

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DO GUACAMOLE
CONSERVADO PELO FRIO**

JULIANA WAGNER SIMON

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Energia na
Agricultura)

**BOTUCATU- SP
Fevereiro de 2008**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DO GUACAMOLE
CONSERVADO PELO FRIO**

JULIANA WAGNER SIMON

Orientador: Prof. Dr. Rogério Lopes Vieites

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

**BOTUCATU- SP
Fevereiro de 2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO – SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Simon, Juliana Wagner, 1977-

S595a Avaliação microbiológica e sensorial do guacamole conservado pelo frio / Juliana Wagner Simon. – Botucatu : [s.n.], 2008. vii, 47 f. : gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2008

Orientador: Rogério Lopes Vieites

Inclui bibliografia.

1. Abacate. 2. Refrigeração. 3. Alimentos congelados. 4. Processamento. I. Vieites, Rogério Lopes. II. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DO GUACAMOLE
CONSERVADO PELO FRIO"

ALUNA: JULIANA WAGNER SIMON

ORIENTADOR: PROF. DR. ROGÉRIO LOPES VIEITES

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ROGÉRIO LOPES VIEITES



PROFA. DRA. VERA LUCIA MORES RALL



PROFA. DRA. ERICA REGINA DAIUTO BASTOS

Data da Realização: 07 de fevereiro de 2008.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Rogério Lopes Vieites pela oportunidade de tê-lo como orientador nessa pesquisa.

A Prof. Dra. Vera Lúcia Mores Rall por ter cedido o laboratório para realização das análises microbiológicas.

A Prof. Dra. Érica Regina Daiuto pelo incentivo e ajuda durante o desenvolvimento desta pesquisa.

A CAPES por ter concedido a bolsa para que esta pesquisa fosse desenvolvida.

A empresa Jaguacy por ter cedidos os abacates (avocados) para a realização dos experimentos.

A minha família que me apoiou em todos os momentos confiando sempre em mim e na minha capacidade.

As amigas Dani Fossato, Lessandra, Natália, Vanessa, Aline, Patrícia (Jorjão), Sinara e Karen que estiveram comigo em todos os momentos de alegria, tristeza e realizações.

A todos os meus amigos de alguma forma ou de outra contribuíram para a realização deste projeto.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
1 – RESUMO	01
2 – SUMMARY	02
3 – INTRODUÇÃO	03
4 – REVISÃO DE LITERATURA	05
4.1 – Considerações sobre o abacate	05
4.2 – Guacamole	07
4.3 – Microbiologia	07
4.4 – Boas Práticas e Higiene na Manipulação de Alimentos	11
4.5 – Aspectos da Tecnologia de Alimentos	12
4.6 – Métodos de conservação de alimentos	13
4.6.1 Conservação pelo frio	13
4.6.2 Conservação do guacamole	14
4.7 – Análise sensorial	15
5 – MATERIAIS E MÉTODOS	17
5.1 – Matéria – prima	17
5.2 – Processamento	18
5.3 – Tratamentos	19
5.4 – Análises microbiológicas	20
5.4.1 – Preparo das amostras e diluições	20
5.4.2 – Determinação do Número mais provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes	21
5.4.3 – Contagem padrão de microorganismos mesófilos	21
5.4.4 – Contagem padrão de microorganismos psicrotróficos	22
5.4.5 – Contagem de bolores e leveduras	22

5.4.6 – Detecção da presença de <i>Salmonella</i>	22
5.4.7 – Enumeração de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	23
5.4.8 – Enumeração de <i>Bacillus cereus</i>	24
5.5 – Análise Sensorial	24
5.6 Análise estatística.....	25
6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6.1 – Análises Microbiológicas.....	26
6.2 – Avaliação Sensorial.....	31
7 – CONCLUSÕES	38
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Paginas
1 Resultados das análises microbiológicas de bactérias mesófilas (UFC/g).....	28
2 Resultados das análises microbiológicas de bolores e leveduras (UFC/g).....	30
3 Correlação entre os parâmetros sensoriais	31
4 Grupos formados pelos valores mínimo, médio e máximo dos valores obtidos na avaliação sensorial.....	33
5 Valores mínimos, médios e máximos de notas para os parâmetros sensoriais	36

LISTA DE FIGURAS

Figuras	Paginas
1 Fluxograma de processamento da salada guacamole	18
2 Armazenamento do guacamole	29
3 Correlação entre os parâmetros sensoriais	32

1 RESUMO

O abacate (*Persea americana* Mill.) é um produto cultivado nas regiões tropicais e subtropicais e a partir dele obtem-se produtos como o guacamole, que é muito consumido na culinária mexicana.

As variedades mais utilizadas para guacamole são a Hass e Fuerte.

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e sensorial do guacamole conservado pelo frio sem adição de aditivos.

As análises microbiológicas mostraram que o produto obteve resultados satisfatórios quanto à análise de coliformes totais e termotolerantes < 3,0 UFC/g, *Salmonella* ausente em 25g, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* < 100 UFC/g, apresentado valores dentro dos padrões estabelecidos pela RDC da Anvisa 12 de 02 de janeiro de 2001.

As análises de bactérias mesófilas e a contagem de bolores e leveduras obtiveram valores entre 10^2 e 10^4 UFC/g e as bactérias psicrótróficas apresentaram valores < 100 UFC/g.

As análises sensoriais mostraram que a embalagem de polietileno não é eficiente para manter os parâmetros sensoriais analisados. No entanto, as embalagens de polietileno e nylon obtiveram resultados melhores, porém não diferenciaram entre si quanto ao uso vácuo.

Palavras chaves: *Persea americana* Mill, refrigeração, congelamento e processamento.

2 SUMMARY

The Avocado (*Persea americana* Mill.) is a product grown in tropical and subtropical regions and from it we can extract products like guacamole which is highly consumed in the Mexican culinary.

The most used varieties for guacamole are the Hass and Fuerte.

The present research had as goal to evaluate the microbiological and sensorial quality of the guacamole conserved through cold with no addition of additives.

The microbiological analyses have shown the product reached satisfactory results as for the analysis of total and thermoenduring coliform $< 3,0$ UFC/g, *Salmonella* absent in 25g, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* < 100 UFC/g, presenting values within the patterns set by RDC of Anvisa 12 of January 2nd 2001.

The analyses of mesophile bacteria and the counting of mold and yeast reached values between 10^2 and 10^4 UFC/g and the psychrotropic bacteria presented values < 100 UFC/g.

The sensorial analyses have shown that the polyethylene package isn't effective in keeping the analysed sensorial parameters. Although the polyethylene and nylon packages had better results, however they didn't differentiate themselves so as the vacuum use.

Key words: *Persea americana* Mill, refrigeration , freezing and processing.

3 INTRODUÇÃO

O abacate (*Persea americana* Mill.) é uma das frutas tropicais mais valiosas comercialmente e é cultivada em quase todas as regiões tropicais e subtropicais, particularmente no México, América Central, países da América do Sul, Índia, África do Sul, Israel e Havaí. (MEDINA *et al.*, 1978; OLIVEIRA *et al.*, 2000).

O Brasil é o quarto produtor mundial de abacate, produzindo em 2004, 173 mil toneladas em uma área de 12 mil hectares, para uma produção mundial de 3,2 milhões de toneladas e área de 416 mil hectares (FAO, 2004). A produção brasileira se encontra principalmente na Região Sudeste, Nordeste e Sul. O Estado de São Paulo é o maior produtor nacional, produzindo no ano de 2003, 78 mil toneladas, sendo responsável por 59% da produção. Entre outros produtores está o Paraná, representando 14% seguidos pelos Estados de Espírito Santo e Rio Grande do Sul, com participação de 6% e por último o Ceará com 3% da produção (IBGE, 2004).

No mercado interno, os cultivares mais comercializados são os Simmonds, Barbieri, Collison, Quintal, Fortuna, Breda, Reis, Solano, Imperador, Ouro Verde e Campinas. Para exportação e fins de industrialização os mais empregados são o Tatuí, Hass, Wagner e Fuerte (GUIRRA NET RURAL, 2004; FRANCISCO; BAPTISTELLA, 2005). As variedades Hass e Fuerte estão sendo comercializadas no mercado nacional sob a denominação de “Avocado” e, por serem cultivares diferenciado, têm sido mais valorizados (FRANCISCO; BAPTISTELLA, 2005).

Uma empresa situada na cidade de Bauru, interior de São Paulo, cultiva essas duas variedades e para tentar manter o alto padrão de exportação exigido pelo mercado internacional investiu em alta tecnologia e certificação de seus produtos, possuindo hoje o selo EurepGap, que é um protocolo de Certificação Internacional exigido pela Europa, que abrange as produções agrícolas de frutas, legumes, culturas rotacionadas e produção pecuária de gado de corte, leite, aves, ovinos e suínos (Brasil Alimentos On line, 2007). Assim sendo, conseguiu conquistar a credibilidade necessária e hoje competem com outros países exportadores como o México, Chile e África do Sul.

Um prato tradicional da culinária mexicana é o guacamole, que consiste em polpa de abacate misturado com cebola fresca, tomate, pimenta, suco de limão e sal. Atualmente, o consumo de guacamole não se restringe somente ao México, mas também a muitos restaurantes de comida típica mexicana, em vários países do mundo.

O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e sensorial do guacamole submetido à temperatura de refrigeração, congelamento lento e rápido sendo armazenado nestas condições em embalagens de polietileno ou polietileno + nylon com e sem vácuo previamente irradiadas, produzir alimento estéril usando as Boas Práticas de Fabricação e Manipulação, avaliar a vida de prateleira e parâmetros sensoriais.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Considerações sobre o abacate

O abacate é um fruto cultivado em países tropicais e subtropicais e atualmente existe uma demanda deste fruto em alguns países como a França, Alemanha e Inglaterra. As principais variedades exportadas são a Fuerte e a Hass.

O abacate possui várias características e propriedades que lhe conferem várias possibilidades de utilização como alimento e para os mais variados fins. Por conter uma alta concentração de óleo em sua polpa, o abacate tem sido muito utilizado na indústria farmacêutica, de cosméticos e também na obtenção de óleos comerciais substitutivos ao óleo de oliva (FRANCISCO; BAPTISTELLA, 2005).

O abacate pode ser considerado uma planta medicinal, pois suas folhas podem ser utilizadas como diuréticas quando feitas em extrato fluído ou para afecções do fígado, na forma de cápsulas. Possui ainda algumas características que o torna diferente de outras frutas, devido à grande quantidade de lipídios (15 a 20%) sendo classificado como uma das frutas mais ricas em óleo e pouca quantidade de carboidratos (menos que 5%) (KADAN; SALUNKHE, 1995).

Quando observada a composição média da polpa de abacate constata-se que apresenta um extrato seco elevado e um teor de proteínas de 1,14%. Também possui vitaminas lipossolúveis que geralmente não ocorrem em outras frutas, sendo muito rico em vitaminas A e B, apresentando menores quantidades de vitaminas D e

E e pouca vitamina C (MEDINA, 1978; OLIVEIRA, 2000; FRANCISCO; BAPTISTELLA, 2005).

Alguns estudos mostraram que o consumo de abacate em dietas ricas em gorduras monoinsaturadas, em substituição as gorduras saturadas, exerce efeitos seletivos fisiológicos sobre os humanos, reduzindo assim o nível de colesterol total, triglicerídeos e LDL, não alterando a fração HDL (REBOLLO *et al.* 1998; TURATTI, J.M.; GOMES, R.A.R.; ATHIÉ, I., 2002).

O óleo de abacate assemelha-se muito ao óleo de oliva, que é importado e muito consumido no país, pela similaridade de suas propriedades físico-químicas, principalmente a composição de seus ácidos graxos, predominando em ambos o ácido oléico (BLEINROTH; CASTRO, 1992).

Segundo Ahmed e Barmore, 1990 (REBOLLO *et al.*, 1998) esses óleos são ricos em ácidos graxos Ômega 9 que apresentam efeitos benéficos a saúde do consumidor em relação a prevenção de doenças vasculares.

O abacate é um alimento altamente sensível a reações de escurecimento por possuir uma grande atividade enzimática, principalmente a polifenoloxidase. Esta enzima, na ausência do ácido ascórbico, tem a capacidade de mudar os compostos fenólicos presentes nas células, como o ácido clorogênico, as leucoantocianinas, catecol entre outros. O rompimento das paredes celulares deixa esses compostos com os ênzimos que catalisam sua oxidação a compostos como as quinonas até obter a transformação em melaninas de intensa coloração marrom que embora não apresentem ação tóxica, têm a capacidade de alterar a aparência do produto, induzindo também mudanças no aroma e sabor (MARTIN, 1991).

O mesmo autor relatou que, o alto teor de matéria graxa presente no fruto o torna susceptível ao fenômeno de rancidez oxidativa e hidrolítica, sendo o primeiro tipo produzido na presença de ácidos graxos insaturados, como o ácido oléico, linoléico e linolênico. Os produtos formados pela presença de oxigênio no meio são instáveis e induzem a formação de odores e sabores estranhos, alterando assim as características organolépticas do produto. Já a rancidez hidrolítica, corresponde à hidrólise das triglicérides através da ação direta de alguns microorganismos, principalmente os fungos hidrolíticos.

4.2 Guacamole

O guacamole (Figura 1) é um produto feito a partir da polpa de abacate adicionado de cebola, suco de limão, tomate e molho de pimenta, sendo muito consumido como antepasto ou servido como entrada antes do prato principal na Europa, Estados Unidos e América Central, principalmente no México, segundo Arvizu-Medrano; Iturriaga; Escatín, (2001).

Segundo Ortiz *et al.* (2003), o guacamole refrigerado e congelado foi introduzido no comércio há, aproximadamente, 9 anos e sua popularidade vem aumentando nos Estados Unidos e Canadá.

No México existem fábricas que exportam o guacamole congelado. O abacate utilizado no processo, geralmente é da variedade Hass e a polpa é misturada com vegetais desidratados, como cebola, tomate, pimenta, alho, açúcar, sal, alginato sódico, goma xantana e alguns conservantes como pirofosfato desidrogenado de sódio, ácido ascórbico e ácido cítrico. Após o preparo, o produto era armazenado em sacos de polietileno e submetido ao processo de congelamento (ITURRIAGA; ARVIZU-MEDRANO; ESCARTÍN, 2002).

O problema de escurecimento e rancificação já foram constatados por Corrales (1991), Whitaker (1994) e Arvizu-Medrano *et al.* (2002). Corrales (1991) relatou que a industrialização do abacate na forma de pasta de guacamole sofre rápido escurecimento enzimático durante o processamento e industrialização. Ocorrem também fenômenos de oxidação bioquímica catalisada por enzimas específicas como a fenólicas e polifenólicas. Por esse motivo, o guacamole deve ser consumido logo após seu preparo, segundo Arvizu-Medrano; Iturriaga; Escatín (2001).

4.3 Microbiologia

Segundo Silva Júnior (1995), os microrganismos são encontrados em todo o mundo, com características biológicas diferentes, podendo diferir em formato, tamanho e capacidade de pôr em risco a saúde do homem em maior ou menor grau. Esses microrganismos utilizam-se dos alimentos como fonte de nutrientes para sua sobrevivência

e desenvolvimento. Os microrganismos além de utilizar nutrientes, também causam modificações enzimáticas, produzindo sabores e odores desagradáveis ao paladar humano.

O mesmo autor relatou que as bactérias preferem alimentos que contenham alto teor de água e ricos em proteínas. Algumas ainda podem ser produtoras de toxinas; além disso, as bactérias podem ser encontradas no trato gastrointestinal do homem, órgãos genitais, nariz, boca, pulmão, mãos e no meio ambiente.

Os fungos podem ser divididos em bolores e leveduras, e também conseguem se multiplicar em alimentos mais secos, que apresentem baixa umidade, atividade de água e que tenham altas concentrações de açúcar. Alguns fungos também apresentam capacidade de produzir toxinas e são encontrados no intestino, boca, mãos e meio ambiente (SILVA JÚNIOR, 1995).

Segundo Evangelista (2003) os microrganismos são considerados psicrófilos, psicrotróficos mesófilos, termófilos e termodúricos. Os microrganismos psicrófilos crescem em temperaturas abaixo de 20°C e sua temperatura ideal de crescimento varia entre 14,4 a 20°C; os psicrotróficos crescem em temperatura de refrigeração preferencialmente a de 4°C podendo variar entre 0 a 35°C; para os mesófilos, a temperatura de crescimento abrange uma faixa de 20 a 45°C, porém a temperatura ideal de crescimento estende-se entre 30 a 36°C; os termófilos apresentam crescimento em temperatura acima de 45°C e sua faixa ótima de crescimento varia entre 50 a 60°C e por fim os termodúricos apresentam capacidade de crescimento em temperaturas acima de 60 a 80°C.

Segundo estudos realizados com guacamole coletados de restaurantes e vendedores de rua da cidade de Querétaro no México, foram encontrados 60% de bactérias *E. coli* nas 29 amostras coletadas de vendedores de rua. Essas amostras expressaram um valor de $3,5 \times 10^3$ NMP/g de contaminação, caracterizando condições precárias durante a preparação (ARVIZU-MEDRANO; ITURRIAGA; ESCARTÍN, 2001).

Os mesmo autores realizaram a contagem de *Staphylococcus aureus* em guacamole encontrando valores que variaram entre 10^3 e 10^5 UFC/g. No total, 6,7% das amostras forma positivas, sendo mais frequentes entre os vendedores de rua que apresentaram 3 amostras contaminadas das 29 coletadas. Nos restaurantes foram identificadas 2 amostras contaminadas das 46 coletadas sendo o limite máximo para não ocorrer uma gastroenterite de 10^5 UFC/g (JABLONSKI; BOHACH, 1997).

A ocorrência de *Listeria monocytogenes* em guacamole foi de 16%, apresentando um índice maior do que os encontrados em alimentos crus (LAWRENCE e GILMOUR, 1994). Essa ocorrência também foi maior quando comparada a alimentos como leite cru, queijo e vegetais que normalmente apresentam respectivamente 4,2; 4,3 e 6,2 % de contaminação.

Em estudos realizados por Arvizu-Medrano, Iturriaga; Escartin (2001), as amostras de guacamole coletadas de restaurantes apresentaram-se isentas de *Salmonella spp.* e, nas amostras coletadas de vendedores de rua, foi encontrada uma amostra contaminada, visto que a *Salmonella sp.* não é comum em vegetais frescos e frutas. Entretanto, a *Salmonella* tem sido isolada em alface e salsa na Espanha, apresentando valores de 6,3 e 4,3% respectivamente (GARCÍA-VILLANOVA; GALVEZ; VARGAS, 1987). Nos Estados Unidos tem sido encontrada *Salmonella* em aipo (1,2%) e morangos (0,7%) (ARVIZU-MEDRANO, ITURRIAGA e ESCARTÍN, 2001). Madden (1992) também reportou a presença de *Salmonella* em melões chineses, que apresentaram um índice de 1,09% de contaminação.

De acordo com Adachi *et al.* (2002), estudos realizados com guacamole nas cidades de Guadalajara e Houston mostraram que o guacamole apresentou contaminações altas em relação à presença de *E. coli*. Em Guadalajara foram coletadas 3 amostras que obtiveram um índice de 4.000 UFC/g, caracterizando 100% de amostras contaminadas. Em Houston foram coletadas 4 amostras; dessas 3 apresentaram contaminação por *E. coli* de 10 UFC/g, apresentando 75% das amostras contaminadas.

Em estudos realizados com inoculação de bactérias na polpa de abacate submetida à temperatura de 4-7°C e 22°C puderam ser observados o desenvolvimento de alguns microrganismos como *Salmonella*, *E. coli* e *S. aureus* (ARVIZU-MEDRANO, ITURRIAGA e ESCARTÍN, 2001).

Após a inoculação de bactérias na polpa de abacate, os autores observaram o crescimento da *Salmonella* e *E. coli* O157:H7 em temperatura de 22°C, verificando que ambas as bactérias se multiplicaram ativamente após uma pequena fase lag. Quando inocularam 1,7 log₁₀ e 3,4 log₁₀ UFC/g observaram que a fase exponencial começava após 3 horas. A taxa de crescimento foi similar para esses dois patógenos, considerando o número de bactérias inoculadas. Relataram que esta fase acabou após 24

horas quando a contagem atingiu 10^7 UFC/g e 10^8 UFC/g para os níveis maiores e menores de inoculação respectivamente.

O comportamento da *Salmonella* em polpa de abacate não difere daquelas reportadas em outros alimentos (ESCARTÍN *et al.*, 1993). O aumento da *Salmonella* na polpa do abacate foi de $1,3 \log_{10}$ UFC/g para $3,3 \log_{10}$ UFC/g no mesmo período de tempo e estocagem a 22°C.

De acordo com Arvizu-Medrano; Iturriaga; Escartín (2001) a polpa de abacate submetida a 22°C se mostrou um substrato favorável para o crescimento de *E. coli* O157:H7, a qual apresentou para os níveis de inóculos baixo e alto, tempo de geração de 1,23 e 1,26 horas e crescimento de 10^3 e 10^5 UFC/g. O mesmo estudo mostrou que o *Staphylococcus aureus* foi pouco capaz de se multiplicar na polpa do abacate, possuindo tempo de geração de 1,67 horas. Esses valores foram similares aos apresentados em leite estocado a 22°C e 1,70-1,90 horas reportaram Walker e Harmon (1965). Independente do tamanho do inóculo, a fase estacionária teve início após 24 horas, quando a população de *S. aureus* foi $5,5 \log$ UFC/g (ARVIZU-MEDRANO, ITURRIAGA e ESCARTÍN, 2001), isso ocorreu devido ao potencial lipídico da polpa de abacate, como relataram Jablonski e Bahach (1997). Para causar uma gastroenterite humana, o *S. aureus* requer mais de 1 milhão de UFC/g para que seja sintetizado sua toxina (BERGDOLL, 1990).

Entretanto, quando a polpa de abacate foi submetida à estocagem em refrigeração, ocorreu a inibição do crescimento de *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 e *S. aureus*, visto que a sobrevivência dessas bactérias em refrigeração caracterizam um risco importante para o consumidor (ARVIZU-MEDRANO; ITURRIAGA; ESCARTÍN, 2001).

Iturriaga; Arvizu-Medrano; Escartín (2002) relataram que no México existem muitas fábricas que produzem guacamole congelado exportado para os Estados Unidos e alguns países europeus, sendo necessário obedecer aos padrões estabelecidos para importação. Os Estados Unidos estabelecem em sua legislação a ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 gramas (SHANK *et al.*, 1996), entretanto o Canadá tolera a presença de *Listeria monocytogenes* em até 100/g para alguns alimentos e ausência para outros.

Os abacates estão expostos a uma ampla variedade de fontes de contaminação microbiológica durante sua coleta e processamento. A *Listeria*

monocytogenes pode estar presente na casca do abacate e é introduzida quando se corta a fruta para obter a polpa. Durante o processamento do guacamole, a contaminação também pode ocorrer quando se adicionam ingredientes, utilizando utensílios com resíduos de outros ingredientes e até mesmo por contato humano resultando em uma contaminação cruzada (ITURRIAGA, ARVIZU-MEDRANO; ESCARTÍN, 2002).

4.4 Boas Práticas e Higiene na Manipulação de Alimentos

Madeira e Ferrão (2002) relataram que para se conseguir uma competitividade no mercado internacional, é necessário que haja uma estrutura higiênica que vai desde a produção até o consumidor final. O Brasil precisou adequar suas práticas produtivas a esses padrões respondendo com qualidade e produtividade.

As Boas Práticas de Fabricação (BPF), palavra originária do inglês Good Manufacturing Practices (GMP) são regras utilizadas na manipulação de alimentos a fim de inibir a contaminação e os perigos quando se faz a manipulação de alimentos (PAS, 2007). Seu objetivo principal é obter alimentos seguros ao consumo. Estas práticas são preventivas e incluem aspectos que vão desde a produção no campo até a mesa do consumidor final.

Segundo Silva Júnior (1995), higienização ou sanitização é o procedimento aplicado para reduzir ou até mesmo eliminar os perigos microbiológicos tentando minimizar os riscos de transmissão de agentes patogênicos causadores de doenças.

Para que se tenha uma boa higiene na manipulação de alimentos alguns fatores devem ser seguidos como lavar bem as mãos com água e sabão após o uso do banheiro, evitar tocar em alimentos podres e estragados, carregar lixo e coçar o nariz. Também deve ser evitado falar, cantar, gritar, tossir e espirrar em cima dos alimentos (ANDRADE e MARTINS, 2002).

Borbolla-Sala *et al.* (2004) relataram que o controle sanitário na preparação de alimentos é um conjunto de ações e orientações que devem efetuar-se com a finalidade de contribuir para a proteção da saúde do consumidor, mediante o estabelecimento das disposições sanitárias que devem ser cumpridas tanto na preparação de

alimentos quanto pessoal e de estabelecimentos, diminuindo assim a transmissão de enfermidades transmitidas por alimentos.

4.5 Aspectos da Tecnologia de Alimentos

Alimento é toda substância apresentada no estado sólido, líquido ou pastoso, destinado a fornecer aos organismos vivos, os elementos necessários para sua formação, manutenção e desenvolvimento. Todos os alimentos são formados por substâncias químicas como os carboidratos, proteínas, lipídios, sais minerais, micros nutrientes, vitaminas, pigmentos e água (SILVA, 2000).

Baruffaldi e Oliveira (1998) afirmam que a Tecnologia de Alimentos relaciona-se com o aumento da vida útil de alimentos. O principal objetivo da tecnologia é avaliar a produção fornecendo alimentos de boa qualidade para o consumidor final durante todas as estações do ano (SILVA, 2000).

A Tecnologia de Alimentos está relacionada ao setor que visa converter a matéria-prima alimentar, seja ela simples ou complexa, em produtos alimentícios tentando manter as características organolépticas e nutricionais do produto original, incluindo as etapas da produção primária e colheita até o processamento passando por elas a elaboração, preservação, conservação, acondicionamento, transporte, armazenamento, distribuição e consumo (Silva, 2000).

Segundo o Programa de Alimento Seguro (PAS), a perda de alimentos é, em média de 61%, indo desde o plantio até o consumidor, sendo 20% de perda no plantio e colheita, 8% no transporte, 15% no processamento industrial, 1% na comercialização e 17% pelo consumidor e redes de restaurantes.

Conforme Gayet *et al.* (1995), o abacate requer no máximo 10 dias, a partir da data de colheita, para atingir seu total amadurecimento quando mantido em temperatura ambiente devendo ser utilizado nesse período de tempo para evitar o desperdício.

4.6 Métodos de conservação de alimentos

Baruffaldi e Oliveira (1998) relataram que, a cada dia que passa, aumenta o número de alimentos passíveis de serem conservados pelo frio. Desenvolvem-se técnicas para diminuir os custos e melhorar suas qualidades, reduzindo com isso perdas e desperdícios, mantendo melhor gosto, sabor, cor e textura.

Martin (1991) cita que, desde 1915, muitos pesquisadores, em diversos países do mundo, já tentaram obter uma polpa de abacate estável, utilizando-se diversos métodos de preservação tais como a pasteurização, secagem, extração de óleo, congelamento, liofilização, etc.

4.6.1 Conservação pelo frio

Segundo Silva (2000), temperaturas baixas são utilizadas a fim de retardar as ações enzimáticas e químicas e também retardar ou mesmo inibir o crescimento e atividade microbiana nos alimentos. A conservação pelo frio pode ser realizada através do resfriamento seguido de armazenamento refrigerado e por congelamento, o qual deve ser armazenado congelado. Sendo assim, a aplicação do frio deve ser feita o mais rápido possível, logo após a colheita e preparo do alimento até seu consumo. Relatou ainda que a refrigeração é empregada para a conservação e estocagem de alimentos por um curto período de tempo e, o congelamento, visa períodos maiores de estocagem, os quais são necessários quando a distribuição está distante das áreas de produção.

Segundo Neves Filho (2000), se a cadeia de frio for bem implantada, haverá o retardamento do envelhecimento do fruto, que colhido no ponto de maturidade adequado terá sua conservação garantida até o consumidor. Ele relata ainda que as frutas e hortaliças que são armazenadas em temperaturas baixas que não causam injúria pelo frio diminuem consideravelmente a taxa respiratória e a ação por microrganismos, enzimas e reações químicas, proporcionando maior tempo de conservação do alimento.

A qualidade inicial do produto, bem como manuseio e método de resfriamento utilizado influenciam na qualidade final do produto (CORTEZ *et al.*, 2002; THOMPSON, 2002). A conservação da qualidade do produto ao longo da cadeia de

distribuição de frutas e hortaliças são aspectos fundamentais em um sistema de comercialização, já que o produto estudado é bastante sensível às mudanças indesejáveis de temperatura e umidade. Essas alterações podem não ser notadas externamente, porém serão observadas através das mudanças de sabor, textura e outras qualidades inerentes ao produto (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

O armazenamento em baixas temperaturas vem sendo considerado como um dos métodos mais eficientes para se manter a qualidade de produtos hortifrutícolas, pois reduz a respiração, transpiração, produção de etileno responsável pelo amadurecimento, senescência e podridões (HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y., 1986 apud KLUGE *et al.*, 1999).

Outra forma usada para o armazenamento de produtos é o congelamento, que possui uma fase transitória rápida, chegando a temperaturas que variam entre 0, -15 e -18°C (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). Existem para tanto, duas formas de congelamento: o congelamento lento, que é um processo demorado, levando de 3 a 12 horas, quando a temperatura vai decrescendo gradativamente até chegar ao valor desejado, com a formação de cristais grandes de gelo no interior da célula, principalmente nos espaços intercelulares. O congelamento rápido ocorre pela queda brusca da temperatura, levando até no máximo 2 horas, com formação de pequenos cristais de gelo principalmente no interior da célula.

O congelamento, segundo Ciabotti (2000 apud MATA; DUARTE; ZANINI, 2005), vem sendo um dos melhores métodos de armazenamento, pois o produto sofre mínimas alterações, preservando seu valor nutritivo e sensorial, bem como a qualidade microbiológica.

4.6.2 Conservação do guacamole

São poucas as literaturas sobre guacamole no Brasil, isso acontece em função do hábito de consumo do produto de origem, o abacate, que geralmente é batido com leite.

Martin (1991) relatou que um congelamento adequado permite a conservação da textura e do sabor do produto, praticamente sem sofrer alteração por mais

de um ano. Fala ainda que em temperaturas de pasteurização ou ainda mais elevadas permitem o desenvolvimento de sabores estranhos, afetando a qualidade organoléptica e também mudanças consideráveis na cor do produto.

Cruess, Gibson e Brekke (1951 apud STEPHENS, 1957), reportaram a dificuldade de se produzir produtos a partir do abacate devido às alterações de cor, sabor e textura, que são desenvolvidas pela própria fruta.

Segundo Lime (1969), a deterioração da polpa de abacate e de seus produtos industrializados é mais rápida em embalagens fechadas e sem vácuo e que são armazenadas em altas temperaturas. Esse autor realizou também experimentos com o guacamole liofilizado, concluindo que vários fatores interferem na vida de prateleira do produto liofilizado. Com isso, observou que produtos embalados em atmosfera de nitrogênio ou sob vácuo apresentam boas características de aroma e sabor após 48 semanas de armazenamento em temperatura de refrigeração à 5°C. Em temperatura de 20°C, pode ser considerado aceitável até a 16ª semana. Em temperaturas mais elevadas, em torno de 38°C, o produto apresentava alterações consideráveis após 3 semanas de armazenamento. Em estudos posteriores, Lime (1969) observou que o armazenamento em temperaturas de 20°C e 38°C, utilizando embalagens a vácuo não ocorria alterações significativas no teor de ácidos graxos e caroteno, durante 48 semanas de armazenamento.

Um problema no congelamento ocorre durante o descongelamento do produto, pois há a liberação de água com alteração de textura. Stephens *et al.* (1957) realizaram experimento utilizando aditivos como a farinha de arroz cerosa e alginato, a fim de reduzir ou prevenir a separação de água do guacamole encontrando proporções adequadas desses aditivos para um produto com característica adequada ao consumo.

4.7 Análise Sensorial

Dutcosky (1996) relatou que a análise sensorial é utilizada para medir, analisar e interpretar as características dos alimentos a partir da percepção pelos órgãos do sentido como visão, olfato, tato, audição e paladar. Devem fornecer suporte técnico para a pesquisa, industrialização, marketing e controle de qualidade.

Segundo o autor são muitas as aplicações da análise sensorial como controle das etapas de desenvolvimento de um produto novo, avaliação das alterações nas matérias-primas ou no processamento tecnológico sobre o produto final, redução de custos, seleção de nova fonte de suprimento, controle do efeito da embalagem sobre o produto acabado, controle de qualidade, estabilidade durante o armazenamento, avaliação do nível de qualidade do produto e teste de mercado.

As análises sensoriais são muito positivas em relação à garantia de qualidade, pois são medidas multidimensionais integradas possuindo vantagens como identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definirem características sensoriais importantes de um produto de forma rápida e ser capaz de identificar particularidades que não podem ser detectadas por outros processos analíticos relataram Muñoz; Civillege; Carr (1992).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Matéria prima

O presente trabalho foi desenvolvido com abacates da variedade Hass, tamanho médio, safra de 2005/2006, em estágio adequado de maturação, com frutos inicialmente armazenados sob temperatura de refrigeração que variou entre 7-12°C, por 12 horas a fim de retardar ou prevenir o escurecimento (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Os abacates foram fornecidos pela empresa Jaguacy, localizada no município de Bauru, interior de São Paulo. Os demais ingredientes como molho de pimenta, sal, limão, cebola e tomate foram obtidos em supermercados.

A higienização dos abacates, tomates, cebolas e limões foram realizados com uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, por aproximadamente 20 minutos. O molho de pimenta foi comprado pronto e o suco de limão foi extraído durante o processamento.

A manipulação da salada guacamole foi realizada por equipe de alunas do curso de Nutrição, que trabalharam seguindo as Boas Práticas de Fabricação, usando toucas e máscaras e realizando lavagem das mãos a cada 20 minutos com sabonete bactericida. Os utensílios de corte também foram lavados quando se mudava de ingredientes.

5.2 Processamento

O preparo do guacamole foi realizado no Laboratório de Dietética e Nutrição (Figura 2) situado no Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, distrito de Rubião Junior. O laboratório onde foi desenvolvido o presente trabalho apresenta equipamentos de aço inox, como pias e bancadas, utensílios apropriados para manipulação e fabricação de produtos, chãos e paredes de azulejos e equipamentos de alta tecnologia para fabricação de alimentos congelados ou não.

Os frutos em estágio adequado de maturação foram selecionados para o processamento do guacamole, seguindo o esquema apresentado na Figura 1.

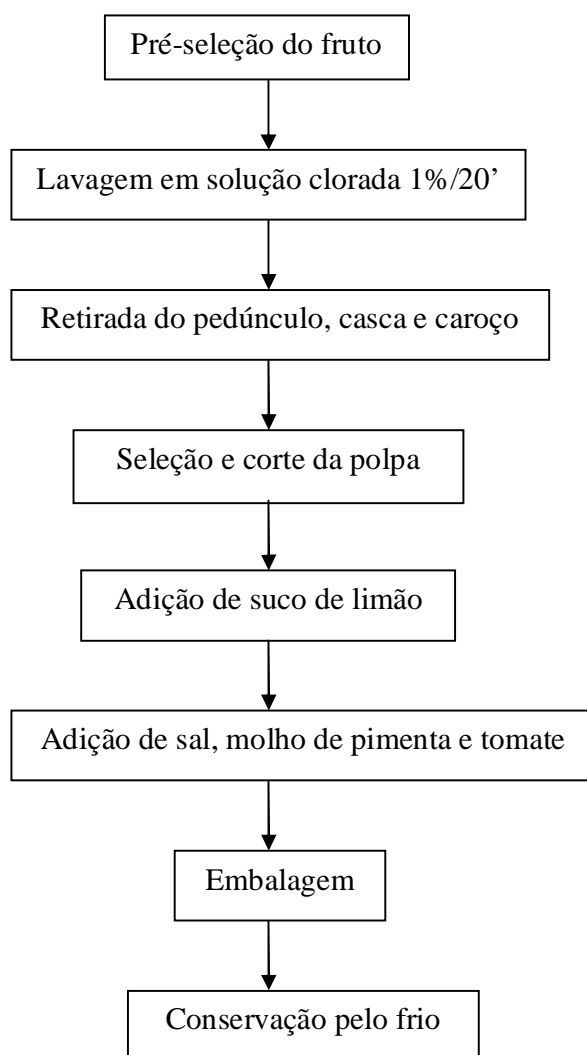


Figura 1: Fluxograma de processamento do guacamole

A receita utilizada para a produção de guacamole foi a seguinte: 500g de abacate, 35mL de suco de limão, 1 colher de sopa de molho de pimenta, 15g de cebola, 70g de tomate e 1 colher de sobremesa de sal.

5.3 Tratamentos

Após o preparo do guacamole, porções de 25g para análises microbiológicas e 200g para as análises sensoriais foram armazenadas em sacos de polietileno e embalagens com barreira a gases, irradiadas com a dose máxima de 10 KGy, feita pela empresa EMBRARAD, situada no município de Cotia-SP. Em seguida, foram submetidos à refrigeração em BOD à temperatura de 4°C, congelamento lento realizado em freezer doméstico à temperatura de -18°C e congelamento rápido feito no equipamento IRINOX – refrigerador HCFC 22 à temperatura de -18°C, conforme esquema apresentado na Figura 2.

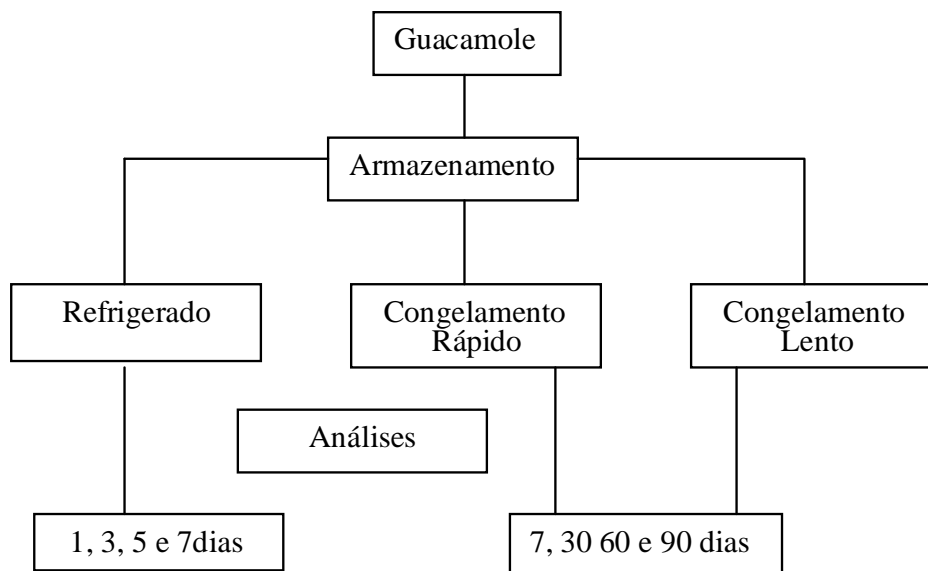


Figura 2: Armazenamento do guacamole.

Para o tratamento refrigerado, foram realizadas análises microbiológicas e sensoriais nos tempos zero, 1, 3, 5 e 7. Nos congelamentos lento e rápido, foram realizadas análises nos tempos 7, 30, 60 e 90 dias após armazenamento.

Foi avaliado também o tipo de embalagem utilizada como polietileno, polietileno e nylon sem vácuo e polietileno e nylon com vácuo. As embalagens a vácuo foram seladas em seladora a vácuo modelo AP 500 (TecMaq).

5.4 Análises Microbiológicas

Transcorrido os tempos de armazenamento, foram realizadas análises microbiológicas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu.

As análises foram realizadas segundo a American Public Health Association (APHA, 2001) e os parâmetros utilizados seguiram as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001.

Segundo essa resolução, o produto final deve apresentar-se isento de *Salmonella*, apresentar até 10^2 UFC/g de Coliformes termotolerantes, 10^3 UFC/g de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*. Além dessas análises, foram realizadas também a enumeração de Bolores e Leveduras e a pesquisa de bactérias mesófilas e psicrotóricas, bem como o tipo de tratamento e embalagem utilizada.

5.4.1 Preparo das amostras e diluições

Inicialmente 25 gramas do produto guacamole, foram homogeneizados em 225mL de água peptonada tamponada esterilizada, em saco plástico estéril apropriado, no Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos. A partir dessa diluição, 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais, utilizando-se tubos de ensaio contendo 9mL de solução salina estéril.

5.4.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes

Segundo Kornacki e Jonhson (2001), para realizar a determinação do número mais provável, alíquotas de 1mL da diluição inicial foram inoculadas em cada série de 3 tubos por diluição, os quais continham 10mL de caldo Lauril sulfato (Difco) com tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados à 35°C por 24-48 horas. Os tubos considerados positivos apresentavam-se turvos e com presença de gás no tubo de Durham invertido.

Em seguida, três alçadas de cada tubo positivo foram repicadas em tubos de ensaio contendo 10mL de caldo lactose bile verde brilhante (CLBVB-Difco) para a confirmação de presença de coliformes totais (CT) e outras três alçadas foram repicadas em tubos de ensaio com 5mL de caldo E.C. (Difco) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Todos os tubos de ensaio utilizados para CLBVB e EC continham tubos de Durham invertidos.

O CLBVB foi incubado em estufa à 35°C por até 48 horas e o caldo EC, em estufa BOD à 45°C por 24 horas. Após o período de incubação foram realizadas as leituras pela observação de turvação e presença de gás no interior do tubo de Durham invertido. A seguir, utilizando a tabela de Número Mais Provável (NMP), foram calculados os NMP de CT e termotolerantes por grama de amostra analisada.

5.4.3 Contagem Padrão de Microrganismos Mesófilos

Foi utilizada a técnica de semeadura em profundidade onde 1mL de cada diluição foi depositada em uma placa de Petri e, em seguida, foi adicionado um volume de aproximadamente 15mL, de ágar padrão (PCA-Oxoid) fundido e resfriado até atingir uma temperatura de aproximadamente 45°C. Após a homogeneização da amostra e solidificação, as placas foram incubadas em posição invertida, em estufa de 35°C por 48 horas (MORTON, 2001).

A contagem das UFC foi realizada com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec, nas placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o

número de UFC/g foi multiplicado pelo fator inverso da diluição da respectiva placa de contagem e o resultado foi expresso em UFC/g.

5.4.4 Contagem Padrão de Microrganismos Psicrotróficos

A contagem desses microrganismos foi realizada utilizando-se a técnica de semeadura em superfície (PCA-Oxoid), no qual foi depositado 0,1mL de cada diluição, espalhada por toda a superfície do ágar padrão com o auxílio de uma bastão de vidro em “L”, partindo-se da maior diluição. As placas foram incubadas a 7°C por 10 dias e em seguida realizadas as leituras das placas que apresentavam entre 25 e 250 UFC (MORTON, 2001)

5.4.5 Contagem de Bolores e Leveduras

Foi realizada a técnica de semeadura em superfície, onde um inóculo de 0,1mL de cada diluição foi depositado na superfície do ágar batata dextrose (Difco), acidificado com ácido tartárico 10% (pH 3,5). Após o período de incubação a temperatura ambiente por 5 dias foi realizada a contagem da placa que apresentava entre 15 e 150 UFC. O número de colônias contadas foi multiplicado por 10 e pelo fator inverso de diluição da respectiva placa e o resultado expresso em UFC/g (BEUCHAT; COUSIN, 2001)

5.4.6 Detecção da presença de *Salmonella*

Segundo Andrews *et al.* (2001), para a detecção da presença de *Salmonella*, 25 gramas da amostra de guacamole foram homogeneizados em 225mL de água peptonada tamponada estéril, em saco plástico estéril no Stomacher Lab Blender 400 por 30 segundos. Após esse período, o homogeneizado foi transferido para um erlenmeyer e incubado à 35°C por 24 horas. Em seguida, 1mL foi transferido para um tubo de ensaio contendo 10mL de caldo tetrionato (TT-Difco) ao qual foi adicionado um volume de 0,1mL de iodo-iodeto antes do uso. O tubo foi incubado em estufa à 35°C por 24 horas.

Outra alíquota, de 0,1mL, foi transferida para um tubo com 10mL de caldo Rapaport Vassiliadis (Difco) e este foi incubado em estufa à 42°C por 24 horas.

Após este período, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas de Petri contendo ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD-Difco) e placas contendo ágar bismuto sulfito (BS-MERCK). Em seguida as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas.

As colônias características de *Salmonella* foram isoladas e repicadas para tubos de ensaio contendo ágar tripticase soja inclinado (TSA-Oxoid), sendo estas consideradas as cepas estoques. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. A partir desse crescimento foram feitos repiques em tubos de ensaio contendo ágar tríplice açúcar ferro inclinado (TSI-Difco) e em tubos com ágar fenilalanina inclinado (Difco). Os tubos foram incubados em estufa à 35°C por 18-24 horas.

O teste de TSI positivo para *Salmonella* deve apresentar base amarela com ou sem produção de gás, evidenciada pela presença de bolhas e com ápice vermelho. Pode ocorrer também a produção de ácido sulfídrico (H₂S), tornando o meio enegrecido.

O teste de fenilalanina foi realizado adicionando-se algumas gotas de solução de cloreto férrico 10% sobre o crescimento, e observando a alteração ou não da cor do meio.

5.4.7 Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a enumeração dos *Staphylococcus* foi utilizado o método de semeadura em superfície, no qual 0,1mL da diluição 10⁻¹ da amostra de guacamole foi colocado em placa de Petri contendo ágar Baird-Parker (Difco) suplementado com 5% de telurito de potássio e solução de gema de ovo (Difco). A amostra foi espalhada com auxílio de bastão de vidro em “L”. Em seguida, as placas de Petri foram incubadas em posição invertida, a 35°C por 48 horas em estufa (LANCETTE; BENNETT, 2001).

Após incubação, foi realizada a contagem da placa que apresentava entre 25 e 250 colônias suspeitas, que apresentam cor negra, com ou sem halo e em seguida foram repicadas para tubos de TSA inclinado que foram encubados a 35°C por 24 horas.

Para o teste de produção de catalase, transferiu-se, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, uma porção do crescimento para uma lâmina de vidro. Em seguida adicionou-se uma gota de água oxigenada 3%. O teste positivo é revelado pela liberação de bolhas.

Em seguida foi realizada uma coloração de Gram para a visualização de cocos gram positivos em forma de cachos de uva, característico de *Staphylococcus*.

Após os testes iniciais, foi transferida uma porção do crescimento para tubo contendo caldo infusão de cérebro coração (BHI-Oxoid) e incubado em estufa a 35°C por mais 24 horas. Em seguida foi realizado o teste da coagulase em tubo, no qual um tubo contendo 250µL de plasma de coelho congelado foi adicionado 0,5mL do caldo BHI e incubado, observando a coagulação depois de 3, 6 e 24 horas. O teste é considerado positivo quando ocorre a coagulação do plasma.

5.4.8 Enumeração de bactérias do grupo *Bacillus cereus*

Foi realizada semeadura em superfície, onde 0,1mL da amostra foi depositada na superfície do ágar gema de ovo polimixina vermelho de fenol e espreada com uma alça em L. As placas foram incubadas por 24 horas à 35°C e, em seguida, foram contadas as placas que apresentaram entre 25-250 colônias características, sendo róseas e irregulares, com halo de precipitação, devido a ação da lecitinase. (BENNETT; BELAY, 2001).

5.5 Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada por um grupo de 20 degustadores não treinados e escolhidos aleatoriamente. Foram desenvolvidas fichas apresentando os fatores sensoriais considerados como importantes na aquisição de um produto, tais como aparência, textura, sabor, cor e aceitação. Para tal avaliação, utilizou-se de escala hedônica de 9 pontos, indicando para tanto o quanto os provadores gostaram ou desgostaram do guacamole (CHAVES; SPROESSER, 1999).

As amostras foram colocadas em pratos de plásticos e servidas aos consumidores com salgadinho Dippas. Foram colocados também copos com água para que o degustador pudesse entre uma degustação e outra, tirar o sabor para não haver mistura de gostos.

5.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo procedimento GLM (General Linear Models) do programa SAS (SAS Institute, 1991), o qual apresentou nível de significância de 5% para a contagem de microrganismos mesófilos, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e psicrotróficos.

Foi realizada análise de correlação simples para os parâmetros sensoriais avaliados e análise de agrupamento de dados, utilizando o programa Systat 8.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análise Microbiológica

Os coliformes totais e termotolerantes não apresentaram crescimento em nenhuma das amostras relacionadas aos dias de armazenamento e tipos de embalagens, com valores $<3,0$ NMP/g indicando boas condições higiênicas do guacamole, ficando em acordo com a resolução RDC 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA, que estabelece até 10^2 UFC/g para a presença de coliformes termotolerantes.

Estas análises apresentam-se em desacordo com Arvizu-Medrano et al (2001) e Adachi et al. (2002) que encontraram *E. coli* nas 29 amostras coletadas de vendedores de rua no México, caracterizando 60% das amostras contaminadas e 100% para as amostras coletadas em Guadalajara e 75% de contaminação nas coletadas em Houston, assinalando condições precárias na elaboração do produto.

De acordo com Cruz et al. (2001), ao analisar carambolas submetidas a tratamento com hipoclorito de sódio a 200ppm durante 15 minutos, e armazenadas sob refrigeração, constatou que esse tratamento foi eficiente para a pesquisa dessas bactérias apresentando valores $< 3,0$ NMP/g.

A investigação desse tipo de bactéria nos alimentos adverte sobre as qualidades higiênicas do produto, sendo a *E. coli* o único indicador apropriado de contaminação fecal, ressalta Franco e Landgraf (1996). Segundo esses autores, nos

alimentos processados, como é o caso do guacamole, a contaminação por essas bactérias pode incidir devido a um processamento inadequado, matéria prima contaminada, equipamento sujo e manipulação sem os cuidados de higiene.

Quanto à pesquisa de *Salmonella*, o guacamole se apresentou isento desse microrganismo em todos os períodos de armazenamento e tipos de embalagem, de acordo com a RDC 12. Arvizu-Medrano; Iturriaga; Escartín (2001) também relataram à ausência de *Salmonella* nas amostras coletadas de restaurantes e em somente uma amostra isolada a partir do alimento comercializado pelos vendedores de rua, visto que essa bactéria não é comum em vegetais frescos.

O *Staphylococcus* coagulase positiva não foi observado no produto em nenhum dos dias de armazenamento, embalagens empregadas e tratamentos realizados, com valores < 100 UFC/g, permanecendo em acordo com a resolução vigente da ANVISA. A atual pesquisa mostra-se em desacordo com Arvizu-Medrano; Iturriaga; Escartín (2001) que encontraram 6,7% de amostras contaminadas, oferecendo crescimento entre 10^3 e 10^5 UFC/g, sendo que o limite para que não aconteça uma gastroenterite é de 10^6 UFC/g.

Na pesquisa de *Bacillus cereus*, não houve crescimento desse microrganismo nos dias de armazenamento e embalagens utilizadas, com resultado de <100 UFC/g, estando o guacamole em acordo com a ANVISA, que estabelecem até 10^3 UFC/g para a presença dessa bactéria. A ausência dessa bactéria pode indicar uma boa higiene da matéria prima e eficácia da sanitização dos produtos, já que sua presença está relacionada com o solo e água de irrigação.

Não foram encontrados dados na literatura consultada sobre a pesquisa dessa bactéria em guacamole, no entanto ela tem sido isolada a partir de brotos de vegetais (HARMON; KAUTTER; SOLOMON, 1987; KIM *et al.*, 2004), em vegetais “in natura” (KANECO *et al.*, 1999; VALERO *et al.*, 2002), vegetais minimamente processados (KING *et al.*, 1991; KANECO, *et al.*, 1999) e em alimentos processados e refrigerados elaborados a base de vegetais (CARLIN *et al.*, 2000; CHOMA *et al.*, 2000; VALERO *et al.*, 2002; GUINEBRETIERE *et al.*, 2003).

Além disso, segundo Dufrenne *et al.* (1994), Carlin *et al.* (2000), Nissen *et al.* (2002), Guinebretière *et al.* (2003), Martinez *et al.* (2006) pesquisas realizadas têm mostrado a presença de *Bacillus cereus* em arroz, leite, molhos, sopas e produtos

cárneos. Alguns estudos realizados por Valero, M.; Hernández-Herrero, L. A.; Giner, M.J. (2007) apontaram a presença de *Bacillus cereus* em amostras de salada americana embaladas e refrigeradas, sendo detectadas em 8,3% das amostras com valores de 5×10^3 UFC/g de alimento.

A presença de bactérias mesófilas é um indicativo de condições higiênicas dos alimentos, relataram Franco e Landgraf (1996). Segundo esses autores, a presença em números elevados dessas bactérias no alimento pode indicar o uso de matéria prima contaminada ou processamento inadequado.

A Tabela 1 apresenta os resultados da enumeração de bactérias mesófilas (UFC/g) realizadas nas amostras de guacamole armazenado sob refrigeração (4°C), congelamento lento e congelamentos rápidos (-18°C) e acondicionados em embalagens de polietileno, polietileno com nylon e vácuo e polietileno com nylon sem vácuo em diferentes períodos de armazenamento.

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas de bactérias mesófilas (UFC/g).

Embalagem	Dias Armazenamento	Tratamentos		
		Refrigerado	Congelamento Lento	Congelamento Rápido
Polietileno	1	$7,1 \times 10^1$	-	-
	3	$7,4 \times 10^1$	-	-
	5	$2,9 \times 10^1$	-	-
	7	$1,4 \times 10^1$	$4,4 \times 10^1$	$1,8 \times 10^1$
	30	-	$1,82 \times 10^2$	1×10
	60	-	$1,5 \times 10^3$	8×10
	90	-	$1,15 \times 10^3$	8×10
P+N+V	1	$1,4 \times 10^2$	-	-
	3	$5,5 \times 10^1$	-	-
	5	$3,9 \times 10^1$	-	-
	7	$1,1 \times 10^1$	$3,4 \times 10^2$	9×10
	30	-	$1,85 \times 10^2$	1×10
	60	-	$2,09 \times 10^2$	9×10
	90	-	$2,6 \times 10^1$	9×10
P+N SV	1	$8,8 \times 10^1$	-	-
	3	$3,6 \times 10^1$	-	-
	5	$6,3 \times 10^1$	-	-
	7	8×10	$1,29 \times 10^3$	$1,1 \times 10^1$
	30	-	$7,8 \times 10^1$	3×10
	60	-	$1,62 \times 10^2$	4×10
	90	-	2×10^1	4×10

Legenda: P+N+V: Polietileno + Nylon com vácuo; P+N SV: Polietileno+Nylon sem vácuo

Considerando os dados obtidos na atual pesquisa, observa-se que o número de bactérias mesófilas não sofreu aumento quando o guacamole foi armazenado sob refrigeração demonstrando valores de 10^1 UFC/g, não apresentando diferença estatística, sendo constante para todos os tipos de embalagem e períodos de armazenamento. A pesquisa dessas bactérias em guacamole não é relatada pela literatura, no entanto, segundo Megale (2002), em estudos realizados com manga, observou que o número de bactérias mesófilas aumentou quando a fruta foi armazenada sob refrigeração.

Quando submetido ao congelamento lento, o guacamole não apresentou diferença estatística entre as embalagens e períodos de armazenamentos, entretanto biologicamente observou-se que quando acondicionado em embalagem de polietileno, este aumenta gradativamente com o transcorrer dos dias de armazenamento, apresentando resultados que variaram entre 10^1 e 10^4 UFC/g. Já para a embalagem de polietileno com nylon e vácuo, não foi observado aumento no número de bactérias, com valores entre 10^1 e 10^2 UFC/g.

Na embalagem de polietileno com nylon sem vácuo, observaram-se algumas discrepâncias em relação ao 7º dia de armazenamento e os demais, podendo assinalar uma provável contaminação de manipulação no preparo do produto, na hora do processamento de envase do guacamole ou quando procedeu a análise do mesmo.

Ao ser armazenado sob congelamento rápido, o número de bactérias mesófilas não sofreu alteração, permanecendo invariável para todas as embalagens e períodos de armazenamento, caracterizando concordância com Megale (2002), quando as mangas foram armazenadas sob congelamento, não ocorrendo crescimento microbiano.

A Tabela 2 apresenta os resultados da pesquisa de bolores e leveduras (UFC/g) realizadas nas amostras de guacamole armazenado sob refrigeração (4°C), congelamento lento e congelamento rápido (-18°C) e acondicionadas em embalagens de polietileno, polietileno com nylon e vácuo e polietileno com nylon sem vácuo em diferentes períodos de armazenamento.

Tabela 2: Resultados das análises microbiológicas de bolores e leveduras (UFC/g).

Embalagem	Dias Armazenamento	Tratamentos		
		Refrigerado	Congelamento Lento	Congelamento Rápido
Polietileno	1	2×10^2	-	-
	3	2×10^2	-	-
	5	9×10^4	-	-
	7	$6,1 \times 10^4$	2×10^2	1×10^2
	30	-	2×10^2	1×10^2
	60	-	2×10^3	2×10^2
	90	-	$4,4 \times 10^2$	1×10^2
P+N+V	1	1×10^2	-	-
	3	3×10^2	-	-
	5	3×10^2	-	-
	7	2×10^2	1×10^2	1×10^2
	30	-	5×10^2	2×10^2
	60	-	1×10^2	2×10^2
	90	-	1×10^3	2×10
P+N SV	1	4×10^2	-	-
	3	4×10^2	-	-
	5	3×10^2	-	-
	7	$7,5 \times 10^2$	$1,8 \times 10^4$	9×10^2
	30	-	4×10^2	1×10^2
	60	-	4×10^2	1×10^2
	90	-	2×10^4	3×10

Legenda: P+N+V: Polietileno + Nylon com vácuo; P+N SV: Polietileno+Nylon sem vácuo

Por esta tabela observa-se que, quando o guacamole foi armazenado sob refrigeração, estatisticamente não houve alteração no crescimento, todavia biologicamente as análises indicaram uma contagem de 10^2 UFC/g nos tempos 1 e 3 dias de armazenamento sofrendo um aumento de 10^4 UFC/g nos períodos 5 e 7 dias de armazenamento.

Ao realizar a contagem de bolores e leveduras no tratamento com congelamento lento, as análises apontaram contagem que alterou de 10^2 nos períodos 7 e 30 dias de armazenamento para 10^3 UFC/g nos períodos 60 e 90 dias de armazenamento para as embalagens de polietileno. A embalagem de polietileno com nylon e vácuo manteve-se com resultados inalteráveis durante os 7, 30 e 60 dias de armazenamento deparando com valores de 10^2 UFC/g, sofrendo um pequeno acréscimo quando armazenada em 90 dias, atingindo 10^3 UFC/g.

Quando o produto foi embalado em polietileno com nylon e sem vácuo foi possível observar que as contagens variaram entre 10^2 e 10^4 UFC/g, conforme os dias de armazenamento, porém essas análises não apontaram diferença estatística em relação ao tempo de armazenamento e embalagens utilizadas.

Na ocorrência da pesquisa de bolores e leveduras no tratamento com congelamento rápido, as análises indicaram contagem de 10^2 UFC/g nos períodos de armazenamento e para todas as embalagens, não mostrando diferença estatística e biológica.

A pesquisa de bolores e leveduras em guacamole não é relatada na literatura, porém, de acordo com Megale (2002), esses microrganismos crescem com o avanço do período de armazenamento, sendo pouco presente ou até mesmo ausente quando submetido ao congelamento. A baixa contagem desses microrganismos é tradicional em alimentos frescos e congelados (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Tanto para o tratamento refrigerado como congelamento lento e rápido, ao analisar a contagem de bactérias psicotróficas que também avaliam a higiene, observou que a mesma não teve desenvolvimento em nenhum dos dias de armazenamento e tipos de embalagem, apontando resultado <100 UFC/g.

6.2 Avaliação Sensorial

A análise de correlação dos parâmetros sensoriais avaliados foram positivos, apresentando valores que variaram entre 0.212 à 1.000.

A Tabela 3 mostra a correlação existente entre os parâmetros aceitação, textura, cor, sabor e aparência.

Tabela 3: Correlação entre os parâmetros sensoriais

	ACEITAÇÃO	TEXTURA	COR	SABOR	APARÊNCIA
ACEITAÇÃO	1.000				
TEXTURA	0.331	1.000			
COR	0.212	0.629	1.000		
SABOR	0.659	0.558	0.587	1.000	
APARÊNCIA	0.297	0.381	0.270	0.364	1.000

Segundo Hair *et al.* (2005), o coeficiente de correlação é aquele que indica a força de associação entre duas variáveis métricas. O sinal + ou – indica a direção na qual a relação irá seguir. Este valor pode variar de -1 à +1, sendo que a correlação positiva indica uma perfeita relação entre os parâmetros utilizados, o zero mostra que não há relação e o valor -1 mostra uma relação negativa perfeita ou reversa.

A Figura 3 ilustra as correlações existentes nas análises conforme indicação da Tabela 3.

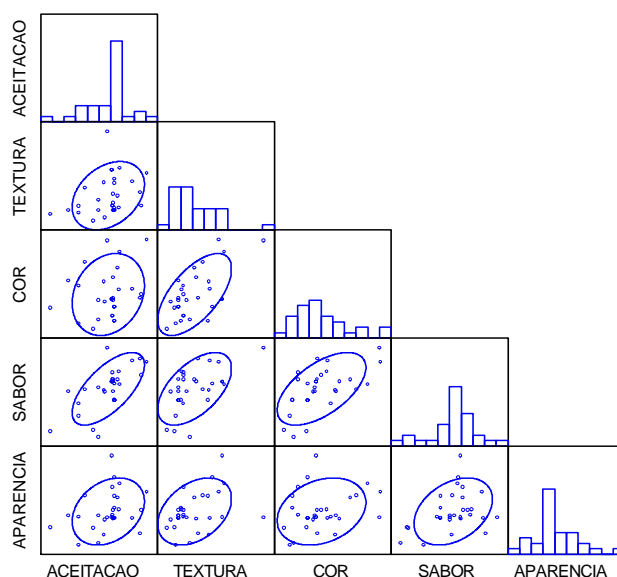


Figura 3: Correlação entre os parâmetros sensoriais.

Em relação à aceitação e aparência, houve uma correlação muito fraca entre esses parâmetros, o que indica que a compra de um produto depende bastante de visualização. Sabor e aceitação apresentaram boa correlação, mostrando que após provar um produto, sua aceitação é muito maior do que somente quando visualizado. Quando relacionada com a cor, a aceitação apresentou fraca correlação. Para a textura a correlação junto à aceitação também se mostrou baixa.

Com relação à textura, esta mostrou fraca correlação com a aparência, no entanto, pode demonstrar boa correlação com o sabor e a cor. A textura é um fator que sofre influência quando o produto é armazenado sob congelamento lento, pois formam cristais grandes de gelo e ao descongelar o produto, há liberação de água, o que interfere na textura. O congelamento rápido afeta menos a textura, pois forma cristais pequenos de gelo e, por isso, menor liberação de água ao descongelar.

Cor e aparência apresentaram um valor de correlação muito baixo, contudo, quando analisado junto ao sabor, a cor apontou uma boa correlação.

O sabor em relação à aparência indicou baixa correlação entre os dados obtidos, podendo indicar que uma avaliação pode ser baixa para aparência e melhor para sabor, nota-se a baixa correlação, porém positiva.

A análise de agrupamento dos dados permitiu separar em 6 grupos, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4: Grupos formados pelos valores mínimo, médio e máximo dos valores obtidos na avaliação sensorial.

	Grupo 1			Grupo 2			Grupo3		
	Min.	Méd.	Max.	Min.	Méd	Max.	Min.	Méd.	Max.
	TR1SV,TR1V,TR3V,TR7V, TCR7P,TCR7SV,TCR7V, TCL7V,TCL30P,TCL30V			TCR30P,TCR30SV, TCR30V,TCL90SV			TR5V,TCL7SV,TCL30SV, TCL60P,TCL60SV, TCL90P,TCL90V		
Aceitação	6.44	7.23	7.48	7.42	7.45	7.48	7.24	7.67	8.09
Textura	6.24	6.51	6.71	6.62	7.31	7.77	6.56	7.11	7.77
Cor	5.68	6.16	6.69	5.68	5.94	6.23	6.23	6.46	6.77
Sabor	7.03	7.40	8.00	7.14	7.57	7.78	7.45	7.95	8.43
Aparência	5.92	6.08	6.37	6.83	7.48	8.37	5.34	5.90	6.31

	Grupo 4			Grupo 5			Grupo 6		
	TCR90P,TCR90SV,TCR90V			TCL60V,TO			TR1P,TR3P,TR3SV,TCL7P		
	Min.	Méd.	Max.	Min.	Méd.	Max.	Min.	Méd.	Max.
Aceitação	6.81	7.32	7.60	7.32	7.77	8.21	6.03	6.70	7.12
Textura	6.94	7.32	7.83	7.67	8.34	9.00	6.13	6.42	6.81
Cor	7.02	7.20	7.42	7.70	7.71	7.72	5.48	5.70	6.01
Sabor	7.47	7.63	7.78	8.33	8.55	8.77	5.99	6.26	6.65
Aparência	6.76	6.97	7.30	6.00	6.49	6.99	4.94	5.30	5.62

Legenda:TR: tratamento refrigerado; TCL:tratamento congelamento lento ; TCR: tratamento congelamento rápido; P: embalagem polietileno; SV:embalagem nylon e polietileno sem vácuo ; V: embalagem nylon e polietileno com vácuo; 1,3,5,7, 30, 60 e 90: dias de análise.

Com base nos resultados obtidos nas análises sensoriais, a análise de agrupamentos teve como objetivo agrupar os parâmetros que obtiveram padrões semelhantes em relação as variáveis analisadas.

Entre os diversos métodos de agrupamento, foi escolhido o *método Ward* por minimizar as diferenças internas de grupos e para evitar problemas com a correlação das observações encontrados no método de ligação individual.

Os grupos 1, 2, 3 e 6, mostraram valores menores para os parâmetros sensoriais avaliados, enquanto que os grupos 4 e 5 apresentaram valores melhores nas análises. Isso pode ser observado através do agrupamento entre semelhantes valores obtidos durante a análise estatística usada.

O grupo 1 caracteriza-se como sendo o de maior agrupamento, no qual concentram-se os tratamentos de refrigeração nos tempos 1, 3 e 7 dias após armazenamento em embalagens com e sem vácuo. Encontram-se nele também algumas amostras do tratamento de congelamento rápido, no tempo 7 de estocagem, em embalagens de polietileno e polietileno e nylon com e sem vácuo. Pode-se notar ainda a presença do tratamento de congelamento lento no dia 30 de armazenamento, com a utilização de embalagem de polietileno e de vácuo.

No grupo 2, encontram-se os tratamentos de congelamento rápido, no 30º dia de armazenamento, para embalagens de polietileno e polietileno e nylon com e

sem vácuo. Observa-se também a presença de amostra no congelamento lento após 90 dias de armazenamento e uso de embalagem sem vácuo.

O grupo 3 também concentram-se a maioria das amostras avaliadas. Nele pode ser observada a presença do tratamento refrigerado após o 5º dia de armazenamento e embalagem com vácuo. Concentram-se além disso amostras do tratamento de congelamento lento, nos dias 7, 30, 60 e 90, com a utilização de embalagens sem vácuo, polietileno e com vácuo.

O grupo 4 mostra-se pequeno em relação aos demais e incorpora as amostras pertencentes ao tratamento de congelamento rápido, durante 90 dias de armazenamento e para as embalagens de polietileno e polietileno e nylon com e sem vácuo.

O grupo 5 é o que possui a menor concentração de amostras equivalentes porém as maiores e melhores médias, agrupando somente o tempo zero e o tratamento de congelamento lento, no dia 60 de estocagem e embalagem com vácuo

O grupo 6 apresenta amostras do tratamento de refrigeração, nos dias 1 e 3 de armazenamento, com embalagens tanto de polietileno quanto de polietileno e nylon sem vácuo. Nele encontra-se também uma amostra do tratamento de congelamento lento, no 7º dia de armazenamento e utilização de embalagem de polietileno.

A fim de tentar verificar o efeito das embalagens sobre as amostras os dados foram analisados formando dois grupos. O primeiro caracteriza-se por amostras com notas médias menores para os parâmetros sensoriais analisados. Neste grupo estão a maiorias das amostras que foram submetidas ao tratamento refrigerado ou que apresentavam embalagem somente de polietileno (sem barreira a gases).

O segundo grupo caracterizou-se por agrupar as amostras de congelamento rápido e lento, sendo a maioria com embalagem de polietileno e nylon, conseqüentemente, com barreira a gases. Este grupo proporcionou melhores notas para os parâmetros sensoriais avaliados pelos provadores.

A tabela 5 apresenta os valores máximos, médios e mínimos das notas dadas pelos provadores para as análises sensoriais.

Tabela 5: Valores mínimos, médios e máximos de notas para os parâmetros sensoriais.

	Grupo 1			Grupo 2		
	TR1P, TR1SV, TR1V, TR3P, TR3SV, TR3V, TR7P, TCR7P, TCR7SV, TCL7P, TCL30P, TCL30V, TCL60P			TR5V, TCR7V TCR30P, TCR30SV, TCR30V, TCR90P, TCR90SV, TCR90V, TCL7SV, TCL7V, TCL90SV, TCL30SV, TCL60SV, TCL60V, TCL90P, TCL90SV, TCL90V		
	Min.	Média	Máx.	Min.	Média	Máx.
Aceitação	6.03	7.03	7.48	6.81	7.53	8.09
Textura	6.13	6.54	7.37	6.47	7.23	9.00
Cor	5.48	6.08	6.69	5.68	6.48	7.70
Sabor	5.99	6.97	7.53	7.14	7.87	8.77
Aparência	4.94	5.77	6.37	5.39	6.57	8.37

Legenda: TR: tratamento refrigerado; TCL: tratamento congelamento lento; TCR: tratamento congelamento rápido; P: embalagem polietileno; SV: embalagem nylon e polietileno sem vácuo; V: embalagem nylon e polietileno com vácuo; 1, 3, 5, 7, 30, 60 e 90: dias de análise.

Destaca-se no grupo 2 a amostra de tratamento refrigerado analisada no quinto dia após o preparo do guacamole, mostrando efeito positivo da embalagem de polietileno+nylon sobre a conservação das características do produto.

Da mesma forma no grupo 1 estão amostras que apesar de congelamento rápido ou lento, possivelmente devido a embalagem de polietileno, tiveram a conservação prejudicada o que refletiu no resultado da análise sensorial.

A análise apontou grande efeito da embalagem com e sem barreira a gases, mas não demonstrou o efeito da embalagem com ou sem a formação de vácuo.

Não existem dados na literatura em relação à avaliação sensorial do guacamole submetido à refrigeração e congelamento, sem adição de aditivos, porém Flores *et al.* avaliaram uma pasta de abacate, elaborado com a variedade Hass e com aplicação de dois tipos de aditivos que evitam o escurecimento como ácido ascórbico e sulfito de sódio, após serem armazenado em refrigeração durante 1, 5, 10 e 15 dias. Observaram que a pasta de abacate (guacamole) conseguiu manter suas características sensoriais por até 10 dias, tanto para os tratados com ácido ascórbico quanto para os com sulfito de sódio.

Palou *et al.* (2000), ao analisar o guacamole submetido ao tratamento com alta pressão, tanto contínua como oscilatória, verificou que o mesmo não

tem suas características sensoriais alteradas, não apresentando, portanto diferença estatística entre os tratamentos contínuos e oscilatórios de alta de pressão.

7 CONCLUSÃO

- As amostras se apresentaram microbiologicamente estáveis;
- A produção segundo as Boas Práticas de fabricação e manipulação foi efetiva;
- As amostras foram bem aceitas;
- A correlação entre os parâmetros foi positiva, sendo fraca ou forte, podendo observar fraca correlação entre a aparência e os demais parâmetros;
- A cor é um fator que ainda precisa ser melhorado, já que o produto sofre rápido escurecimento.
- A textura apresenta problemas quando o guacamole sofre congelamento lento, pois formam cristais grandes de gelo o que interfere na textura.
- Os grupos que apresentaram as melhores notas foram os grupos pertencentes ao Tratamento de congelamento lento com vácuo no 60º dia de armazenamento e o tempo zero ;
- A separação em 2 grupos permitiu verificar o efeito da embalagem de polietileno+nylon;
- Pela análise realizada, não foi possível verificar o efeito da embalagem a vácuo.

De modo geral o produto foi bem aceito, existindo a possibilidade de comercialização. No entanto trabalhos ainda devem ser realizados para que se possa desenvolver um produto de melhor aparência e agrado ao consumidor.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, J. A. et al. Enteric pathogens in Mexican sauces of popular restaurants in Guadalajara, México, and Houston. **Brief Communication:** Texas, v. 136, n. 12, p. 884-887, 2002.

ANDREWS, W. H. et al. *Salmonella* In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington, DC: Apha, 2001. p. 357-380.

AHMED, E. M.; BARMORE, C. R. Avocado. In: NAGY, S.; SHAW, P.E.; WARDOWSKI, W.F. (Eds.) **Fruits of tropical and subtropical origin:** composition, properties and rises. Lake Alfred: AVI Publishing, 1990, p. 121-156.

ARVIZU-MEDRANO, S. M.; ITURRIAGA, M. H.; ESCARTÍN, E. F. Indicator and pathogenic bacteria in guacamole and their behavior in avocado pulp. **Journal of Food Safety,** Querato, México, v. 21, p. 233 – 241, 2001.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos:** São Paulo: Atheneu, 1998, 317 p.

BATES, R. P. The retardation of enzymatic browning in avocado pure and guacamole. **Proc. Fla. State Hort Soc.,** Gainesville, Flórida, n 81, p. 230 – 235, 1968.

BRASIL: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em 05/06/2006.

BERGDOLL, M. S. *Staphylococcal* food poisoning. In: M.P. Doyle and D.O. Cliver, (Eds.) **Foodborne Diseases** Academic Press: San Diego, 1990.

BENNETT, R.W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC: Apha, 2001. p. 311-316.

BEUCHAT, L.R.; COUSIN, M.A. Yeasts and moulds. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC: Apha, 2001. p. 209- 215.

BORBOLLA-SALA, M. E. et al. Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, leveduras y *Staphylococcus aureus* em Tabasco durante 2003, **Salud em Tabasco**: Tabasco, v. 10, n. 1-2, p. 221-232, 2004.

BLEINROTH, E. W.; CASTRO, J. V. DE. Matéria-prima. In: ___ **Abacate**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 1992, p. 58-147.

CANTO, W. L.; SANTOS, L. C.; TRAVAGLINI, M. M. E. **Óleo de abacate**: extração, usos e seus mercados atuais no Brasil e na Europa. Estudos econômicos. Campinas: ITAL, 1980, 144 p.

CARLIN, F. et al. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purées, **Food Microbiology**, França, v.17, p. 153–165, 2000.

CORRALES-GARCÍA, J. Experiências y problemática de la industrialización del aguacate. In: Seminario Internacional del Aguacate, 1991 Poscosecha y Comercialización. **Memórias...** México, 1991, p. 64-71.

CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: DF: EMBRAPA Hortaliças, 2002, 428p.

CHAVES, J. B. P., SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análises sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: UFV, 1999, p. 45 – 46. (Cadernos didáticos, 66).

CHITARRA, M. I. F., CHITARRA, A. B. **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.

CHOMA, C. et al. Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables, **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 617–625, 2000.

DUFRENNE, J. et al. Characteristics of *Bacillus cereus* related to safe food production, **International Journal Food Microbiology**., Bilthoven, v. 23, p. 99–109, 1994.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat. 1996. 123 p.

ESCARTÍN, E. F.; SALDAÑA, L. J.; RODRIGUEZ, G. O. Fate of Salmonella in salpicón, a mexican cold shredded beef salad. **Journal of Food Protection**, Queretaro, v. 56, p. 197 – 200, 1993.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 200 p.

FRANCISCO, V. L. F. dos. S.; BAPTISTELLA, C. da S. L. Cultura do abacate no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 35, n. 5, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS **Worlds avocado production in 2000**. Roma, 2004. Disponível em: <<http://apps.fao.org/htm>>. Acesso em: 2 Set. de 2006.

FRANCO, B. G. M .F; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

GARCÍA-VILLANOVA, R. B.; GALVEZ, S.; VARGAS, R. Contamination of fresh vegetables during cultivation and marketing. **International Journal Food Microbiologic**, v. 4, p. 285 – 289, 1987.

GAYET, J. P. et al. **Abacate para exportação**: procedimento de colheita e pós-colheita. Brasília, DF: FRUPEX, 1995. 37 p.

GUINEBRETIERE, M. H. et al. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini purée processing line. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 223–232, 2003.

GUIRRA NET RURAL. **Abacate**. 2004. Disponível em: <<http://www.guirra.com.br/az/abacate.htm>>. Acesso em: 10 set. 2006.

HAIR, J.F. et al. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HARDENBURG, R. E., WATADA, A. E.; WANG, C. Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist, and nursery stocks**. Washington, DC: USDA, 1986. 130 p. (Agriculture handbook, 66).

HARMON, S. M.; KAUTTER, D. A.; SOLOMON, H. M. *Bacillus cereus* contamination of seeds and vegetable sprouts grown in a home sprouting kit, **Journal of Food Protection**, v. 50, p. 62–65

IBGE: INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICO. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 10 set. 2006.

ITURRIAGA, M. H.; ARVIZU-MEDRANO, S. M.; ESCARTÍN, E. F. Behavior of *Listeria monocytogenes* in Avocado Pulp and Processed Guacamole. **Journal of Food Protection**, Queretaro, v. 65, n. 11, p. 1745-1749, 2002.

JABLONSKI, L. M.; BOHACH, G. A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTIVILLE, T. J. (Eds.) **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington, D.C: American Society of microbiology, 1997.

KADAN, S. S.; SALUNKHE, D. K. Avocado. In: — **Handbook of fruit science and technology**. Marcel Dekker: New York. 1995. p. 363-375.

- KANEKO, K. et al. Bacterial contamination of ready-to-eat foods and fresh products in retail shops and food factories, **Journal of Food Protection**, v. 62, p. 644–649, 1999.
- KIM, H. J.; LEE, D. S.; PAIK, H. D. Characterization of *Bacillus cereus* isolates from raw soybean sprouts, **Journal of Food Protection**, v.67, p. 1031–1035, 2004.
- KING, A. D.; MAGNUSSON, J. A.; TÖRÖK, T.; GOODMAN, N. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce, **Journal of Food Science**, v. 56, p. 459–461, 1991.
- KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC: Apha, 2001. p. 69-80.
- KLUGE, R. A. et al. Embalagens plásticas para pêssegos “flordaprince” refrigerados. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.4, p. 843-850, 1999.
- LANCETTE, G. A.; BENNETT, R. W. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus Enterotoxins*. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington, DC: Apha, 2001. p. 387-403.
- LAWRENCE, L. M.; GILMOUR, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in a Poultry processing environment and in poultry products and their rapid confirmation by multiplex PCR. **Applied Environmental Microbiology**, v. 60, p. 4600-4604, 1994.
- LIME, B. J. Antioxidation of fatty acid lipids and carotene of freeze – dried avocado salad. **Food Technology**,... v. 23, n. 3, p. 569 – 572, 1969a.
- LIME, B. J. Preparation and storage studies of freeze – dried avocado salad. food salad. **Food Technology**, v. 23, n. 3, p. 317 – 320, 1969b.
- MADDEN, J. M. Microbial pathogens in fresh produce-the regulatory perspective. **Journal of Food Protection**, v. 55, p. 821-823, 1992.
- MADEIRA, M.; FERRÃO, M. E. M. **Alimentos conforme a lei**. Barueri: Mamoli, 2002, 443 p.

MARTIN, Z. J. de. et al. Processamento: produtos, características e utilização. In: TEIXEIRA, C.G. **Abacate**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2.ed. Campinas: ITAL, 1991.

MARTINEZ, S. et al. Effect of environmental parameters on growth kinetics of *Bacillus cereus* (ATCC 7004) after mild heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 2, p. 223-227, 2007.

MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; ZANINI, H. L. H. T. Calor específico e densidade da polpa de cajá (*Spondias lútea* L.) com diferentes concentrações de sólidos solúveis sob baixas temperaturas. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, ago. 2005.

MEDINA, J. C. et al. **Abacate**: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: ITAL, 1978. p. 212.

MEGALE, J. **Influência do estágio de maturação e da condição de armazenagem em parâmetros sensoriais, químicos e microbiológicos de manga cultivar Palmer, semi-processada**. Campinas, p. 74-76; 86-87, 2002.

MORTON, R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES F. P; ITO, K. (Eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC: Apha, 2001. p. 63-67.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLEGE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. p. 240.

NETO, J. F. et al. **Avaliação da eficiência no uso dos equipamentos de refrigeração utilizados na conservação de frutas e hortaliças no entreposto terminal de São Paulo (CEAGESP)**. Campinas. 9 p.

NEVES FILHO, L. C. **Refrigeração e alimentos**. Campinas: UNICAMP-FEA, SP, 2000 322 p.

NISSEN, H. et al. Safety evaluation of sous vide-processed ready meals, **Applied Microbiology**, v. 35, p. 433–438, 2002.

OLIVEIRA, M. A. de. et al. Ceras para conservação pós – colheita de frutos de abacateiro cultivar Fuerte armazenado em temperatura ambiente. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 4, p. 777 – 780, 2000.

ORTIZ, A. et al. **Obtención de una pasta de aguacate mediante tratamiento térmico.** In: WORLD AVOCADO CONGRESS, 5. Congreso Mundial del Aguacate, 2003, p. 761 – 768.

PALOU, E. et al. High pressure-processed guacamole. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 1, p. 69-75, 2000.

PAS: Programa Alimento Seguro. SEBRAE. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>
Acesso em: 05 jun. 2007.

REBOLLO, A. J. G. et al. Effects of consumption of meat product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the Iberian pig) on plasma lipids. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 18, p. 743-750, 1998.

ROBERTS, D.; WATSON, G. N.; GILBERT, R. J. Contamination of food plants and plant products with bacteria of public health significance. In: RHODES-ROBERTS, M. E.; SKINNER, F. A. (Eds.) **Bacteria and plants.**: London: Academic Press, 1982, p. 169–195.

SILVA, J. A. **Tópicos de tecnologia de alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2000. p. 5 – 12, 25.

SILVA JUNIOR, E. A. da. **Manual de controle higiênico – sanitário em alimentos**, São Paulo: Livraria Varela, 2002. 479p.

SHANK, F. R. et al. U.S. position on *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Control**, v. 7, p. 729-734, 1996.

SOARES, S. E.; MANCINI FILHO, J.; DELLA MODESTA, R. C. Sensory detection limits of avocado oil in mixtures with olive oil. **Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 32, n. 5, p. 509-516, 1992.

STEPHENS, T. S.; LIME, B. J.; GRIFFITHS, F. P. Preparation of frozen avocado mixture for guacamole. Proceedings of the Rio Grande Valley, **Horticultural Society**, v. 11, p. 82 – 89, 1957.

STEPHENS, T. S., LIME, B. J., GRIFFITHS, F. P. The effect of thickening agents in reducing the watery separation of frozen and thawed guacamole products. Proceedings of the Rio Grande Valley **Horticultural Society**, v. 12, p. 81-87, 1958.

TEIXEIRA, C. G. et al. **Abacate**: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos. 2.ed. Campinas: ITAL, 1991.

THOMPSON, J. T. Storage systems. In: Kader, A.A.(ed.). Postharvest Technology of Horticultural Crops. University fo California: California. P. 113-122. 2002.

TURATTI, J. M; GOMES, R. A. R.; ATHIÉ, I. **Lipídios**: aspectos funcionais e novas tendências. Campinas: ITAL, 2002. 78 p.

VALERO, M. et al. Characterization of *Bacillus cereus* isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. **Food Microbiology**, v. 19, p. 491–499, 2002.

VALERO, M.; HERNANDÉZ-HERRERO, L. A.; GINER, M. J. Survival, isolation and characterization of a psychrotrophic *Bacillus cereus* strain from a mayonnaise-based ready-to-eat vegetable salad. **Food Microbiology**, v. 24, p. 671-677, 2007.

WALKER, G. C.; HARMON, L. G. The growth and resistance of *Staphylococcus aureus* in milk and broth substrates. **Journal of Food Science**, v. 30, p. 351-358, 1965.

WHITAKER, J. R. **Principles of enzymology for the food sciences**, 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1994.