

## **BOLORES E LEVEDURAS, COLIFORMES TOTAIS E FECAIS EM SUCOS DE LARANJA *IN NATURA* E INDUSTRIALIZADOS NÃO PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE UBERLÂNDIA –MG**

*MOLD AND YEAST, TOTAL AND FECAL COLIFORMS IN NATURAL AND ARTIFICIAL ORANGE JUICES SOLD IN UBERLÂNDIA –MG*

*Cristiane Silveira BRITO<sup>1</sup>; Daise Aparecida ROSSI<sup>2</sup>*

**RESUMO:** Considerando que no Brasil, o consumo de suco de laranja vem aumentando muito nos últimos anos e, que muitas vezes, eles são produzidos artesanalmente, o presente trabalho objetiva avaliar a qualidade microbiológica destes sucos. Foram analisadas trinta amostras de sucos de laranja, sendo quinze de sucos naturais e quinze de industrializados não pasteurizados. As análises microbiológicas demonstraram que 86,66% (13/15) dos sucos *in natura* e 40,00% (6/15) dos sucos industrializados não pasteurizados estavam em desacordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras quando os resultados foram comparados aos preconizados pela legislação brasileira. Coliformes totais e fecais foram encontrados apenas nos sucos *in natura*. Das amostras de sucos *in natura* analisadas, 6,67% (1/15) apresentaram contagens acima das permitidas para coliformes fecais. Os microrganismos analisados e as contagens obtidas indicam que os sucos analisados embora não sejam um risco direto à saúde pública como agentes de toxinfecções alimentares, demonstram que boas práticas devem ser implantadas e monitoradas durante a produção e manipulação desses alimentos.

**UNITERMOS:** Suco de laranja, Bolores e leveduras, Coliformes totais e fecais.

### **INTRODUÇÃO**

Sucos de frutas cítricas são alimentos ricos em vitaminas e outros nutrientes muito consumidos no Brasil e em diferentes partes do mundo. Nos últimos anos, devido principalmente à conscientização sobre as propriedades nutricionais das frutas e dos sucos naturais, o interesse do consumidor pelo suco fresco com pequena vida útil de prateleira vem aumentando (IHA et al., 2000).

Os sucos de frutas são muitas vezes produzidos artesanalmente e em estabelecimentos onde as condições higiênico-sanitárias de preparo nem sempre são adequadas (PEREIRA; LEITÃO, 1989). Uma grande variedade desses produtos é ofertada ao mercado consumidor, porém, na maioria das vezes, o produto não reflete a qualidade esperada (HOLFFMANN; BUENO; VINTURIM, 2001).

O trato gastrointestinal do homem e dos animais, rico em microrganismos, em quantidade e variedade, é uma das principais fontes de agentes patogênicos. Em condições precárias de higiene, esses microrganismos entéricos podem contaminar as mãos dos manipuladores e, conseqüentemente, os alimentos por eles preparados. A higienização inadequada de equipamentos e utensílios constitui outro fator relevante de risco, favorecendo a contaminação cruzada, cuja fonte pode ser a matéria-prima, o ar, a poeira e o próprio manipulador (GERMANO et al., 2000).

Alguns cuidados rigorosos devem ser tomados no sentido de preservar sucos de frutas que, pela sua própria natureza, são facilmente perecíveis. No caso particular dos sucos de frutas naturais, as alterações químicas, enzimáticas e microbianas podem provocar modificações de odor, sabor e consistência, principalmente se forem

<sup>1</sup> Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Uberlândia - Mestranda do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia.

<sup>2</sup> Professora, Doutora, Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Universidade Federal de Uberlândia.  
Received 11/05/04 Accept 19/09/04

mantidos a temperaturas superiores à 5°C (FURLANETTO et al., 1982).

Acreditava-se que a característica ácida dos sucos de frutas cítricas (pH 4,5) exercia um efeito letal sobre as células de microrganismos indicadores e patogênicos. Entretanto, foi constatado a sobrevivência de coliformes fecais e outras enterobactérias em sucos de frutas e outros substratos ácidos. Assim, a presença de patógenos enterais nesse tipo de substrato pode representar um perigo potencial à saúde do consumidor. Os agentes bacterianos entéricos que geralmente produzem síndromes diarréicas alimentares são a *Salmonella* sp, *Shigella* sp e a *Escherichia coli* (PEREIRA; LEITÃO, 1989).

Dentre os microrganismos envolvidos na contaminação de alimentos ácidos, as leveduras são consideradas agentes potenciais de deterioração. Algumas delas apresentam metabolismo respiratório, oxidando diferentes substratos, particularmente carboidratos. Essas leveduras normalmente não são produtoras de gases e apresentam crescimento restrito às superfícies dos meios (formação de película), não se desenvolvendo em condições de anaerobiose (HOLFFMANN; BUENO; VINTURIM, 2001).

A presença de coliformes é o melhor indicativo de deficiência na higiene no preparo dos alimentos. De acordo com Siqueira (1995), os coliformes classificam-se em dois grupos, os coliformes totais e os coliformes fecais, que são rotineiramente utilizados como microrganismos indicadores para avaliar as condições higiênicas dos alimentos.

A pesquisa de coliformes fecais ou de *E. coli* nos alimentos fornece com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos, sendo, utilizado como microrganismo indicador de contaminação fecal (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Considerando que saúde e alimentação estão estritamente relacionadas, este estudo possuiu como objetivos verificar e quantificar bolores e leveduras, coliformes totais e coliformes fecais em sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados comercializados na cidade de Uberlândia – MG; assim, como, comparar os resultados obtidos com os padrões estabelecidos pela legislação em vigor.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sucos de laranja *in natura* e industrializadas não pasteurizadas foram adquiridas no período de julho a setembro de 2003 na cidade de Uberlândia –MG.

Para coleta, foram selecionados cinco pontos de venda para os sucos *in natura* e cinco marcas para os industrializados não pasteurizados, os quais foram adquiridos com datas de validade distintas. As amostras foram coletadas em 3 dias distintos (repetições), totalizando 30 parcelas. No momento da coleta, foram verificadas as condições da comercialização, como higiene do vendedor e local de venda, presença de rótulo, data de validade e cuidados com a refrigeração e os resultados registrados. Após coleta, as amostras foram transportadas em caixa isotérmica ao Laboratório de Biotecnologia Animal da FAMEV/UFU, onde foram analisadas.

## Análises

Imediatamente à chegada ao laboratório, uma alíquota foi retirada assepticamente de cada suco para mensuração pH e da temperatura. Em seguida, as amostras foram submetidas às análises microbiológicas de coliformes totais, coliformes fecais, bolores e leveduras.

Para a quantificação dos coliformes totais e fecais foi utilizada a técnica do NMP (número mais provável) segundo protocolo da ABNT (1991) descrito por Silva et al. (1987). O enriquecimento não seletivo foi realizado em caldo lactosado com tubos de Duhran incubados a 35°C/48 horas. A confirmação (presença de gás nos tubos de Duhran) foi realizada em caldo verde brilhante e caldo E.C. (ambos com tubo de Duhran) incubados à 35°C e 45°C/ 48 horas, para coliformes totais e fecais respectivamente. Os resultados foram registrados como NMP/mL de coliformes fecais e totais.

Para a quantificação dos bolores e leveduras, as amostras foram inicialmente submetidas a diluições decimais em água peptonada tamponada. O método utilizado para contagem foi o método de plaqueamento em profundidade em ágar batata dextrose (PDA) acidificado até pH 3,5, com incubação à 25°C/5 dias. Os resultados obtidos foram multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e registrados como unidades formadoras de colônias por mililitro da amostra - UFC/mL (ABNT, 1987).

## Análise dos resultados

Os resultados das contagens foram comparados aos padrões preconizados pelo Ministério da Saúde, com a literatura e com as condições observadas no preparo e comercialização.

Para a análise estatística foi aplicado o teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade, visando verificar a presença ou não de diferenças significativas nos resultados

encontrados das categorias de sucos analisados (*in natura* e industrializado não pasteurizado) (SAMPAIO, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Temperatura, pH e características dos estabelecimentos

Nos sucos *in natura* o pH variou de 3,0 a 4,24 e a temperatura de 9,7°C a 10,3°C, já nos industrializados não pasteurizados, o intervalo foi de pH 1,78 a 3,07 e a temperatura de 10°C a 10,6°C. Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,01$ ) quando a temperatura e o pH foram comparados entre as amostras de uma mesma categoria (*in natura* ou industrializado). Porém, o pH médio foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) nas amostras industrializadas quando comparadas à média de pH das amostras *in natura*.

O baixo pH dos sucos industrializados deve-se à adição de acidulantes e conservantes, tais como o ácido cítrico (INS 330), benzoato de sódio (INS 211), metassulfito de sódio (INS 202) e sorbato de potássio (INS 223). O uso desses aditivos objetiva retardar a deterioração dos sucos, com conseqüente aumento na vida de prateleira. A presença dos aditivos estava devidamente relacionados nos rótulos.

Os sucos industrializados não pasteurizados, apesar de armazenados em refrigerador, apresentaram temperaturas superiores às ideais (próximas a 4°C), provavelmente, pela alta frequência de abertura dos refrigeradores.

Durante a aquisição das amostras dos sucos *in natura* foi observado que em 60% (9/15) dos locais visitados, os sucos eram preparados perante o cliente, sendo que apenas em um dos estabelecimentos, os manipuladores lavaram as mãos antes de extrair os sucos e usavam máscaras durante o preparo.

Apesar de todas as marcas de sucos industrializados apresentarem rótulos onde constavam a data de validade e a presença dos aditivos, foi observado que em um dos estabelecimentos visitados, havia sucos nos refrigeradores com datas de validade já ultrapassadas. Esse fato reforça a importância da informação constante ao consumidor quanto a observação do rótulo de produtos alimentícios.

A higiene dos estabelecimentos aparentemente estavam adequadas. Em geral, os locais de preparo dos sucos estavam limpos, não foi observada a presença de insetos e/ou roedores no recinto e os utensílios apresentavam boas condições de limpeza e de conservação. Entretanto, a lavagem das frutas antes da extração do suco não foi observada em nenhum dos estabelecimentos. Todas essas características foram apenas observadas nas visitas e podem não refletir as condições reais dos estabelecimentos.

### Análises microbiológicas

Os resultados obtidos nas contagens de bolores e leveduras nos sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados foram comparados aos padrões preconizados pelo Ministério da Saúde (Tabela 1).

**Tabela 1.** Contagens de bolores e leveduras de sucos de laranja *in natura* e industrializados não pasteurizados comercializados de julho a setembro de 2003 em Uberlândia-MG, comparados aos padrões preconizados pela legislação brasileira<sup>1</sup>.

Tipo de suco	Apresentaram contagens (%)	Acima dos padrões (%)
<i>in natura</i>	100,00 (15/15)	86,66 (13/15)
Industrializado não pasteurizado	40,00 (6/15)	40,00 (6/15)

<sup>1</sup> máximo 10<sup>4</sup>/mL para sucos *in natura* e 20/mL para sucos industrializados não pasteurizados (BRASIL, 1997).

As amostras com contagens de bolores e leveduras acima das permitidas pela legislação foram menores nos sucos industrializados não pasteurizados 40% (6/15) quando comparados aos sucos *in natura* 86,66% (13/15). Provavelmente, devido a presença de acidulantes e conservantes. Os aditivos, embora contribuam para o controle microbiano, obrigatoriamente, não indicam uma higienização adequada na produção.

Os resultados obtidos por Ruschel et al. (2001), que avaliaram 52 amostras de sucos de laranja *in natura* na cidade de Porto Alegre-RS para bolores e leveduras foram menores que os obtidos nos sucos coletados em Uberlândia. Os autores observaram que 44,23% das amostras apresentaram resultados inadequados.

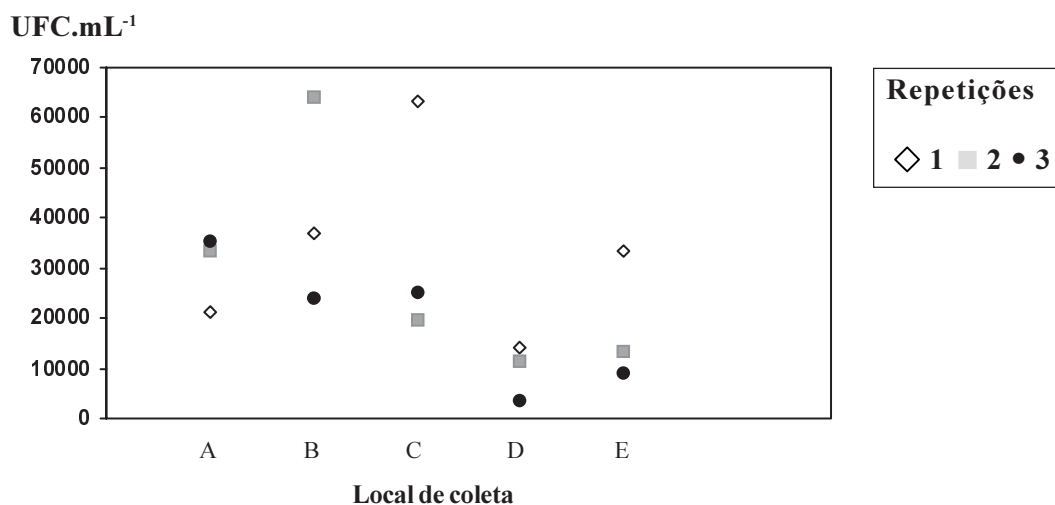
Furlanetto et al. (1982) analisaram 100 amostras de sucos de laranja *in natura* em 10 lanchonetes e

restaurantes da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira, da USP, quanto à ocorrência de bolores e leveduras. Foram isolados *Cladosporium*, *Phoma*, *Rhizopus* e *Mucor*, sendo os quatro primeiros mais freqüentes, sendo identificadas leveduras pertencentes aos gêneros *Torulopsis*, *Cândida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Pichia* e *Kloeckera*, sendo três primeiros os mais freqüentes.

Apesar de Ruschel et al. (2001) afirmarem que a contaminação por bolores e leveduras em sucos de laranja não envolvam demasiados riscos à saúde humana por não

serem os meios ideais para a produção de micotoxinas, Sheidegger; Pietrzak; Frei (1993) sugerem cuidados, visto que esses produtos podem ser fontes de severas infecções por *Candida albicans* em pessoas imunodeprimidas.

As contagens de bolores e leveduras, neste estudo, variaram entre  $9,0 \times 10^3$  UFC.mL<sup>-1</sup> a  $6,4 \times 10^4$  UFC.mL<sup>-1</sup> nos sucos *in natura* (Figura 1) e  $6,4 \times 10^1$  UFC.mL<sup>-1</sup> a  $4,0 \times 10^2$  UFC.mL<sup>-1</sup> nos industrializados não pasteurizados (Tabela 2). Esses resultados sugerem problemas relacionados com a limpeza das frutas antes de serem espremidas ou a higienização das máquinas extratoras.



**Figura 1.** Contagem de bolores e leveduras (UFC.mL<sup>-1</sup>) de sucos de laranja *in natura* comercializados de julho a setembro de 2003 em Uberlândia –MG.

**Tabela 2.** Contagem de bolores e leveduras de sucos de laranja industrializados não pasteurizados comercializados de julho a setembro de 2003 em Uberlândia-MG.

Marca	Bolores e leveduras (UFC.mL <sup>-1</sup> )		
	Repetição		
	1	2	3
A	$4,0 \times 10^2$	0	0
B	0	0	$1,1 \times 10^2$
C	0	0	0
D	$1,0 \times 10^2$	0	$4,0 \times 10^2$
E	$1,0 \times 10^2$	$6,4 \times 10^1$	0

\* amostras acima dos padrões preconizados pela legislação (máximo 20/mL) – (BRASIL, 1997).

De acordo com a legislação brasileira, a contagem máxima de coliformes fecais toleradas em sucos de laranja *in natura* é de  $10^2$  UFC/mL, não existindo padrão para os industrializados. Coliformes totais devem estar

ausentes em 50mL dos sucos industrializados não pasteurizados (BRASIL, 2001). A legislação não preconiza valores máximos para contagem de coliformes totais para sucos *in natura*.

Nesse estudo, nos sucos *in natura* foi verificado que em 6,67% (1/15) das amostras analisadas, a contagem estava acima das permitidas para coliformes fecais. Não foi verificada a presença de coliformes totais e de origem fecal nos sucos industrializados não pasteurizados.

Ruschel et al. (2001) analisaram 52 amostras de sucos de laranja *in natura* na cidade de Porto Alegre-RS e determinaram que 5,76% dessas amostras estavam inadequadas para o consumo quanto ao número de coliformes fecais.

A contaminação por coliformes totais e fecais nos sucos *in natura* pode ter origem na parte externa das frutas, nos equipamentos e utensílios deficientemente higienizados ou por meio de manipuladores. Esses últimos, geralmente são o maior potencial de risco, pois na

contaminação por esses grupos de microrganismos, a principal via é a via fecal-oral.

Quando observamos as contagens de coliformes obtidas por estabelecimento onde a coleta foi realizada (Tabela 3), podemos verificar o estabelecimento E foi o que mostrou maior adequação às exigências legais. Esse estabelecimento também era o único em que o manipulador utilizava máscaras, ressaltando, assim, a importância das boas práticas na manipulação e preparo de alimentos. Esse argumento é reforçado pelo fato de que no dia em que esse manipulador foi substituído por outro (coleta da 3<sup>o</sup> amostra nesse estabelecimento) foi o único dia em que o suco coletado apresentou contagem de coliformes totais. Foi observado também que o funcionário substituído não apresentava os mesmos hábitos de higiene observados anteriormente.

**Tabela 3.** Frequência de amostras de suco de laranja *in natura* que apresentaram contagens para coliformes totais e de origem fecal, Uberlândia – MG, 2003.

ESTABELECIMENTO	Coliformes totais (%)	Coliformes fecais (%)
A	100 (3/3)	0 (0/3)
B	100 (3/3)	0 (0/3)
C	100 (3/3)	33,33 (1/3)
D	100 (3/3)	0 (0/3)
E	33,33 (1/3)	0 (0/3)

Brandão et al. (1991) relatam que o atraso tecnológico da vigilância sanitária contém uma expressão muito significativa, que pode ser exemplificada através da prática, ainda muito difundida, de substituir a educação sanitária dos manipuladores de alimentos, por exames médicos e laboratoriais de rotina. Esse fato representa um alto custo social e absoluta ineficácia do ponto de vista epidemiológico.

A presença de coliformes fecais sugere a possibilidade de outros patógenos em um produto alimentício. A resistência à pH ácido apresentada por microrganismos como a *E. coli* O157:H7 já foi sugerida por Linton; McClements; Patterson (1999), como uma das causas de surtos envolvendo produtos ácidos como a cidra da maçã, levantando dúvidas sobre a segurança de sucos de frutas não pasteurizados.

Segundo Germano et al. (2000), calcula-se que

de 1 a 100 milhões de indivíduos no mundo contraem, anualmente, toxinfecções decorrentes do consumo de alimentos e de água.

É necessário para um efetivo controle das doenças de origem alimentar, que os estabelecimentos que produzem e manipulam alimentos obedeçam os padrões sanitários. O controle deve existir na aquisição da matéria prima, no armazenamento, no tratamento térmico adequado quando necessário, na higienização de utensílios e equipamentos e nas boas práticas de produção e manipulação. Todas estas etapas devem ser acompanhadas de educação sanitária, principalmente para os manipuladores.

Uma observação geral das amostras de suco *in natura* e industrializados não pasteurizados analisados e sua adequação ou não a legislação vigente pode ser observada na Tabela 4.

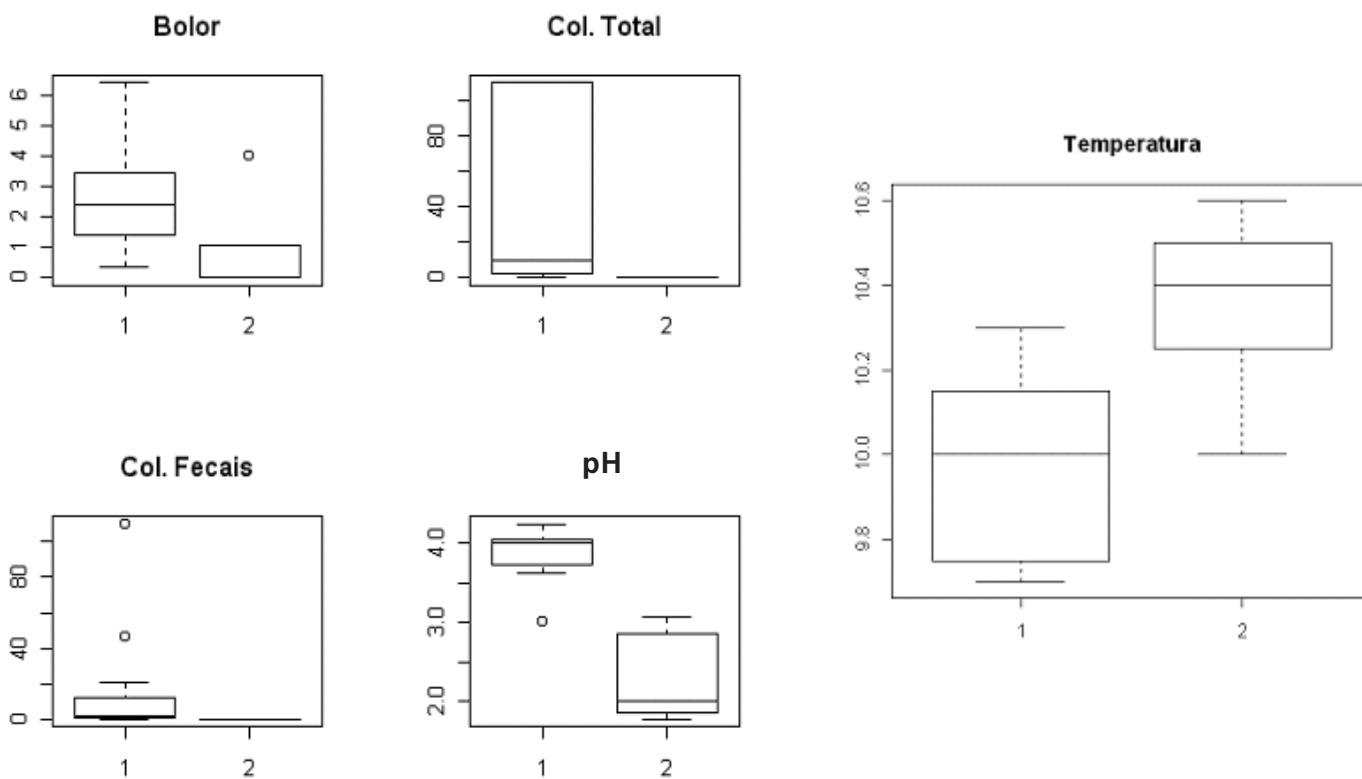
**Tabela 4.** Frequência de amostras de suco de laranja *in natura* e industrializado não pasteurizado de acordo com os valores permitidos pela legislação brasileira<sup>1</sup> para coliformes totais e fecais e bolores e leveduras.

Microrganismos	Suco <i>in natura</i> (%)	Suco industrializado (%)
<b>BOLORES E LEVEDURAS</b>		
Amostras adequadas		
Amostras inadequadas	13,34 (2/15)86,66 (13/15)	60,00 (9/15)40,00 (6/15)
<b>COLIFORMES FECAIS</b>		
Amostras adequadas		
Amostras inadequadas	93,33 (14/15)6,67 (1/15)	não possui padrão
<b>COLIFORMES TOTAIS</b>		
Amostras adequadas		
Amostras inadequadas	não possui padrão	100 (15/15)0 (0/15)

\* Bolores e leveduras: máximo 10<sup>4</sup>/mL para sucos *in natura* e 20/mL para sucos industrializados não pasteurizados (Brasil, 1997); coliformes fecais: máximo de 10/mL para *in natura* coliformes totais: ausente em 50 mL para sucos industrializados não pasteurizados (Brasil, 2001).

De acordo o teste de Wilcoxon, houve diferenças significativas ao nível de 1% entre os dois tipos de suco para todas as variáveis estudadas. Nas figuras a seguir estão apresentados os Box-plot das variáveis analisadas.

Exceto para a temperatura, todas as variáveis apresentaram valores medianos menores nos sucos industrializados não pasteurizados.



**Figura 2.** Representação gráfica da análise estatística.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os sucos industrializados apresentaram menores contagens e menor número de amostras em desacordo com a legislação.

As análises microbiológicas demonstraram que 86,66% (13/15) dos sucos *in natura* e 40,00% (6/15) dos sucos industrializados não pasteurizados estavam em desacordo com os padrões estabelecidos para bolores e leveduras quando os resultados foram comparados aos

preconizados pela legislação vigente. Coliformes totais e fecais foram encontrados apenas nos sucos *in natura*. Das amostras de sucos *in natura* analisadas, 6,67% (1/15) apresentaram contagens acima das permitidas para coliformes fecais.

A presença de coliformes totais e/ou fecais em amostras de suco *in natura*, embora não indique um risco potencial ao consumidor, demonstra a necessidade de implementação e monitoração de boas práticas em locais onde se produzem ou manipulam alimentos.

---

**ABSTRACT:** Considering that in Brazil the consume of orange juice is increasing in last few years, and most of the times these juices are handmade, this study is focused on the estimation on of the microbiology quality in this products. Thirty samples were analysed, fifteen natural juices and fifteen artificial juices. The microbiology analyses showed that 86,66% (13/15) of the natural juice and 40,00% (6/15) of the artificial juice weren't in accordance with the model established for the mold and yeast when the results were compared with the current legislation. Total and Coliforms fecal were meted only in the natural juice. From those samples of natural juice analysed, 6,67% (1/15) showed more numbers for the total coliforms. Although the results indicate that the juice analysed do not offer danger to the consumer's health, they show that it is necessary attention during the production and dealing of the aliments.

**UNITERMS:** Orange juice, Mold and yeast, Total and Coliforms fecal.

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos: determinação do número mais provável (NMP)**. Rio de Janeiro: ABNT, nov.1991.04 p. (MB3463).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Alimentos: contagem de bolores e leveduras em placas**. Rio de Janeiro: ABNT, set.1987.01p. (MB2750).

BRANDÃO, A. C. B. H.; BRANDÃO, A.A.H.; GERMANO, M.I.S.; GERMANO, P.M.L. Segurança alimentar nos estabelecimentos de consumo. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 5, n. 19, p. 20-21, out. 1991.

BRASIL. Portaria nº451 de 19 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico e princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II, III. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Ano CXXXV, nº 182, Seção I, p. 21005- 21012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 170, 1996.

FURLANETTO, S. M. P.; PAULA, C. R.; GAMBALE, W.; NASCIMENTO, D. Ocorrência de bolores e leveduras em sucos de laranja ao natural. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v. 13, n. 1, p. 31-34, jan./mar. 1982.

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L.; KAMEI, C. A. K.; ABREU, E. S.; RIBEIRO, E. R.; SILVA, K. C.; LAMARDO, L. C. A.; ROCHA, M. F. G.; VIEIRA, V. K. I.; KAWASAKI, V. M. Manipuladores de Alimento: Capacitar? É preciso. Regulamentar... Será preciso??? **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 18-22, nov./dez. 2000.

HOLFFMANN, F. L.; BUENO, S. M.; VINTURIM, T. M. Qualidade microbiológica de sucos de frutas “*in natura*”. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo. v. 15, n. 80/81, p. 59-62, jan./fev. 2001.

IHA, M. H.; FÁVARO, R. M. D.; OKADA, M. M.; PRADO, S. P. T.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, M. A.; GARRIDO, N. S. Avaliação físico-química e higiênico-sanitária do suco de laranja fresco e do pasteurizado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. Ribeirão Preto, n. 59, p. 39-44. 2000.

LINTON, M.; McCLEMENTS, J. M. J.; PATTERSON, M. F. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 3, p. 277-279. 1999.

PEREIRA, M. L.; LEITÃO, M. F. F. *Salmonella* e *Escherichia coli* em Sucos de Frutas e Outros Substratos Ácidos – Uma Revisão Sobre Injúria Bacteriana. **Revista de Farmácia e Bioquímica da UFMG**. Belo Horizonte, v. 10, p. 67-80, 1989.

RUSCHEL, C. K.; CARVALHO, H. H.; SOUZA, R. B.; TONDO, E. C. Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Sucos de Laranja Comercializados nas Vias Públicas de Porto Alegre/ RS. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. Campinas, v. 21, n.1, p. 94-97, jan./abr. 2001.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1997, p.295.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1995. 159p.

SHEIDEGGER, C.; PIETRZAK, J.; FREI, R. Methadone diluted with contaminated orange juice or raspberry syrup as a potential source of disseminated candidiasis in drug abusers. **European Journal Clinical Microbiology Infection and Disease**, v. 12, p. 229-231, 1993.