato, se multiplicar a 40°C e por não se desenvolver em glicose 50%. O XVIII diferiu por não utilizar xilose, ribitol, manitol e etanol; por assimilar nitrato e se desenvolver a 40°C.

O grupo XIX diferiu por assimilar nitrato, não usar etanol e se desenvolver a 40°C. O XX por usar nitrato, não assimilar manitol e citrato e por se multiplicar a 40°C. O XXI por não usar ribitol, assimilar m-inositol e nitrato e se desenvolver a 40°C. O XXII diferiu da descrição padrão por assimilar m-inositol e se multiplicar a 40°C. O XXIII diferiu por não usar melezitose e citrato, utilizar m-inositol e nitrato e

por se desenvolver a 40°C. O XXIV por não assimilar xilose, melezitose, ribitol e glucitol, por usar nitrato e se multiplicar a 40°C. O XXV por não utilizar etanol, assimilar nitrato, se desenvolver a 40°C e produzir pigmento. O XXVI diferiu por não usar ribitol, utilizar nitrato e se multiplicar a 40°C.

As leveduras do grupo XXVII diferiram da descrição padrão por não fermentar sacarose, não se desenvolver em cicloheximida 100 ppm e se multiplicar em glicose 50%. O grupo XXVIII diferiu por não fermentar sacarose, não se desenvolver em cicloheximida 100 ppm, assimilar lactose e se multiplicar em glicose 50%. O XXIX por não fermentar sacarose, utilizar sorbose, não se multiplicar em cicloheximida 100 ppm e se desenvolver em glicose 50%. O XXX por não fermentar sacarose e não se multiplicar em cicloheximida 100 ppm. O XXXI por não fermentar sacarose, assimilar manitol, não se desenvolver em cicloheximida 100 ppm e se multiplicar em glicose 50%. O XXXII por não fermentar sacarose, utilizar citrato e não se desenvolver em cicloheximida 100 ppm.

As culturas do grupo XXXIII diferiram da descrição padrão por não fermentar glicose, usar nitrato e se desenvolver a 40°C. O XXXIV diferiu por não fermentar glicose, assimilar celobiose e nitrato e se multiplicar a 40°C.

Aquelas do grupo XXXV diferiram da descrição padrão por utilizar amido solúvel, se desenvolver a 40°C e apresentar esporos. O grupo XXXVI diferiu por não assimilar xilose, se multiplicar a 40°C e ser ascospóricos. O XXXVII por não utilizar trealose, se desenvolver a 40°C e apresentar esporos. O XXXVIII por não usar xilose e ribitol, assimilar amido solúvel, se multiplicar a 40°C e ser ascospóricos.

As leveduras do grupo XXXIX diferiram da descrição padrão por assimilar melibiose, não utilizar etanol, se desenvolver a 40°C, não produzir pigmento e ser

ascosporógenos. O grupo XL diferiu por não usar melibiose, se multiplicar a 40°C, não produzir pigmento e apresentar esporos. O grupo XLI por não utilizar melezitose, se desenvolver a 40°C, não produzir pigmento e ser ascosporógenos.

A cultura do grupo XLII diferiu da descrição padrão por não usar ribose, assimilar nitrato, não se multiplicar em cicloheximida 100 ppm e apresentar esporos. O grupo XLIII diferiu por utilizar inulina, galactitol e nitrato, não usar xilose, não se desenvolver em cicloheximida 100 ppm e ser ascosporógenos. O XLIV por assimilar nitrato, não utilizar ribose, xilose e etanol; não se multiplicar em cicloheximida 100 ppm e apresentar esporos. O XLV por não usar xilose e etanol, assimilar nitrato e galactitol e ser ascosporógenos.

As leveduras pertencentes ao grupo XLVI diferiram da descrição padrão por não utilizar manitol, se desenvolver a 40°C e não se multiplicar em glicose 50%. Aquelas do grupo XLVII diferiram por se multiplicar a 40°C, não produzir pigmento e apresentar esporos. A levedura do grupo XLVIII diferiu por não fermentar glicose, assimilar melibiose, galactitol e nitrato. Aquela do grupo XLIX diferiu por não fermentar glicose e utilizar nitrato.

O grupo L diferiu por usar nitrato, se desenvolver a 35 e 40°C, se multiplicar em glicose 50% e ser ascosporógenos. O LI diferiu por assimilar inulina, se multiplicar a 40°C e apresentar esporos. O LII por utilizar m-inositol e nitrato e por não usar etanol. O LIII por não assimilar eritritol, usar nitrato e se desenvolver a 40°C. O LIV por utilizarrabinose, m-inositol e nitrato e por não assimilar citrato. O LV diferiu por usar nitrato, se multiplicar a 40°C e ser ascosporógenos. O LVI por utilizar salicina e nitrato. O LVII por assimilar melibiose e se desenvolver a 35 e 40°C. O LVIII por não usar m-inositol e por utilizar nitrato.

Saccharomyces cerevisiae, a mais isolada neste estudo, caracterizada como um exemplo de levedura fortemente fermentativa, mas pouco freqüente como deteriorante. Em xaropes de glicose com pH neutro se desenvolve em Aa abaixo de 0,89 e o pH mínimo encontra-se na faixa de 1,6 a 2,0, dependendo do ácido presente. É pouco resistente aos conservantes, com tolerância máxima a 100 mg/kg de ácido benzóico em pH = 2,5 a 4,0 e 200 mg/kg de ácido sórbico em pH = 4,0. O valor D_{60} das células vegetativas é de 0,1 a 0,3 minutos, mas os ascósporos são muito mais resistentes, com $D_{60} = 17,5$ minutos. A redução da Aa também aumenta a resistência térmica, tendo sido observado que, em sucos de frutas com Aa = 0,99 (pH = 3,1), o valor D_{60} foi 0,3 a 2 minutos, mas com Aa = 0,93 esse valor aumentou para 5 minutos ou mais. É amplamente distribuída nos alimentos e eventualmente pode provocar a deterioração, já tendo sido implicada na perda de sucos de frutas, incluindo-se produtos tratados pelo calor (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Desenvolvimento em extrato de malte 5%: após 3 dias a 25°C as células apresentam-se esféricas, ovais ou alongadas e normalmente se apresentam isoladas ou formando pequenos grupos. Após 1 mês a 20°C forma-se sedimento.

Desenvolvimento sobre ágar malte 5%: depois de 1 mês a 20°C as colônias apresentam coloração creme clara. A superfície é lisa, normalmente plana e opaca.

As células vegetativas transformam-se em ascósporos esféricos ou elipsoidais. A formação dos mesmos, observada quase exclusivamente em ágar acetato, é normalmente inferior a 10%, exceto em linhagens muito férteis onde a esporulação varia de 40-95% em 6-10 dias a 20°C. Tem sido isolada de solo de vinha e de caverna, *Drosophila*, cerveja, vinho, cana-de-açúcar, destilaria, mosto de uva e etc. (KURTZMAN; FELL, 1998).

Valor D: tempo em minutos, a uma certa temperatura, necessário para destruir 90% dos organismos de uma população, ou para reduzir uma população a um décimo do número original.

Um grande número de investigações ecológicas e tecnológicas tem direcionado para a hipótese de que *S. cerevisiae* é a principal espécie responsável pela fermentação alcoólica de sucos de frutas (KURTZMAN; FELL, 1998).

Desde a descoberta de que algumas linhagens desta levedura são capazes de produzir uma toxina *killer* letal para outros membros da mesma espécie, muitos estudos têm sido realizados sobre o modo de ação e as propriedades físicas e químicas da toxina, assim como a biologia do plasmídeo *killer* (KURTZMAN; FELL, 1998).

Debaryomyces hansenii distingue-se da maioria das outras leveduras pela forma esférica das células, por utilizar uma grande variedade de compostos de carbono e, particularmente, por se desenvolver na presença de altas concentrações de NaCl (até 24%), o que a torna um freqüente deteriorador de salmouras utilizadas na produção de bacon, presuntos e outros alimentos, nos quais forma filmes superficiais. Pode sobreviver por 20 minutos a 55°C e 10 minutos a 60°C, mas não sobrevive por 20 minutos a 60°C ou 10 minutos a 62,5°C. Tem sido isolada de produtos cárneos curados e/ou fermentados, sucos de laranja, iogurtes, queijos, frutas, vinhos e cervejas (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Desenvolvimento em caldo extrato de malte - extrato de levedura (caldo YM): após 3 dias a 25°C as células são esféricas a ovais, apresentam-se isoladas, aos pares ou formando cadeias curtas (KURTZMAN; FELL, 1998).

Quando em ágar YM: após 1 mês a 17°C, a cultura inoculada apresenta-se branca-acinzentada a amarelada, brilhante ou opaca, lisa ou rugosa (KURTZMAN; FELL, 1998).

Os esporos são esféricos com uma parede coberta por *verrugas*. A presença de um grande número de esporos confere à cultura coloração marrom (KURTZMAN; FELL, 1998).

A variedade *fabryi* pode ser fisiologicamente distinguida da variedade *hansenii* apenas pela temperatura de desenvolvimento máximo. Para a variedade *fabryi* o valor é de 36-39°C, enquanto que para a *hansenii* é de 31-35°C (KURTZMAN; FELL, 1998).

Origem das linhagens pertencentes à variedade *hansenii*: queijo, salsicha, unha e mão infectadas, coalho (KURTZMAN; FELL, 1998).

Origem das linhagens pertencentes à variedade *fabryi*: unha infectada, lesão na pele, sake deteriorado, vinagre de arroz (KURTZMAN; FELL, 1998).

Rhodotorula glutinis e *Rhodotorula rubra* são espécies estreitamente relacionadas, que distinguem-se das demais leveduras pela formação de colônias pigmentadas de vermelho. Barnett, Payne e Yarrow (1983) reúne ambas as espécies em apenas uma, mantendo o nome *R. glutinis*. O pH mínimo é 2,2, são relativamente sensíveis à redução de Aa (não se desenvolvem abaixo de 0,92) e aos conservantes (não se desenvolvem em presença de 100 mg/kg ou menos). Por outro lado, dentre as leveduras imperfeitas são as mais resistentes ao calor, sobrevivendo por 10 minutos a 62,5°C. São amplamente distribuídas em frutas e vegetais, mas menos freqüentes como deteriorantes dos produtos processados, embora já tenham sido isoladas de molhos de maçã e morangos tratados termicamente (TANIWAKI; SILVA, 2001). *Rhodotorula glutinis* tem sido isolada de ar, polpa de madeira, água de cervejaria, folha, flor, água poluída, etc. (KURTZMAN; FELL, 1998).

Schizosaccharomyces pombe apresenta duas características que a diferencia da maioria das demais leveduras deteriorantes de alimentos. Em primeiro lugar, a reprodução vegetativa não se dá por brotamento, mas sim por fissão lateral, e em segundo, se desenvolve melhor e mais rapidamente a 37 do que a 25°C, o que a torna um deteriorante potencial em países tropicais. É xerofílica, resistente aos conservantes e apresenta resistência térmica dependente da Aa e do soluto presente, sendo maior na presença de sacarose ($Aa = 0,95/D_{65} = 1,48$ minutos) do que na presença de glicose ($Aa = 0,95/D_{65} = 0,41$ minutos), frutose ($Aa = 0,95/D_{65} = 0,27$ minutos) ou glicerol ($Aa = 0,95/D_{65} = 0,21$ minutos). É relativamente incomum como deteriorante, tendo sido isolada de xarope de açúcar e licor de framboesa conservados com dióxido de enxofre (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Algumas fontes incluem melaço de cana-de-açúcar e maçã (KURTZMAN; FELL, 1998).

As demais culturas isoladas e identificadas estão relacionadas geralmente às seguintes origens (KURTZMAN; FELL, 1998):

- *Dekkera bruxellensis*: cerveja, mosto de uva e vinho.
- *Torulaspota delbrueckii*: salsicha fermentada, planta de processamento de alimentos, vinho, cerveja, suco de uva, excremento de inseto, carvalho e árvore apodrecida.
- *Rhodotorula minuta*: ar, água, plantas e animais terrestres ou marinhos e pickles.
- *Rhodotorula mucilaginosa*: pimenta vermelha em pó, larva de *Drosophila*, ar e cerveja pasteurizada.
- *Trichosporon beigeli*: cabelo e lesão de pele.
- *Hanseniaspora vineae*: solo e também solo de vinha.

- *Sporidiolobus johnsonii*: folhas.
- *Candida apis*: abelhas.
- *Cryptococcus albidus*: ar, abelha, pacientes com várias doenças, unha, pele, vinho, folha, solo, queijo azul, esterco de cabra e tanque de purificação para água poluída.
- *Stephanoascus ciferrii*: bovino, estaca de cerca, suíno e solo.
- *Pichia farinosa*: cacau fermentado, arroz estocado e farinha de trigo.
- *Debaryomyces vanriijae* var. *vanriijae*: solo e formigueiro.
- *Bullera variabilis*: folha seca de arroz e base seca de bambu.
- *Sporobolomyces roseus*: grama, batata estragada, solo, ar e polpa de madeira.

TABELA 4. Distribuição das leveduras segundo a origem (marca B).

Polpa de:	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n = 87)
Abacate	PF40 ₁	01	1,15%
Abacaxi	PF43 ₁	01	1,15%
Abacaxi + Hortelã	PF34 ₁ ; PF34 ₃ ; PF34 ₄	03	3,45%
Abacaxi + Laranja	PF41 ₂ ; PF41 ₃	02	2,30%
Açaí	PF30 ₁ ; PF30 ₄	02	2,30%
Acerola	PF44 ₁	01	1,15%
Amora	PF25 ₁ ; PF25 ₂ ; PF25 ₃ ; PF25 ₄ ; PF25 ₅ ; PF25 ₆ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF25 ₁₂	10	11,49%
Banana	PF31 ₁ ; PF31 ₂ ; PF31 ₃ ; PF31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF31 ₁₀	07	8,04%
Caju	PF46 ₁ ; PF46 ₃	02	2,30%
Clorofila*	PF49 ₁ ; PF49 ₂ ; PF49 ₃	03	3,45%
Framboesa	PF28 ₁ ; PF28 ₂	02	2,30%
Frutas Vermelhas**	PF38 ₁ ; PF38 ₂	02	2,30%
Goiaba	PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₅ ; PF48 ₆ ; PF48 ₇	07	8,04%

(continua)

TABELA 4. Distribuição das leveduras segundo a origem (marca B) (continuação).

Polpa de:	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n = 87)
Laranja	PF56 ₁ ; PF56 ₂ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₆ ; PF56 ₇ ; PF56 ₈ ; PF56 ₉ ; PF56 ₁₀	09	10,35%
Laranja + Acerola	PF42 ₃	01	1,15%
Melancia	PF39 ₁ ; PF39 ₂ ; PF39 ₃ ; PF39 ₄ ; PF39 ₅ ; PF39 ₆ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF39 ₁₁	10	11,49%
Milho Verde	PF60 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	03	3,45%
Morango	PF58 ₁ ; PF58 ₂ ; PF58 ₃	03	3,45%
Pêssego	PF27 ₁ ; PF27 ₂ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅	05	5,75%
Pitanga	PF57 ₁	01	1,15%
Tangerina	PF54 ₁ ; PF54 ₂ ; PF54 ₃ ; PF54 ₄ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈	07	8,04%
Uva	PF37 ₁ ; PF37 ₂ ; PF37 ₃ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅	05	5,75%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada. * Polpa mista de kiwi, abacaxi, maçã e folhas verdes.
** Polpa mista de morango, amora e framboesa.

TABELA 5. Distribuição das leveduras segundo a origem (marca C).

Polpa de:	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n = 49)
Abacaxi	PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₃ ; PF17 ₉	04	8,16%
Cacau	PF2 ₂	01	2,04%
Caju	PF4 ₁ ; PF4 ₂ ; PF4 ₃ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF4 ₁₁ ; PF4 ₁₂	10	20,41%
Goiaba	PF11 ₁ ; PF11 ₂ ; PF11 ₃ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF11 ₇	07	14,29%
Mamão	PF16 ₁ ; PF16 ₂ ; PF16 ₃ ; PF16 ₄ ; PF16 ₅ ; PF16 ₆	06	12,25%
Manga	PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉	06	12,25%
Melão	PF3 ₁ ; PF3 ₂ ; PF3 ₃ ; PF3 ₄ ; PF3 ₅ ; PF3 ₆ ; PF3 ₇ ; PF3 ₈ ; PF3 ₉ ; PF3 ₁₀ ; PF3 ₁₁ ; PF3 ₁₂	12	24,48%
Morango	PF14 ₁	01	2,04%
Uva	PF10 ₁ ; PF10 ₃	02	4,08%

Legenda: PF_n,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

TABELA 6. Frequência relativa das leveduras isoladas.

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₁ ; PF3 ₂ ; PF3 ₃ ; PF3 ₄ ; PF3 ₅ ; PF3 ₆ ; PF3 ₇ ; PF3 ₉ ; PF3 ₁₀ ; PF3 ₁₁ ; PF3 ₁₂ ; PF4 ₁ ; PF4 ₂ ; PF4 ₃ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF4 ₁₁ ; PF4 ₁₂ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF16 ₁ ; PF16 ₂ ; PF16 ₃ ; PF16 ₄ ; PF16 ₅ ; PF17 ₃ ; PF27 ₃ ; PF27 ₅ ; PF31 ₂ ; PF37 ₃ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₆ ; PF39 ₁₁ ; PF41 ₁ ; PF41 ₃ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₆ ; PF49 ₂ ; PF49 ₃ ; PF54 ₁ ; PF54 ₂ ; PF54 ₃ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₇ ; PF56 ₁₀ ; PF57 ₁	57	41,90%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF11 ₂ ; PF14 ₁ ; PF16 ₆ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉ ; PF30 ₄ ; PF31 ₆ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₂ ; PF39 ₃ ; PF39 ₄ ; PF39 ₉ ; PF40 ₁ ; PF48 ₅ ; PF54 ₄ ; PF56 ₁ ; PF56 ₆ ; PF56 ₈ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	24	17,65%
<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF25 ₂ ; PF25 ₃ ; PF25 ₄ ; PF25 ₆ ; PF25 ₁₂ ; PF27 ₁ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF31 ₁₀ ; PF34 ₃ ; PF48 ₇ ; PF49 ₁ ; PF58 ₃	13	9,55%
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	PF3 ₈ ; PF11 ₁ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF11 ₇ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF31 ₁ ; PF60 ₁	13	9,55%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF11 ₃ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₂ ; PF27 ₄ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁	06	4,40%
<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF12 ₁ ; PF25 ₇ ; PF39 ₇ ; PF56 ₂	04	2,94%
<i>Trichosporon beigelli</i>	PF31 ₃ ; PF31 ₇ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄	04	2,94%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 6. Frequência relativa das leveduras isoladas (continuação).

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
<i>Hanseniaspora vineae</i>	PF25 ₁ ; PF25 ₅	02	1,47%
<i>Sporidiobolus johnsonii</i>	PF44 ₁ ; PF54 ₈	02	1,47%
<i>Candida apis</i>	PF58 ₁ ; PF58 ₂	02	1,47%
<i>Cryptococcus albidus</i>	PF2 ₂	01	0,74%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>hansenii</i>	PF17 ₁	01	0,74%
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	PF25 ₈	01	0,74%
<i>Rhodotorula minuta</i>	PF30 ₁	01	0,74%
<i>Pichia farinosa</i>	PF31 ₄	01	0,74%
<i>Debaryomyces vanriijae</i> var. <i>vanriijae</i>	PF38 ₂	01	0,74%
<i>Bullera variabilis</i>	PF39 ₁₀	01	0,74%
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	PF46 ₁	01	0,74%
<i>Sporobolomyces roseus</i>	PF56 ₉	01	0,74%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

TABELA 7. Frequência relativa das leveduras isoladas (marca B).

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=87)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF27 ₃ ; PF27 ₅ ; PF31 ₂ ; PF37 ₃ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₆ ; PF39 ₁₁ ; PF41 ₁ ; PF41 ₃ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₆ ; PF49 ₂ ; PF49 ₃ ; PF54 ₁ ; PF54 ₂ ; PF54 ₃ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₇ ; PF56 ₁₀ ; PF57 ₁	28	32,18%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF30 ₄ ; PF31 ₆ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₂ ; PF39 ₃ ; PF39 ₄ ; PF39 ₉ ; PF40 ₁ ; PF48 ₅ ; PF54 ₄ ; PF56 ₁ ; PF56 ₆ ; PF56 ₈ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	19	21,84%
<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF25 ₂ ; PF25 ₃ ; PF25 ₄ ; PF25 ₆ ; PF25 ₁₂ ; PF27 ₁ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF31 ₁₀ ; PF34 ₃ ; PF48 ₇ ; PF49 ₁ ; PF58 ₃	13	14,94%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF25 ₁₀ ; PF27 ₂ ; PF27 ₄ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁	05	5,75%
<i>Trichosporon beigellii</i>	PF31 ₃ ; PF31 ₇ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄	04	4,59%
<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF25 ₇ ; PF39 ₇ ; PF56 ₂	03	3,45%
<i>Candida apis</i>	PF58 ₁ ; PF58 ₂	02	2,30%
<i>Hanseniaspora vineae</i>	PF25 ₁ ; PF25 ₅	02	2,30%
<i>Sporidiobolus johnsonii</i>	PF44 ₁ ; PF54 ₈	02	2,30%

Legenda: PF_N,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 7. Frequência relativa das leveduras isoladas (marca B) (continuação).

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=87)
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	PF31 ₁ ; PF60 ₁	02	2,30%
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	PF25 ₈	01	1,15%
<i>Rhodotorula minuta</i>	PF30 ₁	01	1,15%
<i>Pichia farinosa</i>	PF31 ₄	01	1,15%
<i>Debaryomyces vanrijiae</i> var. <i>vanrijiae</i>	PF38 ₂	01	1,15%
<i>Bullera variabilis</i>	PF39 ₁₀	01	1,15%
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	PF46 ₁	01	1,15%
<i>Sporobolomyces roseus</i>	PF56 ₉	01	1,15%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

TABELA 8. Frequência relativa das leveduras isoladas (marca C).

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=49)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₁ ; PF3 ₂ ; PF3 ₃ ; PF3 ₄ ; PF3 ₅ ; PF3 ₆ ; PF3 ₇ ; PF3 ₈ ; PF3 ₉ ; PF3 ₁₀ ; PF3 ₁₁ ; PF3 ₁₂ ; PF4 ₁ ; PF4 ₂ ; PF4 ₃ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF4 ₁₁ ; PF4 ₁₂ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF16 ₁ ; PF16 ₂ ; PF16 ₃ ; PF16 ₄ ; PF16 ₅ ; PF17 ₃	29	59,19%
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	PF3 ₈ ; PF11 ₁ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF11 ₇ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉	11	22,45%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF11 ₂ ; PF14 ₁ ; PF16 ₆ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉	05	10,20%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF11 ₃	01	2,04%
<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF12 ₁	01	2,04%
<i>Cryptococcus albidus</i>	PF2 ₂	01	2,04%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>hansenii</i>	PF17 ₁	01	2,04%

Legenda: PFN,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

TABELA 9. Frequência relativa dos cinquenta e oito grupos de leveduras isolados.

Grupos	Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
I	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₂ ; PF3 ₃ ; PF3 ₄ ; PF3 ₅ ; PF3 ₆ ; PF3 ₉ ; PF3 ₁₀ ; PF3 ₁₁ ; PF3 ₁₂ ; PF4 ₁ ; PF4 ₂ ; PF4 ₃ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF4 ₁₁ ; PF4 ₁₂ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF16 ₁ ; PF16 ₂ ; PF16 ₃ ; PF16 ₄ ; PF16 ₅ ; PF17 ₃ ; PF27 ₃ ; PF27 ₅ ; PF39 ₅ ; PF39 ₁₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₆ ; PF49 ₃ ; PF54 ₁ ; PF54 ₂ ; PF54 ₅ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₇ ; PF56 ₁₀ ; PF57 ₁	44	32,35%
II	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF49 ₂	03	2,21%
III	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₁ ; PF39 ₁	02	1,47%
IV	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₇ ; PF39 ₆	02	1,47%
V	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF31 ₂	01	0,74%
VI	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF37 ₃	01	0,74%
VII	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF46 ₃	01	0,74%
VIII	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF48 ₁	01	0,74%

Legenda: PFN,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 9. Frequência relativa dos cinquenta e oito grupos de leveduras isolados (continuação).

Grupos	Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
IX	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF54 ₃	01	0,74%
X	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF54 ₇	01	0,74%
XI	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF39 ₂ ; PF39 ₄ ; PF60 ₃	05	3,68%
XII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF37 ₁ ; PF37 ₅	02	1,47%
XIII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF38 ₁ ; PF48 ₅	02	1,47%
XIV	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF39 ₃ ; PF40 ₁	02	1,47%
XV	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF56 ₁ ; PF56 ₈	02	1,47%
XVI	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF11 ₂	01	0,74%
XVII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF14 ₁	01	0,74%
XVIII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF16 ₆	01	0,74%
XIX	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF17 ₂	01	0,74%
XX	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF17 ₉	01	0,74%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 9. Frequência relativa dos cinquenta e oito grupos de leveduras isolados (continuação).

Grupos	Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
XXI	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF30 ₄	01	0,74%
XXII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF31 ₆	01	0,74%
XXIII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF39 ₉	01	0,74%
XXIV	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF54 ₄	01	0,74%
XXV	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF56 ₆	01	0,74%
XXVI	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF60 ₂	01	0,74%
XXVII	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF25 ₂ ; PF25 ₃ ; PF25 ₄ ; PF25 ₆ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF34 ₃ ; PF48 ₇	08	5,88%
XXVIII	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF25 ₁₂	01	0,74%
XXIX	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF27 ₁	01	0,74%
XXX	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF31 ₁₀	01	0,74%
XXXI	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF49 ₁	01	0,74%
XXXII	<i>Dekkera bruxellensis</i>	PF58 ₃	01	0,74%

Legenda: PFN_n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 9. Frequência relativa dos cinquenta e oito grupos de leveduras isolados (continuação).

Grupos	Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
XXXIII	<i>Torulaspota delbrueckii</i>	PF3 ₈ ; PF11 ₁ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF11 ₇ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF31 ₁	12	8,83%
XXXIV	<i>Torulaspota delbrueckii</i>	PF60 ₁	01	0,74%
XXXV	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF27 ₂ ; PF27 ₄ ; PF43 ₁	03	2,21%
XXXVI	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF11 ₃	01	0,74%
XXXVII	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF25 ₁₀	01	0,74%
XXXVIII	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF42 ₃	01	0,74%
XXXIX	<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF39 ₇ ; PF56 ₂	02	1,47%
XL	<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF12 ₁	01	0,74%
XLI	<i>Rhodotorula glutinis</i>	PF25 ₇	01	0,74%
XLII	<i>Trichosporon beigellii</i>	PF31 ₃	01	0,74%
XLIII	<i>Trichosporon beigellii</i>	PF31 ₇	01	0,74%
XLIV	<i>Trichosporon beigellii</i>	PF37 ₂	01	0,74%

Legenda: PF_n,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 9. Frequência relativa dos cinquenta e oito grupos de leveduras isolados (continuação).

Grupos	Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=136)
XLV	<i>Trichosporon beigellii</i>	PF37 ₄	01	0,74%
XLVI	<i>Candida apis</i>	PF58 ₁ ; PF58 ₂	02	1,47%
XLVII	<i>Sporidiobolus johnsonii</i>	PF44 ₁ ; PF54 ₈	02	1,47%
XLVIII	<i>Hanseniaspora vineae</i>	PF25 ₁	01	0,74%
XLIX	<i>Hanseniaspora vineae</i>	PF25 ₅	01	0,74%
L	<i>Bullera variabilis</i>	PF39 ₁₀	01	0,74%
LI	<i>Cryptococcus albidus</i>	PF2 ₂	01	0,74%
LII	<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>hansenii</i>	PF17 ₁	01	0,74%
LIII	<i>Debaryomyces vanriijiae</i> var. <i>vanriijiae</i>	PF38 ₂	01	0,74%
LIV	<i>Pichia farinosa</i>	PF31 ₄	01	0,74%
LV	<i>Rhodotorula minuta</i>	PF30 ₁	01	0,74%
LVI	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	PF46 ₁	01	0,74%
LVII	<i>Sporobolomyces roseus</i>	PF56 ₉	01	0,74%
LVIII	<i>Stephanocascus ciferrii</i>	PF25 ₈	01	0,74%

Legenda: PFN,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF2 ₂	PF3 ₁	PF3 ₂	PF3 ₃	PF3 ₄	PF3 ₅	PF3 ₆	PF3 ₇
Pigmento	R	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	+
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	+
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	+
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	+	+	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	+	+	-	-	-	+
Inulina	+	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	+	-	-	-	-	+	+	-
D-xilose	+	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	+	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	+	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	-	-	-	-	-	-	-
L-ramnose	+	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	-	-	-	+	-	+	-
Glicerol	+	-	-	-	-	-	-	-
Eritritol	+	+	-	-	-	-	-	-
Ribitol	+	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	+	-	-	-	-	-	-	-
D-manitol	+	-	-	+	-	-	-	-
D-glucitol	+	-	-	-	-	-	-	-
Salicina	+	+	-	-	-	-	-	-
Citrato	+	-	-	-	-	-	-	-
m-inositol	+	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	+	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	-	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

* C = creme; * P = "pink"; * B = branca; * R = rosa; F.= fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF3 ₈	PF3 ₉	PF3 ₁₀	PF3 ₁₁	PF3 ₁₂	PF4 ₁	PF4 ₂	PF4 ₃
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celbiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	+	-	+	-	-	-	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	+	-	+	-	-	-	+
Inulina	+	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	-	+	-	+	+	+	+
Glicerol	+	-	-	-	-	-	-	-
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	-	-	-	-	-	-	-	-
D-manitol	+	-	-	-	-	-	-	-
D-glucitol	+	-	-	-	-	-	-	-
Salicina	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F.= fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF4 ₄	PF4 ₅	PF4 ₆	PF4 ₇	PF4 ₁₀	PF4 ₁₁	PF4 ₁₂	PF10 ₁
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicerol	-	-	-	-	-	-	-	-
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	-	-	-	-	-	-	-	-
D-manitol	-	-	-	-	-	-	-	+
D-glucitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicina	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	-	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF10 ₃	PF11 ₁	PF11 ₂	PF11 ₃	PF11 ₄	PF11 ₅	PF11 ₆	PF11 ₇
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	-	+	+	-	-	-	-
L-sorbose	-	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	-	+	+	+	-	-	-
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	+	+	-	-	-	-
Inulina	-	+	+	-	+	+	+	+
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	+	+	-	-	-	-
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	+	+	-	+	+	+	+
Glicerol	-	+	+	+	+	+	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	-	-	+	+	-	-	-	-
Galactitol	-	-	-	-	-	-	-	-
D-manitol	-	+	+	+	+	+	+	+
D-glucitol	-	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrato	-	-	+	+	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF12 ₁	PF12 ₃	PF12 ₄	PF12 ₆	PF12 ₈	PF12 ₉	PF14 ₁	PF16 ₁
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	-	-	-	-	-	+	+
L-sorbose	-	+	+	+	+	+	+	-
Maltose	+	-	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	-	+	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	+	-
Melibiose	+	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	-	-	-	-	-	+	-
Inulina	+	+	+	+	+	+	+	-
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	+	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	+	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	-	-	-	-	-	+	-
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	+	-
Etanol	+	+	+	+	+	+	+	-
Glicerol	+	-	+	-	-	-	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	+	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	+	-
Galactitol	+	-	-	-	-	-	+	-
D-manitol	+	+	+	+	+	+	+	-
D-glucitol	-	+	+	+	+	+	+	-
Salicina	+	-	-	-	-	-	+	-
Citrato	+	-	-	-	-	-	+	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	+	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	-	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	+	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF16 ₂	PF16 ₃	PF16 ₄	PF16 ₅	PF16 ₆	PF17 ₁	PF17 ₂	PF17 ₃
Pigmento	B	B	B	B	C	C	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	+	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	+	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	+	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	+	-	-
Melibiose	-	-	-	-	+	+	+	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	-	-	+	+	+	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	-	-	-	-	-	+	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	+	+	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	+	+	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	+	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	+	+	-
L-ramnose	-	-	-	-	+	+	-	-
Etanol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicerol	+	+	-	+	+	+	+	-
Eritritol	-	-	-	-	+	+	-	-
Ribitol	-	-	-	-	-	+	+	-
Galactitol	-	-	-	-	+	+	-	-
D-manitol	-	-	-	-	-	+	+	-
D-glucitol	-	-	-	-	+	+	+	-
Salicina	-	-	-	-	+	+	-	-
Citrato	-	-	-	-	+	+	+	-
m-inositol	-	-	-	-	-	+	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	+	+	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35 °C	+	+	+	+	+	-	+	+
40 °C	+	+	+	+	+	-	+	+
42 °C	+	+	+	+	+	-	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF17 ₉	PF25 ₁	PF25 ₂	PF25 ₃	PF25 ₄	PF25 ₅	PF25 ₆	PF25 ₇
Pigmento	B	C	C	C	C	C	C	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	+	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	+	-	-	-	-	-	-	+
Maltose	+	-	-	-	-	-	-	+
Sacarose	+	-	-	+	+	-	-	+
Celobiose	+	+	+	+	+	+	+	-
Trealose	+	-	-	-	-	-	-	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	+	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	-	-	-	-	-	-	+
Melezitose	+	-	-	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	+
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	+	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	+	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	-	-	-	-	-	-	-
L-ramnose	+	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	-	-	-	-	-	-	+
Glicerol	+	-	-	-	-	-	-	+
Eritritol	+	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	+	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	+	+	-	-	-	-	-	-
D-manitol	-	-	-	-	-	-	-	+
D-glucitol	+	-	-	-	-	-	-	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	+	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	-	+	-	+	-	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35 °C	+	-	+	+	+	+	+	+
40 °C	+	-	+	+	+	-	+	+
42 °C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF25 ₈	PF25 ₁₀	PF25 ₁₂	PF27 ₁	PF27 ₂	PF27 ₃	PF27 ₄	PF27 ₅
Pigmento	B	B	B	C	P	B	P	C
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	+	-	+	+	-	+	-
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	-	+	-	+	-	+	-
Trealose	+	-	-	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	+	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	-	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	-	+	+	-	+	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	+	-	-	-	+	-	+	-
D-xilose	+	+	-	-	+	-	+	-
L-arabinose	+	-	-	-	+	-	+	-
D-arabinose	+	-	-	-	+	-	+	-
D-ribose	+	-	-	+	+	-	+	-
L-ramnose	+	-	-	-	-	-	+	-
Etanol	+	+	-	-	-	-	-	-
Glicerol	+	-	-	+	+	+	+	-
Eritritol	+	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	+	+	-	-	+	-	+	-
Galactitol	+	+	-	-	+	-	+	-
D-manitol	+	+	-	-	+	+	+	+
D-glucitol	+	+	-	-	+	-	+	-
Salicina	+	+	+	-	+	-	+	-
Citrato	+	-	-	-	+	-	+	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	+	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	+	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	-	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF28 ₁	PF28 ₂	PF30 ₁	PF30 ₄	PF31 ₁	PF31 ₂	PF31 ₃	PF31 ₄
Pigmento	C	C	P	B	B	C	B	C
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	+
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	-	-	+	+	+	-	+	+
L-sorbose	-	-	-	+	-	-	+	+
Maltose	+	+	-	+	+	-	+	-
Sacarose	-	-	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	+	+	-	-	-	-	-
Trealose	-	-	+	+	+	+	-	+
Lactose	-	-	+	+	-	-	+	+
Melibiose	-	-	-	+	-	-	-	-
Rafinose	-	-	-	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	+	+	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	+	+	+	-	-
Amido sol.	-	-	-	+	-	-	+	-
D-xilose	-	-	+	+	-	-	+	+
L-arabinose	-	-	+	-	-	-	+	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	+	-	-	-	+
L-ramnose	-	-	-	+	-	-	-	-
Etanol	-	-	-	+	+	+	+	+
Glicerol	+	-	+	+	+	-	+	+
Eritritol	-	-	-	+	-	-	-	+
Ribitol	-	-	-	-	+	-	-	+
Galactitol	-	-	-	+	-	-	-	-
D-manitol	-	-	-	+	-	+	-	+
D-glucitol	-	-	-	+	-	+	-	+
Salicina	+	+	+	+	-	-	-	-
Citrato	-	-	-	+	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	+	-	-	+	+
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	-	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	-	-	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	-	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF31 ₆	PF31 ₇	PF31 ₁₀	PF34 ₁	PF34 ₃	PF34 ₄	PF37 ₁	PF37 ₂
Pigmento	B	B	B	B	C	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	+	-	-	-	-	-	+	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	-	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	-	+	+	+
L-sorbose	+	+	-	+	-	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	-	+	+	+
Sacarose	+	+	-	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	+	+	+	+	-
Trealose	+	-	-	+	-	+	+	-
Lactose	-	+	-	+	-	+	+	+
Melibiose	+	+	-	+	-	+	+	+
Rafinose	+	+	-	+	-	+	+	+
Melezitose	+	+	-	+	-	+	+	-
Inulina	+	+	-	+	-	+	+	-
Amido sol.	-	+	-	+	-	+	+	+
D-xilose	+	-	-	+	-	+	+	-
L-arabinose	+	-	-	+	-	+	+	-
D-arabinose	+	+	-	+	-	+	+	-
D-ribose	+	+	-	+	-	+	+	-
L-ramnose	+	+	-	-	-	+	+	-
Etanol	+	+	-	+	-	+	+	-
Glicerol	+	+	-	+	-	+	+	-
Eritritol	+	-	-	-	-	-	+	+
Ribitol	+	-	-	+	-	+	+	+
Galactitol	+	+	-	+	-	+	+	-
D-manitol	+	+	-	+	-	+	+	+
D-glucitol	+	+	-	+	-	+	+	+
Salicina	+	+	-	+	+	+	+	+
Citrato	+	-	-	+	-	+	-	-
m-inositol	+	+	-	-	-	-	+	-
Glicosamina	-	+	-	+	-	+	+	-
Nitrato	-	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	-	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	+	-	-	-	-	-	+	-
Ciclo. 1000ppm	+	-	-	-	-	-	+	-
NaCl 10%	-	+	-	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF37 ₃	PF37 ₄	PF37 ₅	PF38 ₁	PF38 ₂	PF39 ₁	PF39 ₂	PF39 ₃
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	R
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	-	+	+	+	+	-	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	+	-	-	-	-	+
Trealose	-	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	-	-	-	+	+
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	+	+	+	-	+	+
Inulina	-	-	+	+	+	-	+	+
Amido sol.	+	+	+	+	+	+	+	+
D-xilose	-	-	+	-	-	-	+	+
L-arabinose	-	-	+	-	-	-	+	+
D-arabinose	-	-	+	-	-	-	+	+
D-ribose	-	+	+	-	+	-	+	+
L-ramnose	-	-	+	-	+	-	+	+
Etanol	+	-	+	+	+	-	+	+
Glicerol	+	-	+	+	+	-	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-	+	+	+
Ribitol	-	+	+	-	+	-	+	+
Galactitol	+	+	+	-	+	-	+	+
D-manitol	-	+	+	+	+	-	+	+
D-glucitol	-	+	+	+	+	-	+	+
Salicina	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrato	-	-	-	-	-	-	+	+
m-inositol	-	-	+	-	-	-	-	+
Glicosamina	-	-	+	-	-	-	-	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	+	+	-	+	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	+	+	-	+	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35 °C	+	+	+	+	+	+	+	+
40 °C	+	+	+	+	+	+	+	+
42 °C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF39 ₄	PF39 ₅	PF39 ₆	PF39 ₇	PF39 ₉	PF39 ₁₀	PF39 ₁₁	PF40 ₁
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	+	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	+	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	-	-	-	+	+	-	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	+	-	-	+
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	-	-	-	-	-	+
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	-	-	+	-	+	-	+
Inulina	-	-	-	+	+	-	-	+
Amido sol.	+	-	-	-	-	+	-	+
D-xilose	+	-	-	+	+	-	-	+
L-arabinose	+	-	-	+	+	-	-	+
D-arabinose	+	-	-	-	+	-	-	+
D-ribose	+	-	-	+	+	+	-	+
L-ramnose	+	-	-	-	-	-	-	+
Etanol	+	-	-	-	+	-	-	+
Glicerol	+	-	-	-	+	-	-	+
Eritritol	+	-	-	-	+	+	-	+
Ribitol	+	-	-	-	+	-	-	+
Galactitol	+	-	-	+	-	+	-	+
D-manitol	+	-	+	-	+	-	-	+
D-glucitol	+	-	-	-	+	-	-	+
Salicina	-	-	-	-	-	+	-	+
Citrato	+	-	-	+	-	-	-	+
m-inositol	-	-	-	-	+	-	-	+
Glicosamina	-	-	-	-	+	-	-	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35 °C	+	+	+	+	+	+	+	+
40 °C	+	+	+	+	+	+	+	+
42 °C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF41 ₂	PF41 ₃	PF42 ₃	PF43 ₁	PF44 ₁	PF46 ₁	PF46 ₃	PF48 ₁
Pigmento	B	B	C	P	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	+	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	+	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	+	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	+	+	+	+	-	-	+
Maltose	+	+	+	+	-	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	+	+	-	-	-	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	+	+	-	-	-	-
Inulina	+	+	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	+	+	+	+	+	+	+	+
D-xilose	-	-	-	+	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	+	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	+	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	+	+	-	-	-
L-ramnose	-	-	+	+	-	-	-	-
Etanol	+	+	-	-	-	-	-	+
Glicerol	+	+	-	+	+	-	-	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	-	-	-	+	-	-	-	-
Galactitol	-	-	+	+	-	-	+	-
D-manitol	+	+	-	+	+	-	-	+
D-glucitol	+	+	-	+	+	-	+	-
Salicina	-	-	+	+	+	+	+	-
Citrato	-	-	+	+	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF48 ₂	PF48 ₃	PF48 ₄	PF48 ₅	PF48 ₆	PF48 ₇	PF49 ₁	PF49 ₂
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	-	+
L-sorbose	-	-	-	+	-	-	-	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	-	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	-	+	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	-	+
Lactose	-	-	-	+	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	+	+	-	+
Melezitose	-	-	-	+	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	+	+
Amido sol.	+	-	-	+	-	-	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	-	-	-	+	-	-	-	-
Glicerol	-	+	-	+	-	+	-	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	-	-	-	+	-	-	-	-
D-manitol	-	-	-	+	-	-	+	+
D-glucitol	-	-	-	+	+	-	-	+
Salicina	-	-	-	+	-	+	+	-
Citrato	-	-	-	-	-	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	+	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	+	-	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF49 ₃	PF54 ₁	PF54 ₂	PF54 ₃	PF54 ₄	PF54 ₅	PF54 ₇	PF54 ₈
Pigmento	B	B	B	B	B	B	B	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	-	-	+	+	+	-
L-sorbose	-	-	-	-	+	-	-	+
Maltose	+	+	+	+	+	-	-	-
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	-	-	+
Trealose	+	+	-	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	+	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	+	-	-	-
Rafinose	+	+	+	-	+	+	+	+
Melezitose	-	-	-	-	-	-	+	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	+	-	-	+
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	-	-	+	+	+	-	+	+
Glicerol	-	-	+	-	+	+	-	-
Eritritol	-	-	-	-	+	-	+	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactitol	-	-	-	+	+	-	-	-
D-manitol	-	-	-	-	+	-	-	-
D-glucitol	+	-	-	-	-	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-	-
Citrato	-	-	-	-	+	-	-	-
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	+	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	-	+	+	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF56 ₁	PF56 ₂	PF56 ₃	PF56 ₄	PF56 ₆	PF56 ₇	PF56 ₈	PF56 ₉
Pigmento	P	B	B	B	P	B	P	B
Esporos	+	+	+	+	+	+	+	-
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-sorbose	+	+	-	-	+	-	+	-
Maltose	+	+	+	-	+	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+
Celobiose	+	+	-	-	+	-	+	-
Trealose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	+	+	-	-	+	-	+	+
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido sol.	+	-	-	-	-	-	-	-
D-xilose	+	-	-	-	+	-	+	-
L-arabinose	+	-	-	-	+	-	+	-
D-arabinose	+	-	-	-	+	-	+	-
D-ribose	+	+	-	-	+	-	+	+
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	+	-	-	-	-	+	+	-
Glicerol	+	-	-	-	+	-	+	-
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribitol	+	-	-	-	+	-	+	-
Galactitol	+	+	-	-	+	-	+	-
D-manitol	+	-	-	-	+	-	+	-
D-glucitol	+	+	-	-	+	-	+	-
Salicina	+	+	-	-	+	-	+	+
Citrato	+	+	-	-	+	-	+	+
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	-
Glicose 50%	+	+	+	+	+	+	+	-
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	+	+	+	-	+	-
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

Tabela 10 - Resultados das provas morfológicas, fisiológicas e de assimilação apresentados pelas leveduras.

Prova/Cultura	PF56 ₁₀	PF57 ₁	PF58 ₁	PF58 ₂	PF58 ₃	PF60 ₁	PF60 ₂	PF60 ₃
Pigmento	B	B	R	R	R	B	B	B
Esporos	+	+	-	-	+	+	+	+
F. glicose	-	-	-	-	-	-	-	-
F. maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.sacarose	-	-	-	-	-	-	-	-
F.lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	+	+	+	+	-	+	+	+
Galactose	+	-	-	-	-	-	+	+
L-sorbose	-	-	-	-	-	+	+	+
Maltose	+	+	-	-	-	+	+	+
Sacarose	+	+	+	+	-	+	+	+
Celobiose	-	-	-	-	-	+	+	+
Trealose	+	-	-	-	-	+	+	+
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	-	-	-	-	+	+	+
Rafinose	+	-	+	+	-	+	+	+
Melezitose	-	-	-	-	-	-	+	+
Inulina	-	-	-	-	-	+	+	+
Amido sol.	-	-	-	-	-	-	+	-
D-xilose	-	-	-	-	-	-	+	+
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	+
D-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	+
D-ribose	-	-	-	-	-	-	+	+
L-ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Etanol	-	-	-	-	-	+	+	+
Glicerol	-	-	-	-	-	-	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	+	-
Ribitol	-	-	-	-	-	-	-	+
Galactitol	-	-	-	-	-	-	-	+
D-manitol	-	-	-	-	-	+	+	+
D-glucitol	-	-	-	-	-	+	+	+
Salicina	-	-	-	-	-	-	+	+
Citrato	-	-	-	-	+	-	+	+
m-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicosamina	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrato	+	+	-	-	+	+	+	+
Glicose 50%	+	+	-	-	-	+	+	+
Ciclo. 100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
Ciclo. 1000ppm	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl 10%	+	+	-	-	+	+	+	+
Sínt. de amido	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	+	+	+	+	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	+	+	+	+	+	+

(continua)

*C = creme; *P = "pink"; *B = branca; *R = rosa; F. = fermentação de; Amido sol. = amido solúvel; Ciclo. = cicloheximida; Sínt. de amido = Síntese de amido.

6.3. Ensaio de resistência aos principais conservantes alimentícios contidos na legislação vigente para produtos de frutas e frutos

Apesar da legislação brasileira (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO - ABIA, 2003) não permitir o emprego de conservantes em polpas de frutas, este trabalho também objetivou analisar a ação antimicrobiana “in vitro” dos conservantes permitidos para produtos de frutas e frutos sobre as leveduras isoladas.

Das 136 leveduras isoladas 115 foram testadas frente a três conservantes em diferentes concentrações, sendo eles: sorbato de potássio (código INS - 202) nas concentrações 0,025, 0,05, 0,1, 0,2 e 0,4%; benzoato de sódio (código INS - 211) nas de 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,3 e 0,6% e metabissulfito de sódio (código INS - 223) nas de 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,03, 0,04, 0,06, 0,075, 0,15 e 0,3%. O efeito dos conservantes sobre as leveduras está apresentado nas TABELAS 11 e 12.

6.3.1. Sorbato de potássio (INS - 202)

As duplas ligações conjugadas do ácido sórbico são reativas e podem ter influência tanto na sua capacidade antimicrobiana quanto na qualidade e segurança de produtos alimentícios (SOFOS, 1989). Industrialmente, o ácido sórbico é mais utilizado na forma de sais devido à maior solubilidade em água (SOFOS; BUSTA, 1993).

A concentração mínima de ácido sórbico necessária para a inibição de microrganismos varia dependendo de fatores como tipo de substrato, pH do meio e

microrganismo de interesse. As faixas de mínima concentração para inibição variam de 10 a 10000 ppm (bactérias), 25 a 400 ppm (leveduras) e para fungos de 10 a 1000 ppm (LUCK, 1977).

As concentrações de sorbato de potássio empregadas não foram eficazes sobre as leveduras testadas. Em estudo realizado por Coelho (2001), as concentrações de 0,05, 0,10 e 0,20% atuaram, respectivamente, contra 93,33, 99,58 e 100% das leveduras. Mansor (2001) e Silva (2003) obtiveram resultados similares para a concentração de 0,2%.

A concentração de 0,4%, que representa o dobro da máxima permitida para produtos de frutas e frutos não foi eficiente sobre as leveduras. Resultado superior (100%) foi encontrado em trabalho desenvolvido por Silva (2003).

6.3.2. Benzoato de sódio (INS - 211)

Pode ser empregado puro ou como sal de sódio, cálcio ou potássio. Os sais de ácido benzóico são preferidos para uso industrial devido a sua maior solubilidade (KIMBLE, 1977). A concentração mínima de ácido benzóico necessária para a inibição de microrganismos varia dependendo de fatores como tipo de substrato, pH do meio e microrganismo de interesse. As faixas de concentração mínima para inibição variam de 50 a 1800 ppm (bactérias), 20 a 700 ppm (leveduras) e para bolores de 20 a 500 ppm (LÜCK, 1977).

A eficiência do benzoato como conservador mostra uma estreita dependência com o pH do meio. Em pH próximo da neutralidade é praticamente ineficiente (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Quando comparado ao ácido sórbico, o ácido benzóico apresenta menor eficiência em pH acima de 4,5 (LLOYD; DRAKE, 1975). Como agente antimicrobiano o ácido benzóico apresenta ação sinérgica com cloreto de sódio, sacarose, ácido bórico, dióxido de carbono e dióxido de enxofre (SMITH, 1997; SOFOS, 1995). Efeitos antagônicos são observados com surfactantes aniônicos (CHIPLEY, 1993).

O ácido benzóico não se acumula no organismo. Ele se combina com a glicina e transforma-se em ácido hipúrico, que é facilmente excretado por via renal, sendo este um dos motivos da ausência de efeitos tóxicos (FRIAS *et al.*, 1996).

Na concentração de 0,005% o conservante em questão atuou sobre 0,87% das leveduras. Com relação à concentração de 0,01% verificou-se que 98,26% das leveduras foram resistentes. Observou-se que tais resultados são similares aos obtidos por Mansor (2001) e superiores àquele constatado por Coelho (2001), ou seja, 87,08%. As culturas que se mostraram sensíveis à tal concentração (1,74%) foram isoladas de polpas de abacaxi e goiaba.

A resistência ao benzoato de sódio nas concentrações de 0,02 e 0,05% foi representada por, respectivamente, 73,91 e 5,2% das leveduras.

As concentrações de 0,10, 0,15, 0,20, 0,30 e 0,60% foram eficazes em 100% das culturas testadas. Com relação à concentração de 0,10%, o resultado foi similar àquele obtido por Hoffmann (1997), Silva (2003) e Mansor (2001). Porém, Coelho (2001) encontrou resultado inferior (99,17%).

No que se refere à concentração de 0,30%, em estudo desenvolvido por Mansor (2001) eficácia semelhante foi verificada. Em trabalho realizado por outros pesquisadores foi determinado o efeito do agente antimicrobiano benzoato de sódio no desenvolvimento de *Aspergillus flavus* empregando-se a mesma concentração

(0,30%) e verificou-se que a mesma foi suficiente para inibir completamente este microrganismo (LÓPEZ-MALO; ALZAMORA. PALOU, 2005).

TABELA 11. Leveduras sensíveis ao benzoato de sódio nas diferentes concentrações empregadas.

Concentrações (%)	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=115)
0,005	PF17 ₁	01	0,87%
0,01	PF11 ₃ ; PF17 ₁	02	1,74%
0,02	PF3 ₈ ; PF11 ₃ ; PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₄ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅ ; PF41 ₂ ; PF43 ₁ ; PF49 ₁ ; PF56 ₁ ; PF56 ₆ ; PF56 ₈ ; PF57 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	30	26,09%
0,05	PF3 ₁ ; PF3 ₂ ; PF3 ₃ ; PF3 ₄ ; PF3 ₅ ; PF3 ₆ ; PF3 ₇ ; PF3 ₈ ; PF3 ₉ ; PF3 ₁₀ ; PF3 ₁₁ ; PF3 ₁₂ ; PF4 ₁ ; PF4 ₂ ; PF4 ₃ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF4 ₁₁ ; PF4 ₁₂ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF11 ₁ ; PF11 ₂ ; PF11 ₃ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF16 ₁ ; PF16 ₂ ; PF16 ₃ ; PF16 ₄ ; PF16 ₅ ; PF16 ₆ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₃ ; PF17 ₉ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₁ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; PF31 ₁ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₂ ; PF37 ₃ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF39 ₁₁ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF44 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₅ ; PF48 ₆ ; PF48 ₇ ; PF49 ₁ ; PF49 ₃ ; PF54 ₁ ; PF54 ₂ ; PF54 ₄ ; PF54 ₅ ; PF56 ₁ ; PF56 ₂ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₆ ; PF56 ₇ ; PF56 ₈ ; PF56 ₉ ; PF56 ₁₀ ; PF57 ₁ ; PF60 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	109	94,80%

Legenda: PFN,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

6.3.3. Metabissulfito de sódio (INS - 223)

O sulfito é empregado na forma de gás e/ou em solução em vários tipos de alimentos, com propósitos variados, incluindo o controle de bactérias, bolores e leveduras; o de escurecimento enzimático e não-enzimático. As formas de sulfito empregadas na sulfitação de alimentos de uso mais freqüente, incluem: dióxido de enxofre (SO_2), sais de sulfito (SO_3), bissulfito (HSO_3) e metabissulfito (S_2O_5). Como os demais conservadores químicos, a atividade do sulfito no controle de microrganismos é maior em meio com alta acidez, ou seja, $\text{pH} \bullet 4,5$ (ARAÚJO, 1988).

O resultado do sulfito adicionado ao alimento depende da natureza química, do tipo e da extensão do processamento utilizado, do tempo e das condições de armazenamento, da permeabilidade da embalagem e do nível de adição. O sulfito interage com vários constituintes presentes nos alimentos, incluindo: açúcares redutores, aldeídos, cetonas e proteínas, sendo que o sulfito na forma ligada é reduzido em alimentos ácidos (ARAÚJO, 1988).

As concentrações de 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,03, 0,04, 0,06, 0,075, 0,15 e 0,3% do metabissulfito de sódio atuaram, respectivamente, sobre 12,17, 18,26, 40,87, 46,09, 69,57, 74,78, sendo que a partir de 0,06% inibiu 100% das leveduras.

No que se refere à concentração de 0,01%, em estudo realizado por Coelho (2001) foi encontrado resultado superior (28,53%) e Mansor (20001) obteve resultado inferior (11,05%) ao mencionado neste estudo.

Com relação à concentração de 0,02%, resultado inferior (16,35%) foi observado por Mansor (2001); no entanto, Coelho (2001) verificou valor superior (90,83%).

Para a concentração de 0,03%, na realização de estudos semelhantes, Coelho (2001) obteve resultado superior (98,75%) e Mansor (2001) valor inferior (23,08%). Resultado superior (100%) foi também obtido por López-Malo, Alzamora e Palou (2005) ao determinarem o efeito do agente antimicrobiano bissulfito de sódio no desenvolvimento de *Aspergillus flavus* empregando-se a mesma concentração.

Na concentração de 0,15% o mesmo resultado foi verificado em trabalho realizado por Coelho (2001); contudo, eficácia inferior foi constatada por Mansor (2001).

A menor concentração que exibiu maior eficiência foi 0,06%; sendo esta superior àquela verificada por Coelho (2001), ou seja, 0,02%.

Comparando-se os conservantes benzoato de sódio e metabissulfito de sódio, pode-se verificar que o segundo demonstrou maior eficácia, uma vez que inibiu 100% das leveduras à partir da concentração de 0,06%; enquanto o benzoato de sódio demonstrou atuação similar à partir de 0,10%.

TABELA 12. Leveduras sensíveis ao metabissulfito de sódio nas diferentes concentrações empregadas.

Concentrações (%)	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=115)
0,005	PF17 ₁ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF37 ₄ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF41 ₃ ; PF49 ₁	14	12,17%
0,01	PF12 ₃ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; P31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄ ; PF38 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF49 ₁ ; PF54 ₃ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈ ; PF56 ₁ ; PF56 ₈ ; PF60 ₁ ; PF60 ₃	21	18,26%
0,015	PF4 ₁₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; P31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄ ; PF38 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF49 ₁ ; PF54 ₃ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈ ; PF56 ₁ ; PF56 ₈ ; PF60 ₁ ; PF60 ₃	47	40,87%
0,02	PF4 ₁₁ ; PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; PF31 ₃ ; PF31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₅ ; PF49 ₁ ; PF54 ₃ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈ ; PF56 ₁ ; PF56 ₈ ; PF60 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	53	46,09%

Legenda: PFN,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

(continua)

TABELA 12. Leveduras sensíveis ao metabissulfito de sódio nas diferentes concentrações empregadas (continuação).

Concentrações (%)	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=115)
0,03	PF3 ₆ ; PF3 ₈ ; PF4 ₁₁ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF11 ₁ ; PF11 ₂ ; PF11 ₃ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF16 ₄ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₁ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; PF31 ₃ ; PF31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₆ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF39 ₁₁ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF44 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₅ ; PF48 ₆ ; PF48 ₇ ; PF49 ₁ ; PF54 ₁ ; PF54 ₃ ; PF54 ₄ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈ ; PF56 ₁ ; PF56 ₄ ; PF56 ₈ ; PF57 ₁ ; PF60 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	80	69,57%
0,04	PF3 ₆ ; PF3 ₈ ; PF4 ₁₁ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF11 ₁ ; PF11 ₂ ; PF11 ₃ ; PF11 ₄ ; PF11 ₅ ; PF11 ₆ ; PF12 ₁ ; PF12 ₃ ; PF12 ₄ ; PF12 ₆ ; PF12 ₈ ; PF12 ₉ ; PF16 ₄ ; PF17 ₁ ; PF17 ₂ ; PF17 ₉ ; PF25 ₁ ; PF25 ₄ ; PF25 ₇ ; PF25 ₈ ; PF25 ₁₀ ; PF27 ₁ ; PF27 ₃ ; PF27 ₄ ; PF27 ₅ ; PF28 ₁ ; PF28 ₂ ; PF30 ₄ ; PF31 ₃ ; PF31 ₄ ; PF31 ₆ ; PF31 ₇ ; PF34 ₁ ; PF34 ₄ ; PF37 ₁ ; PF37 ₂ ; PF37 ₄ ; PF37 ₅ ; PF38 ₁ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF39 ₆ ; PF39 ₇ ; PF39 ₉ ; PF39 ₁₀ ; PF39 ₁₁ ; PF40 ₁ ; PF41 ₂ ; PF41 ₃ ; PF42 ₃ ; PF43 ₁ ; PF44 ₁ ; PF46 ₁ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₃ ; PF48 ₄ ; PF48 ₅ ; PF48 ₆ ; PF48 ₇ ; PF49 ₁ ; PF54 ₁ ; PF54 ₃ ; PF54 ₄ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF54 ₈ ; PF56 ₁ ; PF56 ₂ ; PF56 ₃ ; PF56 ₄ ; PF56 ₆ ; PF56 ₇ ; PF56 ₈ ; PF56 ₉ ; PF56 ₁₀ ; PF57 ₁ ; PF60 ₁ ; PF60 ₂ ; PF60 ₃	86	74,78%

Legenda: PF_{n,n} onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

6.4. Prova de sensibilidade ao tratamento térmico (90° C/60 segundos)

Tratamento térmico é o processo pelo qual o alimento recebe aplicação de calor oriundo de vapor d'água condensado a uma determinada temperatura. O calor ainda pode ser oriundo de ar quente ou outro meio aquecido, sendo no entanto o vapor d'água o mais utilizado (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

Pasteurização é um tratamento térmico que destrói parte, mas não todos os microrganismos presentes no alimento e, conseqüentemente, é utilizado para alimentos que serão manuseados posteriormente e estocados sob condições que minimizem o desenvolvimento microbiano. Em muitos casos, o objetivo primário da pasteurização é destruir os microrganismos patogênicos. Alguns microrganismos podem sobreviver a esse tratamento; desta forma, medidas mais severas de conservação são necessárias. Em outros casos (cerveja, suco) a pasteurização é utilizada para destruir os microrganismos deteriorantes (TOCCHINI; NISIDA; DE MARTIN, 1995).

De acordo com Put *et al.* (1976) as leveduras que formam ascósporos são mais resistentes ao calor do que as que não formam. *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Lodderomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* e *Saccharomycopsis* são gêneros de leveduras formadoras de ascósporos, enquanto *Rhodotorula*, *Candida*, *Brettanomyces* e *Torulopsis* não apresentam esta característica.

A resistência de leveduras à inativação térmica e injúria pode ser influenciada por um grande número de fatores, incluindo diferenças inerentes entre linhagens e espécies (BEUCHAT, 1982).

Dentre as 115 leveduras testadas, 34 (29,57%) delas foram resistentes ao tratamento térmico empregado, sendo pertencentes às espécies *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi*, *Trichosporon beigeli*, *Bullera variabilis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Schizosaccharomyces pombe* e *Torulaspota delbrueckii*, de acordo com a TABELA 13.

O tratamento térmico de 90°C/60 seg. inibiu 100% das leveduras do gênero *Candida*. Em trabalho realizado por Tchango Tchango *et al.* (1997), temperatura e tempo superiores (94°C/1,91 min.) foram empregados para se obter o mesmo resultado, com relação ao gênero mencionado, para néctar de maracujá.

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi* exibiram resistência ao tratamento térmico empregado de, respectivamente, 42 e 25%. Beuchat (1981) ao analisar a resistência térmica de *Saccharomyces cerevisiae* (50°C/ 20 min.) e *Debaryomyces hansenii* (48°C/ 20 min.) não constatou a inibição de, respectivamente, 50 e 2% das culturas.

TABELA 13. Frequência relativa dos sete gêneros de leveduras resistentes ao tratamento térmico (90 °C/60 segundos).

Leveduras	Código das culturas	Número de culturas	Porcentagem (n=115)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PF3 ₁ ; PF3 ₆ ; PF3 ₁₀ ; PF4 ₄ ; PF4 ₅ ; PF4 ₆ ; PF4 ₇ ; PF4 ₁₀ ; PF10 ₁ ; PF10 ₃ ; PF37 ₃ ; PF39 ₁ ; PF39 ₅ ; PF46 ₃ ; PF48 ₁ ; PF48 ₂ ; PF48 ₄ ; PF49 ₃ ; PF54 ₃ ; PF54 ₅ ; PF54 ₇ ; PF56 ₁₀	23	20,00%
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	PF30 ₄ ; PF48 ₅ ; PF54 ₄ ; PF56 ₈ ; PF60 ₃	05	4,35%
<i>Trichosporon beigellii</i>	PF31 ₃ ; PF37 ₄	02	1,74%
<i>Bullera variabilis</i>	PF39 ₁₀	01	0,87%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	PF11 ₃	01	0,87%
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	PF46 ₁	01	0,87%
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	PF11 ₆	01	0,87%

Legenda: PF_N,n onde: PF = Polpa de fruta; N = Número da amostra e n = Número da levedura isolada.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp revelaram que todas as amostras (100%) encontravam-se de acordo com o padrão federal vigente, sendo consideradas pela legislação “produtos em condições sanitárias satisfatórias”.

Saccharomyces cerevisiae, *Debaryomyces hansenii* var. *fabryi*, *Dekkera bruxellensis*, *Torulaspota delbrueckii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *R. glutinis*, *Trichosporon beigeli*, *Hanseniaspora vineae*, *Sporidiobolus johnsonii*, *Candida apis*, *Cryptococcus albidus*, *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii*, *Stephanoascus ciferrii*, *Rhodotorula minuta*, *Pichia farinosa*, *Debaryomyces vanriijae* var. *vanriijae*, *Bullera variabilis*, *Schizosaccharomyces pombe* e *Sporobolomyces roseus*, os quais representaram, respectivamente, 41,90; 17,65; 9,55; 9,55; 4,40; 2,94; 2,94; 1,47; 1,47; 1,47; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74; 0,74 e 0,74% das leveduras isoladas.

O conservante sorbato de potássio não inibiu nenhuma das leveduras testadas. O metabissulfito de sódio apresentou maior eficácia que o benzoato de sódio, uma vez que inibiu 100% das culturas a partir da concentração de 0,06%, contra a de 0,10% do outro conservante.

O tratamento térmico empregado de 90°C/60 segundos inibiu 81 (70,4%) leveduras.

Sob condições experimentais, benzoato de sódio a partir de 0,05% e metabissulfito de sódio a partir 0,04% inibiram maior número de leveduras testadas do que o tratamento térmico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. C.; NUNES, I. F. S.; OLIVEIRA, M. M. A. Perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, p. 78-81, 2003.

ARAÚJO, J. M. A. **Conservadores químicos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1988. 16 p. (Universidade Federal de Viçosa; 269).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO (ABIA). **Compêndio da legislação de alimentos - Consolidação das mesmas e padrões de alimentos - Atos do Ministério da Saúde**. Revisão 9, v. 1/A, p. 3.86-3.88, 2003.

BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: characteristics and identification**. Cambridge, Cambridge University Press, 881 p., 1983.

BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: characteristics and identification**. 2 ed., Cambridge, Cambridge University Press, 1002 p., 1990.

BASTOS, M. R.; FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. B.; PIMENTEL, C. R. M. Check-List da produção de polpa congelada de frutos tropicais (cajá, caju e acerola) nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 15, n. 2, p. 143-148, 1997.

BASTOS, M. R.; FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. B.; AZEVEDO, E. F.; CUNHA, V. A. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de três empresas de polpa de frutas congeladas, na cidade de Fortaleza, em atendimento às Boas Práticas de Fabricação. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 86, p. 19-21, 2001.

BASTOS, M. R.; FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; OLIVEIRA, M. B.; AZEVEDO, E. H.; CUNHA, V. A.; LEMOS, T. O. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de polpa de frutas congelada. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 91, p. 55-57, 2002.

BECKENKAMP, L. W. **Leveduras isoladas de polpas de frutas industrializadas**. 1997. 63 p. Tese (Mestrado em Criptógamos), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

BEUCHAT, L. R. Synergistic effects of potassium sorbate and sodium benzoate on thermal inactivation of yeasts. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 3, p. 771-776, 1981.

BEUCHAT, L. R. Thermal inactivation of yeasts in fruit juices supplemented with food preservatives and sucrose. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 1679-1682, 1982.

BOOTH, I. R.; KROLL, R. G. **The preservation of foods by low pH**. In: Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures (ed. G. W. Gould). Elsevier, London, p. 119-160, 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos.** Brasília, 1981.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria n. 001, de 28 de janeiro de 1987. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 de fevereiro de 1987, seção 1, p. 2197-2200.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria n. 78, de 17 de março de 1998. Aprova padrões de identidade e qualidade para polpa de frutas de açaí, acerola, graviola, cupuaçu e de cacau. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de março de 1998, seção 1, p. 39.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa n. 12, de 13 de setembro de 1999. Aprova padrões de identidade e qualidade para polpas de maracujá, de acerola, de cacau, de cupuaçu, de graviola, de açaí, de caju, de manga, de goiaba, de pitanga, de uva, de mamão, de cajá, de melão, de mangaba; padrões de identidade e qualidade para sucos de maracujá, de caju, de caju alto teor de polpa, de caju clarificado, de abacaxi, de uva, de pêra, de maçã, de limão, de laranja e para suco tropical de acerola, de pitanga, de manga, de goiaba, de mangaba, de cajá e de graviola. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 de setembro de 1999.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001, seção 1, p. 45-53.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003, seção 1, p. 14.

BRUNO, L. M.; NASSU, R. T.; MORAIS, R. P. Monitorização da qualidade microbiológica de polpas de caju e abacaxi durante o processamento. **In:** XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CBCTA, Ciência e Tecnologia de Alimentos: Estratégia para o desenvolvimento, Recife - PE, 07 a 10 de setembro de 2004.

BUENO, S. M.; LOPES, M. R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 61, n. 2, p. 121-126, 2002.

CARR, J. G. The bacteriology of fruit juices. **Revista de Microbiologia**, v. 6, n. 1, p. 18-26, 1975.

CHIPLEY, J. R. **Sodium benzoate and benzoic acid**. In: DAVIDSON, P. M. & BRANEN, A. L. (Eds.) Antimicrobials in Foods. New York: Marcel Dekker Inc. Cap. 2, p.11-48, 1993.

COELHO, A. R. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes tipos de sorvetes.** São José do Rio Preto, 2001. 106p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

COOK, A. H. **The chemistry and biology of yeast.** New York. 763p., 1958.

CUNHA, V. A.; BASTOS, M. R.; FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. B.; MUNIZ, C. R. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias dos equipamentos utilizados em três fábricas de polpa de fruta congelada da região metropolitana de Fortaleza. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 171-176, 2000.

DAVENPORT, R. R. **Ecological concepts in studies of microorganisms on aerial plant surfaces.** In: C. H. Dickinson and T. F. Preece (Editors), *Microbiology of Aerial Plant Surfaces.* Academic Press, London, p. 199-216. 1976.

DEAK, T.; BEUCHAT, L. R. Identification of foodborne yeasts. **Journal of Food Protection**, v. 50, n. 3, p. 243-264, 1986.

DEAK, T.; BEUCHAT, L. R. Yeasts associated with fruit juice concentrates. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 9, p. 777-782, 1993.

DE LA TORRE, M. J.; MILLAN, M. C.; PEREZ-JUAN, P.; MORALES, J.; ORTEGA, J. M. Indigenous yeasts associated with *Vitis vinifera* grape varieties cultured in southern Spain. **Microbios**, v.100, n. 395, p. 27-40, 1999.

DEMAIN, A. L.; PHAFF, H. J.; KURTZMAN, C. P. **The industrial and agricultural significance of yeasts**. In: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. The yeasts: a taxonomic study. 4th edition. Amsterdam: Elsevier, cap. 3, 13:19, 1998.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 652 p., 1989.

ETHIRAJ, S.; SURESH, E. R. Studies on micro-organisms associated during processing of mango. **Acta Horticulturae**, v. 231, n. 1, p. 731-735, 1988.

FEITOSA, T.; OLIVEIRA, M. B.; BASTOS, M. R.; MUNIZ, C. R.; OLIVEIRA, S. C. A. Perfil microbiológico de polpa de frutas produzidas e comercializadas nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 15, n.1, p. 65-74, 1997.

FEITOSA, T.; BASTOS, M. R.; OLIVEIRA, M. B.; MUNIZ, C. R.; LEMOS, T. O.; OLIVEIRA, S. C. A. Avaliação microbiológica e microscópica em polpas de frutas tropicais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 35-37, 1999a.

FEITOSA, T.; BASTOS, M. R.; OLIVEIRA, M. B.; MUNIZ, C. R.; BRINGEL, H. F.; ABREU, S. A. Qualidade microbiológica de polpas de frutas produzidas e comercializadas nos estados da Paraíba e Pernambuco. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 66/67, p. 111-115, 1999b.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed Editora S. A., 424 p., 2002.

FRÍAS, I.; ALVAREZ, R.; SIERRA, A.; HARDISSON, A. Aspectos bromatológicos y toxicológicos de los conservantes benzoico y sorbico. **Alimentaria**, v. 273, p. 109-114, 1996.

FURIA, T. E. **Handbook of food additives**. The Chemical Rubber Co. USA, 412 p., 1968.

GRAY, W. **The relation of fungi to human affairs**. Holt Rinehart and Winston, New York, 510 p., 1959.

HARRIGAN, W. F.; MC CANCE, M. E. **Laboratory methods in food dairy microbiology**. Academic Press, New York, London-San Francisco, 353 p., 1976.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; PAGNOCCA, F. C.; VINTURIM, T. M.; MANSOR, A. P. Microrganismos contaminantes de polpas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n.1, p. 32-37, 1997.

HORN, C. H.; DU PREEZ, J. C.; LATERGAN, P. M. Protein enrichment of banana plant wastes by yeast cultivation. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 24, p. 127-136, 1988.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods: 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific application**. University of Toronto Press, 213 p., 1974.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. 2. ed., University of Toronto Press, v. 1, 434 p., 1978.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microbial ecology of foods**. New York, Academic Press, v. 2, 997 p., 1980.

ITAMETAL. **Fluxograma do processamento de polpas congeladas de frutas**. Disponível em: <<http://www.itametal.com.br>> Acesso em: 18/03/2004.

IVO, M. I. **Leveduras do abacaxi**. 1982. p. 46. Tese (Mestrado), Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. Chapman & Hall, New York, 679 p., 1996.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed., Artmed Editora S. A., 712 p., 2005.

KAMRA, N.; MADAN, M. Ecology of yeasts associated with fleshy fruits. **Microbios Lett**, v. 34, n. 134, p. 79-86, 1987.

KIMBLE, C. H. Chemical food preservatives. In: BLOCK, S. S. (Ed.) **Desinfection, sterilization and preservation**. Philadelphia: Lea & Febiger, Cap. 41, p. 834-858, 1977.

KREEGER VAN RIJ, N. J. W. **The yeasts: a taxonomy study**. Amsterdam, Elsevier Science Publication, 1082 p., 1984.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The yeasts: a taxonomic study**. 4. ed. [S. I.]: Elsevier, 1055 p., 1998.

LACHANCE, M. A. Yeast communities in natural tequila fermentation. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 68, p. 151-160, 1995.

LACHANCE, M. A.; STARMER, W. T. Ecology and yeasts. **In: The yeasts: a taxonomic study** (Kurtzman, C. P.; Fell, J. W. eds.) 4ed., Elsevier Science Publ. B. V. Amsterdam, the Netherlands, p. 21-30, 1998.

LEDERBERG, J.; LEDERBERG, E. M. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. **Journal of Bacteriology**, v. 63, p. 399-406, 1952.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia de sucos e produtos ácidos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 15, p. 1-15, 1968.

LEITE, C. C.; SANTANA, L. R.; SILVA, M. D.; SANT'ANNA, M. B.; ASSIS, P. N. Avaliação microbiológica de polpas congeladas de frutas produzidas no estado da Bahia. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 78/79, p. 69-73, 2000.

LEITE, C. C.; GUIMARÃES, A. G.; SILVA, M. D.; ASSIS, P. N.; CARDOSO, R. L. Avaliação do comportamento da *Escherichia coli* O157:H7 em polpas de frutas. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 98, p. 67-73, 2002.

LIMA, J. R.; MARTINS, S. S.; SILVA, J. A. Avaliação de polpas de frutas congeladas comercializadas no estado do Ceará através de indicadores microbiológicos. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 62-66, 2001.

LLOYD, A. G.; DRAKE, J. J. P. Problems posed by essential food preservatives. **British Medical Bulletin**, v. 31, n. 3, p. 214-219, 1975.

LÓPEZ-MALO, A.; ALZAMORA, S. M.; PALOU, E. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, n. 2, p. 119-128, 2005.

LUCK, E. **Conservacion quimica de los alimentos**. Editorial Acribia, Zaragoza, 1977.

MAGALHÃES, O. M. C.; QUEIROZ, L. A. Levaduras aisladas de diversos tipos de alimentos. **Boletín Microbiológico**, v. 6, n. 1/2, p. 49-54, 1991.

MANSOR, A. P. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes tipos de manteigas**. São José do Rio Preto, 2001. 120p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

MARSH, E. H. Antibiotics in foods - naturally occurring, developed and added. **Residue Review**, v. 12, 65 p., 1966.

MARTH, E. E. **Standard methods for the examination of dairy products**. 14. ed. Washington, APHA, 416 p., 1978.

MORAIS, P. B.; MARTINS, M. B.; KLACZKO, L. B.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. Yeast succession in amazon fruit *Parahancornia amapa* as a resource partitioning among *Drosophila* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 4551-4557, 1995.

MORAIS, R. P.; NASSU, R. T.; BRUNO, L. M. Avaliação microbiológica de requisitos relacionados a Boas Práticas de Fabricação em indústria de polpa e suco de frutas. **In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CBCTA, Ciência e Tecnologia de Alimentos: Estratégia para o desenvolvimento**, Recife - PE, 07 a 10 de setembro de 2004.

NASCIMENTO, A. R.; FERREIRA FILHO, F.; MOUCHREK FILHO, J. E.; CANTANHEBE, F. B. Perfil microbiológico das polpas de acerola (*Malpighia glaba* L)

e abacaxi (*Ananas comosus*), produzidas e comercializadas na ilha de São Luís, MA. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 44-47, 1999.

PARISH, M. E.; HIGGINS, D. P. Yeasts and molds isolated from spoiling citrus products and by-products. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 4, p. 261-263, 1989.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 413 p.,1985.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 593 p.,1997.

POSTMASTER, A.; SIVASITHAMPARAM, K.; TURNER, D. W. Enumeration and identify of microorganisms isolated from the surface of banana fruits at three developmental stages. **Scientia Horticulturae**, v. 3/4, n. 69, p. 189-197, 1997.

PUT, H. M. C.; DE JONG, J.; SAND, F. E. M. J.; VAN GRINSVEN, A. M. Heat resistance studies on yeasts spp causing spoilage in soft drinks. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 50, p. 135-152, 1976.

REYES, M. E. Q.; ROHRBACH, K. G.; PAULL, R. E. Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 2, p. 193-203, 2004.

ROBACH, M. C. Use of preservatives to control microorganisms in food. **Food Technology**, v. 34, n.10, p. 81-84, 1980.

ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. **The yeast: biology of yeasts**. Academic Press, 1987.

SANCHO, T.; GIMÉNEZ-JURADO, G.; MALFEITO-FERREIRA, M.; LOUREIRO, V. Zymological indicators: a new concept applied to the detection of potential spoilage yeast species associated with fruit pulps and concentrates. **Food Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 613-624, 2000.

SANTOS, E. A.; OLIVEIRA, R. B.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; HAGLER, A. N. Yeasts associated with flowers and fruits from a semi-arid region of northeastern Brazil. **Revista de Microbiologia**, v. 1, n. 27, p. 33-40, 1996.

SANTOS, F. A.; SALLES, J. R. J.; CHAGAS FILHO, E.; RABELO, R. N. Análise qualitativa de polpas congeladas de frutas produzidas pela SUFRUTS, MA. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 119, p. 8-22, 2004.

SHEREE LIN, C. C.; FUNG, D. Y. C.; COX, N. A. Conventional and rapid methods for yeast identification. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 273-289, 1987.

SILVA, J. V. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes amostras de queijo tipo “minas frescal”**. São José do Rio Preto, 2003. 112p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

SILVA, E. G.; BORGES, M. F.; MEDINA, C.; PICCOLI, R. H.; SCHWAN, R. F. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Research**, v. 5, n. 9, p. 859-865, 2005.

SIMÃO, A. M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1989.

SMITH, J. **Food additive user's book**. London: Blackie Academic & Professional, 1997.

SOFOS, J. N. **Sorbate food preservatives**. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 237 p., 1989.

SOFOS, J. N.; BUSTA, F. F. Sorbic acid and sorbates. In: DAVIDSON, P. M. & BRANEN, A. L. (Eds.) **Antimicrobials in Foods**. New York: Marcel Dekker Inc. Cap. 3, p. 49-94, 1993.

SOFOS, J. N. Antimicrobial Agents. In: MAGA, J. A. & TU, A. T. (Eds.) **Food Additive Toxicology**. New York: Marcel Dekker Inc. Cap. 11, p. 501-529, 1995.

SPECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. APHA, 702 p., 1976.

SPENCER, D. M.; SPENCER, J. F. T.; FIGUEROA, L.; HELUANE, H. Yeasts associated with rotting citrus fruits in Tucuman, Argentina. **Mycolres**, v. 10, n. 96, p. 891-892, 1992.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos - ocorrência e detecção**. Campinas, 82 p., 2001.

TCHANGO TCHANGO, J.; TAILLIEZ, R.; EB, P.; NJINE, T.; HORNEZ, J. P. Heat resistance of the spoilage yeasts *Candida pelliculosa* and *Kloeckera apis* and pasteurization values for some tropical fruit juices and nectars. **Food Microbiology**, v. 1, n. 14, p. 93-99, 1997.

TOCCHINI, R. P.; NISIDA, A. L. A. C.; DE MARTIN, Z. J. **Industrialização de polpas, sucos e néctares de frutas**. Campinas, 85 p., 1995.

TORREZAN, R.; UBOLDI EIROA, M. N.; PFENNING, L. Identificação de microrganismos isolados em frutas, polpas e ambiente industrial. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 27-38, 2000.

TRINDADE, R. C.; RESENDE, M. A.; SILVA, C. M.; ROSA, C. A. Yeasts associated with fresh and frozen pulps of brazilian tropical fruits. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 25, p. 294-300, 2002.

UBOLDI EIROA, M. N. Microrganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3/4, p. 141-160, 1989.