

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

UTILIZAÇÃO DA TECNOLOGIA DOS MÉTODOS COMBINADOS
NA CONSERVAÇÃO DO LEITE DE COCO

Jorge Minoru Hashimoto

Engenheiro Agrônomo

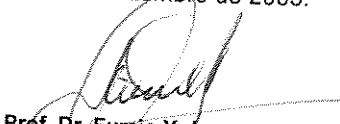
Prof. Dr. Fumio Yokoya

Orientador

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Jorge Minoru Hashimoto**, aprovado pela Comissão Julgadora em 06 de dezembro de 2005.

Campinas, 06 de dezembro de 2005.


Prof. Dr. Fumio Yokoya
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção de título de Doutor em Ciências de Alimentos.

Campinas, Outubro de 2005

BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	7/11/06
V	EX
TOMBO BC/	66845
PROC.	16.123.06
C	☒
D	☐
PREÇO	16.00
DATA	9/3/06
Nº CPD	

Bis 21 305123

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

H273u Hashimoto, Jorge Minoru
Utilização da tecnologia dos métodos combinados na
conservação do leite de coco / Jorge Minoru Hashimoto. –
Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Fumio Yokoya
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Leite de coco. 2. Métodos combinados. 3. *Clostridium*
botulinum. 4. Pasteurização. 5. Atividade de água. I.
Yokoya, Fumio. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Coconut preserved by hurdle technology
Palavras-chave em inglês (Keywords): Coconut milk, Hurdle technology, *Clostridium*
Botulinum, Pasteurization, Water activity

Titulação: Doutor em Ciências de Alimentos

Banca examinadora: Fumio Yokoya

Flavio Luis Schmidt

Márcia Paisano Soler

Carlos Raimundo Ferreira Grosso

Maria Victória Eiras Grossmann

Valéria Christina Amstalden Junqueira

DEDICATÓRIA

A Deus.

*Este trabalho
dedico de forma especial
e com muito carinho:*

A minha nova família, Elizabeth e a pequena Livia.

Aos meus pais: Takashi e Kazue. Meu irmão Flávio e minhas irmãs Eni, Marisa e Elisabete.

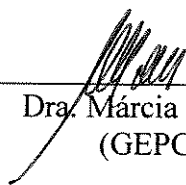
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Fumio Yokoya
(Orientador – DCA/FEA/UNICAMP)



Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
(DTA/FEA/UNICAMP)



Dra. Márcia Paisano Soler
(GEPC/ITAL)

Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso
(DEPAN/FEA/UNICAMP)



Profa. Dra. Maria Victória Eiras Grossmann
(TAM/DCA/UEL)



Dra. Valéria Christina Amstalden Junqueira
(Microbiologia/ITAL)

AGRADECIMENTOS

À UNICAMP e ao Departamento de Ciências de Alimentos (DCA) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), pela oportunidade proporcionada.

Ao Prof. Dr. Fumio Yokoya, pela orientação e experiência científica, tornando possível a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Flávio Luiz Schmidt pela co-orientação e por ter acreditado em meu trabalho, criando oportunidade em estar desenvolvendo a pesquisa no Instituto de Tecnologia de Alimentos.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos, pela infra-estrutura, colaboração dos funcionários e técnicos.

Ao Dr. Alfredo de Almeida Vitali pela sua facilidade em transferir o seu conhecimento, experiência. Por suas sugestões e pela amizade.

A Dra. Márcia Paisano Soler pelas valiosas informações e experiência na pesquisa da industrialização do leite de coco.

A Dr. Valéria Christina Amstalden Junqueira pelas informações, análises microbiológicas e produção de esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679).

Aos membros da banca, pelo enriquecimento do conteúdo deste trabalho.

À empresa Ducoco, pelos recursos concedidos.

As amigas conquistadas durante o desenvolvimento do projeto: Karina e Daniel Bonadia, Camila Nascimento, Thaís Sanches, Leonardo Halla, Rodrigo Martins, Juliano Fiori, Ahron Guimarães, Mariana Junquer, Eric Muto, Tales Garcia, Homero Gumeratto, Andréa Paceta, Marina Borges, Héctor Abel, pela saudável convivência.

Aos professores e funcionários da FEA, que enriqueceram minha formação e auxiliaram na realização deste projeto.

A todos que motivaram e cooperaram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

Índice Geral

Introdução geral	1
Revisão bibliográfica geral	6
1. Tratamentos térmicos	6
1.1. Vapor de água sob pressão	7
1.2. Pasteurização	8
1.3. Tratamento térmico em alimentos envasados	9
1.4. Avaliação de novos métodos ou processos de conservação	10
2. Métodos combinados	11
3. Cultura do coco	18
4. Produção Mundial	20
5. Produção Nacional	22
6. Variedades cultivadas	25
7. Industrialização do leite de coco	28
6. Referências Bibliográficas	43
Capítulo I - Acidificação do leite de coco	47
I.1. Resumo	47
I.2. Introdução	48
I.2.1. Acidificação e conservantes químicos	49
I.3. Material e métodos	53
I.4. Resultados e discussões	54
I.5. Conclusões	57
I.6. Referências bibliográficas	59
Capítulo II - Uso de depressoires de a_w em leite de coco	60
II.1. Resumo	60
II.2. Introdução	61

II.3. Revisão bibliográfica.....	62
II.3.1. Programas computacionais para cálculo da atividade de água - predição de a_w para obtenção das formulações de solutos	66
II.3.2. Base teórica do programa.....	66
II.3.3. Soluções de não eletrólitos	67
II.3.4. Soluções de eletrólitos.....	68
II.3.5. Método simplificado para soluções de eletrólitos e não eletrólitos.....	70
II.3.6. Soluções multicomponentes	71
II.3.7. Modelos melhorados da equação de Ross	72
II.4. Material e métodos	73
II.4.1. Determinação da atividade de água no leite de coco	73
II.4.2. Avaliação do poder depressor de alguns redutores de atividade de água	73
II.5. Resultados e discussões.....	74
II.5.1. Atividade de água no leite de coco	74
II.5.2. Adição de depressores de atividade de água no leite de coco	75
II.6. Conclusões	79
II.7. Referências bibliográficas	80
 Capítulo III - Tempo de residência em trocador de calor tubular. 84	
III.1. Resumo	84
III.2. Introdução	85
III.3. Material e métodos	87
III.3.1. Matéria-prima.....	87
III.3.2. Pasteurização em trocador tubular	87
III.3.3. Pasteurização em batelada.....	88
III.3.4. Aquisição de dados.....	90
III.3.5. Densidade.....	90
III.3.6. Viscosidade.....	90
III.4. Resultados e discussões.....	91
III.4.1. Características reológicas.....	91
III.4.2. Parâmetros térmicos.....	94
III.4.3. Estimativa do tempo de retenção no trocador tubular.....	98

III.4.4. Comparativo entre o processo contínuo e em batelada.....	102
III.5. Conclusões	107
III.6. Referências bibliográficas	108

Capítulo IV - Comportamento de estabilizantes em diferentes processamentos 109

IV.1. Resumo	109
IV.2. Introdução.....	110
IV.3. Material e métodos.....	111
IV.3.1. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco sem acidificação	112
IV. 3.2. Uso de CMC e Carragena em leite de coco acidificado	112
IV. 3.3. Efeito da acidificação, tempo de pasteurização, concentração e tipos de estabilizantes	113
IV. 3.3.1. Leite de coco contendo 0,36% de celulose microcristalina (Avicel GP1615) e 0,043% de Carragena (XP3492).....	113
IV. 3.3.2. Leite de coco contendo 0,21% de CMC (Avicel 1615) e 0,025% de Carragena (XP3492)	114
IV. 3.3.3. Efeito da concentração do estabilizante Meyprogen	114
IV. 3.4. Leite de coco contendo 0,5% de Meyprogen (Rhodia).....	115
IV. 3.5. Efeito da adição de pectina	115
IV. 4. Resultados e discussões	116
IV. 4.1. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco sem acidificação	116
IV.4.2. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco acidificado	122
IV.4.3. Efeito do processo de pasteurização e acidificação sobre os estabilizantes	127
IV.5. Conclusões	132
IV.6. Referências bibliográficas.....	133

Capítulo V - Método rápido para avaliar a estabilidade de emulsões 134

V.1. Resumo	134
V.2. Introdução.....	135
V.3. Material e métodos.....	136
V.3.1. Matéria-prima	136
V.3.2. Preparo do leite de coco padronizado para 18% de gordura	136
V.3.3. Acessório para centrifugação	137
V.3.4. Transmitância óptica da emulsão	137
V.4. Resultados e discussões	138
V.5. Conclusões.....	144
V.6. Referências bibliográficas.....	144
 Capítulo VI - Resistência térmica de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679)	 146
VI.1. Resumo	146
VI.2. Introdução.....	147
VI.3. Material e métodos.....	149
VI.3.1. Matéria-prima	149
VI.3.2. Preparação dos esporos	150
VI.3.3. Resistência térmica dos esporos de <i>Clostridium sporogenes</i>	151
VI.4. Resultados e discussões	154
VI.4.1. Resistência Térmica dos Esporos	154
VI.5. Conclusões.....	158
VI.6. Referências bibliográficas.....	159
 Capítulo VII - Tecnologia dos métodos combinados na conservação do leite de coco	 161
VII.1. Resumo	161
VII.2. Introdução.....	162
VII.3. Material e métodos.....	167
VII.3.1. Critérios para escolha das formulações	167
VII.3.2. Obtenção do composto de solutos	168

VII.3.3. Análise sensorial	168
VII.3.4. Planejamento experimental	169
VII.3.4. Obtenção da matéria-prima	170
VII.3.5. Preparo de embalagens inoculadas	171
VII.3.6. Preparo de embalagens inoculadas em escala piloto	171
VII.4. Resultados e discussões	172
VII.4.1. Composição de solutos	172
VII.4.2. Embalagens inoculadas.....	176
VII.4.3. Embalagens inoculadas em escala piloto.....	182
VII.5. Conclusões	186
VII.6. Referências bibliográficas.....	187
 Capítulo VIII - Análise sensorial de leite de coco modificado	 190
VIII.1. Resumo	190
VIII.2. Introdução.....	191
VIII.3. Material e métodos.....	193
VIII.3.1. Formulações de leite de coco.....	193
VIII.3.2. Método sensorial	194
VIII.3.3. Análise sensorial de manjar de coco	194
VIII.3.4. Compensação de açúcar.....	195
VIII.4. Resultados e discussões	196
VIII.4.1. Sem compensar o sabor doce.....	196
VIII.4.2. Compensando o sabor doce.....	200
VIII.4.3. Comparação com o leite de coco comercial.....	203
VIII.5. Conclusões	207
VIII.6. Referências bibliográficas.....	208
 CONCLUSÕES GERAIS.....	 209
 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	 211
 Anexos	 213

Anexo I.1. Ficha de avaliação sensorial para escolha do ácido.....	214
Anexo I.2. Tabelas de acidificação utilizando diferentes ácidos.....	215
Anexo III.1. Fotografias do sistema de pasteurização utilizando um trocador de calor tubular.....	226
Anexo III.2. Tabelas de temperaturas do produto dentro do trocador tubular.....	227
Anexo III.3. Tabela de estimativa das temperaturas no trocador de calor tubular.....	243
Anexo III.4. Tabela de estimativa da letalidade no trocador de calor tubular.....	245
Anexo VI.1. Fotografias do teste de resistência térmica em esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679).....	247
Anexo VII.1. Tabelas com valores preditos de a_w para diferentes formulações de leite de coco.....	248
Anexo VII.2. Ficha de avaliação sensorial para manjar de leite de coco...259	
Anexo VII.3. Tabela contendo diferentes formulações com valores de a_w preditos.....	260
Anexo VII.4. Fotografias de tubos de ensaio demonstrando deslocamento de váspar por gases formado por microrganismos.....	261
Anexo VIII.1. Ficha de avaliação sensorial para leite de coco modificado.....	262

Índice de Tabelas

Revisão bibliográfica geral	6
<i>Tabela 1. Componentes do fruto do coqueiro (Cocos nucifera L.).....</i>	<i>19</i>
<i>Tabela 2. Composição média do albúmen do coco.....</i>	<i>19</i>
<i>Tabela 3. Quantidade de coco produzida nos principais Países (em milhões de toneladas)</i>	<i>21</i>
<i>Tabela 4. Importações brasileiras de polpa de coco (toneladas).</i>	<i>22</i>
<i>Tabela 5. Produção nas principais regiões do Brasil (1000 frutos).....</i>	<i>23</i>
<i>Tabela 6. Principais Estados produtores da região Nordeste (1000 frutos).</i>	<i>24</i>
<i>Tabela 7. Área cultivada e características das variedades cultivadas no Brasil.</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 8. Condições necessárias para assegurar uma esterilização conveniente.</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 9. Análises físicas e químicas, avaliações organolépticas e exames microbiológicos</i> <i>dos leites de coco esterilizados (ensaio 1, 2 e 3 em frascos de 200 ml; ensaios</i> <i>4 e 5 em frascos de 500 ml) e pasteurizados (ensaio 6 em frasco de 200 ml)...</i>	<i>37</i>
<i>Tabela 10. Ensaio de esterilização a 121°C de leite de coco formulado com 30% de</i> <i>matéria graxa e 0,15% de CMC em garrafas de 200 e 500 ml realizados na</i> <i>indústria.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabela 11. Composição e tipos de tratamento térmico utilizados para diferentes</i> <i>formulações de leite de coco.....</i>	<i>41</i>
 Capítulo I - Acidificação do leite de coco	47
 <i>Tabela I.1. Efeito do pH na dissociação de ácidos lipofílicos utilizados como</i> <i>conservadores em alimentos.....</i>	<i>51</i>
 Capítulo II - Uso de depressoires de a_w em leite de coco.....	60
 <i>Tabela II.1. Valores de atividade de água em leite de coco padronizados para diferentes</i> <i>teores de gordura.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabela II.2. Efeito da adição de solutos na a_w experimental no leite de coco (18% de</i> <i>gordura).</i>	<i>76</i>
<i>Tabela II.3. Efeito da adição de solutos na a_w calculada no leite de coco (18% de gordura)</i> <i>– Equação de Bromley para sais, equação de Norrish para não eletrólitos... 77</i>	<i>77</i>
<i>Tabela II.4. Efeito da adição de glicerol e glicose na a_w experimental e calculada (Norrish</i> <i>e Ross) no leite de coco (18% de gordura).....</i>	<i>78</i>
 Capítulo III - Tempo de residência em trocador de calor tubular. 84	
 <i>Tabela III.1. Características do sistema de cilindro do viscosímetro.....</i>	<i>91</i>

<i>Tabela III.2. Parâmetros reológicos do modelo de Ostwald-de-Wale do leite de coco padronizado para 18% de gordura em função da temperatura.</i>	92
<i>Tabela III.3. Valores de densidade média (g/ml) do leite de coco em função da concentração de gordura.</i>	92
<i>Tabela III.4. Valores de densidade média (g/cm³) para leite de coco padronizado para 18% em função da temperatura.</i>	94
<i>Tabela III.5. Tempos de processo necessários para obter a esterilização comercial do leite de coco não acidificado.</i>	103
<i>Tabela III.6. Tempos de processos em diferentes temperaturas necessários para obter a destruição do fungo B. fulva, considerando D_{90°C} = 12 e z = 7°C.</i>	104
<i>Tabela III.7. Tempos de processos em diferentes temperaturas necessários para obter a destruição do fungo B. fulva, considerando D_{90°C} = 1 e z = 6°C.</i>	105
<i>Tabela III.8. Letalidade do processo de pasteurização para Byssochlamys fulva e C. botulinum em banho maria para leite de coco em embalagens de vidro de 200 ml, determinados através de dados experimentais.</i>	105

Capítulo IV - Comportamento de estabilizantes em diferentes processamentos 109

<i>Tabela IV.1. Delineamento experimental composto rotacional para duas variáveis e três níveis para avaliar o efeito dos estabilizantes no leite de coco.</i>	112
<i>Tabela IV.2. Análise de variância da estabilidade do leite de coco não acidificado após uma semana, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).</i>	120
<i>Tabela IV.3. Análise de variância da estabilidade do leite de coco não acidificado após duas semanas, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).</i>	121
<i>Tabela IV.4. Coeficientes das equações obtidos na avaliação da estabilidade de leite de coco não acidificado e acidificado com ácido fosfórico em pH 4,5.</i>	124
<i>Tabela IV.5. Análise de variância da estabilidade do leite de coco acidificado após uma semana, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).</i>	125

Capítulo V - Método rápido para avaliar a estabilidade de emulsões 134

<i>Tabela V.1. Medidas da resistência elétrica (Ω) recebidas pelo fotorresistor durante a centrifugação do leite de coco a 358.76 x g.</i>	142
--	-----

Capítulo VI - Resistência térmica de Clostridium sporogenes (PA3679) 146

Tabela VI.1. Composição centesimal do leite de coco padronizado para 18% de gordura.	149
Tabela VI.2. Temperaturas e tempos de exposição das emulsões de leite de coco contendo inóculos de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679.	152
Tabela VI.3. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679) a 110°C.	156
Tabela VI.4. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679) a 118°C.	156
Tabela VI.5. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679) a 121°C.	157
Tabela VI.6. Valores de D (em minutos) a diferentes temperaturas e valor de z (°C) calculado, para suspensão de esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679.	157

Capítulo VII - Tecnologia dos métodos combinados na conservação do leite de coco 161

Tabela VII.1. Delineamento experimental composto rotacional para duas variáveis e três níveis para avaliar o efeito do pH e atividade de água.	169
Tabela VII.2. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo diferentes adição NaCl.	173
Tabela VII.3. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl e diferentes adição de glicose.	174
Tabela VII.4. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl, 9% glicose e diferentes adição de glicerol.	175
Tabela VII.5. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de coco sem inoculação de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679, na série de 5 tubos (NMP).	177
Tabela VII.6. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^0$ esporos/ 20 ml de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679, na série de 5 tubos (NMP).	178
Tabela VII.7. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^2$ esporos/ 20 ml de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679 na série de 5 tubos (NMP).	179
Tabela VII.8. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^4$ esporos/ 20 ml de <i>Clostridium sporogenes</i> PA3679, na série de 5 tubos (NMP).	181

Capítulo VIII - Análise sensorial de leite de coco modificado 190

Tabela VIII.1. Grau de doçura de vários açúcares e adoçantes (SCHUTZ & PILGRIM, 1957).	192
---	-----

Tabela VIII.2. Formulações de leite de coco utilizadas na avaliação sensorial.	193
Tabela VIII.3. Formulação básica do manjar de coco.	196
Tabela VIII.4. Quantidades equivalentes de glicerol e glicose, e teor remanescente de sacarose na formulação final no preparo do manjar.	196
Tabela VIII.5. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3, ou 9), não compensando o sabor doce da formulação.	197
Tabela VIII.6. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), não compensando o sabor doce da formulação.	197
Tabela VIII.7. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3 ou 9), não compensando o sabor doce da formulação.	198
Tabela VIII.8. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), não compensando o sabor doce da formulação.	198
Tabela VIII.9. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3, ou 9), compensando o sabor doce da formulação.	200
Tabela VIII.10. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), compensando o sabor doce da formulação.	202
Tabela VIII.11. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3 ou 9), compensando o sabor doce da formulação.	202
Tabela VIII.12. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), compensando o sabor doce da formulação.	202
Tabela VIII.13. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, não compensando o sabor doce da formulação.	204
Tabela VIII.14. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, compensando o sabor doce da formulação.	204
Tabela VIII.15. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, não compensando o sabor doce da formulação.	205
Tabela VIII.16. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, compensando o sabor doce da formulação.	207

Índice de Figuras

Revisão bibliográfica geral 6

Figura 1. Ilustração do efeito dos obstáculos usando oito exemplos. Sendo F = tratamento térmico; t = baixa temperatura ou resfriamento; a_w = atividade de água; pH = acidificação; Eh = potencial redox; prs = conservadores; K-F = flora competitiva; V = vitaminas e N = nutrientes..... 15

Figura 2. Fluxograma do processamento de leite de coco. 29

Capítulo I - Acidificação do leite de coco 47

Figura I.1. Efeito da variação do pH do meio no grau de dissociação dos conservantes.. 52

Figura I.2. Curvas de acidificação do leite de coco padronizado para 25% de gordura... 55

Figura I.3. Média dos escores para sabor de amostras de leite de coco acidificados com diferentes ácidos para pH 4,5..... 56

Figura I.4. Curvas de acidificação com ácido fosfórico no leite de coco de diferentes padronizações de gordura. 57

Capítulo II - Uso de depressoires de a_w em leite de coco..... 60

Figura II.1. Curva dos valores de atividade de água para diferentes diluições do concentrado de leite de coco..... 75

Figura II.2. Curvas de redução da atividade de água no leite de coco (18% de gordura) com diferentes solutos determinadas experimentalmente..... 76

Figura II.3. Curvas de redução da atividade de água no leite de coco (18% de gordura) determinadas experimentalmente com glicerol e glicose. 78

Capítulo III - Tempo de residência em trocador de calor tubular. 84

Figura III.1. Sistema de pasteurização tubular contínuo desenvolvido para processamento do leite de coco. 89

Figura III.2. Influência da temperatura na reologia do leite de coco padronizado com 18% de gordura..... 91

Figura III.3. Densidade do leite de coco em função da concentração de gordura na temperatura de 85,6°C..... 93

Figura III.4. Densidade do leite de coco padronizado para 18% de gordura em função da temperatura..... 94

Figura III.5. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 77 cm da entrada..... 96

Figura III.6. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 228 cm da entrada.....	96
Figura III.7. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 325 cm da entrada.....	97
Figura III.8. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 543 cm da entrada.....	97
Figura III.9. Valores de temperatura medidas no trocador tubular à distância de 689 cm da entrada.....	98
Figura III.10. Perfis de temperaturas calculados e obtidos experimentalmente.....	102
Figura III.11. História térmica do processo de pasteurização de leite de coco padronizado para 18% de gordura em banho-maria.....	106

Capítulo IV - Comportamento de estabilizantes em diferentes processamentos 109

Figura IV.1. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco (18% de gordura) não acidificado, após 3 semanas do processamento (1- 0,06% de CMC e 0,007% de carragena; 2- 0,36% de CMC e 0,007% de carragena; 3- 0,06% de CMC e 0,043% de carragena; 4- 0,36% de CMC e 0,043% de carragena; 5- 0,0% de CMC e 0,025% de carragena; 6- 0,42% de CMC e 0,025% de carragena; 7- 0,21% de CMC e 0,0% de carragena; 8- 0,21% de CMC e 0,054% de carragena; 9, 10 e 11 - 0,21% de CMC e 0,025% de carragena).....	118
Figura IV.2. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco não acidificado (18% de gordura), 1 semana após o processamento.....	120
Figura IV.3. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco não acidificado (18% de gordura), 2 semanas após o processamento.....	121
Figura IV.4. Velocidade de separação de fases em leite de coco não acidificado contendo diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP 3492) em função do tempo de estocagem.....	122
Figura IV.5. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco (18% de gordura) acidificado com ácido fosfórico (pH 4,5) após 3 semanas do envasamento (1- 0,06% de CMC e 0,007% de carragena; 2- 0,36% de CMC e 0,007% de carragena; 3- 0,06% de CMC e 0,043% de carragena; 4- 0,36% de CMC e 0,043% de carragena; 5- 0,0% de CMC e 0,025% de carragena; 6- 0,42% de CMC e 0,025% de carragena; 7- 0,21% de CMC e 0,0% de carragena; 8- 0,21% de CMC e 0,054% de carragena; 9, 10 e 11 - 0,21% de CMC e 0,025% de carragena).	123
Figura IV.6. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco acidificado (18% de gordura), 1 semana após o processamento.....	125

Figura IV.7. Velocidade de separação de fases em leite de coco acidificado (pH 4,5) contendo diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP 3492) em função do tempo de estocagem.	126
Figura IV.8. Efeito de diferentes tratamentos no leite de coco (18% de gordura) estabilizado com 0,36% de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e 0,043% de Carragena (XP3492): 1- pasteurizado 92,5°C/5,34 s; 2 – pasteurizado 92,5°C/5,34 s e acidificado pH 4,5; 3 - pasteurizado 98°C/60 min.; 4 - pasteurizado 98°C/60 min e acidificado pH 4,5.	128
Figura IV.9. Efeito de diferentes tratamentos no leite de coco (18% de gordura) estabilizado com 0,21% de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e 0,025% de Carragena (XP3492): 1- pasteurizado 92,5°C/5,34 s; 2 - pasteurizado 98°C/60 min.; 3 - acidificado (pH 4,5) e pasteurizado 98°C/60 min.	128
Figura IV.10. Leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 (ácido fosfórico) com diferentes concentrações de Meyprogen (CMC+Carragena+Xantana) (1 – 0,2%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) pasteurizado a 92,5°C/5,34 s.).	129
Figura IV.11. Leite de coco (18% de gordura) suplementado com 0,5% de Meyprogen (CMC+Carragena+Xantana) submetido a diferentes processos: 1 – pasteurizado 98°C/60 min.; 2 – pasteurizado 92,5°C/5,34 s; 3 – pasteurizado 92,5°C/ 5,34 s e pH 5,0; 4 - pasteurizado 92,5°C/5,34 s e pH 4,5.	130
Figura IV.12. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), não acidificado e pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, com enchimento a quente após 24 horas do envase.	131
Figura IV.13. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), pH ajustado para 5,0 e pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, após 24 horas do envase.	131
Figura IV.14. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), pH ajustado para 4,5, pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, enchimento à quente, após 24 horas do envase.	132

Capítulo V - Método rápido para avaliar a estabilidade de emulsões 134

Figura V.1. Desenho do aparelho medidor da resistência elétrica resultante da intensidade luminosa através da emulsão.	137
Figura V.2. Representação do disco em movimentação angular.	139
Figura V.3. Representação dos vetores atuantes sobre o disco.	140
Figura V.4. Efeito do tempo de centrifugação a 358.76 x g sobre a resistência elétrica (Ω) recebida pelo fotorresistor em três diferentes repetições no leite de coco.	141
Figura V.5. Fotos digitais do disco durante a centrifugação a 2000 rpm após a injeção das amostras (1, 2, 4, 6, 10 e 12 minutos são indicados como: a, b, c, d, e e f, respectivamente).	143

Capítulo VI - Resistência térmica de *Clostridium sporogenes* (PA3679) 146

- Figura VI.1. Fluxograma de multiplicação de esporos de Clostridium sporogenes PA3679 (DOWNES & ITO, 2001; FDA, 1998). 151*
- Figura VI.2. Curva de destruição térmica de esporos de C. sporogenes PA3679 em leite de coco padronizado (18% de gordura). 158*

Capítulo VII - Tecnologia dos métodos combinados na conservação do leite de coco 161

- Figura VII.1. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental utilizado para avaliar a estabilidade microbiana do leite de coco. 170*
- Figura VII.2. Médias dos escores para sabor em manjar contendo leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, apresentando diferentes adição de NaCl. 173*
- Figura VII.3. Médias dos escores para sabor em manjar contendo leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl e diferentes adição de glicose. 174*
- Figura VII.4. Médias dos escores para sabor de manjar utilizando leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl, 9% glicose e diferentes adição de glicerol. 176*
- Figura VII.5. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica quando não foi inoculado esporos de C. sporogenes (PA3679). 178*
- Figura VII.6. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o nível de inóculo de $2,0 \times 10^0$ esporos/20 ml de leite de coco. 179*
- Figura VII.7. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o nível de inóculo de $2,0 \times 10^2$ esporos/20 ml de leite de coco. 180*
- Figura VII.8. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o maior nível de inóculo ($2,0 \times 10^4$ esporos/20 ml de leite de coco). 181*
- Figura VII.9. Distribuição dos tratamentos dos tratamentos avaliados, apresentando a relação entre o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas contendo $2,0 \times 10^2$ esporos de C. sporogenes em cada garrafa de 200 ml. 182*
- Figura VII.10. Distribuição dos tratamentos dos tratamentos avaliados, apresentando a relação entre o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas envasadas sem inoculação de C. sporogenes (PA3679). 183*
- Figura VII.11. Evolução da relação nº de frascos não deteriorados / total de frascos para embalagens inoculadas com $2,0 \times 10^2$ esporos de C. sporogenes em cada garrafa de 200 ml. 184*

Figura VII.12. Evolução da relação n° de frascos não deteriorados / total de frascos para embalagens sem inoculação de esporos de <i>C. sporogenes</i> (PA3679).	185
Figura VII.13. Distribuição do tratamento avaliado, apresentando o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas contendo $2,0 \times 10^2$ esporos de <i>C. sporogenes</i> em cada garrafa de 200 ml.	185
Figura VII.14. Distribuição do tratamento avaliado, apresentando o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas sem inoculação de esporos de <i>Clostridium sporogenes</i> (PA3679).	186

Capítulo VIII - Análise sensorial de leite de coco modificado 190

Figura VIII.1. Média dos escores para sabor sem a compensação do sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.	199
Figura VIII.2. Média dos escores para aceitação global sem a compensação do sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.	199
Figura VIII.3. Média dos escores para sabor compensando o sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.	201
Figura VIII.4. Média dos escores para aceitação global compensando o sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.	201
Figura VIII.5. Média dos escores para sabor entre o produto comercial, formulações 3 e 5, sem compensar o sabor doce na formulação.	203
Figura VIII.6. Média dos escores para aceitação global entre o produto comercial, formulações 3 e 5, sem compensar o sabor doce na formulação.	205
Figura VIII.7. Média dos escores para sabor entre o produto comercial, formulações 3 e 5, compensando o sabor doce na formulação.	206
Figura VIII.8. Média dos escores para aceitação global entre o produto comercial, formulações 3 e 5, compensando o sabor doce na formulação.	206

Resumo

Este trabalho consistiu no estudo da aplicação da tecnologia dos métodos combinados na conservação do leite de coco. Este produto é um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos ($\text{pH} \cong 6,0$ e $a_w = 0,99$), dentre os quais, um dos mais preocupantes do ponto de vista da saúde pública é o *Clostridium botulinum*, bactéria esporogênica, termorresistente e altamente patogênica. O leite de coco tradicional é pasteurizado, sendo enquadrado do ponto de vista de saúde pública e segurança alimentar como alimento de baixa acidez ($\text{pH} > 4,6$ e $a_w > 0,85$) que além de permitir o crescimento de organismos deterioradores, possibilita o desenvolvimento e proliferação de esporos de *Clostridium botulinum*. Numa primeira etapa, foram selecionados: o ácido para reduzir o pH do produto e os depressores de atividade de água, baseando-se no poder depressor e interferência no sabor. Combinações de cloreto de sódio, glicerol e glicose foram realizadas utilizando o software PrediAw, baseado nas equações para soluções de eletrólitos, não-eletrólitos e multicomponentes. Apenas uma combinação foi selecionada e, a partir dela, proporções diferentes foram aplicadas ao leite de coco. Utilizou-se o delineamento em superfície de resposta central composto rotacional para avaliar os dois fatores de conservação pH (4,5 a 6,0) e a_w (0,95 a 0,99). O inóculo utilizado foi de esporos de *Clostridium sporogenes* PA3679, em 4 níveis (0 ; $2,0 \times 10^0$; $2,0 \times 10^2$; $2,0 \times 10^4$ esporos / 20 ml de leite de coco). A combinação de pH = 4,50 e $a_w = 0,970$ foi efetiva para inibir o desenvolvimento microbiano. Outra combinação efetiva foi pH = 5,25 e $a_w = 0,990$, associado ao uso dos conservantes benzoato de sódio (1000 ppm) e metabissulfito de sódio (500 ppm). O tratamento térmico aplicado foi realizado em trocador tubular ("holding time" = $92,5^\circ \text{C}/5,34 \text{ s}$). Combinações efetivas na inibição do desenvolvimento microbiano foram submetidas à análise sensorial. Para este estudo foi desenvolvido um pasteurizador tubular, para reduzir o tempo de pasteurização. O tipo de tratamento térmico, acidificação e adição de estabilizantes na fabricação do produto foram avaliados. Um método acelerado para avaliar a estabilidade também é apresentado nessa pesquisa.

Abstract

This work consisted on the study of hurdle technology application in coconut milk preservation. This product is an excellent product for microorganisms' development ($\text{pH} \cong 6.0$ e $a_w = 0.99$). The most worry of the point of view of public health is the *Clostridium botulinum*, sporogenic, thermo resistance and highly pathogenic bacterium. The traditional coconut milk is pasteurized, being fit of the point of view of public health and alimentary security food of low acidity ($\text{pH} > 4.6$) and water activity above of ($a_w > 0.85$) that besides allowing the growth of spoilage organisms, it makes possible the development and proliferation of spores of *Clostridium botulinum*. In a first stage had been selected the acid to reduce pH of product and the water activity depressors, being based on its power depressor and flavor interference. Sodium chloride, glycerol and the glucose combinations had been carried through using PrediAw software, based on the equations of electrolytes solutions, not-electrolytes and multicomponents. Only one combination was selected and different ratios of this combination it was applied to the coconut milk. The delineation in surface response rotational composed central was used to evaluate the two factors of pH conservation (4.5 to 6.0) and a_w (0.95 to 0.99). Had been used spores of *Clostridium sporogenes* (PA3679) in four levels: (0; 2.0×10^0 ; 2.0×10^2 ; 2.0×10^4 spores / 20 ml of coconut milk). Combination of $\text{pH} = 4.50$ and $a_w = 0.970$ had been effective to inhibit the microbiology development. Another combination effective was $\text{pH} = 5.25$ and $a_w = 0.990$, associate to use of the preservatives sodium metabisulfite (500 ppm) and sodium benzoate (1000 ppm). The thermal treatment applied was carried through in tubular exchanger (holding time = $92.5^\circ \text{C}/5.34 \text{ s}$). The effective combinations in the inhibition of the microorganism development had been submitted to sensorial analysis. For this study had been developed a tube pasteurizer, aiming at to reduce the pasteurization time and to evaluate the influence of the type of thermal treatment, acidification, and stabilizer addition on the product. A speed up method for evaluate the stability also is presented in this research.

Introdução geral

A agroindústria dos produtos do coqueiro, no Brasil, é caracterizada pela existência de poucas unidades de grande e médio porte, localizadas, na sua maioria, na região Nordeste, onde a cultura do coqueiro está mais difundida e a produção é, de longe, a maior. É constituída, também, por uma agroindústria de pequeno porte, ainda pouca expressiva e incipiente, no entanto, com excelentes perspectivas de desenvolvimento face à demanda nacional ser bem maior do que a oferta (MORORÓ, 2004).

Os produtos do coco, no Brasil, assim como na maior parte do mundo, são matéria-prima de relevância na indústria de muitos produtos alimentícios, como fábricas de biscoitos, indústrias de doces, iogurtes e sorvetes, sendo utilizados em restaurantes industriais, confeitarias e lanchonetes. Da mesma forma que para qualquer outro alimento humano, estes produtos têm que ser submetidos a cuidados especiais, a começar na etapa agrícola, bem como no transporte, armazenamento, processamento e comercialização.

O investimento em ciência e tecnologia surge, cada vez mais, como uma ação determinante no sucesso dos produtores brasileiros. Atualmente, são necessárias técnicas modernas que reduzam os custos e aumentem a produtividade, que agreguem valor às explorações agrícolas e promovam o desenvolvimento da agroindústria.

A preservação dos alimentos aplicando a tecnologia dos métodos combinados tem sido utilizada com sucesso em diversos países, com o objetivo de melhorar a segurança e a qualidade dos produtos elaborados, associando tratamentos brandos, resultando em produtos com altas propriedades sensoriais e nutricionais (LEISTNER, 1992).

Algumas tecnologias foram desenvolvidas para a preservação do leite de coco para comercialização, uma delas é a esterilização do produto em autoclaves. Apesar de resultar em produto seguro, é uma tecnologia cara e ao mesmo tempo agressiva para alguns componentes do produto. Outra tecnologia é o uso da acidificação associada à pasteurização, que, para atingir um nível de acidez que iniba a germinação de esporos de *Clostridium botulinum*, além de interferir drasticamente na estabilidade, acabava tornando-o de baixa aceitação pelo consumidor. A tecnologia atualmente utilizada na industrialização do leite de coco consiste na pasteurização do produto e uso de conservantes, como benzoato de sódio (INS 211), metabissulfito de sódio (INS 223) e sorbato de potássio (INS 202), todos apresentando baixo poder bactericida sobre esporos de *Clostridium botulinum*, principalmente pelo fato de suas atividades serem dependentes da acidez do produto. Apesar do risco potencial, o produto vem sendo comercializado dessa forma a décadas.

O foco principal deste trabalho foi aplicar a tecnologia dos métodos combinados para conservar o leite de coco garantindo a inocuidade ao consumidor. Por se tratar de um trabalho pioneiro para este produto (desenvolvimento de um novo produto), no decorrer do desenvolvimento surgiram algumas ramificações desta pesquisa, cuja investigação foi necessária para entender, mesmo que parcialmente, como os fatores de conservação foram escolhidos e como eles interferiram na qualidade global do produto final.

Para tornar didático o estudo realizado, cada segmento da pesquisa é representado por um capítulo, contendo introdução, materiais e métodos, resultados e conclusões. Um breve resumo de cada capítulo é apresentado a seguir:

- Capítulo I: Acidificação em leite de coco.

Na primeira etapa do estudo foi realizado um levantamento dos acidulantes que poderiam ser utilizados para conservar o leite de coco, a curva de acidificação de cada ácido, a análise da relação pH versus eficiência dos conservantes, e o

aspecto sensorial, com o objetivo de definir o ácido a ser utilizado como um dos fatores de conservação do leite de coco.

- Capítulo II: Uso de depressores de atividade de água no leite de coco.

Foi analisado, nesta etapa, o poder depressor de alguns redutores de atividade de água e as curvas dos valores de atividade de água de acordo com a diluição do leite de coco concentrado. São apresentados detalhes de como os programas computacionais que permitem determinar com exatidão os valores de atividade de água dos alimentos, além das equações para determinar a atividade de água em soluções de eletrólitos, não eletrólitos e multicomponentes.

- Capítulo III: Tempo de residência do leite de coco em trocador de calor tubular.

O tratamento térmico foi realizado em trocador tubular desenvolvido para pasteurizar o leite de coco. Características físicas como densidade e viscosidade foram determinadas para avaliar o processo térmico aplicado. Foi realizado um comparativo entre o tempo de retenção calculado e experimental, e a letalidade do processo em trocador tubular e em batelada.

- Capítulo IV: Comportamento de estabilizantes em diferentes processamentos.

A estabilidade física durante o armazenamento apresenta relação com as condições sob a que o alimento foi submetido durante a industrialização e armazenamento. Além da aplicação de tecnologias de processamento envolvendo diferentes tratamentos térmicos, uso de aditivos que reduzem o valor da atividade de água e do pH, é necessário também verificar como cada fator envolvido está interferindo na estabilidade física e no equilíbrio eletroquímico dos componentes que têm como função estabilizar o produto. Nesta etapa foi avaliado o efeito de diferentes tipos e dosagens de estabilizantes, níveis de pH e tipos de processo térmicos.

- Capítulo V: Método rápido para avaliar a estabilidade de emulsões.

O tradicional método de avaliar a estabilidade de emulsões consiste em manter o produto em ambiente com temperatura controlada. A separação de fase do produto é medida em milímetros. Este método, além de ser laborioso, requer área especial para armazenamento dos produtos. Assim, foi desenvolvido um método acelerado que consistiu de uma centrífuga (para gerar uma aceleração maior que a aceleração da gravidade), acoplado a sensores fotoelétricos e registradores, permitindo assim acompanhar a separação de fases em poucos minutos.

- Capítulo VI: Resistência térmica de *Clostridium sporogenes* (PA3679) em leite de coco.

A resistência térmica dos microrganismos depende das suas características e do tipo de alimento no qual estão contidos. Para o teste de validação do processamento térmico desenvolvido para o leite de coco modificado através do “Sistema de Embalagens Inoculadas”, combinando um tratamento térmico brando em trocador tubular, redução do pH e atividade de água do produto, foi determinada a resistência térmica de *C. sporogenes* PA3679, empregando-se o método do tubo TDT selado e recuperação de sobreviventes. Valores de D e z foram determinados.

- Capítulo VII: Tecnologia dos métodos combinados na conservação de leite de coco.

Selecionados os fatores potenciais para preservação do leite de coco, estes foram combinados utilizando planejamento fatorial. O leite de coco foi acondicionado em tubos de ensaio contendo esporos de *C. sporogenes* PA3679 e submetido aos testes de validação. Dos testes realizados, alguns permitiram o desenvolvimento do microrganismo, enquanto outros não.

- Capítulo VIII: Análise sensorial de leite de coco modificado.

As formulações que se apresentaram microbiologicamente estáveis no teste de validação, foram submetidas aos testes sensoriais para verificar quais se aproximavam mais do leite de coco comercial. Foram realizados testes com e sem a compensação do sabor doce.

Revisão bibliográfica geral

As principais preocupações na indústria de alimentos são os aspectos econômicos, uniformidade em relação às características físicas e organolépticas dos produtos, principalmente nos processos que envolvem tratamentos térmicos e, paralelamente, a garantia de que os produtos sejam seguros dentro dos níveis estipulados pela legislação. O leite de coco é muito apreciado por suas características peculiares de sabor e necessita ser processado para se tornar um produto prático para o consumo, permitindo sua fácil distribuição, além das regiões de cultivo. Alguns aspectos sobre a cultura e o processamento do produto são apresentados a seguir.

1. Tratamentos térmicos

A temperatura elevada é um dos métodos mais utilizados na destruição de microrganismos. O calor pode ser aplicado tanto em condições úmidas (vapor ou água) quanto secas. O primeiro é muito mais eficiente que o segundo para destruir os microrganismos. Isto porque o calor úmido causa desnaturação e coagulação das proteínas vitais como as enzimas, enquanto que o calor seco causa oxidação dos constituintes orgânicos das células. A desnaturação de proteínas celulares ocorre com temperaturas e tempos de exposição menores do que aqueles requeridos para a oxidação. Por exemplo, os endósporos de *Bacillus anthracis* são destruídos entre 2 e 15 minutos pelo calor úmido a 100°C, mas com o calor seco leva mais de 180 minutos a 140°C para conseguir o mesmo resultado (PERKINS, 1983).

Os endósporos bacterianos são as formas mais resistentes de vida. Por outro lado, as células vegetativas das bactérias são muito mais sensíveis ao calor e são usualmente mortas dentro de 5 a 10 minutos pelo calor úmido a 60-70°C.

Células vegetativas de leveduras e outros fungos são normalmente destruídos entre 5 e 10 minutos pelo calor úmido a 50-60°C. Para matar os esporos de fungos no mesmo período de tempo são necessárias temperaturas de 70-80°C. O calor úmido utilizado para matar os microrganismos pode ser na forma de vapor, água fervente, ou água aquecida a temperatura abaixo do seu ponto de ebulição (PERKINS, 1983).

A água aquecida ao ponto de ebulição matará os microrganismos vegetativos presentes no líquido. Entretanto materiais ou objetos contaminados expostos à água em ebulição não serão esterilizados com segurança. Isto porque alguns esporos bacterianos podem resistir a 100°C por mais de uma hora

1.1. Vapor de água sob pressão

É o método mais prático e seguro de aplicação de calor úmido. Em um sistema fechado de volume constante, um aumento de pressão permitirá um aumento na temperatura. Vapor de água sob pressão fornece temperaturas maiores do que aqueles possíveis com vapor sem pressão ou água fervente. Há vantagem também de um aquecimento rápido e maior penetração. As autoclaves são aparelhos destinados a esterilizar com vapor sob pressão. É usualmente operada a uma pressão de 15lb/pol², na qual a temperatura do vapor é 121°C. O tempo necessário para esterilizar nesta temperatura depende do material que está sendo tratado. Leva mais tempo para o calor penetrar em material viscoso ou sólido do que um material fluido. O tempo necessário também depende do volume do material que está sendo esterilizado (PERKINS, 1983).

É denominado também de processo de esterilização comercial, aplicado para alimentos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,6$ e $a_w = 0,85$) e armazenados a temperatura ambiente, visando a completa destruição de bactérias patogênicas ou daqueles microrganismos capazes de deteriorar os produtos nas condições normais de armazenamento (geralmente temperaturas abaixo de 40°C). Uma vez

que muito destes microrganismos deterioradores ou patogênicos são esporogênicos, o tratamento térmico deverá assegurar a destruição de esporos bacterianos, formas altamente resistentes à ação de agentes físicos e químicos, sendo, portanto, necessário o emprego de altas temperaturas (geralmente na faixa de 110 a 120°C) somente conseguidas em autoclaves, sob pressão (LEITÃO & JUNQUEIRA, 1995).

1.2. Pasteurização

Temperaturas de esterilização em autoclaves tradicionais têm efeitos adversos em muitos alimentos, e tratamentos alternativos devem ser utilizados para reduzir a contaminação microbiana nestes materiais. Em 1860, Pasteur utilizou o aquecimento lento a baixas temperaturas para destruir microrganismos indesejáveis que estariam estragando vinhos franceses. Este tratamento pelo calor controlado é denominado de pasteurização. O processo destrói as células vegetativas e muitos microrganismos, mas não esteriliza, não sendo suficiente para eliminar esporos bacterianos. Um método de pasteurização do leite de vaca é o método batch, em que o leite é mantido a 62,8°C por 30 minutos. Um outro método de pasteurização é feito pelo escoamento do leite por meio de uma esteira quente, onde é aquecido a 71,7°C e mantido por 15 segundos, e então é resfriado rapidamente. Altas temperaturas são freqüentemente evitadas nas indústrias alimentícias quando desnecessárias, uma vez que podem afetar o sabor, aspecto ou valor nutritivo dos alimentos como derivados do leite, sucos de frutas e vegetais.

É um tratamento térmico menos intenso, sempre a temperaturas inferiores a 100°C e, portanto, sob pressão atmosférica normal. Este processo é destinado aos alimentos que não oferecem condições para a proliferação das bactérias esporogênicas (por exemplo, alimentos ácidos ou muito ácidos, com pH inferior a 4,6), ou alimentos que são submetidos posteriormente à refrigeração, congelamento, concentração, desidratação, uso de conservantes químicos

combinados à acidificação do produto, adição de conservantes químicos e / ou redução da a_w , portanto, não oferecendo condições para a multiplicação das formas microbianas mais resistentes, que sobreviveram à pasteurização (STUMBO, 1973).

1.3. Tratamento térmico em alimentos envasados

Os alimentos enlatados ou envasados normalmente são preservados pela aplicação de métodos físicos ou químicos, sendo o mais freqüente a utilização de tratamentos térmicos, de intensidade variável, de acordo com as condições do produto, particularmente o seu pH, atividade de água e potencial de oxidação.

Os alimentos que oferecem maiores riscos são os denominados (Food and Drug Administration - FDA) de baixa acidez, que são quaisquer alimentos, exceto bebidas alcoólicas, apresentando uma atividade de água superior a 0,85 e um pH de equilíbrio maior que 4,6 (FOOD PROCESSORS INSTITUTE, 1983). Teoricamente, esses alimentos oferecem riscos potenciais de proliferação de bactérias patogênicas, inclusive *Clostridium botulinum*, razão pela quais medidas extremas de segurança devem ser adotadas em seu processamento. O *C. botulinum* não se desenvolve, nem produz toxinas em valores de a_w inferiores a 0,93; assim, um alimento pode ser preservado mediante tratamentos menos severos, independente da destruição de seus esporos, desde que a a_w seja convenientemente controlada e mantida sempre abaixo do limite acima referido; o valor de referência de $a_w = 0,85$ prende-se mais à razão de segurança, em face à falta de precisão e acurácia das medidas deste parâmetro e as dificuldades inerentes à formulação de produtos com a_w rigidamente definida (FOOD PROCESSORS INSTITUTE, 1983). Nesta categoria de alimentos de baixa acidez, o processo térmico deve ser conduzido de forma a assegurar a esterilidade comercial do produto final.

O conceito de esterilidade comercial está associado à obediência às seguintes condições (CANADA *et al.*, 1976): a) ausência de microrganismos

capazes de crescimento e deterioração do produto nas condições normais de armazenamento; b) ausência de microrganismos patogênicos capazes de proliferar no alimento. Nessas condições, fica evidente, que por esterilidade comercial, não se subentende esterilidade absoluta, uma vez que microrganismos viáveis podem ser recuperados de alimentos comercialmente estéreis. Tal ocorrência pode ser constatada sob três situações diversas (CANADA *et al.*, 1976):

a) se os microrganismos viáveis presentes no alimento forem bactérias termófilas estritas e incapazes de multiplicar nas condições de temperatura vigentes durante o armazenamento. Assim, *Bacillus stearothermophilus*, produzindo a deterioração tipo “flat sour”, não se desenvolve em alimentos a temperatura abaixo de 43°C (MAUNDER, 1976), ao passo que *C. thermosaccharolyticum*, produzindo ácidos e gases, não se multiplicam em temperaturas inferiores a 35°C (ASHTON, 1976). Nestas condições, se o alimento processado for continuamente mantido abaixo destas temperaturas, a eventual presença de esporos viáveis não acarretará problemas de deterioração, mantendo-se, portanto, a esterilidade comercial do produto;

b) o alimento termicamente processado está na faixa de alimentos ácidos (pH inferior a 4,6) ou muito ácidos (pH inferior a 4,0); nestas condições, a presença de formas viáveis de microrganismos, mas incapazes de proliferar em ambientes ácidos, não afetará a qualidade microbiológica do alimento;

c) bactérias esporogênicas mesófilas ou termófilas podem ser recuperadas a partir de alimentos em que se utilizam processos combinados de tratamento térmico e redução de a_w para se evitar a deterioração.

1.4. Avaliação de novos métodos ou processos de conservação

Para o processamento em autoclaves de enlatados e embalagens hermeticamente fechadas de baixa e média acidez, o binômio tempo/temperatura

necessário para a destruição térmica dos esporos de *C. botulinum* tem sido desenvolvido e publicado pela NCA (1976). Para novas formulações e / ou métodos de processamento, a legislação solicita "evidência científica" para comprovar que o tratamento térmico utilizado seja adequado (NCA, 1975). De todos os métodos disponíveis para resultar em "evidência científica", os estudos clássicos com embalagens inoculadas são reconhecidos para fornecer a última prova da adequação do processo para uma série de condições específicas. A NCA (1968) e TOWNSEND *et al.* (1956) descrevem com detalhes o procedimento e as necessidades para os estudos em embalagens inoculadas.

2. Métodos combinados

O uso dos métodos combinados não significa um novo processo como apontado por CHIRIFE *et al.* (1991) em seu estudo da mumificação no antigo Egito. Segundo estes autores a técnica de fazer múmia embalsamada, utilizava pelo menos três tipos de obstáculos: redução da a_w (0,72), aumento do pH (10,6) e o uso de conservadores (especiarias e plantas aromáticas). Assim sendo, a aplicação dos métodos combinados usados para a preservação tem longa história.

O princípio básico de redução da a_w para prolongar a vida-de-prateleira dos alimentos tem sido praticado há milhares de anos. Referências podem ser encontradas na Bíblia e nos antigos registros ao longo da história. As primeiras técnicas envolveram a secagem ao sol ou aquecimento das carnes sobre o fogo, de modo a reduzir o conteúdo de água como praticado pelos homens pré-históricos. Os Incas, da América do Sul, desenvolveram um produto chamado chuño que era uma batata desidratada por um processo que envolvia o congelamento, prensagem e secagem ao sol.

As civilizações do antigo mediterrâneo usavam o sal para preservar carnes e peixes, como mostrados nos hieróglifos egípcios. Este é o primeiro caso de redução da a_w pela adição de soluto ao invés da remoção de água. Este mesmo

princípio foi utilizado na adição de açúcar para preservar frutas na forma de geléias ou geleadas, embora neste caso em particular, uma parte da água é removida pela evaporação (TAOUKS *et al.*, 1988).

Segundo CHIRIFE (1993), uma boa parte dos alimentos tradicionais, preservados pelo abaixamento da a_w , utilizam, muitas vezes, condições austeras (como alto teor de açúcar, sal, alta temperatura, alta acidez e secagem exageradas) e encontram-se, por vezes, em faixa de a_w relativamente baixa. Em alguns casos o uso destas condições, induz mudanças drásticas irreversíveis nos constituintes e estrutura do material, o que resulta em um alimento cujas características físicas e sensoriais não são muito aceitáveis após o preparo pelo consumidor.

Para minimizar estas mudanças, tem sido desenvolvidos processos de tratamento mais brandos que produzem alimentos com atividade de água mais elevada e implicam na combinação de outros fatores para a prevenção do desenvolvimento microbiológico. Desta forma, existem dois tipos tradicionais de produtos desenvolvidos baseados na aplicação dos métodos combinados: os Alimentos de Umidade Intermediária (AUI) e os Alimentos Auto Estáveis (AAE) ou prontos para o consumo.

MULTON (citados por TAOKIS *et al.*, 1988) define que os AUI como sendo os produtos alimentícios de textura suave, submetidos a um ou mais tratamentos tecnológicos, consumidos diretamente, com vida-de-prateleira de vários meses, sem necessidade de utilizar esterilização, congelamento ou refrigeração, mas sim pelo ajuste adequado de sua formulação em termos de composição, pH, aditivos, etc. e mantendo a a_w entre 0,6 a 0,84 a 25°C. A fixação da faixa de atividade de água para estes produtos apresenta variações na literatura e foram discutidas por ERICKSON (1982). Estes valores estão geralmente na faixa de 0,60 a 0,90. Já o conteúdo de umidade entre 10 e 40%.

ROBSON (1976) cita os AUI tradicionais: produtos desidratados, sem adição de solutos (ameixas, pêssegos, figos, passas, etc.), produtos com adição

de açúcar (frutas glaceadas. Caramelos brandos, mel de abelha, doce de leite, etc.), produtos salgados e secos (carne seca, pescado, salame, etc.), produtos de panificação e preparações a base de frutas.

O desenvolvimento de AUI para consumo humano tem sido limitado pela dificuldade em se encontrar novos agentes depressores de a_w que seja seguros, economicamente viáveis, efetivos e relativamente sem sabor e cor.

Os AAE são basicamente uma extensão dos AUI, porém com níveis de a_w mais altos. LEISTNER (1994) cita como vantagens destes produtos o tratamento brando (70 a 110°C), que melhora as propriedades sensoriais e nutricionais destes alimentos, a não necessidade de refrigeração, que simplifica a distribuição e economiza energia durante a estocagem, e como estes produtos são processados em embalagens seladas, não há riscos de re-contaminações. Estes alimentos recebem apenas um tratamento térmico brando e podem conter esporos viáveis de bacilos e clostrídios, que são inibidos pelo ajuste de a_w , pH, potencial redox (Eh), e no caso dos embutidos autoclavados, aquecimento rápido para injúria subletal dos esporos.

Nas mais diversas regiões do mundo e nos mais distintos períodos da história será encontrado exemplos de alimentos preservados pelo uso de métodos combinados. No entanto, as guerras, expedições militares, viagens de longa duração ou espaciais, etc., contribuíram efetivamente para o avanço desta técnica. Isto pode ser comprovado pelos inúmeros tipos de produtos comercializados atualmente baseados nesta técnica de preservação e pela renovada atenção dos pesquisadores e principalmente dos laboratórios de desenvolvimento de produtos das próprias indústrias de alimentos e ração animal que tem patenteado diferentes formulações.

Muitos AUI foram utilizados nos vãos espaciais – Programa Gemini e Apollo. O primeiro alimento sólido consumido na Lua foi um AUI. Era uma barra de gelatina-fruta-açúcar que podia ser consumida diretamente dentro da vestimenta espacial sem necessidade de manipulação pelas mãos. Este item supria a

necessidade de energia sem aumentar a sede. Outros produtos como bolo de frutas, geléias, frutas desidratadas, porções de bacon, frutas cristalizadas e petiscos todos de umidade intermediária, faziam parte da alimentação de bordo do módulo lunar (KAREL, 1976).

O brasileiro Amyr Klink cruzou o Atlântico em cem dias em um barco a remo especialmente projetado para tal evento. A sua alimentação foi cuidadosamente planejada para evitar distúrbios intestinais e fornecer todo o aporte nutricional para a manutenção do navegador. A grande maioria dos cardápios era de produtos desidratados, embalados em condições adequadas para que pudessem manter a qualidade dos produtos, mesmo em condições adversas. Os produtos foram projetados para serem cozidos utilizando a água do mar, com o objetivo de minimizar o consumo de água potável (VITALI, 1987).

A estabilidade e a segurança de muitos alimentos não é somente baseada na atividade de água, mas na combinação dos efeitos combinados de vários fatores. Para cada tipo de alimento há certos obstáculos específicos que diferem em quantidade e intensidade e que permitem a estabilidade e segurança. Estes obstáculos agem como barreiras de modo a impedir que os microrganismos encontrem condições favoráveis ao seu desenvolvimento e/ou produção de toxinas. LEISTNER (1992, 1994) explica de forma clara os efeitos dos obstáculos utilizando oito exemplos como mostrado na **Figura 1**.

O exemplo 1 ilustra o caso teórico em que todos os obstáculos têm a mesma intensidade, o que é muito raro de acontecer na prática. Este alimento contém seis obstáculos: alta temperatura de processamento (F), baixa temperatura durante a estocagem (t), atividade de água (a_w), acidez (pH), potencial redox (Eh) e conservantes (prs). Os microrganismos presentes não conseguem superar todos esses obstáculos, assim, o alimento é microbiologicamente estável e seguro.

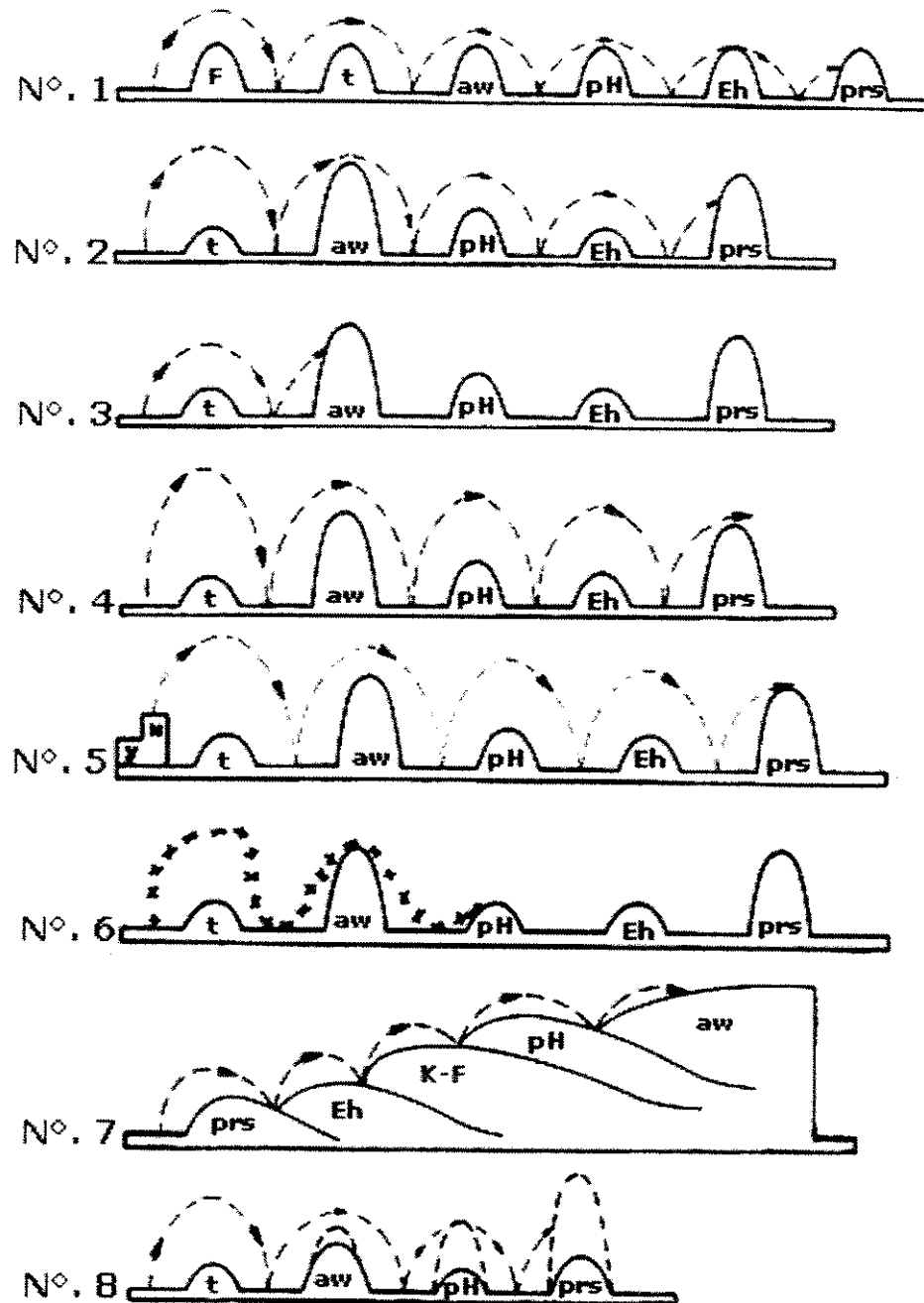


Figura 1. Ilustração do efeito dos obstáculos usando oito exemplos. Sendo F = tratamento térmico; t = baixa temperatura ou resfriamento; aw = atividade de água; pH = acidificação; Eh = potencial redox; prs = conservadores; K-F = flora competitiva; V = vitaminas e N = nutrientes.

Fonte: LEISTNER (1922, 1994).

O exemplo 2 é mais realista, pois os obstáculos apresentam diferentes intensidades. Os principais fatores para a estabilidade do produto são a a_w e os conservadores, enquanto que os outros fatores são menos importantes (pH, potencial redox e temperatura de estocagem). Estes cinco obstáculos são suficientes para inibir os tipos usuais de microrganismos e a carga microbiana de proporção mediana.

O exemplo 3, mostra uma situação de baixa contaminação inicial de microrganismos. Neste caso, há a possibilidade de limitar os obstáculos a a_w e t que agem mesmo quando utilizados de maneira não intensa e a estabilidade do produto fica assegurada. A embalagem asséptica de alimentos perecíveis é baseada neste princípio.

Por outro lado, no exemplo 4, tem-se uma situação de má condição de higiene na qual a contagem inicial de microrganismos indesejáveis é elevada. Esses microrganismos ultrapassam qualquer obstáculo existente estabelecendo-se um processo de deterioração ou possibilitando que este produto cause envenenamento alimentar.

O exemplo 5 mostra o “efeito trampolim”, no qual o alto teor de nutrientes e vitaminas no alimento possibilita o desenvolvimento de microrganismos, obrigando os obstáculos a agirem mais intensamente para evitar esse crescimento.

A injúria subletal dos microrganismos através do cozimento que prejudica o seu desenvolvimento é ilustrada no exemplo 6. Mesmo que os esporos se tornem células vegetativas, os obstáculos promovem a estabilidade do produto sem a necessidade de serem utilizados intensamente.

Em alguns alimentos, como os embutidos fermentados, presuntos crus, e provavelmente nos queijos maturados, a estabilidade microbiológica é adquirida durante o processamento pela seqüência dos obstáculos, como pode ser visto no exemplo 7. Uma importante etapa da confecção de salame é a adição de nitrito juntamente com os sais de cura. O nitrito inibe o crescimento de salmonela e de

outras bactérias, enquanto permite a multiplicação de outras, que fazem com que o potencial redox diminua, aumentando assim o efeito do obstáculo Eh, que inibe microrganismos aeróbicos, favorecendo a seleção de flora competitiva, principalmente bactérias lácticas. O seu crescimento e atividade metabólica causam acidificação do produto e então aumenta o obstáculo pH. Isto é de particular importância para a estabilidade microbiana de salames de cura rápida que não são propriamente secos. Os obstáculos nitrito, Eh, flora competitiva e pH diminuem com o tempo, pois em salames curados o teor de nitrito e a contagem de bactérias lácticas diminuem, enquanto que o Eh e o pH aumentam novamente. Somente a a_w se mantém inalterada com o tempo e é este obstáculo o maior responsável pela estabilidade de embutidos fermentados com longo período de cura.

Finalmente, o exemplo 8 ilustra um importante fenômeno que merece uma atenção especial nos alimentos preservados por métodos combinados, que é o efeito sinérgico dos obstáculos além de sua ação aditiva na preservação. Um efeito sinérgico dos obstáculos é obtido se os diferentes fatores (por exemplo pH, a_w , Eh e conservadores) têm diferentes alvos dentro da célula microbiana, causando um distúrbio no equilíbrio interno. Isto pode afetar a esporulação, liberação de toxinas e a multiplicação destes microrganismos. Assim, o emprego de diferentes obstáculos na preservação pode ser vantajoso, pois em condições mais brandas de cada obstáculo a estabilidade microbiana pode ser assegurada.

Segundo LEISTNER (1992) o controle microbiano pode ser baseado no efeito físico-químico dos obstáculos avaliando os resultados por computador. Esta aproximação poderia dar respostas mais rápida e algumas vezes mais realista da estabilidade e segurança de um alimento do que a investigação microbiológica. A teoria dos obstáculos usada para o controle microbiano pode ser vista como um precursor da microbiologia preditiva.

Os possíveis obstáculos em alimentos podem influenciar a estabilidade e a segurança tanto quanto as propriedades sensoriais, nutritivas, tecnológicas e

econômicas do produto. Dependendo da intensidade de aplicação de um obstáculo, este pode ter um efeito positivo ou negativo para a qualidade global do produto. Para assegurar a qualidade total dos alimentos, os obstáculos devem ser mantidos numa faixa ótima de tal forma, que sejam considerados conjuntamente a segurança e a qualidade do produto (LEISTNER & GORRIS, 1995).

3. Cultura do coco

A palmeira produtora do coco pertence à Família *Palmae*, sendo denominada cientificamente como *Cocos nucifera*. *Cocos* significa "espectro, globo" e *nucifera* a amêndoa da vida. Esta espécie está distribuída extensivamente em toda a Ásia, África, América Latina, e regiões do Pacífico. Sua origem ainda está em debate, entretanto, relatos iniciais sobre a sua existência indicam que sua origem seja na Índia.

É uma planta monóica produzindo flores unissexuadas em uma inflorescência ramificada normalmente de 12 a 15 inflorescências por ano em intervalos de 24 a 30 dias. Uma inflorescência paniculada parte sempre da axila da folha e está envolvida por duas espadas, que a protege. Cada panícula contém de 0 a 9 botões florais femininos, conforme a variedade e o estado nutricional do coqueiro. Nos dois terços terminal do ramo localizam-se as flores masculinas em quantidades que variam de dezenas a centenas. As aberturas das flores femininas não coincidem com as flores masculinas, que se abrem antes, impedindo a autofecundação e favorecendo a polinização cruzada. As flores que não forem fecundadas em 24 horas após a sua abertura, irão enegrecer, persistindo as fecundadas, que evoluirão em frutos.

A fruta se desenvolve a partir de sua semente chamada drupa, sendo formada por três carpelos, onde apenas um se desenvolve. Quando madura tem formato ovóide, dependendo da variedade que também condicionará o seu tamanho. Externamente é composto por um mesocarpo fibroso (com

aproximadamente 5 cm de espessura). Por baixo desta está o endocarpo lenhoso, extremamente duro, denominado de casquilho ou quenga, que apresenta três subdivisões longitudinais, que representam as secções dos carpelos. O fruto está completamente formando após um período de 12 meses. O fruto pode alcançar o peso médio de 3 a 4 kg. Na **Tabela 1** é apresentada a composição média em valores percentuais dos componentes do fruto e na **Tabela 2** é apresentada a composição média do albúmen do coco.

Tabela 1. Componentes do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.).

Componentes	Porcentagem (%)
Casca	35
Casquilho	12
Amêndoa	28
Água	25

Fonte: MAIA & CASTRO, 1985.

Esses valores são bastante uniformes para coco maduro de vários tamanhos e mesma variedade, sendo utilizados como medida para determinar o rendimento em copra, procedendo a simples pesagem dos frutos. A copra é o endosperma desidratado de onde é extraído o óleo.

Tabela 2. Composição média do albúmen do coco.

Componente	Quantidade (%)
Água	46,00
Substâncias albuminóides	5,41
Gorduras	35,90
Proteínas	8,06
Celulose	2,90
Cinzas	0,97

Fonte: SILVA (1971)

Os povoados da região de cultivo denominam a planta por sua utilidade como árvore da vida, árvore da abundância, árvore do paraíso. Praticamente todas as partes da planta são aproveitadas, sendo como uma fonte de alimento, de bebida, de combustível, de alimentação animal e de abrigo.

Na culinária, o leite de coco ou o coco podem ser utilizados em pratos salgados como o vatapá, o caruru de folha, o efó, as frigideiras de maturi, peixes e frutos do mar, todos os tipos de moquecas, de arraia, aratu, camarão, peixe, lagosta, ostra e siri-mole, o xinxim de galinha, o arroz-de-hauçá, e outros. Entre os doces, a baba-de-moça, as cocadas, branca, queimada ou de coco verde, de cortar ou de colher, a cocada-puxa, o quindim, o "creme do homem", o beiju molhado, o cuscuz de tapioca, os vários tipos de bolos: de aipim, de milho, de milho verde, de tapioca, de massa puba e de farinha de trigo, os mingaus de milho, de puba e de tapioca, a canjica, a pamonha, o xerém, o munguzá, a paçoca de banana, entre tantas outras invenções possíveis. Apesar de se tratarem de pratos bastante específicos e típicos, muitos dos princípios contidos em seu receituário foram incorporados às outras culinárias desse país, tendo sido transformados e adaptados de acordo com os ingredientes e costumes locais, mantendo, é claro, o precioso sabor do coco. (BIBLIOTECA VIRTUAL, 2004).

4. Produção Mundial

Até 1996 esta espécie ocupou uma área total cultivada estimada em 11 milhões de hectares e ao redor de 93% são encontrados nas regiões da Ásia e do Pacífico (**Tabela 3**). A Indonésia e as Filipinas são os grandes produtores, apresentando aproximadamente 3,7 milhões de hectares e 3,1 milhões de hectares respectivamente. A Índia é o terceiro maior produtor. Nos países do Pacífico Sul, Papua Nova Guiné é o principal produtor. Na África, a Tanzânia é o maior produtor, enquanto que na América latina o Brasil responde por mais da metade da área total cultivada. No ranking mundial, o Brasil é o quinto produtor da

fruta, antecedido por Filipinas, Indonésia, Índia e Sri Lanka (CORREIO DA BAHIA, 2004).

Tabela 3. Quantidade de coco produzida nos principais Países (em milhões de toneladas)

Países	1992	1999	2000	2001	2002	Taxa de crescimento anual 1992 - 2002
Indonésia	12870	14973	15119	15163	13000	0,8%
Filipinas	9384	12000	12000	13000	13000	2,8%
Índia	8351	9011	9360	9300	9300	0,4%
Sri Lanka	1745	2149	2353	2125	1900	1,8%
Tailândia	1411	1380,5	1400	1396	1396	0,4%
Vietnã	1140	1104	885	892	838	3,3%
Malásia	1044	745	734	700	700	4,8%
Ásia	38182	44248	45609	45274	43079	1,1%
Resto do Mundo	4714	6016	5939	6117	6555	3,5%

Fonte: FAO, 2005.

Entretanto, o coco destinado à produção de leite de coco e coco ralado, vem sofrendo forte concorrência com a entrada no País do coco-ralado oriundo de países que mantêm elevados subsídios aos produtores, principalmente do continente Asiático, onde a produção chega a receber subsídios da ordem de 85% dos custos.

Apesar das restrições governamentais (sobretaxas entre 13 a 55% para matérias-primas de origem asiática antes de ser transformado em leite de coco, doces e ingredientes de guloseimas) as importações têm ocorrido (**Tabela 4**), trazendo problemas aos produtores locais. Existem relatos de que os importadores disfarçam a origem do produto, simulando que a produção estaria ocorrendo em países como a Suécia, França, Chile e Estados Unidos e, assim, fogem das taxações. Houve períodos que cerca de 60% do consumo nacional era atendido

pelos produtores internacionais, principalmente por países asiáticos como Sri Lanka, Costa do Marfim, Indonésia e Filipinas.

Tabela 4. Importações brasileiras de polpa de coco (toneladas).

Países	1999	2000	2001	2002
Indonésia	0.0	0.0	1.366	2.367
Vietnã	3.613	2.164	1.795	1.102
Sri Lanka	13.0	12.5	2.862	464
Cingapura	122.0	339	414	354
Malásia	0.0	0.0	111	233
Estados Unidos	8.4	0.0	0.0	100
Costa do Marfim	0.0	0.0	0.0	78
Países Baixos	0.0	0.0	0.0	46
França	0.0	0.0	0.0	26
Gana	475	475	225	12.5
Outros	4.411	4.809	754.6	0.0
Total	8.642	7.799	7.527	4.783

Fonte: AGRIANUAL, 2004.

5. Produção Nacional

Importante na geração de renda, na alimentação e na elaboração de mais de 100 subprodutos, o coqueiro (*Cocos nucifera* Linn.) é a mais importante das culturas perenes que se adaptam ao litoral brasileiro (CUENCA, 1997). A espécie está se expandindo para as regiões Norte, Centro-Oeste e partes das regiões Sul e Sudeste, e o semi-árido nordestino, através de projetos governamentais de fomento à cultura e principalmente de grandes projetos privados, podendo ser considerado, portanto, como uma alternativa para o desenvolvimento sustentável dessas regiões (**Tabela 5**).

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) foi introduzido no Brasil através da Bahia (portanto a denominação côco-da-Baia) e disseminou-se pelo litoral nordestino

que é responsável por 90% da produção nacional: Bahia, Sergipe, Rio Grande do Norte, são os maiores produtores (**Tabela 6**). Na Bahia as regiões econômicas do Litoral Norte, Extremo Sul da Bahia e a Região Metropolitana de Salvador são as maiores fornecedoras de coco. O estado possui uma área cultivada de 80 mil hectares de coco e produção anual superior a 250 milhões de frutos. Esta produção contribui com mais de R\$80 milhões para a composição do Valor Bruto da Produção (VPB) Agrícola e gera cerca de 240 mil postos de trabalho.

Tabela 5. Produção nas principais regiões do Brasil (1000 frutos).

Região	2000	2001	2002	2003*
Norte	162.175	211.095	231.460	216.459
Nordeste	932.960	960.659	1.402.888	1.423.840
Sudeste	186.239	225.332	221.711	255.046
Sul	0	61	0	0
Centro Oeste	20.037	23490	0	0
Brasil	1.301.411	1.420.547	1.856.059	1.895.345

* Previsão feita em junho/2003.

Fonte: IBGE, 2004

Atualmente o coco-da-Bahia é cultivado em aproximadamente 90 países, sendo originário do Sudeste Asiático. No Brasil a cultura do coqueiro, variedade gigante (Var. Typica), chegou, possivelmente na colonização portuguesa em 1553, oriunda da ilha de Cabo Verde. A variedade anã (Var. Nana) foi introduzida no Brasil em 1921, trazidos do oriente por possuir como característica a precocidade na produção e facilidade de colheita de frutos. A cultura se adaptou bem no litoral brasileiro, sendo encontrada em áreas desde o Maranhão até o Espírito Santo (CAMBOIM & MIRISOLA, 2001).

Em 1999, produção anual de coco no Brasil foi de 1,2 bilhões de frutos, colhidos em uma área de 260 mil hectares, com predominância do coqueiro gigante, cujos frutos são colhidos secos. Entretanto, a partir da década de 90, com a conscientização da população para os benefícios dos alimentos naturais, verificou-se um grande crescimento da exploração do coqueiro anão, visando à

produção do fruto verde, para o consumo de água, que é um produto natural, de excelentes qualidades nutritivas (PEREZ *et al.*, 2002).

Tabela 6. Principais Estados produtores da região Nordeste (1000 frutos).

Estado	2000	2001	2002	2003
Maranhão	3.705	4.140	4.407	4.674
Piauí	6.797	9.672	10.077	11.723
Ceará	193.729	203.769	202.366	211.647
Rio Grande do Norte	87.941	88.303	90.609	91.799
Paraíba	54.105	61.517	67.294	69.573
Pernambuco	35.643	27.554	152.774	188.046
Alagoas	56.118	50.757	43.643	45.140
Sergipe	91.985	90.413	100.510	111.662
Bahia	402.937	424.444	731.208	689.576
Nordeste	932.960	60.569	1.402.888	1.423.840

Fonte: IBGE, 2004.

A produção brasileira de coco-da-Bahia em 2003 ultrapassou 1,9 bilhões de frutos colhidos, cultivadas em 273,7 mil hectares (IBGE, 2004). Cerca de um terço dessa produção originou-se da Bahia, seguida pelos Estados do Ceará, Pará e Espírito Santo. Esses quatro estados concentram 71% da produção. Enquanto a produtividade média na Região Nordeste está próxima de 4 mil frutos por hectare, a região sudeste, representada por Espírito Santo e Rio de Janeiro, ultrapassa os 14 mil frutos por hectare. Esta é uma indicação do cultivo do coqueiro anão, muito mais produtivo que os coqueiros gigantes, voltados para o mercado de água de coco.

A demanda industrial brasileira de derivados do coco é estimada 15 mil toneladas de coco desidratado, que são transformados em leite de coco e coco ralado. Esta demanda é parcialmente atendida pela produção nacional. Aproximadamente 35% de toda produção brasileira é destinada para

agroindústria, outros 35% abastecem pequenas indústrias panificadoras e outras, enquanto 30% restantes ficam no mercado para consumo “in natura”.

6. Variedades cultivadas

O gênero *Cocos* é constituído apenas pela espécie *Cocos nucifera* L., composta de algumas variedades, entre as quais as mais importantes são: *Typica* (Var. Gigante) e *Nana* (Var. Anã). Os híbridos de coqueiro mais utilizados são resultantes dos cruzamentos entre essas variedades. Atualmente, segundo a Associação Brasileira de Produtores de Coco (ABRASCOCO), em torno de 70, 20 e 10% dos plantios de coqueiro no país, são formados pelos coqueiros gigante, anão e híbrido, respectivamente (EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2004). Suas características estão descritas na **Tabela 7**.

Tabela 7. Área cultivada e características das variedades cultivadas no Brasil.

Característica	Variedade Gigante	Variedade Anã	Híbrido
Área cultivada (%)	70	20	10
Finalidade	Fruto seco	Fruto verde	Fruto seco ou verde
Produto	In natura e leite de coco	Água de coco	In natura, leite e água de coco.
Início do florescimento	Após 5 a 7 anos (ou até 10 anos)	Após 2 a 3 anos	
Vida útil econômica (anos)	60 a 80 anos	30 a 40 anos	
Produtividade (frutos/pé/ano)	30	150 a 200	
Altura (metros)	35	12	
Região produtora	NE	NE, SE, CO e N	
Produção de polpa (t.)/ha	3,5 a 5,0	6,0	8,5 a 9,5
Produção de água (l.)/ha	5.000 a 7.000l	10.000 a 12.000	10.000 a 12.000

Fonte: EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2004.

O coqueiro gigante, voltado para produção de frutos secos que se destinam para consumo in natura ou industrializado, em forma de leite ou coco ralado, tem vida útil econômica de 60 a 80 anos, e nas condições atuais, produz, em média, 30 frutos pé/ano. As plantas mais altas chegam a alcançar 35 metros de altura. Sua produção inicia-se entre cinco e sete anos de idade. Essa é a variedade que ainda predomina no Brasil e sua maior produção encontra-se no Nordeste. Ela é ainda bastante explorada, principalmente pelos pequenos produtores de coco. É uma variedade rústica, de crescimento rápido e fase vegetativa longa, iniciando o florescimento entre 5 a 7 anos, em condições ecológicas ideais, chegando a florescer, no entanto, até com 10 anos, após o plantio. Esta variedade atinge 20 ou 30m de altura, podendo produzir até 80 frutos/planta/ano, de tamanho variando de médio a grande e com vida econômica de 60 a 70 anos. No Brasil é muito empregado "in natura" para uso culinário (na produção de doces, bolos etc.), bem como na agroindústria de alimentos para leite de coco, farinha de coco, entre outros.

O coqueiro anão é indicado para a produção de água e o híbrido, oriundo do cruzamento das variedades anão e gigante, possui dupla aptidão, isto é, tanto serve para o consumo de água enquanto verde, como para a indústria de extração de óleo, quando seco. A cultura tem relevante importância decorrente da geração de emprego e renda no meio rural, da utilização de seus produtos na indústria de transformação e no consumo "in natura" da água do coco.

Nos últimos anos, a área ocupada com coqueiro anão no País vem aumentando chegando a aproximadamente, 57 mil hectares, dos quais 33 mil estão no Nordeste. Esta atividade introduz atualmente no mercado, cerca de 280 milhões de unidades de coco verde por ano com perspectivas de, nos próximos cinco anos, atingir cerca de 1,8 bilhões de unidades/ano, com a incorporação da produção das novas áreas.

O coqueiro anão constitui-se na variedade mais utilizada comercialmente no Brasil para água de coco, apesar de poder ser empregada também na

agroindústria de alimentos e/ou na forma de fruto seco in natura. Essa variedade apresenta desenvolvimento vegetativo lento, é precoce, iniciando a produção em média com dois a três anos. Chega a atingir 10 a 12m de altura e tem vida útil em torno de 30 a 40 anos. Apresenta estipe delgado, folhas numerosas, porém curtas, produz um grande número de pequenos frutos (150 a 200 frutos/planta/ano), é mais sensível ao ataque de pragas, como ácaro, e doenças foliares. Em geral apresenta maiores exigências de clima e solo do que a variedade gigante.

Na dualidade do mercado para o produto, onde existe a demanda industrial pelo coco seco e a demanda pelo consumo "in natura" da água do coco, se define a importância do híbrido que tem a dupla aptidão. Atualmente, as áreas em expansão são acompanhadas de grandes inovações tecnológicas, com irrigação, adubações sistemáticas, controle rigoroso de pragas e doenças e o emprego de mudas selecionadas com controle de procedência de qualidade genética e fitossanitário.

O uso do coqueiro híbrido pode oferecer diversas vantagens em relação ao anão ou ao gigante, em condições agro-ecológicas ideais de exploração: maior estabilidade de produção quando submetidos a diferentes condições ambientais; ampla utilidade do fruto - uso in natura (culinária e água de coco) e emprego agroindustrial (alimento, água de coco, fabricação de sabão, detergentes, fibras para estofados e ração animal, entre outros); fruto de tamanho médio de acordo com a exigência do mercado; maior produtividade de polpa produzindo em média entre 8,5 a 9,5 toneladas de polpa/hectare, enquanto o gigante entre 3,5 a 5,0 toneladas/hectare e o anão em média 6 toneladas/hectare; maior produtividade de água que o gigante produz cerca de 10.000 a 12.000 l/ha, enquanto o gigante 5.000 a 7.000 l/ha e produtividade igual ao dos anões; maior estabilidade de preço no ano, devido a sua ampla utilidade.

7. Industrialização do leite de coco

O leite de coco figura nas estatísticas como produto de consumo popular em diversos países de clima tropical. Trata-se de uma emulsão de óleo em água, contendo proteínas, açúcares, sais minerais, sendo a água o componente predominante. Por estas características, torna-se um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, dentre os quais, um dos mais preocupantes do ponto de vista da saúde pública é o *Clostridium botulinum*, bactéria esporogênica, termorresistente e altamente patogênica. A capacidade de formar esporos permite que esta bactéria sobreviva em uma variada gama de condições desfavoráveis, tais como temperaturas elevadas. Os esporos de *C. botulinum*, principalmente do tipo A, é capaz de sobreviver de 5 a 10 horas em água em ebulição e em presença de conservantes químicos (ALIMENTOS ENLATADOS, 1983).

Em escala industrial, o processamento usual consiste na extração do leite e adição de conservantes, como o benzoato, metabissulfitos e sorbato, a embalagem em garrafas de vidros (200 ou 500 ml), seguida da pasteurização à pressão atmosférica (**Figura 2**). Finalmente o produto é mantido à temperatura ambiente até chegar ao consumidor. Em alguns países, além do tratamento mencionado, o produto é mantido em refrigeração durante a estocagem ou até chegar ao consumidor final.

Pesquisas na área de industrialização do leite de coco vêm de longa data sendo realizadas pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), que participa também na definição dos Padrões de Identidade e Qualidade do Coco (PIQ) na tentativa de se estabelecer uma legislação que atenda às indústrias e garanta a qualidade do produto do ponto de vista de saúde pública e a qualidade físico-química para usos em produtos alimentícios.

Uma breve revisão, em ordem cronológica, sobre os trabalhos realizados pelo Instituto será apresentada a seguir.

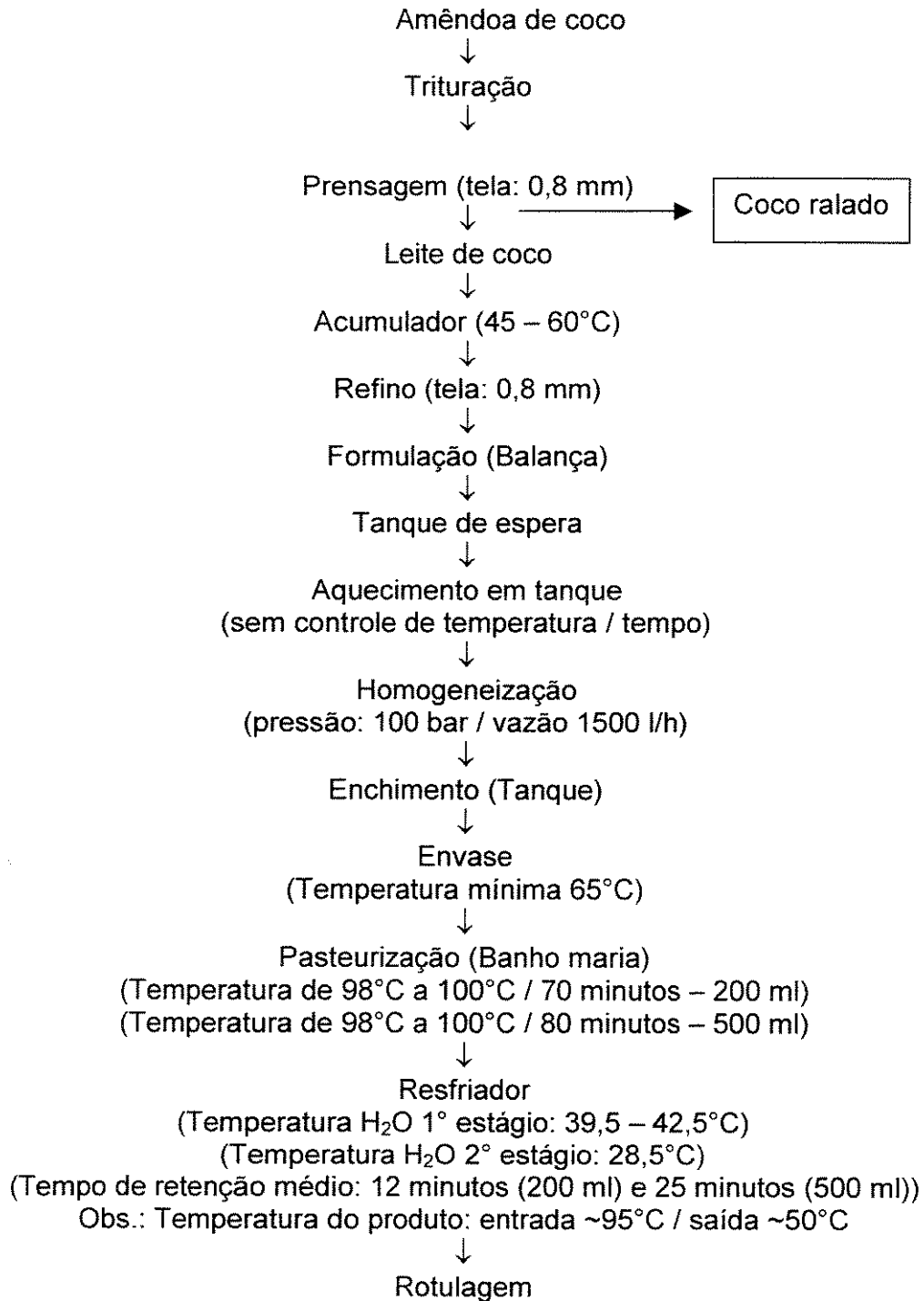


Figura 2. Fluxograma do processamento de leite de coco.

Um dos primeiros trabalhos com o leite de coco no ITAL foi realizado por SILVA (1971) com o objetivo de conseguir leite de coco concentrado, estável fisicamente e que conservasse as qualidades e características do fruto ao natural, mediante o uso de estabilizantes e de um processo adequado.

Em resumo, segue o procedimento utilizado por SILVA (1971): a polpa com a película marrom removida e lavada foi imersa em banho de metabissulfito de sódio a 0,2%, moído em ralador HOBART (modelo A-200), aquecido a $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ com adição de 10% de água e a extração foi realizada utilizando uma centrífuga HEINE (modelo 90.379) a 3000 rpm, sendo que o leite de coco (21,5% de gordura) obtido foi acidificado com 0,1% de ácido cítrico e 0,02% de ácido ascórbico. Em seguida foi homogeneizado em moinho coloidal CIFFORD MICRO MILL (modelo MV-6-3) e pasteurizado em trocador de calor de superfície raspada CREAMERY PACKAGE (modelo HP-1-262-M e HP-1-260-M), sendo que o produto atingiu a temperatura de 90°C no primeiro trocador térmico e no segundo a 22°C . O tempo de pasteurização mencionado foi de 1 minuto. Em seguida o material foi concentrado no evaporador CENTRI-THERM ALFA LAVAL (modelo CT-1), resultando no leite de coco concentrado contendo 41,30% de gordura.

As condições de trabalho no evaporador foram: temperatura de evaporação a 41°C ; vácuo no sistema de $0,88 \text{ kgf/m}^2$; temperatura de vapor na camisa de 106°C . Foi adicionado 600 ppm de metabissulfito de sódio ao leite de coco concentrado para prevenir a ação de microrganismos, antes de ser acondicionado em latas de 73,3 x 110 mm com verniz epóxi, recravadas a vácuo e armazenadas à temperatura ambiente ($22 - 25^{\circ}\text{C}$). Para evitar a separação de fases durante o armazenamento utilizou-se de meios mecânicos, tais como batedeira HOBART (modelo K5-A), moinho coloidal, uso de aditivos (monoestearato de glicerina (0,1; 0,2 ou 1,0%), Myverol, que é um outro tipo de monoestearato de glicerina (0,5; 1,0 ou 2,0%) e lecitina de soja (0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ou 1,0%)), uso de espessantes (carboximetilcelulose (0,1; 0,2 ou 0,5%), proteinato de sódio (0,5; 1,0; 1,5 ou 2,0%))

e amido modificado (0,3 ou 0,5%)). Os aditivos foram utilizados de forma isolada ou combinada.

SILVA (1971) observou que emulsões estáveis foram obtidas com o uso de Myverol (1%), sendo o produto homogeneizado em moinho coloidal a temperatura de 55°C, a homogeneização a temperatura ambiente foi desfavorável, assim como uma dosagem maior do emulsificante (2%).

Alguns testes com conservantes foram realizados por UBOLDI EIROA *et al.* (1975) avaliando o comportamento do leite de coco como substrato para o desenvolvimento de microrganismo, bem como as técnicas adequadas para a conservação do produto. Observaram que o uso de conservantes químicos (147µg de SO₂/ml ou 243µg de SO₂/ml de produto) presentes no leite de coco comercial apenas retardava a deterioração do produto quando microrganismos foram inoculados, não sendo capaz de impedir o desenvolvimento. Os microrganismos inoculados foram: *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus coagulans*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus plantarum* e *Salmonella typhimurium*. Alguns ensaios foram realizados com *Clostridium botulinum* tipos A, B e E, e os pesquisadores constataram que as dosagens de conservantes mencionadas não foram capazes de impedir o crescimento. Estes mesmos autores realizaram análises microbiológicas em três marcas comerciais leite de coco e isolaram espécies de *Bacillus* e *Clostridium*, evidenciando que o processamento térmico empregado nas indústrias brasileiras era insuficiente para garantir a esterilidade comercial do produto.

Neste mesmo trabalho (UBOLDI EIROA *et al.*, 1975) foi relatado que pasteurização a temperaturas abaixo de 100°C, utilizada no processamento de leite de coco, embora suficiente para a destruição de bactérias não esporogênicas, bolores e leveduras, não foi suficiente para destruir esporos bacterianos. Esse fator, aliado ao pH pouco ácido do produto (5,5 a 6,1), representa um risco potencial de desenvolvimento de microrganismos esporulados patogênicos

eventualmente presentes no produto final, concluindo que a adição de conservantes, usualmente empregada, também não constitui uma garantia da preservação adequada do produto. Os autores também realizaram um estudo do processamento térmico para obter um valor de F_0 mínimo= 3,0 (STUMBO, 1965), observaram uma lenta penetração de calor no produto, que resultava num tratamento térmico bastante prolongado. Assim, recomendaram que as condições necessárias para assegurar a esterilização apropriada do leite de coco envasado em latas nº1 (73 x 110 mm) fossem aquelas apresentadas na **Tabela 8**.

Tabela 8. Condições necessárias para assegurar uma esterilização conveniente.

Condições de esterilização	Latas nº1 (73 x 110)
Temperatura mínima do produto no início da esterilização	65°C
Temperatura de esterilização	115,6°C (240°F)
Tempo de esterilização (contado após a autoclave atingir a temperatura de trabalho)	61 minutos
Valor F_0 atingido	5,0

Procedimentos padrão para obtenção de leite de coco foram desenvolvidos por DE MARTIN *et al.* (1975; 1980) desde a lavagem dos frutos até a extração do leite em prensa hidráulica. O leite integral (38% de gordura) obtido era aquecido a 90°C para receber o emulsificante Tween-80 (mistura de polisorbato, polioxietileno e monooleato de sorbitol) adicionado na proporção de 0,3%, conjuntamente com carboxi-metil-celulose, na proporção de 0,4%, para aumentar a viscosidade do meio. Em seguida, o produto era homogeneizado à pressão de 300 kg/cm², envasado em garrafas de 280 ml e esterilizado em autoclave à temperatura de 115°C, durante 45 minutos, parâmetros de processo determinados através do estudo de penetração de calor. Os resultados obtidos ao longo de 180 dias demonstram que foi possível obter um produto com estabilidade física, química e microbiológica.

Um levantamento sobre o desenvolvimento da indústria nacional de leite de coco foi realizado por GONÇALVES & TEIXEIRA NETO (1982), discutindo as tecnologias mais adequadas à conservação desse produto, tanto do tipo comercial (embalado em garrafas de 200, 500 e 600 ml) quanto industrial (latões de 20 litros). Citaram como primeiro processo alternativo a utilização de autoclave rotativa em lugar da estática, por tornar a esterilização mais rápida, explicado, provavelmente, pela imediata dispersão dos coágulos de proteína recém formados, devido à agitação do produto no interior da embalagem. Comentaram que, pelo fato da indústria nacional utilizar garrafas de vidro, podem existir algumas dificuldades operacionais com esse tipo de equipamento. Um segundo processo citado foi o uso da pasteurização e aditivos químicos, aliado a um sistema de armazenamento e distribuição para consumo sob refrigeração, entretanto, a implantação de uma alternativa como essa, no Brasil, seria dificultosa, pois as indústrias do ramo não estão suficientemente equipadas com sistemas de frio, e isso, provavelmente, significaria razoáveis investimentos financeiros no setor. A terceira possibilidade é o processo de conservação baseado na redução do pH e pasteurização, seguido de armazenamento e distribuição para consumo sem o emprego da refrigeração.

A tecnologia de acidificação em leite de coco foi estudada, preliminarmente, por GONÇALVES *et al.* (1984), para conservação do produto (contendo 40% de gordura) pasteurizado. Eles avaliaram os seguintes agentes acidificantes: ácido málico, cítrico, fosfórico, fumárico, tartárico e láctico, selecionando os três últimos como mais adequados, com base em características organolépticas, custo e volume utilizado. O processo de pasteurização aplicado garantiu um valor $F_{100}^{8.9} = 5,9$ minutos, não evidenciando nenhuma alteração microbiológica em amostras armazenadas durante 90 dias. Quanto às características organolépticas, observaram que foram satisfatórias, principalmente quando utilizado como ingrediente em formulações caseiras como manjar branco, sorvete e bebidas alcoólicas, sendo que a adição de outros componentes fez com que o leite de coco participasse em pequenas proporções nessas formulações, dessa forma a

acidez foi substancialmente reduzida. Relataram, também, que os produtos elaborados com leite de coco não acidificado ($\text{pH} = 6,0$) não foram diferentes dos produtos preparados com o ingrediente acidificado, quanto à consistência.

A esterilização comercial do leite de coco em recipientes de vidro foi estudada em função do uso de diferentes coadjuvantes de processamento, diferentes teores de matéria graxa e diferentes combinações de tempo e temperatura por TEIXEIRA NETO *et al.* (1985a). Em seus trabalhos preliminares, simularam o processo de pasteurização em condições gerais semelhantes às das indústrias, com o intuito de avaliar o comportamento geral do produto. Constataram que, em termos de esterilização, o valor de $F_0 \cong 0,2$ minutos, estava muito abaixo do mínimo especificado para assegurar a estabilidade microbiológica em alimento de baixa acidez (UBOLDI EIROA *et al.*, 1975; STUMBO, 1965). Eles observaram, também, que o produto pasteurizado mostrou-se coagulado e com separação de fases e com coloração branca característica, atribuída à atuação de compostos contendo SO_2 livre, que previnem as reações de escurecimento não-enzimático. Nos primeiros testes de esterilização foram utilizadas embalagens de vidro de 200 ml, produto padronizado para 35% de teor de matéria graxa e temperatura de 121°C , sendo que nestas condições foi observado no produto final uma coagulação intensa e separação de fases, além do escurecimento indesejável. Eles descreveram que mesmo após a agitação da embalagem, os coágulos não se dispersavam por completo, originando um produto de textura grosseira, odor de enxofre e manchas amareladas próximas ao gargalo da garrafa.

Como o objetivo de TEIXEIRA NETO *et al.* (1985a) era esterilizar o produto, não constituiria boa prática a adição de compostos contendo SO_2 livre para evitar o escurecimento não enzimático. Baseando-se em evidências científicas (DEL ROSARIO & PUNZALAN, 1977; DE MARTIN *et al.*, 1975; TIMMINS & KRAMER, 1977) escolheram a inibição ou retardamento da coagulação protéica durante o processamento térmico como forma de diminuir o tempo de esterilização e, conseqüentemente o tempo de exposição do produto a altas temperaturas, principalmente das partículas localizadas junto às paredes dos frascos. Iniciaram

desta forma o estudo de estabilizantes como carragenas, Tween 80, Avicel e CMC no leite de coco. Amostras contendo CMC permitiam que a temperatura subisse rapidamente até 95°C, enquanto que em amostras sem a adição de CMC, a temperatura se elevava até 65°C, momento a partir do qual ocorria aumento da viscosidade do produto, fato responsável por um retardamento do ciclo de esterilização de cerca de 10 minutos, além das alterações mencionadas anteriormente.

Prosseguindo no estudo, TEIXEIRA NETO *et al.* (1985a) observaram que à medida que o teor de matéria graxa aumentava, entre 25 a 35%, o tempo necessário para se obter o mesmo grau de esterilização era proporcionalmente maior, independente da concentração de CMC. Esses processos térmicos mais longos proporcionaram produtos com alterações gerais mais pronunciadas. Assim, concluíram que o teor de matéria graxa mais apropriada para o produto esterilizado estava em torno de 30% e a concentração mais adequada de CMC deveria ser próximo de 0,15%, acima do qual o produto final sofre modificações no sabor e textura, e abaixo do qual surgem os problemas devido à coagulação protéica.

A escolha adequada do binômio tempo-temperatura de esterilização está associada a um balanço que deve ser feito entre os benefícios da aplicação do calor, como a estabilidade microbiológica do produto final, e seus efeitos adversos, principalmente em relação às propriedades organolépticas e nutricionais. TEIXEIRA NETO *et al.* (1985a) observaram que a temperatura de 121°C foi a mais adequada na esterilização em formulações contendo 30% de matéria graxa e 0,15% de CMC. A temperatura de 115°C, proporcionava um processamento mais prolongado afetando a coloração do produto, apesar de continuar aceitável. Já a 130°C, o tempo de esterilização foi relativamente menor do que a 121°C, resultando em produto final com coloração apropriada, mas com alterações inaceitáveis quanto ao sabor e odor, provavelmente em razão da exposição excessiva das proteínas ao calor.

Análises realizadas por TEIXEIRA NETO *et al.* (1985a) em leite de coco comercial, pasteurizado pela indústria, utilizando o leite de coco integral (43,9% de gordura), detectaram a presença de aditivos derivados quimicamente de compostos de enxofre, e aceitável em relação ao aspecto de cor. No aspecto microbiológico constataram a presença de bactérias termófilas viáveis (*Bacillus stearothermophilus*), que cresceram a 65°C. Já o leite de coco esterilizado apresentou uma viscosidade ligeiramente superior ao do pasteurizado, apesar do menor teor de gordura no produto (30%), não significando maiores dificuldades para sua aceitação. Quanto à cor, devido à não utilização de compostos contendo SO₂ livre no produto esterilizado, observaram um produto ligeiramente mais escuro, entretanto mencionaram que estas diferenças foram compensadas por melhorias no odor e sabor do produto esterilizado, além do aspecto relacionado à saúde pública. O tempo total de esterilização utilizado, incluindo o tempo de subida da autoclave até 121°C, manutenção desta temperatura durante 30 e 40 minutos e o tempo de resfriamento do produto a 97°C, foi de no mínimo, 60 e 70 minutos para garrafas de 200 e 500 ml, respectivamente.

Esterilização em escala industrial de leite de coco envasado em recipientes de vidro de 200 e 500ml foram estudadas por TEIXEIRA NETO *et al.* (1985b), obtendo-se um produto de boa qualidade tanto organoléptica como em relação à estabilidade microbiológica. Para efeito de comparação, eles coletaram algumas garrafas de leite de coco pasteurizado pela indústria, em garrafas de 200 ml, no mesmo dia dos ensaios com o produto esterilizado, portanto, originário da mesma matéria prima, cujos resultados estão apresentados na **Tabela 9**.

Segundo os pesquisadores, o ensaio 6 possui na formulação adição de ácido cítrico e ausência de espessante (CMC), explicando os valores inferiores apresentados na determinação de pH e viscosidade, respectivamente. Os contrastes mais significativos foram observados para o alto valor para luminosidade e presença de bactérias termófilas. O primeiro é consequência da ação do SO₂, que causa menores alterações de cor, enquanto o segundo coloca em dúvida a condição de esterilidade comercial do produto.

Tabela 9. Análises físicas e químicas, avaliações organolépticas e exames microbiológicos dos leites de coco esterilizados (ensaio 1, 2 e 3 em frascos de 200 ml; ensaios 4 e 5 em frascos de 500 ml) e pasteurizados (ensaio 6 em frasco de 200 ml).

Determinação	Ensaio					
	1	2	3	4	5	6 ^a
Sólidos totais (%)	33,29	33,22	33,42	36,20	32,14	34,75
Matéria graxa (%)	29,6	29,0	28,6	30,4	27,7	30,9
pH	6,2	6,2	6,2	6,3	6,2	5,9
SO ₂ total (ppm)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	150
Viscosidade a 25°C						
EPPRECHT						
Spindle n° 2 (cP)	43,0	35,0	35,0	43,0	43,0	31,0
Orifício célula B3 (seg.)	36,7	34,3	32,0	37,0	38,3	31,6
Cor HUNTERLAB						
L (luminosidade)	87,3	87,4	88,1	85,5	84,9	94,1
a (verde)	-2,2	-2,1	-2,1	-1,7	-1,6	-2,6
b (amarelo)	4,2	3,6	4,3	2,8	2,2	3,8
Aroma ^b	4	3	4	6	1 ^c	6
Sabor ^b	4	6	4	5	1	2 ^d
Microbiologia	n.d. ^e	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Presença de termófilos

^a = Leite pasteurizado da linha normal da indústria.

^b = Escala de preferência: 1 = péssimo, 2 = ruim, 3 = regular, 4 = bom, 5 = muito bom, 6 = excelente.

^c = Aroma de ovo podre.

^d = Sabor meio amargo de SO₂.

^e = n.d. significa nada detectado nas amostras examinadas.

Esses autores observaram que as amostras esterilizadas apresentaram valores de pH, matéria graxa e viscosidade praticamente constante. Entretanto, quanto ao aspecto organoléptico, as amostras embaladas em garrafas de 500 ml apresentaram alterações mais sensíveis na coloração em comparação com as de 200 ml, devido ao tempo de esterilização mais prolongado. O ensaio 5 demonstrou um resultado insatisfatório, segundo os autores, devido a fatos anormais ocorridos, particularmente durante o processamento desse lote e que deram

origem ao pré-tratamento térmico excessivo do produto, bem como maior diluição, portanto, fora das condições básicas estabelecidas na escala piloto.

Observaram, também, em todas as amostras esterilizadas examinadas ocorreram ausência de esporos de bactérias, inclusive termófilas, levando a concluir que o processamento térmico programado ($F_0 = 5,0$ min.) é bastante seguro em relação ao *Clostridium botulinum*, conferindo a esterilidade comercial, conforme apresentado na **Tabela 10**, os parâmetros de processamento térmico de cada ensaio. Apenas o teste 5 apresentou um valor de F_0 menor que 5, entretanto, foi considerado seguro, conforme constatado no exame microbiológico do produto final. A partir desses dados, os autores consideraram que é necessário um tempo total de processamento na autoclave para garrafas de 200 ml de 60 minutos, enquanto que, para garrafas de 500 ml, este tempo deverá ser de aproximadamente 70 minutos.

Tabela 10. Ensaios de esterilização a 121°C de leite de coco formulado com 30% de matéria graxa e 0,15% de CMC em garrafas de 200 e 500 ml realizados na indústria.

Descrição de esterilização	Testes ^a				
	1	2	3	4	5
Tempo de subida até 121°C (min.)	15	11	10	10	8
Tempo de esterilização (min.)	26	28	27	39	35
Tempo de resfriamento (min.)	19	19	18	21	17
Tempo total de processo (min.) ^b	65	63	60	75	65
Temperatura inicial da água da autoclave (°C)	85	95	98	97	100
Temperatura inicial do produto (°C)	20	20	37	20	30
Temperatura final do produto (°C)	97	97	97	97	98
F_0 calculado (min.)	5,6	5,8	5,5	5,8	4,4

^a Os testes números 1, 2 e 3 referem-se a frascos de 200 ml, enquanto os números 4 e 5 referem-se a frascos de 500 ml.

^b considerou-se um tempo adicional de 5 minutos para se efetuar o carregamento, fechamento e descarregamento da autoclave.

O conhecimento da vida de prateleira de qualquer produto destinado ao mercado é de fundamental importância para o seu sucesso. TEIXEIRA NETO *et al.* (1985b) avaliaram a vida de prateleira dos produtos esterilizados e pasteurizados quanto à cor, aroma, sabor, viscosidade, durante o tempo de armazenamento de 400 dias à temperatura ambiente. Eles constataram que os produtos esterilizados preservaram suas qualidades de aceitabilidade durante o período de avaliação. Em contraste, o produto pasteurizado apresentou aroma e sabor de aceitabilidade sofrível, detectando-se a sensação amarga de compostos estranhos ao leite de coco natural. Apesar de considerarem a esterilização o melhor processo, eles demonstraram que a não observação das condições básicas estabelecidas para o processamento tende a proporcionar um produto de inferior qualidade e menor estabilidade quanto ao aspecto organoléptico, conforme detectado pelo ensaio 5 (**Tabela 9**).

Com o objetivo de estudar os mecanismos (formulações e alterações do processo) para se atingir a estabilidade da emulsão do leite de coco SOLER *et al.* (1986; 1987) avaliaram a estabilidade do leite de coco do tipo comercial com adição de diferentes produtos e dosagens de geleificantes e espessantes, entre eles: carboximetilcelulose (0,1 e 0,2%); Tween 80 (0,30%); carragena e goma guar (0,03 a 0,1%) e amido modificado constituído por 100% de amilopectina (1 e 2 %), em leite padronizado com água até o teor de 30% em matéria graxa. Eles adicionaram, na maioria das formulações, o metabissulfito de sódio (400 ppm). As diferentes formulações foram preparadas e aquecidas em tacho encamisado, durante 5 minutos a 90°C, sob agitação, para desnaturação da fração protéica e dispersão dos aditivos, seguido da homogeneização a 60°C, em alta pressão e em duplo estágio (50 kg/cm² no primeiro e 150 kg/cm² no segundo), seguido do envase a frio em garrafas de 200 ml e posterior esterilização com tratamento térmico estabelecido para um valor de F₀ mínimo de 3 minutos. A formulação que apresentou estabilidade e viscosidade adequada foi aquela com combinação de carragenato + goma guar (0,06%) com CMC (0,20%), juntamente com a homogeneização do produto. O uso do metabissulfito de sódio influenciou favoravelmente na cor do leite de coco, durante o processo de esterilização.

Utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta (MRS) SOLER *et al.* (1991) estudaram a estabilidade física do leite de coco esterilizado em autoclave rotativa (SOLER *et al.*, 1990), avaliando simultaneamente o tipo, a quantidade de estabilizante e espessante e a influência desses insumos no produto final. Utilizaram carboximetilcelulose de alta viscosidade, Tween e Span 80 e Tween e Span 60, combinados de forma a se obter HLB (balanço hidrofílico lipofílico) definidos entre 7 a 11,78. Após um período de 11 semanas de avaliação, pelas curvas de contorno da MSR constataram que o produto mais estável obtido continha 0,15% de emulsificantes da família 60, combinados de forma a se obter HLB 10 e 0,30% de CMC de alta viscosidade.

Conservantes químicos normalmente utilizados pelas indústrias de leite de coco e três diferentes processos térmicos foram avaliados por SOLER *et al.* (1996), para verificar a estabilidade microbiológica do leite de coco comercializado à temperatura ambiente. Complementando o estudo, realizaram comparações com o processo de esterilização em autoclave rotativa. Leite de coco padronizado para 25% de gordura e acrescido de esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679) em dois níveis de inóculo para cada tipo de processamento, $2,0 \times 10^2$ e $2,0 \times 10^6$ esporos/ml, foram utilizados no trabalho, conforme apresentado na **Tabela 11**.

Análises microbiológicas realizadas por estes autores, após 10 dias do processamento, indicaram que os tratamentos 1 e 2 apresentaram crescimento de *C. sporogenes* (PA3679) com produção de odor putrefativo. Para os tratamentos 3 e 4, que foram formulados com conservantes químicos, constataram a presença de bactérias anaeróbias mesófilas somente nas garrafas submetidas ao tratamento 3. O uso apenas do metabissulfito (tratamentos 5 e 6) não impediu o crescimento dessas bactérias. Utilizando-se um valor de $F_0 = 5$, uma rotação de 24 rpm e a não adição de conservantes químicos, impediu o desenvolvimento microbiológico. O tratamento 8, apesar de ter sido formulado de forma idêntica ao tratamento 4, permitiu o desenvolvimento de bactérias anaeróbias mesófilas.

Tabela 11. Composição e tipos de tratamento térmico utilizados para diferentes formulações de leite de coco.

Composição	Tratamentos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Gordura (%)	25	25	25	25	25	25	25	25
Estabilizantes (%) ¹	-	-	-	-	0,15	0,15	0,15	-
Metabissulfito (ppm)	-	-	750	750	500	500	-	750
Sorbato (ppm)	-	-	1000	1000	-	-	-	1000
Benzoato (ppm)	-	-	1000	1000	-	-	-	1000
Ácido cítrico (ppm)	-	-	300	300	-	-	-	300
CMC (%) ²	-	-	-	-	0,20	0,20	0,30	-
Tratamento térmico (°C/minutos)	98/60	98/60	98/60	98/60	98/60	98/60	121/5 (24 rpm)	“hot – fill” (95°C)
Inoculo do PA3679 (esporos/200 ml)	2x10 ⁶	2x10 ²	2x10 ⁶	2x10 ²	2x10 ⁶	2x10 ²	2x10 ⁶	2x10 ²

¹ = Estabilizantes: Aline 600 (polisorbato) e Aline ES 600 (monoestearato de sorbitan) na proporção 0,55 e 0,45% respectivamente (Fabricante: Oxiteno – SP).

² = Carboximetilcelulose Aline CM 1: 2000 SF (Fabricante: Oxiteno – SP).

Também demonstraram, através dos resultados obtidos, que existe a possibilidade do desenvolvimento de *Clostridium sporogenes* (PA3679), indicando inclusive o risco de desenvolvimento de *Clostridium botulinum* quando não se utiliza a esterilização do leite de coco em autoclave rotativa, concluindo que o tratamento à pressão atmosférica, praticado pela indústria, implica em risco potencial à saúde pública.

SOLER *et al.* (2001) simularam emulsões imitando a formulação do produto leite de coco, utilizando água, óleo de coco, fibras e proteínas de coco para avaliar a influência da adição de estabilizantes e da concentração de proteína adicionada na estabilidade física do produto. Padronizaram sempre o produto para um teor de gordura de 25%, contendo 0,3% de carboximetilcelulose de alta viscosidade (CMC Aline 1/5000), adicionando-se de 0 a 0,05% de goma xantana, 0 a 0,02% de goma guar, 0 a 0,05% de carragenas e, ainda, 0,15% da mistura de polisorbato 60 (Aline 600 K) e de monoestearato de sorbitana 60 (Aline ES 600) (na proporção de 45% e 55%, respectivamente) combinados com 1,5% de proteína de coco e 4,5% de fibras (aproximadamente 3,0% de fibra desengordurada, partículas que passaram

pela peneira com abertura de 1190 µm de diâmetro). Constataram que, após o armazenamento durante 11 dias a 35°C, a proteína do coco e as fibras adicionadas são importantes na estabilização do produto.

Através da análise dos trabalhos realizados até o momento, observa-se a busca de um processo que proporcione um alimento inócuo quanto ao aspecto de saúde pública, ou seja, livre de microrganismos patogênicos, e, também, estável fisicamente, desde que esses benefícios não descaracterizem a qualidade sensorial do produto. Até o momento constata-se que existem duas tecnologias desenvolvidas para a obtenção de um leite de coco microbiologicamente seguro: a esterilização e a pasteurização associada à acidificação até $\text{pH} \leq 4,5$, entretanto, não são aplicados por serem respectivamente, economicamente inviável e de pouca aceitabilidade ao paladar. O processamento utilizado atualmente nas indústrias consiste na adição de conservantes químicos benzoato de sódio (INS211), metabissulfito de sódio (INS223) e / ou sorbato de potássio (INS202), seguido da pasteurização em água em ebulição, de forma que o ponto frio do produto envasado em garrafas de 200 ml permaneça a 98°C durante 70 minutos. Por se tratar de um produto de baixa acidez ($\text{pH} = 6,0$) os conservantes estarão em grande proporção na sua forma dissociada (pouco ativa) e o tratamento térmico aplicado não é suficiente para eliminar esporos de *C. botulinum*, ou seja, microbiologicamente não é seguro.

Diante destes fatos, um tratamento térmico mais suave ou brando, combinando a pasteurização e utilizando um tempo menor de processo, associada a acidificação do produto e redução na atividade de água, poderá resultar num produto seguro, estável à temperatura ambiente e cujos aditivos utilizados para reduzir a atividade de água interfiram menos no sabor das formulações onde participam como ingredientes. Assim, a tecnologia aplicada no produto oriundo deste estudo baseou-se no uso dos métodos combinados ou teoria dos obstáculos, que podem agir em sinergia para inibir o crescimento microbiano, tornando o produto comercialmente estéril.

6. Referências Bibliográficas

- AGRIANUAL. Coco. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo:FNP Consultoria e Comércio. P. 286-287, 2004.
- ALIMENTOS ENLATADOS: Princípios de controle do processo térmico, acidificação e avaliação do fechamento de recipientes. 4°. Ed. Trad. Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL. Campinas, SP. 1983. 280p.
- ASHTON, D. H. Thermophilic anaerobes. In: SPECK, M. L. (ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, 1976. p. 236-269.
- BIBLIOTECA VIRTUAL. Coco. Disponível em:<
<http://www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/coco.html>>. Acesso em: abril 2004. Última atualização: 18/05/2004.
- CAMBOIM, L.; MIRISOLA, L. A cultura do coqueiro. Disponível em:
<http://www.fortunecity.com/meltingpot/ethiopia/614/index.html>. Acesso em 09/2001. Última atualização: 5/10/2001.
- CANADA, J. C.; DRYER, J. M.; MAUNDER, D. T. Canned foods: test for commercial sterility. In: SPECK, M. L. (ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington: American Public Health Association, 1976. p. 620-631.
- CHIRIFE, J.; FAVETTO, G. J.; BALLESTEROS, S.; KITIC, D. Mumification in ancient Egypt: and old example of tissue preservation by hurdle technology. **Lebensmittel Wissenschaft und Technology**, v. 24, n. 1, p. 9-11, 1991.
- CHIRIFE, J. Physicochemical aspects of food preservation by combined factors. **Food Control**, v. 4, n. 4, p. 210-215, 1993.
- CORREIO DA BAHIA. Irrigação garante produtividade recorde de coco. Disponível em: <<http://www.correiodabahia.com.br>>. Acesso em 05/2004. Última atualização: 13/07/2004.
- CUENCA, M. A. G. Importância econômica do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.). **A cultura do coqueiro no Brasil**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI. 1997. P. 17-56.
- DE MARTIN, Z. J.; UBOLDI EIROA, M. N.; KATO, K.; SILVA, S. D.; LEITÃO, M. F. F.; ANGELUCCI, E.; MEDINA, J. C. Processamento e estudo da estabilidade do leite de coco integral. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 6 (1):1-10. 1975.
- DE MARTIN, Z. J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J. M.; SANTOS, L. C.; SILVA, M. T. C.; MEDINA, J. C. **Processamento: produtos, características e utilização**. Coco. Série Frutas Tropicais, 5. Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1980.

- DEL ROSARIO, R. R.; PUNZALAN, G. C. Quality control of coconut milk processing: emulsion stability studies. **Philippine Journal of Coconut Studies**, v.2, n. 4, p. 9-14, 1977.
- EMBRAPA SEMI-ÁRIDO. Seminário debate coco híbrido como opção de cultivo nas áreas irrigadas do Vale do São Francisco. Disponível em: <<http://www.cpatsa.embrapa.br/noticia42.html>> Acesso em 05/2004. Última atualização: 13/07/2004.
- ERICKSON, L. E. Recent developments in intermediate moisture foods. *Journal of Food Protection*, v. 45, n. 5, p. 484-491, 1982.
- FAO. Coconut: production. Disponível em <http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCREP/004/AD452E/ad452e11.htm>. Acesso em 01/2005. Última atualização: 20/03/2005.
- FOOD PROCESSORS INSTITUTE. **Alimentos enlatados, princípios de controle de processamento térmico, acidificação e avaliação do fechamento de recipientes**. Campinas: ITAL, 1983. 377p.
- GONÇALVES, J. R.; TEIXEIRA NETO, R. O. Aspectos industriais na conservação do leite de coco. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 19(4):359-368. 1982.
- GONÇALVES, J. R.; LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA NETO, R. O. Aspectos preliminares na conservação do leite de coco industrial por acidificação e pasteurização. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 21(4):489-502. 1984.
- IBGE. INSTITUTO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 07/2004. Última atualização: 16/07/2004.
- KAREL, M. Technology and application of new intermediate moisture foods. In: DAVIES, R.; BIRCH, G. G.; PARKER, K. J. **Intermediate moisture foods**. London, Applied Science Publishers Ltd., 1976. p. 4-31.
- LEISTNER, L. Food preservation by combined methods. **Food Research International**, 25(2): 151-158, 1992.
- LEISTNER, L. Food design by hurdle technology and HACCP. Kulmbach, Adalbert Raps Foundation, 62p., 1994.
- LEISTNER, L. & GORRIS, G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 2, p. 41-46, 1995.
- LEITÃO, M. F. F.; JUNQUEIRA, V. C. A. Microbiologia aplicada à esterilização de alimentos. In: **Princípios de esterilização de alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1995. p. 1-24.
- MAIA, G. A. ; CASTRO, F. A. Côco – Leite e Côco Ralado. **Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial**. Série Informações Tecnológicas, n.13,Fortaleza, 1985. 48p.

- MAUNDER, D. T. Thermophilic flat sour sporeforms. In: SPECK, M. L. (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: American Public Health Association, 1976. p. 254-262.
- MORORÓ, R. Industrialização do coco. Disponível em: <<http://www.tecnologiaetreinamento.com.br/revista/materia.php?m=0143>>. Acesso em :12/2004. Última atualização: 20/12/2004.
- NATIONAL CANNER ASSOCIATION. Laboratory manual for food processors 3. ed. Westport, AVI, v. 1, 336, 1968.
- PEREZ, L. H.; MAZZEI, A. R.; ALVEZ, H. S. Produção e comercialização de coco verde, no Estado de São Paulo, 1995-2000. **Informações Econômicas**, 32(10):45-52. 2002.
- PERKINS, J. J. Principles and Methods of Sterilization in Health Sciences, 2^a ed., Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1983.
- ROBSON, J. N. Some Introductory thoughts on intermediate moisture foods. In: DAVIES, R.; BIRCH, G. G.; PARKER, K. J. Intermediate moisture foods. London, Applied Science publishers Ltd., p. 32-42, 1976.
- SILVA, A. A. M. Estudo da estabilidade do leite de coco concentrado. Tese apresentada à Faculdade de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos, 28 p., dezembro de 1971.
- SOLER, M. P.; SANTANA, L. R. R.; DE MARTIN, Z. J. Estudo da estabilidade física do leite de coco tipo comercial. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 24(3):391-407. 1986.
- SOLER, M. P.; SANTANA, L. R. R.; DE MARTIN, Z. J. Estudio de la estabilidad física de la leche de coco comercial. Avances em Tecnologia de Alimentos. In: **Congresso Mundial de Tecnologia de Alimentos**, 2, Barcelona, Espanha, v. 2. 1987, p. 1061-1070.
- SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; BARUFATI, C. R. S.; FERREIRA, V. L. P.; SILVA, M. T. C.; UBOLDI EIROA, M. N. Étude de stabilité du lait du coco stérilisé en autoclave rotative. Symposium de la Fédération Internationale des Producteurs de Jus de Fruits, 20. Paris, França, Commission Scientifique et Technique, 1990. p. 421 – 429.
- SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; MATARAZZO, A. A. W.; BARUFATI, C. S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera*, L.) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas v. 21, n. 2, p.285-296, 1991.
- SOLER, M. P. ; VITALI, A. A.; JUNQUEIRA, V. C. A.; FADINI, A. L. Avaliação da eficiência de diferentes tratamentos térmicos na estabilidade microbiológica do leite de coco. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 26(2): 127-132. 1996.

- SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; QUEIROZ, M. B.; SCAMPARINI, A. R. P. Aplicação de hidrocolóides na estabilização de emulsões simuladas do leite de coco. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas v. 4, p.57-66, 2001.
- STUMBO, C. R. Thermobacteriology in Food Processing. Academia Press., New Cork, 236p., 1965.
- STUMBO, C. R. Thermobacteriology in Food Processing. 2 ed. Academia Press., 1973.
- TAOKIS, P. S.; BREENE, W. M.; LABUZA, T. P. Intermediate moisture foods. In: POMERANZ, Y. (ed). Advanced in Cereal Science and Technology, St. Paul, v. 9, p. 91-128, 1988.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A.; GONÇALVES, J. R.; DE LAZARI, I. Esterilização de leite de coco em recipientes de vidro. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n.4, p.417-435, 1985a.
- TEIXEIRA NETO, R. O.; VITALI, A. A.; DE LAZARI, I.; UBOLDI EIROA, M. N.; FERREIRA, V. L. P. Esterilização de leite de coco em escala industrial. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n.4, p.437-446, 1985b.
- TIMMINS, W. H.; KRAMER, E. C. The canning of coconut cream. **Philippine Journal of Coconut Studies**, v. 2, n. 4, p. 15-25, 1977.
- TOWNSEND, C. T., SOMERS, I. I., LAMB, F. C., OLSON, N. A. A laboratory manual for the canning industry. 2nd. Ed. NCA, Research Laboratories. Washington, D. C., 1956.
- UBOLDI EIROA, M. N.; LEITÃO, M. F. F.; DE MARTIN, Z. J.; KATO, K. Microbiologia do leite de coco. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 6 (1):1-10. 1975.
- VITALI, A. A. Importância da atividade de água em alimentos. In: Jardim, D. C. P. (coord.). **I Seminário sobre atividade de água em alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1987. p. 1-5.

Capítulo I - Acidificação do leite de coco

I.1. Resumo

Um acidulante foi selecionado para ser empregado na acidificação do leite de coco. O sucesso em limitar o número de microrganismos será dependente das espécies presentes, tipo e concentração do acidulante, tempo de exposição, capacidade tamponante do alimento e qualquer outra condição pré-existente que possa aumentar esta inibição. Foi realizada também uma análise sobre a efetividade dos conservantes químicos utilizados comercialmente no leite de coco, que pode ser muito reduzida para este produto nas condições atualmente aplicadas, uma vez que os valores de pKa destes compostos estão situados na faixa de 4 a 5. Seis ácidos comumente empregados em conservas alimentícias: fosfórico, láctico, cítrico, málico, tartárico e acético foram submetidos à seleção. Para cada 100 gramas de leite de coco padronizado para 25% de teor de gordura e pH inicial de 5,7 um ácido foi avaliado, adicionando-se alíquotas de 0,25 ml de uma solução 1N e registrando-se o valor do pH. A quantidade de cada ácido adicionado ao leite de coco, em unidade de massa, para reduzir o pH a 4,5, foram: 0,3002 g de ácido tartárico, 0,3520 g de ácido cítrico, 0,3679 g de ácido fosfórico, 0,3687 g de ácido málico, 0,4504 g de ácido láctico e 0,5104 g de ácido acético. Na avaliação sensorial para o sabor dos produtos acidificados até pH = 4,5, dois dos ácidos empregados destacaram-se positivamente: tartárico e fosfórico. Analisando os resultados e tendo como critérios básicos o custo do produto, o consumo na acidificação e o sabor conferido ao produto final, foi selecionado o ácido fosfórico para a seqüência da pesquisa. Ele foi utilizado para acidificar leite de coco com diferentes teores de gordura: 9%, 12,5%, 18% e 25%, que são variações do produto comercializado. Quanto menor o teor de gordura no produto, menor a quantidade de ácido fosfórico necessário para reduzir o pH.

I.2. Introdução

A sobrevivência e crescimento dos microrganismos nos alimentos são governados por muitos parâmetros, e um deles é o pH. Todos os microrganismos possuem um nível mínimo, máximo e ótimo de pH para crescer, e pela alteração na concentração do íon hidrogênio, os organismos podem proliferar ou ser efetivamente controlados. Em geral, as bactérias são mais exigentes e preferem um pH próximo da neutralidade (pH 6,5 – 7,5), mas podem tolerar uma variação na faixa de 4 – 9. As leveduras são mais tolerantes para pH menores, e os mofo aceitam uma ampla variação de pH; ambos podem ser recuperados de alimentos com pH inferiores a 3,5 (DOORES, 1983).

A variabilidade na tolerância dos organismos para a ampla variação de pH naturalmente seleciona as espécies ou grupos de microrganismos que predominarão em um produto alimentício ainda não deteriorado. Por exemplo, alimentos protéicos tais como a carne, aves e pescados, com um pH variando entre 5,5 – 6,5 são primeiramente deteriorados por bactérias. Frutas e hortaliças, com um pH inerente menor e pouca capacidade tamponante, estão sujeitos à deterioração por fungos e leveduras (DOORES, 1983).

Uma forma efetiva de limitar o crescimento é aumentando a acidez de um alimento, portanto criando um ambiente desfavorável. Isto pode ser alcançado pela adição de acidulantes no alimento ou aumentando a acidez naturalmente através da fermentação. A acidificação resulta numa ação inibitória sobre o desenvolvimento do microrganismo do que a sua destruição. O sucesso em limitar o número de microrganismos será dependente das espécies presentes, tipo e concentração do acidulante, tempo de exposição, capacidade tamponante do alimento e qualquer outra condição pré-existente no alimento que possa aumentar esta inibição (DOORES, 1983).

Microrganismos apresentam variada tolerância aos ácidos. Por exemplo, as bactérias ácido lácticas são não apenas tolerante aos ácidos lipofílicos fracos, mas também produzem esta substância como subproduto do seu metabolismo. Alguns

ácidos, tais como o ácido acético, podem ser vitais para o metabolismo de *Lactobacillus*, mas inibitório para *Bacillus*. Em microbiota mista, o uso apropriado de um ácido em um meio de cultura pode selecionar um grupo em particular.

Os tempos de esterilização por tratamento térmico de alimentos podem ser reduzidos, devido à redução da resistência térmica de microrganismos em alimentos com a acidez aumentada. A presença contínua de ácidos pode efetivamente inibir a germinação e o desenvolvimento de esporos que sobrevivem ao processo térmico. O uso de sal, açúcar, agentes de cura em conjunção com ácidos servem para reduzir o tempo de processo. Esta interação não somente assegura a esterilidade comercial do alimento, mas diminui o tempo de processo que ajudará a preservar a palatabilidade do produto (CORLETT & BROW, 1980).

1.2.1. Acidificação e conservantes químicos

Para se fazer a escolha adequada de um agente conservador, deve-se ter conhecimento de alguns fatores que influem na sua eficácia, como, por exemplo, o pH e a composição do produto. A presença de outros inibidores do crescimento de microrganismos, tais como sal, açúcar, vinagre, condimentos e outros ácidos, pode ter um efeito marcante na performance do conservante. O teor de água disponível para o crescimento de microrganismos (a_w) é um fator que influi muito na eficácia dos agentes conservadores (BRANEN, 1983).

O nível inicial de contaminação microbiológica também é de relevância. Alguns conservadores, quando utilizados a baixas concentrações, podem ser metabolizados pelos microrganismos que eles deveriam inibir. Portanto, o uso de conservadores não resolve o problema de más condições de higiene de ingredientes e equipamentos.

Fatores como o tipo de microrganismo a ser inibido, a facilidade de manuseio do conservador, o impacto no paladar e o custo também são de grande relevância. Não existe conservador que seja eficaz para todos os tipos de

alimentos e o número de conservadores cujo uso é permitido é surpreendentemente pequeno.

Dentre os conservantes químicos utilizados no leite de coco, temos atualmente o sorbato de potássio (INS202), benzoato de sódio (INS211) e o metabissulfito de sódio (INS223).

Por razões de solubilidade, sabor e baixa toxidez, os sorbatos e benzoatos são mais utilizados em alimentos, do que os ácidos dos quais provém. Com relação aos custos, os benzoatos são mais baratos do que os sorbatos. Já os ésteres do ácido p-hidroxibenzóico (para-benzóicos), que são bastante utilizados em produtos farmacêuticos, são menos utilizados em alimentos, devido ao alto custo.

Os valores de pKa ($pKa = pH$ no qual 50% do ácido total está não dissociado) dos ácidos lipofílicos e derivados utilizados como conservadores em alimentos, estão situados na faixa de 4 a 5 enquanto que os dos para-benzóicos se situam na faixa de 8 a 9. A redução de pH de um alimento acarreta um aumento na proporção de moléculas não dissociadas do ácido orgânico. Estas moléculas não dissociadas são responsáveis pela ação antimicrobiana dos conservadores. A não dissociação destes compostos lipofílicos facilita a penetração através das membranas celulares dos microrganismos, sobre os quais vai ser exercida a ação inibitória do agente conservador. A relação entre o pH e a proporção de ácido não dissociado, presente na solução de ácidos orgânicos e derivados utilizados como conservadores, está ilustrada na **Tabela I.1**. Acredita-se que estes ácidos lipofílicos inibam ou destruam microrganismos, tanto pela alteração da permeabilidade das membranas celulares, quanto pela interferência em reações metabólicas essenciais para o crescimento e atividade celular (BRUL & COOTE, 1999; RONNING & FRANK, 1987; RONNING & FRANK, 1988).

A maior inibição devido à presença de ácidos lipofílicos, ocorre em alimentos com pHs inferiores a 4,5. Portanto, estes compostos são utilizados principalmente para a inibição de bolores e leveduras, que podem se desenvolver

bem em condições mais ácidas (SOFOS & BUSTA, 1983; LUCK, 1976). As células de várias espécies microbianas têm tolerâncias diferentes com relação à acidificação interna ou ao acúmulo de ânions, e suas membranas têm diferentes características de permeabilidade com relação aos ácidos lipofílicos. Em uma microbiota mista, a acidez pode selecionar os componentes da população inicial, que são tolerantes a baixos valores de pH. Leveduras e lactobacilos são freqüentemente selecionados em meios ácidos.

Desta forma, através da equação (1) a seguir, pode-se determinar a porcentagem de ácido dissociado para cada valor de pH.

$$pH = pKa - \log \frac{[Forma \text{ não dissociada}]}{[Forma \text{ dissociada}]} \quad (1)$$

A partir dos valores obtidos (**Tabela I.1**) foi construído o gráfico (**Figura I.1**) ilustrando o grau de dissociação de acordo com o pH do meio ou alimento.

Tabela I.1. Efeito do pH na dissociação de ácidos lipofílicos utilizados como conservadores em alimentos.

pH do meio	% de ácido não dissociado			
	Propiônico	Sórbico	Benzóico	Para-benzóico
3,0	98,67	97,9	93,9	100,0
3,5	95,91	93,7	83,0	100,0
4,0	88,11	82,4	60,8	100,0
4,5	70,10	59,7	32,9	100,0
5,0	42,57	31,9	13,4	100,0
5,5	18,99	12,9	4,7	99,9
6,0	6,90	4,5	1,5	99,7
6,5	2,29	1,5	0,5	99,0
7,0	0,74	0,5	0,2	96,9
pKa	4,87	4,67	4,19	8,5

Pela **Figura I.1** pode-se observar que os conservantes derivados dos ácidos para-benzóicos são os mais ativos em uma ampla faixa de pH. Já os demais conservantes apresentam um comportamento semelhante, entretanto para a faixa de pH entre 3 e 7, os derivados dos ácidos propiônicos apresentam uma porcentagem de formas não dissociadas maior que os derivados dos ácidos sórbicos e estes superiores aos derivados dos benzóicos. Pode-se observar também, que em valores de pH próximo da neutralidade, a quantidade de formas não dissociadas é muito baixa, ou seja, estes conservantes terão uma atividade antimicrobiana muito baixa. Como o pH do leite de coco é próximo de 6,0, a atuação destes conservantes sobre os microrganismos é relativamente baixa, entretanto, quando o pH é reduzido para 5,0 teremos um significativo aumento de formas não dissociadas.

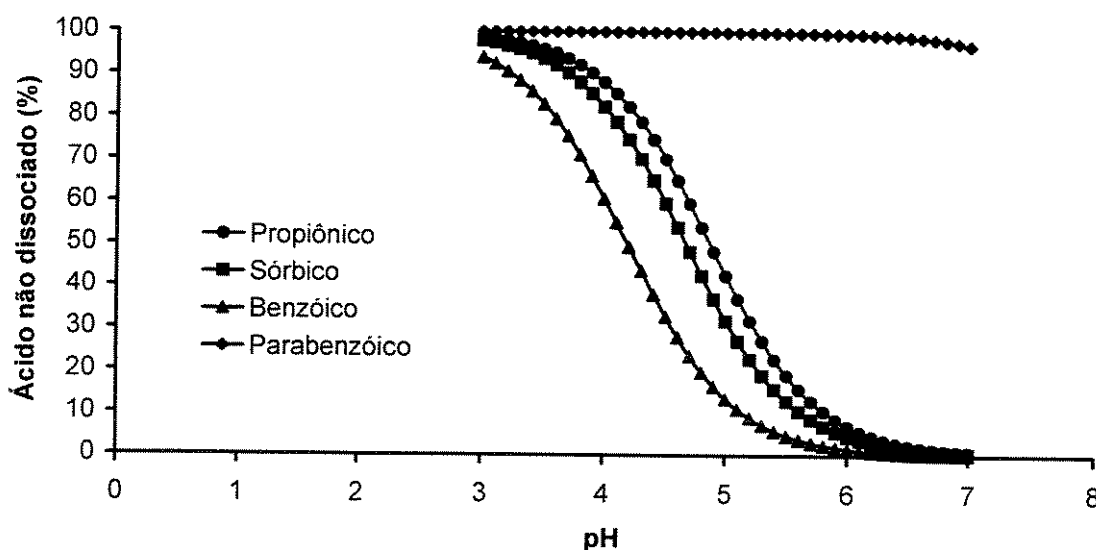


Figura I.1. Efeito da variação do pH do meio no grau de dissociação dos conservantes.

Pela **Tabela I.1** pode-se observar que no caso dos derivados de ácidos propiônicos ocorre um aumento de 6,17 vezes nas formas não dissociadas quando reduzimos o pH de 6,0 (pH do leite natural) para pH 5,0. Analogamente, ocorre um aumento de 7,08 vezes para os derivados do ácido sórbico e de 8,93

vezes para o ácido benzóico. Estes conservantes atuam principalmente sobre os bolores e leveduras, uma vez que são mais ativos em alimentos ácidos, condição em que muitas bactérias não se desenvolvem.

Já o dióxido de enxofre (SO_2) e os sais sulfito de sódio e potássio ($=\text{SO}_3$), bissulfito ($-\text{HSO}_3$) e metabissulfito ($=\text{S}_2\text{O}_5$) parecem agir similarmente. Dióxido de enxofre é usado na sua forma líquida ou gasosa ou na forma de sais neutros ou ácidos, com finalidade de evitar o escurecimento (enzimático e não enzimático) e inibir o crescimento de microrganismos. A forma ativa do ácido sulfuroso é a não dissociada, sendo que a maior eficácia destes compostos ocorre em pHs baixos (4,0). O SO_2 fornecido pelo ácido sulfuroso é extremamente reativo e pode interagir com grupos tióis de proteínas estruturais de enzimas, e pode combinar com co-fatores e vitaminas. O SO_2 destrói a tiamina (Vitamina B1). A peroxidação de lipídios devido à presença de SO_2 causa danos nas membranas celulares, que podem avariar o sistema de transporte de nutrientes dos microrganismos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar qual tipo de ácido é o mais eficiente na redução do valor do pH do leite de coco, sem prejudicar muito o sabor e também avaliar o efeito tampão que componentes do leite de coco, em suas versões comerciais (light, reduzido teor de gordura e padronizado para 25% de gordura) exercem sobre a alteração nos valores do pH.

I.3. Material e métodos

Inicialmente foram selecionados seis ácidos comumente empregados em conservas alimentícias: fosfórico, láctico, cítrico, málico, tartárico e acético. Nos testes de laboratório foram utilizados reagentes tipo “P.A.” (pró-análise), adicionando-os na forma de solução 1N ao leite de coco. Para esta etapa foi utilizado 100 gramas de leite de coco padronizado com água destilada para um teor de gordura de 25%, a partir do leite de coco concentrado (40% gordura). A cada adição de 0,25 ml de solução ácida no leite de coco, efetuou-se a homogeneização com o auxílio de um agitador magnético, até obtenção de leitura

constante de pH. As variações de pH nessas operações foram acompanhadas por um potenciômetro digital (pH Digital PG 2000 – GEHAKA).

A partir dos resultados obtidos foi construída a curva de acidificação para cada ácido, para comparar a eficiência na redução do pH. Foi realizada também uma análise sensorial com dez provadores treinados, utilizando o método de escala hedônica de 9 pontos, conforme ficha de avaliação apresentado no **Anexo I.1**. Seis amostras de leite de coco contendo 25% de gordura foram codificadas e oferecidas em copos de 50 ml aos provadores, sendo que cada amostra foi acidificada com um tipo de ácido até obter o valor do pH de 4,5, medido no potenciômetro digital. A seleção do ácido foi baseada na capacidade de redução do pH e análise sensorial dos produtos acidificados. Após a seleção do ácido, foram preparados leite de coco com diferentes padronizações de gordura: 9%, 12,5% (versões light), 18% e 25% e submetidos à acidificação, e através dos dados obtidos foram construídas as respectivas curvas de acidificação.

I.4. Resultados e discussões

O pH inicial do leite de coco padronizado para 25% de gordura apresentou o valor médio de 5,77, conforme pode ser observado nas **Tabelas do Anexo I.2**. Das soluções ácidas (1N) preparadas, a do ácido tartárico foi nitidamente a menos consumida, em termos de volume para reduzir o pH a 4,5 em 100 gramas de leite de coco (4ml), seguida pela do ácido láctico (5 ml), cítrico (5,5 ml) e málico (5,5 ml). A de ácido acético aparece em seguida (8,5 ml) e por último a de ácido fosfórico (11,25 ml). Entretanto, se for analisado o consumo em gramas de cada ácido (**Figura I.2**), pode-se observar que o comportamento é diferente. Neste caso, o ácido tartárico foi o menos consumido para atingir o pH de 4,5 (0,3002 g), seguido pelos ácidos cítrico (0,3520 g), fosfórico (0,3679 g), málico (0,3687 g), láctico (0,4504 g) e acético (0,5104 g).

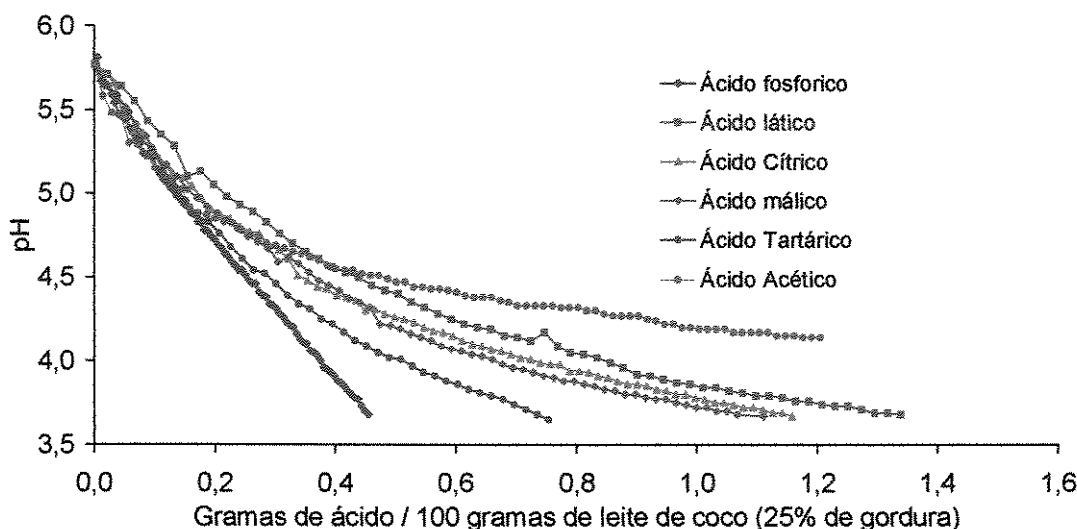


Figura 1.2. Curvas de acidificação do leite de coco padronizado para 25% de gordura.

Na **Tabela 1.2** é apresentada a análise de variância da análise sensorial para avaliar a diferença no sabor proporcionado pelos diferentes ácidos. Pode-se observar que houve diferenças significativas nas médias para sabor entre os ácidos utilizados para reduzir o valor do pH do leite de coco. Não houve diferenças significativas entre os provadores.

Tabela 1.2. Análise de variância da avaliação do sabor de leite de coco acidificado para pH 4,5, com diferentes ácidos (acético, tartárico, málico, cítrico, láctico e fosfórico).

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	5	94,68	18,94	26,78*	2,25	3,12
Prov.	9	4,48	0,50	0,70 ^{ns}	1,99	2,63
Resíduo	45	31,82	0,71			
Total	59					

* significativo ao nível de 5%

^{ns} não significativo

Aplicando-se o teste de Tukey para verificar as diferenças entre as médias dos escores para sabor, observa-se que dois dos ácidos empregados destacaram-se positivamente entre os demais: tartárico e fosfórico, conforme apresentado na **Figura 1.3**. Esses dois ácidos apresentaram maiores notas, diferindo significativamente dos demais ácidos (5% de probabilidade). Resultados semelhantes foram obtidos por GONÇALVES *et al.* (1984). O ácido láctico permaneceu numa faixa intermediária, enquanto que o cítrico e o málico induziram uma sensação de acidez mais perceptível ao paladar. De um modo geral, esses resultados estão de acordo com observações realizadas por outros autores (JACKIX, 1982).

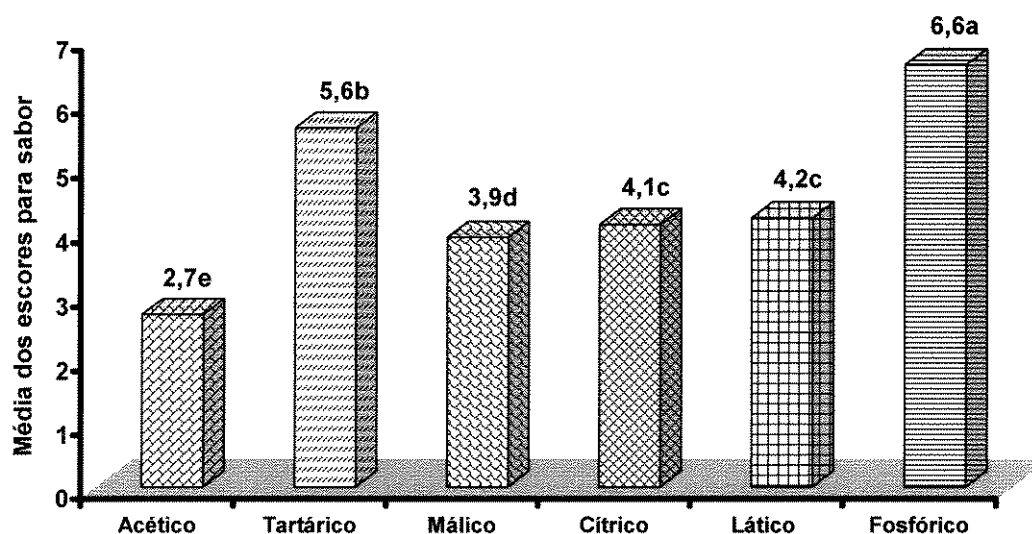


Figura 1.3. Média dos escores para sabor de amostras de leite de coco acidificados com diferentes ácidos para pH 4,5.

Analisando os resultados obtidos e tendo como critérios básicos o custo do produto, o consumo na acidificação e o sabor e aroma conferido ao produto final, foi selecionado apenas o ácido fosfórico para a sequência da pesquisa.

No mercado de alimentos, atualmente são encontrados leite de coco com diferentes teores de gordura, desde 7,5 a 25%. Assim, foi realizada a acidificação do leite de coco com teor de gordura de 9%, 12,5%, 18% e 25%, conforme apresentado na **Figura I.4**. Pode-se observar que quanto menor o teor de gordura no produto, menor a quantidade de ácido necessário para reduzir o seu pH. Desta forma, o leite de coco com 25% de gordura necessitou de uma maior quantidade de ácido fosfórico para reduzir o pH do que aquele com 9%.

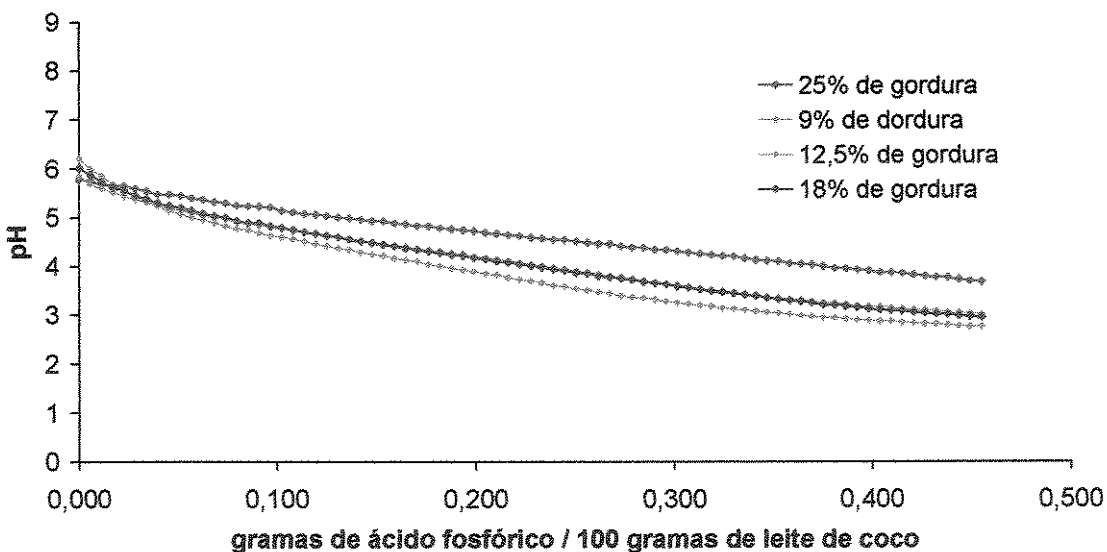


Figura I.4. Curvas de acidificação com ácido fosfórico no leite de coco de diferentes padronizações de gordura.

I.5. Conclusões

Pela análise apresentada sobre a eficácia de conservantes químicos sobre os microrganismos, constata-se que esses aditivos aplicados ao leite de coco atualmente apresentam baixa eficiência, uma vez que o produto tem pH próximo de 6,0. Neste valor de pH a maior parte do composto estará na sua forma dissociada, que não possui poder antimicrobiano. A acidificação associada ao uso

de conservantes químicos apresenta-se como uma opção para inibir o crescimento microbiano.

Entre os seis ácidos utilizados para reduzir o valor do pH do leite de coco para 4,5, o ácido fosfórico e o tartárico apresentaram maiores notas quanto à aceitabilidade para o sabor. Os ácidos tartárico, cítrico e fosfórico foram os ácidos mais eficientes para diminuir o valor do pH por quantidade de massa adicionada ao leite de coco.

Os produtos com maiores teores de gordura necessitam de maiores quantidade de ácido (% p/p) para terem os seus valores de pH diminuído. Assim produtos contendo 25% de gordura irão precisar de mais ácido para ter o seu valor de pH diminuído do que aqueles com 9% de gordura. Esta análise foi importante, uma vez que existe no mercado atual leite de coco com diferentes padronizações de gordura.

Diante dos resultados obtidos para acidificação do leite de coco, os trabalhos subseqüentes nesta pesquisa foram realizados utilizando-se o ácido fosfórico como componente para reduzir o pH do produto, por apresentar maior aceitabilidade sensorial em relação aos demais ácidos e por sua eficiência em diminuir o valor do pH. As curvas de acidificação servirão de parâmetros para determinar a quantidade de ácido necessário para reduzir o pH para valores desejados em diferentes volumes de leite de coco e em diferentes padronizações de teor de gordura.

I.6. Referências bibliográficas

- BRANEN, A. L. Introduction to use of antimicrobials. In: **Antimicrobial in Foods**. Ed. A. L. Branen & P. M. Davidson. Marcel Dekker Inc., New York, pg. 1. 1983.
- BRUL, S.; COOTE, P. Preservatives Agents in Foods. Mode of Action and Microbial Resistance Mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, n. 1-2, p. 1-17, 1999.
- CHIPLEY, J. R. Sodium benzoate and benzoic acid. In: **Antimicrobial in Foods**. Ed. A. L. Branen & P. M. Davidson. Marcel Dekker Inc., New York, pg. 11. 1983
- CORLETT, D. A. Jr. ; BROWN, M. H. pH and acidity. In: **Microbial Ecology of Foods**, Vol. 1, edited by J. H. Silliker. Academic, New York, p. 92. 1980
- DAVIDSON, P. M. Phenolic compounds. In: **Antimicrobial in Foods**. Ed. A. L. Branen & P. M. Davidson. Marcel Dekker Inc., New York, pg. 37. 1983.
- DOORES, S. Organic acids. In: **Antimicrobial in foods**, editado por A. L. Branen e P. M. Davison. Marcel Dekker Inc., New York., p. 75, 1983.
- GONÇALVES, J. R.; LEITÃO, M. F. F. & TEIXEIRA NETO, R. O. Aspectos preliminares na conservação do leite de coco tipo industrial por acidificação e pasteurização. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(4): 489-502, 1984.
- JACKIX, M. H. Industrialização de frutas em calda cristalizadas, geléias e doces em massa. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo. **Série Tecnologia Agroindustrial**. São Paulo, 12:255p., 1982.
- LUCK, E. Sorbic acid as a food preservative, **International Flavors and Food Additives**. 7: 122. 1976.
- RONNING, I. E.; FRANK, H. A. Growth of PA3679 Caused by Stringent-type Response Induced by Protonophoric Activity of Sorbic Acid. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, p. 1020-1027, 1987.
- RONNING, I. E.; FRANK, H. A. Growth Reponse of Putrefactive Anaerobe 3679 to Combinations of Potassium Sorbate and Some Common Curing Ingredients (Sucrose, Salt and Nitrite), and Noninhibitory Levels of Sorbic Acid. **Journal of Food Protection**, v. 51, n. 8, p. 651-654, 1988.
- SOFOS, J. N. & BUSTA, F. F. Sorbates. In: **Antimicrobials in Foods**. Ed. A. L. Branen & P. M. Davidson. Marcel Dekker Inc., New York, pg. 141. 1983.

Capítulo II - Uso de depressores de a_w em leite de coco

II.1. Resumo

Uma breve revisão sobre os programas computacionais para predição de atividade de água é apresentada para compreender a sua funcionalidade e como se comportam as diferentes concentrações de soluções de eletrólitos e não-eletrólitos. Esta ferramenta foi essencial para realizar o trabalho exploratório na predição da atividade de água de combinação de diversos solutos no leite de coco. Os modelos de predição de a_w utilizados nos programas computacionais também são apresentados. Para aplicar a tecnologia dos métodos combinados no leite de coco foi necessário determinar a atividade de água do produto em diferentes padronizações de gordura, uma vez que um dos pré-requisitos na formulação do produto final era que o mesmo mantivesse o valor de 18% de gordura. Desta forma, foi determinada a atividade de água no leite de coco concentrado (40%) e em diferentes padronizações de gordura (diluições). Em seguida, foi avaliado o poder depressor de alguns solutos (NaCl, sacarose, glicose, frutose, glicerol, xilitol), comparando os resultados experimentais com valores determinados através dos modelos. Os valores de a_w calculados e experimentais mostraram-se bastantes próximos para os solutos testados. O glicerol apresentou grande poder depressor, seguido do NaCl e depois os monossacarídeos. Entre os monossacarídeos testados a diferença no poder depressor foi muito pequena. A sacarose apresentou menor poder depressor. Foram selecionados para comporem a formulação do produto o NaCl, glicerol e glicose, de acordo com o poder depressor.

II.2. Introdução

O leite de coco é um alimento que possui basicamente dois componentes principais: água e gordura. Como o teor de gordura no leite de coco é padronizado (%p/p) dependendo do tipo (normal, light, reduzido teor de gordura e outras variações) tem-se que quanto menos gordura no produto, mais água ele deverá possuir. Essa água do leite de coco na forma livre é responsável pela sua alta atividade de água (a_w), que torna o produto altamente propenso à deterioração microbiológica. Uma das formas de reduzir essa atividade de água é a adição de depressores de atividade de água, como sais, açúcares e polióis, que além de tornar a água menos disponível aos microrganismos, substitui parte da água da composição do produto, uma vez que o teor de gordura no produto final é padronizado.

Uma das formas de mensurar a atividade de água é através do método do ponto de orvalho, que determina a exata temperatura na qual ocorre a condensação do vapor de água. Esta temperatura de ponto de orvalho está relacionada com a pressão de vapor, umidade relativa e a_w através de cartas psicrométricas. Pode-se ter exatidão de até 0,01 unidades de a_w (AQUALAB – DECAGON).

Outra forma de modelar e prever a a_w de soluções aquosas de multi-componentes é através dos modelos matemáticos, empíricos e teóricos. Nesta pesquisa foi utilizado o programa de predição de a_w (Predia $_w$), que é baseada nos modelos de: NORRISH (1966) para soluções de não-eletrólitos, BROMLEY (1973) e PITZER (1973) para eletrólitos, e ROSS (1975) para soluções multi-componentes. Assim, uma breve revisão sobre os programas computacionais de predição de a_w e os modelos matemáticos para determinação de a_w serão apresentados.

Um dos primeiros passos para aplicar a tecnologia dos métodos combinados no leite de coco foi medir sua atividade de água. Desta forma, foi determinada a atividade de água no leite de coco concentrado (40%) e em

diferentes padronizações de gordura (diluições). Em seguida, foi avaliado o poder depressor de alguns solutos.

II.3. Revisão bibliográfica

O primeiro passo para prever a a_w de um alimento fresco ou processado consiste em conhecer quais são os seus principais constituintes e suas proporções relativas em relação à água contida nestes alimentos (CHIRIFE, 1987).

A possibilidade de ajustar a a_w dentro das faixas desejadas muitas vezes é limitada pela necessidade de se utilizar altas quantidades de solutos que podem conferir sabores indesejáveis ao produto (amargor, doçura, sabor salgado, etc.) ou podem afetar adversamente suas propriedades físicas (TORREZAN *et al.*, 1999).

A utilização de depressores de a_w constitui o princípio básico dos alimentos que utilizam a a_w como obstáculo principal ou como um dos obstáculos para a sua conservação. Três classes gerais de compostos químicos têm sido normalmente utilizados como depressores de a_w na produção de alimentos: polióis (propileno glicol, glicerol, sorbitol), açúcares (sacarose, glicose e frutose) e os sais minerais (cloreto de sódio, cloreto de potássio e lactato de sódio).

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de estimar a a_w de soluções simples ou misturas de multicomponentes por modelos matemáticos teóricos ou semi-empíricos. Os modelos propostos por NORRISH (1966) e ROSS (1975) descrevem as soluções binárias de não eletrólitos e a de multicomponentes, respectivamente.

Segundo VEGA-MERCADO *et al.* (1994) a predição da a_w através de modelos matemáticos tem sido limitada para soluções aquosas de eletrólitos e não eletrólitos, pois os efeitos de componentes tais como fibras, proteínas e gorduras não têm sido levados em consideração quando estes modelos são aplicados a alimentos reais. A estimativa da a_w para sistemas alimentícios é maior do que o

valor real no produto, por causa dos efeitos das ligações da água com fibras, proteínas e gordura.

VEGA-MERCADO & BARBOSA-CANOVAS (1994) apresentam uma revisão e aplicação sobre os modelos teóricos usados para predição de a_w em alimentos: Lei de Raoult, modelo empírico (e. g. os modelos de Money-Born e Grover), modelos baseados na termodinâmica (e. g. modelos de Norrish, Pitzer e Bromley) e modelos para predição de a_w em misturas de multicomponentes (Modelos de Ross, Ferro-Chirife-Boquer e Ferro-Benmergui-Chirife).

RADA-MENDOZA *et al.*, (2005) estudaram a relação entre o conteúdo de umidade e a_w em geléias e alimentos infantis para desenvolver um modelo preditivo para cálculos da a_w nesses alimentos. Os coeficientes de correlação encontrados variaram de 0,5535-0,8786, a correlação foi menor para geléias. Para a maioria das amostras, as diferenças entre os valores experimentais e calculados foram menores que 0,02, concluindo que os modelos propostos permitem calcular a a_w de geléias de frutas e alimentos infantis baseados no conteúdo de umidade.

SMAN & BOER (2005) relatam um modelo para predição de a_w para produtos cárneos e pescados usando dados de composição. Empregaram a equação de Ross e uma aproximação da equação de Pitzer. Predições obtidas para $a_w > 0,70$ mostraram bons ajustes com os dados experimentais

VIET-BUI *et al.* (2003) desenvolveram uma equação polinomial para determinar o efeito da temperatura (20 a 35) sobre a a_w de soluções de glicose e CaCl_2 (concentração de 30-60% e 27-45% p/p, respectivamente). Constataram que a equação desenvolvida pode ser aplicada com sucesso para determinar a a_w destas soluções na faixa de concentração e temperatura estuda.

JUNG *et al.* (1993) avaliaram o efeito da concentração de NaCl e sacarose na a_w em alimentos gelatinizados contendo diferentes proporções de isolado protéico de soja e amido de batata (1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 e 4:0), e constataram que o NaCl apresenta um poder depressor maior que a sacarose. O produto

gelatinizado contendo a proporção de proteína-amido em 2:1 foi mais afetado pelos umectantes.

LILLEY (1994) resume os principais fatores que contribuem para a não idealidade de soluções aquosas, e como a a_w é modificada pelo tamanho, interação e hidratação dos solutos presentes. Para sistemas reais, mostra que a a_w e outras propriedades termodinâmicas dependem da interação destes vários efeitos. Comenta também que abordagem matemática deve ter uma utilidade prática, que deve permitir a predição da a_w de sistemas multicomponentes, binários e simples.

ESTEBAN & MARCOS (1989) constataram através de regressão linear que existe uma significativa correlação negativa entre o conteúdo de cinzas e a_w em 6 tipos de queijos. Uma equação para determinar a a_w baseado no conteúdo de cinzas é apresentada: $a_w = 0,9951 - 0,0032.(\% \text{ cinzas})$. Em avaliação experimental e calculada em 40 amostras de queijos apresentaram diferenças de $\pm 0,01$ unidades de a_w . Em outro trabalho esses autores (ESTEBAN & MARCOS, 1990) apresentam uma revisão sobre as equações empíricas e semi-empíricas especificamente designadas para calcular a a_w de queijos baseados em sua composição química. Comentam sobre a relação entre a composição química e a a_w , cálculos de a_w em queijos frescos, cálculos de a_w em queijos curados e processados, apresentando ao total 12 equações de regressão.

OZDEMIR & SADIKOGLU (1999) estimaram a a_w de soluções aquosas de poliois (xilitol e sorbitol) a 25°C utilizando o modelo UNIFAC (Universal Functional Group Activity Coeff.) para a_w variando de 0,50-0,99. Comparação entre dados experimentais e estimados para a_w de altos valores ($a_w > 0,96$) revelaram bom ajuste. Para valores menores é preciso utilizar um método modificado.

SHINDO *et al.* (1996) avaliaram uma equação de predição de a_w para um alimento baseado em molho de soja e açúcar. Constataram que a a_w do modelo aumenta logaritmicamente com o aumento de umidade do produto, diminuindo linearmente com o conteúdo de sal e açúcar. Observaram uma alta correlação

entre os valores preditos e medidos, avaliados em 39 produtos comerciais. Em trabalho semelhante, MILLAN *et al.* (1995), determinaram a a_w em 21 amostras de doces através de psicrômetro termoeletrico e calculado através de um modelo de regressão baseado no teor de umidade. As diferenças entre os valores calculados e experimentais variaram de 0,001 a 0,025, concluindo que o modelo proporciona um simples e acurado método para determinação de a_w em doces.

CHEN (1990) demonstra em seu trabalho o processo para estimar a a_w através da equação de Ross para soluções aquosas não processadas utilizadas na preparação de alimentos, contendo apenas solutos, somente polímeros ou misturas de polímeros e solutos. Usando valores precisos de a_w de soluções simples na equação de Ross resultam em predições precisas de $\pm 0,01$ unidades de a_w para 118 de 120 soluções múltiplas de solutos. Exceções para $\pm 0,02$ unidades de a_w ocorreram quando as soluções continham NaCl, KCl e CaCl_2 .

CHIRIFE (1989) resume alguns aspectos sobre a mudança na a_w induzida por técnicas de processamento, relação entre a a_w e o crescimento microbiano, predição da a_w de alimentos através de equações teóricas e determinações experimentais.

LACROIX & LACHANCE (1988) avaliaram o efeito de umectantes (NaCl, sacarose e sorbitol) na a_w e propriedades reológicas de iogurte, observando que todos os umectantes afetaram significativamente a a_w e a adição de NaCl mostrou um grande efeito depressivo, variando de 0,974 (sem a adição) a 0,908 (8% de NaCl, 15% de sacarose e 15% de sorbitol adicionado). As características reológicas foram afetadas pelos umectantes e pH, a consistência diminuiu e o índice de fluxo aumentou com o aumento do nível dos umectantes na seguinte ordem: NaCl < sacarose = sorbitol.

II.3.1. Programas computacionais para cálculo da atividade de água - predição de a_w para obtenção das formulações de solutos

Os programas computacionais (PC) permitem calcular com boa exatidão o valor da atividade de água (a_w) em alimentos de umidade alta e intermediária a partir de dados de sua composição (conteúdo de umidade e dos principais sólidos solúveis depressores de atividade de água). O programa trabalha a uma velocidade considerável e avalia a a_w de soluções de alimentos através das equações de predição mais conhecidas e aprovadas para o cálculo de a_w de misturas binárias de eletrólitos e não eletrólitos e para cálculo de soluções multicomponentes. A principal vantagem do programa é a facilidade com que se pode armazenar e processar a informação de maneira interativa e de forma amigável.

O programa tem sido utilizado com excelentes resultados (desvios menores que 0,005 unidades de a_w com relação aos valores experimentais).

II.3.2. Base teórica do programa

Existe um contínuo reconhecimento da importância da atividade de água (a_w) na formulação, manufatura e estabilidade dos alimentos, sendo desta forma necessária contar com métodos de medição da a_w que sejam rápidos, exatos e precisos; e poder ter mais controle sobre sua formulação e processamento. Entretanto, em muitas ocasiões os equipamentos que cumprem com estes requisitos são caros. Uma alternativa para o controle e desenvolvimento de alimentos de umidade intermediária e alta, é o cálculo de a_w baseado em dados de sua composição. Existem na bibliografia muitos trabalhos sobre este tema (CHIRIFE, 1978; BENMERGUI *et al.*, 1979; FERRO FONTÁN *et al.*, 1979; FERRO FONTÁN, *et al.*, 1980; CHIRIFE *et al.*, 1980; FERRO FONTÁN & CHIRIFE, 1981; VAN der BERG & BRUIN, 1981; FAVETO & CHIRIFE, 1985; VAN der BERG, 1986; LEUNG, 1986; RIZVI, 1986; CHIRIFE *et al.*, 1987; TOLEDO, 1991) que apresentam uma série de análises compreensivas dos procedimentos

tradicionalmente utilizados para o cálculo de predição da a_w e que comentam a aplicabilidade dos diversos modelos teóricos e empíricos em alimentos. O sistema apresentado é orientado aos alimentos de alta umidade e aqueles de umidade intermediária com valores de a_w acima do limite de saturação dos solúveis presentes nos alimentos, eles somente mencionaram os métodos de cálculo que funcionam para este tipo de produto. Muito destes alimentos podem ser tratados como soluções binárias ou de multicomponentes de eletrólitos ou não eletrólitos, assim a metodologia para o cálculo de a_w tem sido dividida baseado no tipo de soluto.

II.3.3. Soluções de não eletrólitos

HILDEBRAND & SCOTT (1962) desenvolveram uma das equações mais simples para o cálculo dos coeficientes de atividade de água (γ_w) em soluções binárias, e que se expressa para uma solução aquosa como:

$$\ln(\gamma_w) = K.X_s^2 \quad (1)$$

Sendo **K** uma constante de proporcionalidade e X_s a fração molar do soluto. Tomando como base a equação (1), NORRISH (1966) propôs para o cálculo da a_w em soluções binárias de açúcares outra equação, a qual pode ser escrita como (CHIRIFE *et al.*, 1980):

$$a_w = X_w \cdot \exp(-K.X_s^2) \quad (2)$$

Sendo X_w a fração molar da água no sistema.

Esta equação (2) tem sido aplicada com bons resultados na predição da a_w em alimentos e soluções binárias de diversos solutos não eletrólitos (NORRISH, 1966; FERRO FONTÁN *et al.*, 1981). CHIRIFE *et al.* (1980) relatam o valor da constante K para alguns dos solutos mais comuns em alimentos.

Outro modelo anterior aos mencionados é a equação empírica de MONEY & BORN (1951) para o cálculo da a_w de conservas como marmeladas, geléias, doces, etc., que é expressa da seguinte forma:

$$a_w = 100/(1+0.27n) \quad (3)$$

Onde n é o número de moles de açúcar (sacarose) por 100 g de água. A equação está baseada na Lei de Raoult, mas pode ser aplicada em amplo intervalo de concentração.

II.3.4. Soluções de eletrólitos

Para soluções aquosas não ideais o coeficiente osmótico (Φ) é definido mediante a seguinte expressão:

$$\Phi = \left(\frac{-1000}{M_w \sum m_i} \right) \ln a_w \quad (4)$$

Onde M_w é o peso molecular do solvente (18,02 para o caso da água), e m_i é o número de moles das espécies iônicas do componente i por quilograma do solvente (molalidade do soluto). O trabalho de ROBINSON & STOKES (1965) apresenta uma recopilación importante dos coeficientes osmóticos.

A equação (4), pode ser expressa da seguinte forma:

$$a_w = \exp.(-0,018 \cdot \sum m_i \cdot \Phi) \quad (5)$$

E considerando que $m_i = v \cdot m$ (v = número de partículas dissociadas no soluto), BROMLEY (1973) desenvolveu uma expressão para o cálculo do coeficiente osmótico (e como consequência da a_w), levando em conta a dissociação iônica e a não idealidade. Esta equação para o cálculo de Φ é a seguinte:

$$\Phi = 1 + 2,303.[F_1 + (0,06 + 0,6B).F_2 + 0,5.B.I] \quad (6)$$

O parâmetro F_1 na equação (6) é calculado mediante a equação:

$$F_1 = A|Zm.Zx|. [1 + 2.(1 + I^{0.5}).\ln(1 + I^{0.5}) - (1 + I^{0.5})^2] / (I(I + I^{0.5})) \quad (7)$$

Onde $A = 0,511$ a 25°C :

$$F_2 = (1 + 2.a.I) / (a(1 + a.I)^2) - \ln(1 + a.I) / (a^2.I) \quad (8)$$

O parâmetro a da equação (8) é calculado utilizando a seguinte equação:

$$a = 1,5 / |Zm.Zx| \quad (9)$$

O parâmetro I pode ser definido como a força iônica, e é calculada como a metade da soma dos produtos da molalidade dos íons dissociados pelo quadrado de sua carga; por exemplo para MgCl_2 o valor de I seria $I = 0,5[m(2) + 2m(-1)] = 3m$. Os parâmetros B e a são constantes particulares para cada eletrólito obtido a partir de uma regressão entre os dados dos coeficientes de atividade e a força iônica. BROMLEY (1973) apresenta uma lista detalhada dos valores destas constantes para diversos sais e a metodologia para o cálculo dos mesmos.

O termo z é o número de cargas e se obtém mediante a relação da soma do produto dos números estequiométricos dos íons, por exemplo para MgCl_2 , $z = [1(2) + 2(1)]/3 = 1,333$. Tal como indicado por BROMLEY (1973) somente valores absolutos de z deverão ser utilizados para o cálculo do parâmetro F_2 .

PITZER (1973) desenvolveu uma expressão para o cálculo de coeficientes osmóticos de soluções de eletrólitos que se tem utilizado freqüentemente para o cálculo da atividade de água em alimentos. A a_w é calculada utilizando as

equações propostas por PITZER (1973) e PITZER & MAYORGA (1973), seguindo o procedimento descrito por KITIC *et al.* (1986).

$$a_w = \exp(-\Phi \cdot 0,018 \cdot m \cdot v) \quad (10)$$

Onde, o coeficiente osmótico é dado por:

$$\Phi - 1 = |Z_m Z_x| \cdot f + 2 \cdot m \cdot (v_m \cdot v_x / v) \cdot B_{mx} + 2 \cdot m^2 [(v_m \cdot v_x)^{3/2} / v] \cdot C_{mx} \quad (11)$$

Onde:

v_m e v_x = números de íons m e x .

$v = v_m + v_x$

Z_m e Z_x = cargas elétricas dos íons.

$f = (-A \cdot I^{1/2}) / (1 + b \cdot I^{1/2})$

$$B_{MX} = \beta_{MX}^{(0)} + \beta_{MX}^{(1)} \cdot \exp(-\alpha \cdot I^{1/2})$$

$\beta_{MX}^{(0)}$, $\beta_{MX}^{(1)}$ e C_{MX} = parâmetros ajustados para cada soluto, definem os coeficientes viriais.

A = coeficiente de Debye-Hückel para a função osmótica.

I = força iônica = $1/2 \sum m_i \cdot z_i^2$

$b = 1,2$ (para todos os solutos)

$\alpha = 2,0$ (PITZER & MAYORGA, 1973).

No trabalho de PITZER & MAYORGA (1973) é apresentada uma lista dos valores das constantes para eletrólitos com um ou dois íons univalentes.

II.3.5. Método simplificado para soluções de eletrólitos e não eletrólitos.

A partir da equação (10) e utilizando os modelos para o cálculo do coeficiente osmótico proposto por BROMLEY (1973), PITZER (1973) e PITZER & MAYORGA (1973), pode-se calcular a atividade de água de uma solução ou de um alimento que se comporta como uma solução binária, onde o soluto pode ser um eletrólito ou não. Entretanto, o procedimento de cálculo do coeficiente osmótico é demorado e tedioso; por isso, e a partir de um procedimento

originalmente proposto por LUPIN *et al.* (1981), FAVETTO e CHIRIFE (1985) geraram uma versão simplificada da equação (10), que se expressa como:

$$a_w = 1 - K.m \quad (12)$$

Sendo K uma constante para cada soluto, que inclui o efeito da pressão osmótica e no caso de ser um eletrólito o grau de dissociação deste. A suposição mais importante na equação (12) é a de que apesar do coeficiente osmótico variar com a molalidade do soluto, estas trocas são relativamente pequenas dentro de certo intervalo de molalidade (m). Desta forma e utilizando dados experimentais de a_w para soluções binárias, FAVETTO & CHIRIFE (1985) aplicaram a equação (12) e a partir de uma análise de regressão linear obtiveram valores de K . É recomendado empregar a equação (12) dentro do intervalo de a_w de 0,85 a 0,99, intervalo no qual (com os solutos estudados), FAVETTO & CHIRIFE (1985) encontraram que as diferenças máximas absolutas entre o valor predito e o experimental são da ordem de 0,005 unidades de a_w .

II.3.6. Soluções multicomponentes

Para soluções multicomponentes aplica-se a equação de ROSS (1975):

$$a_a = (a_a)_1.(a_a)_2.(a_a)_3.(a_a)_4..... \quad (13)$$

Nesta equação pode-se observar que a a_w de uma mescla é simplesmente o produto dos valores da a_w de uma solução simples de cada componente $(a_w)_i$, avaliada esta última na mesma molalidade a que o soluto se encontra na solução complexa. Utilizando a equação (13) com misturas reais de açúcares, sais e ingredientes não solúveis presentes em alimentos, ROSS (1975) e BONE *et al.* (1985) demonstraram que o erro que se comete ao calcular a a_w em sistemas com valores superiores a 0,8 é sempre menor que 2%. Resultados similares a estes últimos foram obtidos por CHIRIFE *et al.* (1980) ao predizer a a_w em soluções

aquosas de composição diversa e AGUILERA *et al.* (1991) no caso de alimentos de umidade intermediária e alta.

No final dos anos setenta foram realizados inúmeros esforços para gerar equações para o cálculo da a_w em soluções multicomponentes e alimentos que se comportam como tais. Assim, existem revisões importantes como a de TENG & SEOW (1981), que indicam que os modelos de Zdanovskii-Stoke-Robinson (ZSR) e de FERRO-FONTÁN *et al.* (1980) geraram melhores resultados na predição da a_w que os modelos de ROSS (1975), para o caso de soluções ternárias de eletrólitos e não eletrólitos. Embora esta afirmação somente pareça ser correta para soluções com a_w inferiores a 0,95. Por outro lado Van Den Berg (1986) afirma que a equação de ROSS funciona adequadamente para altos níveis de umidade ($a_w > 0,75$). Adicionalmente trabalhos de VIGO *et al.* (1980), MUÑOZCANO *et al.* (1987) e AGUILERA *et al.* (1991) tem demonstrado que o modelo de Ross e alguns modelos melhorados desta mesma equação, gerados por FERRO FONTÁN *et al.* (1981) e FERRO FONTÁN & CHIRIFE (1981), resultam ser em geral adequados para a predição da a_w em alimentos de umidade intermediária e alta.

II.3.7. Modelos melhorados da equação de Ross

FERRO FONTÁN *et al.* (1981) utilizando como base a equação de NORRISH (12) e de ROSS (13), desenvolveram uma equação para correlacionar dados de atividade de água em misturas de não eletrólitos $[(a_w).M]$. Esta equação é,

$$(a_w).M = X_w \cdot \exp(-K_M \cdot X_m^2) \quad (14)$$

Nela X_M é a fração molar de todos os solutos depressores e K_M é uma constante de correlação que pode ser calculada a partir de:

$$KM = S_s [K_s C_s (M / M_s)] \quad (15)$$

Sendo K_s a constante da equação de Norrish para cada soluto, e C_s é o quociente de peso do soluto s ao peso dos sólidos totais além de,

$$M = [(S.C_s / M_s)]^{-1} \quad (16)$$

Sendo M_s o peso molecular do componente s .

Através destas informações e com o auxílio do software de predição de atividade de água (**Predi- a_w**) foram determinadas as a_w em combinações de leite de coco com diferentes solutos e em diferentes concentrações.

II.4. Material e métodos

II.4.1. Determinação da atividade de água no leite de coco

Foi utilizado o leite de coco concentrado (40% de gordura) fornecido pela Ducôco Produtos Alimentícios S. A. como matéria-prima. As medidas de atividade de água do produto concentrado e de suas diluições com água destilada foram realizadas no AquaLab CX-2 (Decagon Devices Inc., U.S.A.). A partir dos valores obtidos foram construídos gráficos demonstrando a linha de tendência, sendo possível determinar a a_w para qualquer diluição do leite de coco concentrado.

II.4.2. Avaliação do poder depressor de alguns redutores de atividade de água

Como depressores de atividade de água foram utilizados NaCl, sacarose, glicose, frutose, glicerol e xilitol. O leite de coco foi preparado a partir do concentrado (40% de gordura) e padronizado para 18% p/p. Para que o teor de

gordura fosse mantido constante em 18% (p/p), parte da água foi substituída pelo soluto adicionado.

Após a dissolução dos solutos no leite de coco, foi determinada a atividade de água através do equipamento AquaLab CX-2 (Decagon Devices Inc., U.S.A.).

II.5. Resultados e discussões

II.5.1. Atividade de água no leite de coco

A **Tabela II.1** apresenta os valores obtidos da a_w para o leite de coco concentrado (40% de gordura) e as diluições. Estes dados foram utilizados para obter a curva de tendência, suas respectivas equações e coeficientes de regressão (**Figura II.1**), permitindo assim extrapolar valores de a_w para qualquer diluição do concentrado.

Tabela II.1. Valores de atividade de água em leite de coco padronizados para diferentes teores de gordura.

Gordura (%, p/p)	Atividade de água (a_w)				Média
	R1	R2	R3	R4	
40,00	0,983	0,984	0,981	0,982	0,983
26,67	0,984	0,986	0,987	0,988	0,986
20,00	0,984	0,985	0,985	0,985	0,985
17,78	0,989	0,989	0,990	0,988	0,989
16,00	0,988	0,990	0,989	0,987	0,989
13,33	0,991	0,989	0,994	0,992	0,992
11,43	0,993	0,991	0,992	0,990	0,992
10,00	0,994	0,994	0,994	0,994	0,994

R1, R2, R3, R4 = repetições 1, 2, 3 e 4.

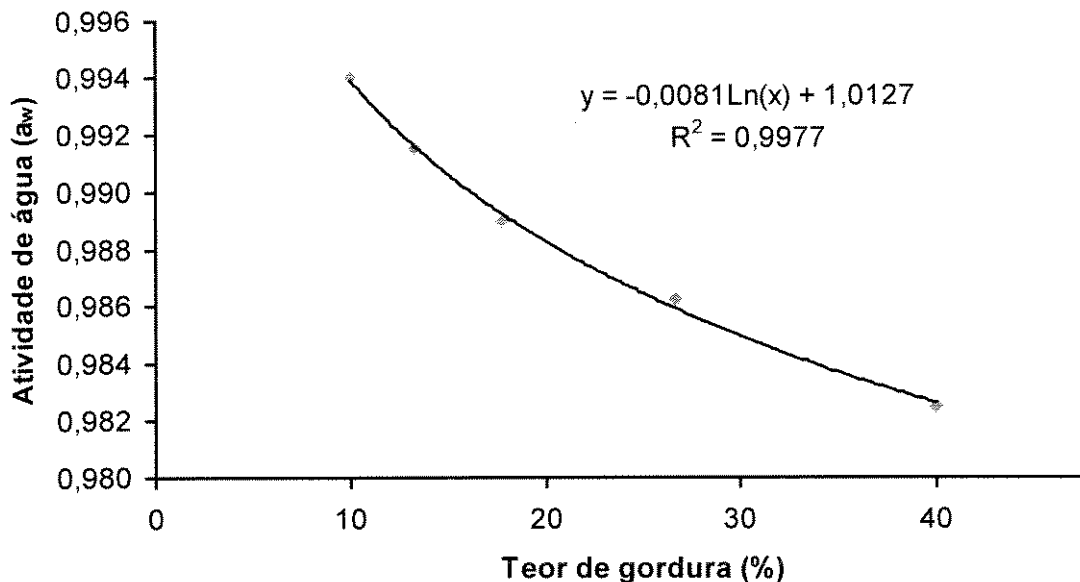


Figura II.1. Curva dos valores de atividade de água para diferentes diluições do concentrado de leite de coco.

II.5.2. Adição de depressoires de atividade de água no leite de coco

A observação da **Figura II.2** deixa evidente que o NaCl é muito mais eficiente na redução da a_w que os vários açúcares testados, devido principalmente à dissociação do sal, aumentando o número de partículas em solução (FABER, 1997). Nesta mesma figura pode-se observar que a sacarose é o soluto que menos interfere na atividade de água. Os monossacarídeos apresentaram comportamentos semelhantes. Na **Tabela II.2** estão os dados obtidos experimentalmente e na **Tabela II.3** estão os dados calculados através das equações de Bromley (para sais) e Norrish (para não eletrólitos).

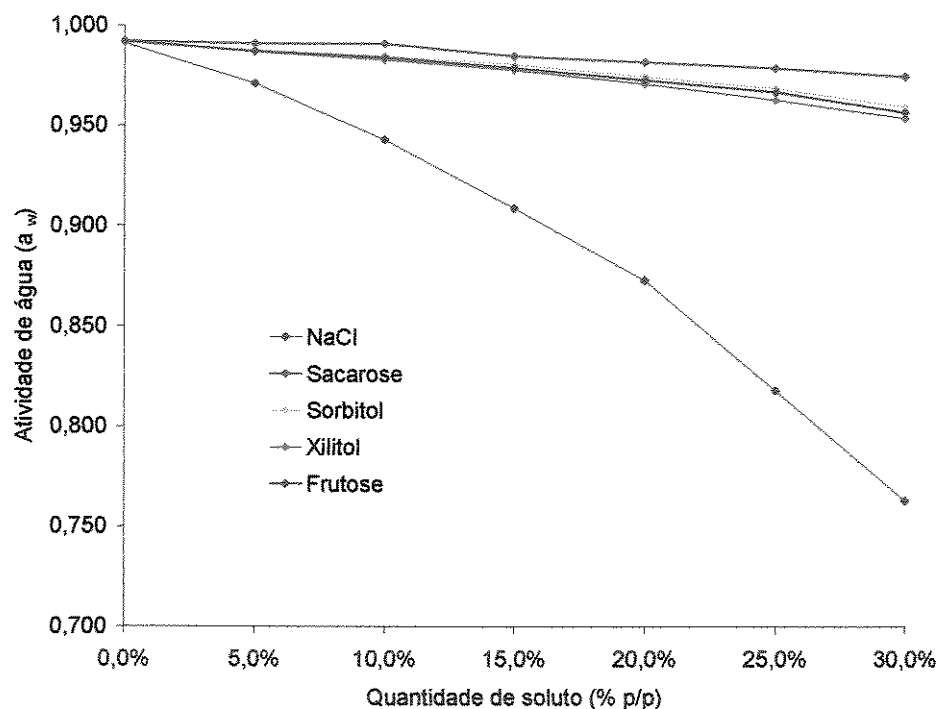


Figura II.2. Curvas de redução da atividade de água no leite de coco (18% de gordura) com diferentes solutos determinadas experimentalmente.

Tabela II.2. Efeito da adição de solutos na a_w experimental no leite de coco (18% de gordura).

% de soluto (p/p)	Solutos				
	NaCl	Sacarose	Sorbitol	Xilitol	Frutose
0,00	0,991	0,992	0,991	0,992	0,992
3,33	0,971	0,990	0,988	0,987	0,987
6,67	0,943	0,989	0,985	0,983	0,984
10,00	0,909	0,985	0,981	0,978	0,979
13,33	0,893	0,982	0,975	0,971	0,973
16,67	0,818	0,979	0,969	0,963	0,967
20,00	0,763	0,975	0,960	0,954	0,957

Tabela II.3. Efeito da adição de solutos na a_w calculada no leite de coco (18% de gordura) – Equação de Bromley para sais, equação de Norrish para não eletrólitos.

% de soluto (p/p)	Solutos				
	NaCl	Sacarose	Sorbitol	Xilitol	Frutose
0,00	0,991	0,991	0,991	0,992	0,991
3,33	0,975	0,998	0,996	0,995	0,996
6,67	0,946	0,995	0,991	0,989	0,991
10,00	0,912	0,992	0,985	0,982	0,985
13,33	0,871	0,989	0,979	0,975	0,979
16,67	0,824	0,985	0,973	0,967	0,972
20,00	0,768	0,980	0,965	0,958	0,964

Comparando os valores de a_w experimentais da **Tabela II.2** com os valores calculados da **Tabela II.3** apresentaram-se ligeiramente maiores do que os calculados ou bastante próximos, indicando que em termos práticos que é possível alcançar valores de a_w ainda menores que os preditos pelas equações, conferindo, assim, uma melhor estabilidade microbiológica ao produto. Resultados semelhantes foram obtidos por TORREZAN *et al.* (1999) no estudo para conservação de polpa de goiaba utilizando glicerol, glicose, sacarose e açúcar invertido.

O glicerol é um poliol que possui uma capacidade de reduzir a atividade de água muito maior que os monossacarídeos e a sacarose, mas o seu poder de depressão é menor que o do NaCl. Pode ser observado na **Figura II.3** que o glicerol possui um poder depressor muito maior que a glicose. Esse fato está relacionado com a massa molar desse soluto.

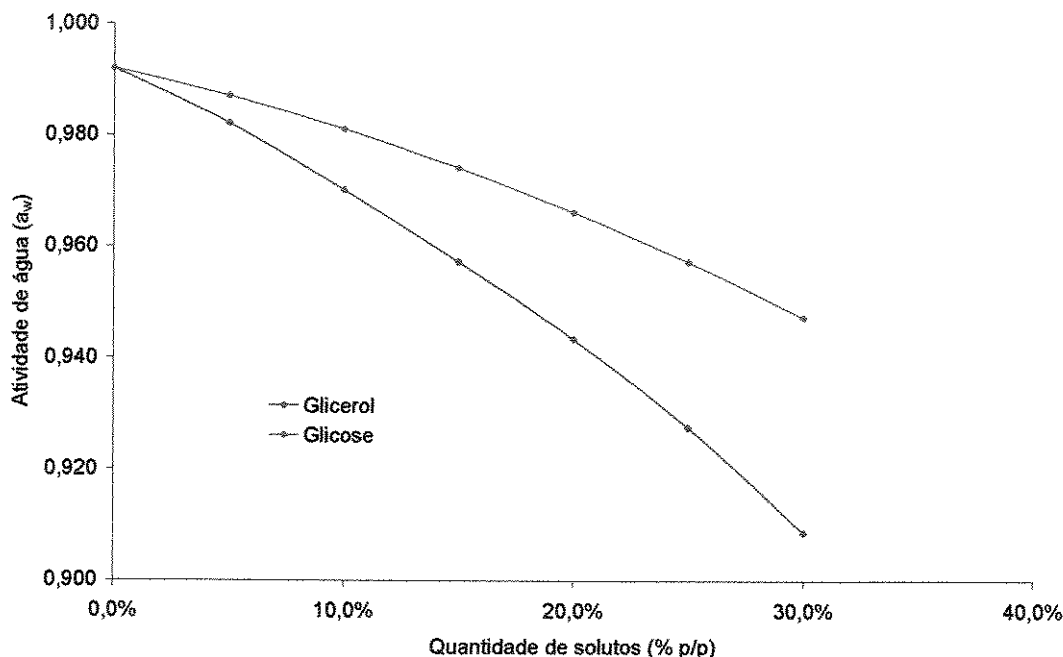


Figura II.3. Curvas de redução da atividade de água no leite de coco (18% de gordura) determinadas experimentalmente com glicerol e glicose.

Na Tabela II.4 estão apresentados os dados obtidos experimentalmente e os valores teóricos calculados através da equação de Norrish (para não eletrólitos) e Ross no leite de coco.

Tabela II.4. Efeito da adição de glicerol e glicose na a_w experimental e calculada (Norrish e Ross) no leite de coco (18% de gordura).

% de soluto (p/p)	Valores medidos		Valores calculados	
	Glicose	Glicerol	Glicose	Glicerol
0,00	0,991	0,991	0,991	0,991
5,00	0,985	0,972	0,982	0,976
10,00	0,977	0,963	0,974	0,960
15,00	0,968	0,949	0,964	0,942
20,00	0,960	0,921	0,952	0,920
25,00	0,952	0,903	0,939	0,896
30,00	0,943	0,870	0,921	0,867

Os valores de a_w calculados e experimentais mostraram-se bastante próximos para os solutos testados. Para glicose houve uma diferença maior entre esses valores nas concentrações acima de 20%. Os valores experimentais e calculados encontrados para a adição de glicerol foram bastante próximos (**Tabela II.4**). A aplicação da equação de Ross (multicomponentes) diminuiu os valores de a_w calculado, conforme mencionado por VEGA-MERCADO *et al.* (1994), devido ligações da água com fibras, proteínas e gordura.

A concentração da gordura do leite de coco afeta o valor da a_w , conforme apresentado na **Figura II.1**. Assim, para manter o teor de gordura em 18% (p/p) no produto final, o soluto adicionado substituíria proporcionalmente parte da água da formulação, ou seja, a relação gordura/água aumentava com o aumento na adição de solutos.

II.6. Conclusões

Para todos os solutos testados, a comparação entre os valores experimentais e calculados, revela que há uma concordância razoável entre os valores experimentais e preditos por equações. O cloreto de sódio (NaCl) mostrou maior capacidade de reduzir a a_2 do leite de coco, seguido pelo glicerol. Sorbitol e o xilitol e a glicose apresentaram valores muito próximos, por serem monossacarídeos de peso molecular muito parecido. A quantidade de água nas formulações de leite de coco adicionadas de solutos será alterada para manter o teor de gordura no produto final em 18% e consequentemente irá alterar a a_w .

II.7. Referências bibliográficas

- AGUILERA, J.M., CHIRIFE, J., TAPIA DE DAZA, M.S. Y WELTI, J. Inventario de Alimentos de Humedad Intermedia Tradicionales de Iberoamérica. I.P.N., UPIBI, México. 1991.
- BENMERGUI, E.A., FERRO FONTÁN, C. Y CHIRIFE, J. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. I. a_w prediction in single aqueous electrolyte solutions. **Journal of Food Technology**, v.14, n.6, p.625-637, 1979.
- BONE, D.P., SHANNON, E.L. Y ROSS, K.D. The lowering of water activity by order of mixing in concentrated solutions. In: "Water relations of foods." (Editado por: R.B. Duckworth) pp. 613-627. Academic Press, London. 1985.
- BROMLEY, L.A. Thermodynamic properties of strong electrolytes in aqueous solutions. **American Institute of Chemical Engineering Journal**, v.19, p.313, 1973.
- CHEN, C. S. Predicting water activity in solutions of mixed solutes. **Journal-of-Food-Science**, v. 55, n. 2, p.494-497, 515, 1990.
- CHIRIFE, J. Prediction of water activity in intermediate moisture foods. **Journal of Food. Technology**, v.13, n.5, p.417-424, 1978.
- CHIRIFE, J., FERRO FONTÁN, C. Y BENMERGUI, E.A. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. IV. a_w prediction in aqueous non-electrolyte solutions. **Journal of Food Technology**, v.15, n1, p.59-70, 1980.
- CHIRIFE, J., ARGÁIZ, A. Y WELTI, J. Predicción de la actividad de agua en alimentos. Programa CYTED, Información Técnica No. 1, México. 1987.
- CHIRIFE, J. Applications of water activity in food preservation. **Food Review**, v. 16, n. 5: p. 51-52, 1989.
- ESTEBAN, M. A.; MARCOS, A. Chemical prediction of water activity in processed cheese. **Journal-of-Dairy-Research**.; v. 56, n. 4, p. 665-668, 1989.
- ESTEBAN, M. A.; MARCOS, A. Equations for calculation of water activity in cheese from its chemical composition: a review. **Food-Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 179-186, 1990.
- FAVETTO, G. J. Y CHIRIFE, J. Simplified method for the prediction of water activity in binary solution. **Journal of Food Technology**, v.20:631, 1985
- FERRO FONTÁN, C., CHIRIFE, J. Y BENMERGUI, E.A. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. II. On the choice of the best a_w lowering single strong electrolyte. **Journal of Food Technology**, v.14, n.6, p.639,-646 1979.

- FERRO FONTÁN, C., BENMERGUI, E.A., Y CHIRIFE, J. The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. III. Prediction in multicomponent strong electrolyte aqueous solutions. **Journal of Food Technology**, v.15, n. 1, p.47-58, 1980.
- FERRO FONTÁN, C., CHIRIFE, J. Y BOUQUET, R. Water activity in multicomponent non-electrolyte solutions. **Journal of Food Technology**, v.16, n.5, p.553-559:553, 1981.
- FERRO FONTÁN, C. Y CHIRIFE, J. A Refinement of Ross equation for predicting the water activity of non-electrolyte mixtures. **Journal of Food Technology**, v.16, n.2, p.219-221, 1981.
- HILDEBRAND, J.H. Y SCOTT, R.L. Regular Solutions. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J., 1962.
- JUNG, S. H.; CHANG, K. S.; PARK, Y. D. Prediction of water activity for gelatinized model foods. **Korean-Journal-of-Food-Science-and-Technology**, v. 25, n. 2: p. 94-97, 1993.
- KITIC, D., PEREIRA JARDIM, D. C., FAVETTO, G. J., RESNIK, S. L., Y CHIRIFE, J. Theoretical prediction of the water activity of standard saturated salt solutions at various temperatures. **Journal of Food Science**, v.51, n.1037-1041, 1986.
- LACROIX, C; LACHANCE, O. Effects of humectants on water activity and rheological properties of yoghurt. **Canadian-Institute-of-Food-Science-and-Technology-Journal.**; 21(5): 511-519, 1988.
- LEUNG, H.K. Water activity and other colligative properties of Foods. En: "Physical and chemical properties of food. (Editado por: M.R. Okos). pp. 138-185. American Society of Agricultural Engineers, Michigan, 1986.
- LILLEY, T. H. Basic physical chemistry and links between hydration and solute interactions. **Journal-of-Food-Engineering**, v. 22, n.1-4, p. 13-25, 1994.
- LUPIN, H.M., BOERI, R.L. Y MOSCHIAR, S.M. Water activity and salt content relationship in moist salted fish products. **Journal of Food Technology**, v.16, n. 1, p.31-38, 1981.
- MILLAN, R.; TUDELA, L.; ESTUPINAN, S.; CASTELO, M.; SANJUAN, E. Calculation of water activity in honey: prediction model for a_w in Las Palmas honeys. **Alimentaria**, n. 268, p.: 77-79, 1995.
- MONEY, R. W. Y BORN, R. Equilibrium humidity of sugars solutions. **Journal of Science of Food Agricultural**, v.2:180, 1951.
- MUÑOZCANO, A., WESCHE, H., ARANA, R., GARCÍA, H. ARGÁIZ, A., VERGARA, F. Y WELTI, J. Determinación y predicción de la actividad acuosa en alimentos mexicanos de humedad media y alta. **Tecnologia Alimentária**. V.22:10, 1987.

- NORRISH, R.S. An equation for the activity coefficients and equilibrium relative humidities of water in confectionery syrups. **Journal of Food Technology**, v.1:25, 1966.
- OZDEMIR, M.; SADIKOGLU, H. Use of UNIFAC in the prediction of water activity values of aqueous polyol solutions. **Journal-of-Food-Processing-and-Preservation**, v. 23, n. 2, p.109-120, 1999.
- PITZER, K.S. Thermodynamics of electrolytes. I. Theoretical basis and general equations. **Journal of Physical Chemical**. 77:268, 1973.
- PITZER, K.S. Y MAYORGA, G. Thermodynamics of electrolytes. II. Activity and osmotic coefficients for strong electrolytes with one or both ions univalent. **Journal of Physical Chemical**, 77:2300, 1973.
- RADA-MENDOZA, M.; OLANO,A.; VILLAMIEL, M.. Estimation of water activity in jams and fruit-derived infant foods, **Alimentaria**, n. 360, p. 81-84, 2005.
- RIZVI, S.S.H. Thermodynamic Properties of Foods in Dehydration. En: "Engineering Properties of Foods." (Editado por M.A. Rao y S.S.H. Rizvi) pp. 133, Marcel Dekker, Inc., New Cork, 1986.
- ROBINSON, R.A. Y STOKES, R.M. Electrolytes solutions. 2nd Ed. Butterworths Scientific Pub., London, 1965.
- ROSS, K. D. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. **Food Technology**, v.29, n.3, p. 26-34, 1975.
- SHINDO, T.; HIROSE, R.; MIYAO, S.; MIYAMURA, A. Prediction of water activity by determination of moisture, salt and total soluble sugar in 'tsukudani'. **Journal-of-Japanese-Society-of-Food-Science-and-Technology**, v. 43, n. 1, p. 49-55, 1996.
- SMAN, R. G. M. -van-der; BOER, E.. Predicting the initial freezing point and water activity of meat products from composition data. **Journal-of-Food-Engineering**, v. 66, n. 4, p. 469-475, 2005.
- TENG, T.T. Y SEOW, C.C. A comparative study of methods for prediction of water activity of multicomponent aqueous solutions. **Journal of Food Technology**, v.16, n.4, p.409-419, 1981.
- TOLEDO, R.T. Fundamentals of food process engineering. 2nd Ed. Van Nostrand Reinhold, New York, 1991.
- TORREZAN, R.; JARDINE, J. G.; VITALI, A. A. Efeito da adição de solutos e ácidos em polpa de goiaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 43-45, 1999.
- VAN DEN BERG, C. Y BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. En: "Water activity: influences on food quality" (editado por L.B. Rockland y G.F. Stewart). pp. 1-61, Academic Press, New York, 1981.

- VAN DEN BERG, C. Water activity. En: "Concentration and drying of foods" (editado por Diarmuid Mac Carthy), pp. 11-61, Elsevier Applied Science Pub, 1986.
- VEGA-MERCADO, H.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Prediction of water activity in food systems. A review on theoretical models. **Revista-Espanola-de-Ciencia-y-Tecnologia-de-Alimentos**. 34(4): 368-388, 1994.
- VEGA-MERCADO, H.; ROMANACH, B.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Prediction of water activity in food systems. A computer program for predicting water activity in multicomponent foods. **Revista-Espanola-de-Ciencia-y-Tecnologia-de-Alimentos**, v. 34, n. 4, p. 427-440, 1994
- VIET-BUI, A.; MINH-NGUYEN, H.; JOACHIM, M. Prediction of water activity of glucose and calcium chloride solutions. **Journal-of-Food-Engineering**, v.57, n. 3, p. 243-248, 2003.
- VIGO, S., CHIRIFE, J., SCORZA, O.C., BERTONI, M.H. Y SARRAILH, P. Estudio sobre alimentos tradicionales de humedad intermedia elaborado en Argentina. Determinación de la a_w , pH, humedad y sólidos solubles. *Rev. Agroq. y Tecnol. de Alimentos*, v.21, p.91, 1980.

Capítulo III - Tempo de residência em trocador de calor tubular

III.1. Resumo

Foi desenvolvido um sistema de pasteurização contínuo em trocador tubular, com posterior envase a quente (hot fill), como uma alternativa rápida de tratamento térmico. Para verificar a temperatura do produto dentro do trocador tubular (diâmetro interno de 0,76 cm e comprimento de 800 cm), um termopar calibrado foi inserido dentro da tubulação e a temperatura foi medida em 7 pontos diferentes a partir da entrada da tubulação: 0 cm (entrada); 77 cm; 228; 325; 543; 689 e 800 cm (saída). A temperatura média observada em cada ponto foi determinada e um gráfico de temperatura versus distância, elaborado. A elevação da temperatura do produto também foi estimada matematicamente através de suas propriedades e, para tanto foram determinados: a densidade do produto, a viscosidade, calor específico e a condutividade térmica. Através destes valores e características do trocador tubular determinou-se o perfil de temperatura versus tempo, observando-se que os valores estão bem próximos dos valores coletados experimentalmente. O tempo de residência do produto no trocador à temperatura constante de 92,5°C foi de 5,34 s. A letalidade do processo em trocador tubular foi comparada com o processo de pasteurização em batelada utilizado nas indústrias. Ambos os processos não destroem esporos de *Clostridium botulinum*, sendo que no processo de batelada industrialmente aplicado ocorre um sobrecozimento do produto. O processo contínuo em trocador de calor tubular apresentado pode ser configurado para destruir esporos de bolores termorresistentes e, associado aos métodos combinados corretamente aplicados, inibe o desenvolvimento de possíveis microrganismos remanescentes do processo.

III.2. Introdução

Na pasteurização convencional do leite de coco em batelada por imersão em água em ebulição, o leite de coco, padronizado e formulado com aditivos, é homogeneizado e envasado à temperatura 65°C, sendo em seguida submetidos ao tratamento térmico a 98 – 100°C no ponto frio durante 70 minutos em garrafas de 200 ml. Nestas condições podem ocorrer problemas de coagulação de proteínas, e conseqüente aumento de viscosidade do produto.

A pasteurização de alimentos líquidos também pode ser realizada em trocadores de calor, seguido do envase à quente (hot fill). Neste tipo de processo, geralmente, o tratamento térmico no produto é realizado em maiores temperaturas e em menor tempo, portanto, apresenta menor interferência sobre os estabilizantes e outros componentes do alimento sensíveis ao calor.

O conhecimento das propriedades físicas de materiais biológicos é um ponto chave nos projetos de processos e de equipamentos que envolvem aquecimento, resfriamento, evaporação, separação e também armazenamento. O uso das equações básicas de escoamento, transferência de calor e de massa necessitam do conhecimento das propriedades dos materiais envolvidos. A maior limitação nos estudos dessas operações é a falta de dados de propriedades físicas. Na estimativa da quantidade de energia requerida num processamento é necessário conhecer: o calor específico, o calor latente e a condutividade térmica e ou a difusividade térmica do material. A associação com os parâmetros reológicos permite resolver as equações de transporte, levando-se em consideração o real comportamento do produto, resultando na obtenção de dados mais realistas das perdas de cargas e dos coeficientes de transferência de calor e massa.

A determinação da condutividade térmica de materiais biológicos é complexa, devido ao transporte simultâneo de energia e massa, às reações químicas e bioquímicas e as mudanças estruturais e biológicas que podem ocorrer durante a medição (PASSOS *et al.*, 1990). A condutividade térmica pode ser

medida através de qualquer montagem que satisfaça às condições de contorno requeridas para uma solução particular da equação de Fourier.

É necessário também conhecer o valor do calor específico para determinar a quantidade de energia a ser adicionada ou removida nos processos de aquecimento e resfriamento de alimentos. Este valor pode dar uma indicação da energia envolvida e nos processos contínuos pode ter influência sobre as dimensões do equipamento. A variação de pressão para os processos que envolvem transferência de calor em materiais agrícolas é muito pequena. Em decorrência deste fato, utiliza-se o conceito de calor específico à pressão constante. Para muitos autores, o calor específico é dependente da temperatura. Porém, para muitos cálculos de engenharia, essas variações são pequenas e um valor médio é usado para uma faixa de temperatura considerada. LEWIS, 1987; DISNEY, 1954; KAZARIAN & HALL, 1965; SASSERON, 1984 relatam a dificuldade da determinação de valores do calor específico em materiais biológicos.

Em termos físicos, a difusividade térmica dá uma medida de como a temperatura pode variar quando um material é aquecido ou resfriado. Assim, essa propriedade é importante quando considera transferência de calor em regime transiente. Essa propriedade pode ser determinada indiretamente utilizando a relação entre a condutividade térmica, calor específico e densidade (SWEAT, 1986).

Para análise de dados experimentais de fatores de atrito e de dados de transferência de calor de fluidos não-newtonianos, é necessário conhecer as propriedades reológicas do material em estudo. Isto se deve ao fato da viscosidade ser sensível a mudanças na magnitude da tensão de cisalhamento de fluidos não newtonianos, o que afeta o fator de atrito e o comportamento em relação à transferência de calor (CHOI & HARNETT, 1982). Em muitas operações que envolvem operações na indústria é essencial o conhecimento do comportamento reológico do fluido, para que se possa projetar ou selecionar os

equipamentos adequados. Durante algumas operações as características reológicas podem variar consideravelmente. Num processamento que envolve: escoamento, aquecimento, resfriamento e concentração essas variações precisam ser consideradas quando se escrevem as equações que descrevem as operações.

O objetivo nesta parte da pesquisa foi determinar o tempo de residência do leite de coco padronizado (18% de gordura) no trocador tubular desenvolvido, para poder determinar a letalidade do processo e comparar este processo com o sistema de pasteurização em batelada utilizado nas indústrias.

III.3. Material e métodos

III.3.1. Matéria-prima

Para os dois processos operacionais foram utilizados a mesma formulação e preparação, que consistiu de leite de coco padronizado para 18% de gordura, aquecido à temperatura de 70°C (temperatura utilizada para hidratar os estabilizante Meyprogen (Rodhia), que é um composto contendo CMC, carragena e xantana - Mistura) para receber 0,3% de estabilizantes. Em seguida os produtos foram submetidos à homogeneização. A pasteurização foi realizada em trocador tubular com posterior engarrafamento (hot fill) ou envase com posterior pasteurização em banho-maria, conforme descritos a seguir.

III.3.2. Pasteurização em trocador tubular

O pasteurizador tubular desenvolvido com o objetivo de reduzir o tempo de pasteurização consistiu de um tubo de aço inox em forma de serpentina, utilizando o vapor como meio de aquecimento da água até a ebulição (98°C) e este como meio de aquecimento do leite de coco. O tubo com extensão de 800 cm e um diâmetro interno de 0,76 cm, comportava um volume de material de 362,90 ml. Como bomba positiva foi utilizado o próprio homogeneizador de duplo estágio,

pistão único, ajustado para uma pressão de trabalho de 200 Kgf/cm², que proporcionava uma vazão de material de 876,65 ml/min. A formulação preparada a 70° C foi bombeada para o trocador tubular e, após o período de retenção do produto por 5,34 segundos a 92,5°C, o este foi envasado a quente (hot fill) e hermeticamente selado nesta temperatura. Um esquema do pasteurizador é apresentado na **Figura III.1**. No **Anexo III.1** são apresentadas fotografias com detalhes deste pasteurizador com o respectivo trocador de calor tubular.

III.3.3. Pasteurização em batelada

Foram utilizadas garrafas de vidro (55mm Ø x 135 mm altura) previamente preenchidas com 200 ml leite de coco e preparadas com termopares tipo agulha com a extremidade posicionada a 1/3 da altura do volume. Os frascos foram hermeticamente fechados e imersos no banho de aquecimento com injeção direta de vapor na água de aquecimento. Um sensor foi utilizado para monitorar a temperatura da água de aquecimento. Os cabos de termopares utilizados eram de junta níquel/cromo, tipo T, aquisitor de dados e software E-ValTM Ver. 2.00 ELLAB A/S Kronalvej 9, DK-2610 Roedovre, Denmark, modelo TM 9616.

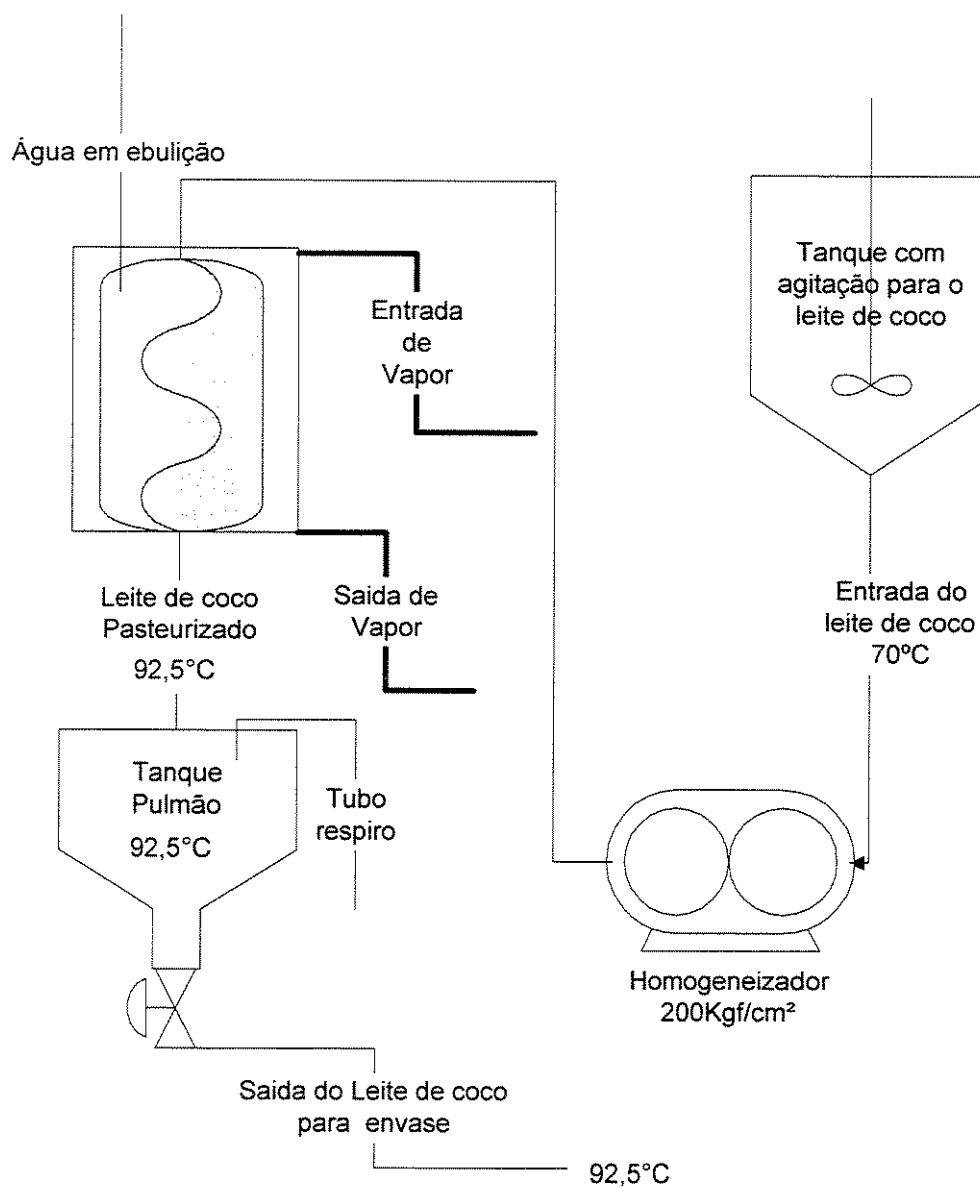


Figura III.1. Sistema de pasteurização tubular contínuo desenvolvido para processamento do leite de coco.

III.3.4. Aquisição de dados

A temperatura do produto foi monitorada utilizando-se termopares O. F. Ecklund (Flórida, U.S.A.) Cu-Ct, C1 1^{9/16} calibrados conectados à interface A/D para aquisição de dados. Os dados de temperatura foram coletados em 4 regiões: no copo do homogeneizador, na entrada da serpentina, na saída da serpentina e no interior da serpentina, sendo que a medição no interior foi realizada em 5 posições distintas ao longo da tubulação a partir da entrada (77 cm; 228 cm, 325 cm; 543 cm e 689 cm) para determinar o tempo de subida da temperatura e o tempo de residência do produto na temperatura máxima e constante de pasteurização.

III.3.5. Densidade

Os volumes dos picnômetros foram calibrados, pesando-os inicialmente vazios incluindo a tampa e em seguida foram pesados com água destilada à temperatura de 25°C. Os picnômetros foram secos e em seguida adicionou-se o leite de coco padronizado para determinação de sua densidade.

III.3.6. Viscosidade

As medidas reológicas foram realizadas em um viscosímetro rotatório REOTEST 2.1 de cilindros concêntricos, com o cilindro interno móvel. O equipamento permite a variação da velocidade angular do cilindro interno de 0 a 790 rpm. O reômetro é equipado com uma camisa termostática, situada ao redor do cilindro externo, para manutenção da temperatura desejada do produto. Neste trabalho utilizou-se o cilindro tipo N, cuja especificação está descrito na **Tabela III.1**. Esse tipo de cilindro mostrou ser o mais adequado para avaliar a viscosidade desse fluido, através de testes preliminares.

Tabela III.1. Características do sistema de cilindro do viscosímetro.

Características	Sensor N
Viscosidade (mPa.s)	1 a 2×10^6
Taxa de deformação (s^{-1})	0,15 a 1310
Volume da amostra (cm^3)	10
Relação raio copo / raio cilindro	1,02

III.4. Resultados e discussões

III.4.1. Características reológicas

Na **Figura III.2** estão apresentados os resultados obtidos experimentalmente (curva descendente) da tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para o leite de coco padronizado para 18% de gordura e temperaturas de 70 a 98°C.

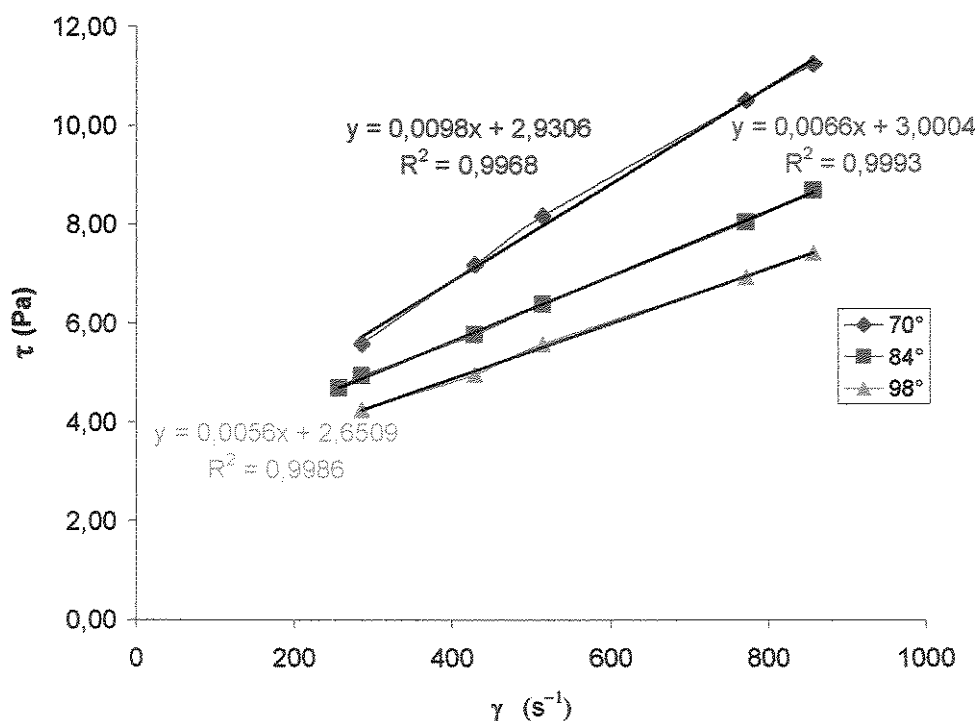


Figura III.2. Influência da temperatura na reologia do leite de coco padronizado com 18% de gordura.

Observa-se a linearidade dos pontos para cada temperatura, portanto, o leite de coco padronizado para o teor de gordura estudado comporta-se como um fluido newtoniano. Verifica-se também o esperado aumento da tensão ($\gamma =$ constante) à medida que a temperatura decresce.

Na **Tabela III.2** são apresentados os valores calculados dos parâmetros n e K do modelo de Ostwald-de-Waele para o leite de coco padronizado para 18% de gordura e 0,3% de estabilizante. Os coeficientes de regressão oscilam dentro da faixa de 0,9906 a 0,9997.

Tabela III.2. Parâmetros reológicos do modelo de Ostwald-de-Wale do leite de coco padronizado para 18% de gordura em função da temperatura.

Temperatura (°C)	n	K (Pa.s ^{n})	R^2
70	0,6384	0,1508	0,9997
84	0,5045	0,2804	0,9906
98	0,5137	0,2278	0,9915

Na **Tabela III.3** é mostrado os valores da densidade do leite de coco em função da temperatura e do teor de gordura. Na **Figura III.3** é apresentado o comportamento da densidade do leite de coco em função do teor de gordura no produto.

Tabela III.3. Valores de densidade média (g/ml) do leite de coco em função da concentração de gordura.

Teor de gordura (%)	Densidade (g/l)	
	Temperatura (40°C)	Temperatura (85,6°C)
9	n.d.*	0,9720±0,0008
18	n.d.*	0,9679±0,0004
25	0,9918±0,0015	0,9628±0,0001

*Não determinado.

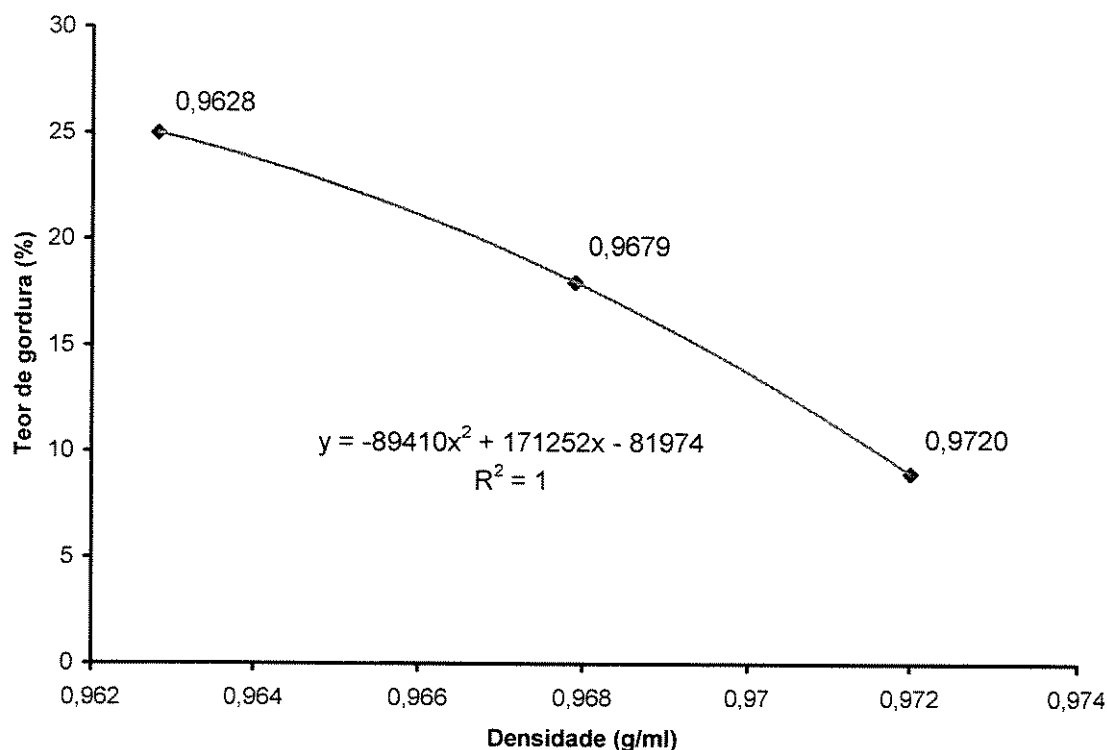


Figura III.3. Densidade do leite de coco em função da concentração de gordura na temperatura de 85,6°C.

Fazendo-se a análise de regressão, observa-se uma relação polinomial da densidade do leite de coco com a concentração de gordura para a temperatura de 85,6°C. A **Equação 1** expressa este comportamento do produto.

$$\rho = -89410x^2 + 171252x - 81974 \quad (1)$$

Onde x = teor de gordura (%).

Para o leite de coco padronizado com 18% de gordura os valores de densidade para diferentes temperaturas são apresentados na **Tabela III.4**. Pela **Figura III.4** observa-se que a densidade deste produto apresenta uma relação polinomial, sendo que densidades menores são encontradas em temperatura mais altas.

Tabela III.4. Valores de densidade média (g/cm³) para leite de coco padronizado para 18% em função da temperatura.

Temperatura (°C)	Densidade média (g/cm ³)
55	0,985 ± 0,002
75	0,972 ± 0,002
90	0,966 ± 0,003

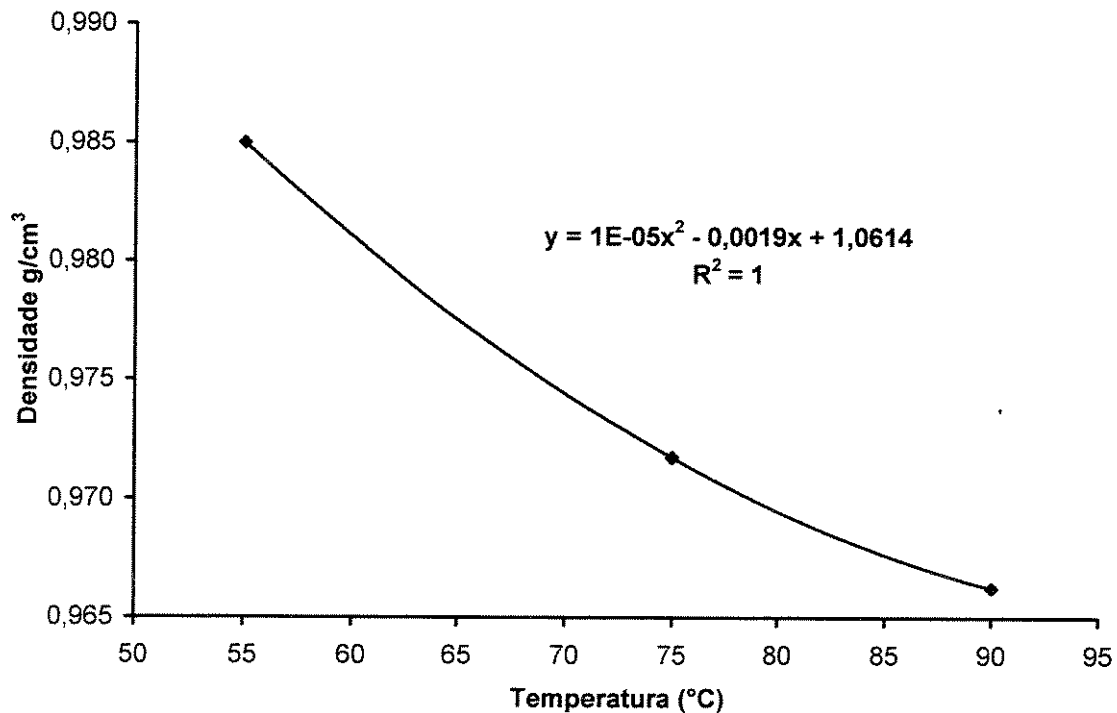


Figura III.4. Densidade do leite de coco padronizado para 18% de gordura em função da temperatura.

III.4.2. Parâmetros térmicos

As Figuras III.5 a III.9 mostram os perfis de temperaturas do leite de coco dentro do trocador tubular. Pode-se observar pela Figura III.5 que existe uma

oscilação da temperatura do produto medido a 77 cm da entrada do trocador, devido ao fluxo pulsante promovido pelo pistão do homogeneizador. Nas **Figuras** seguintes (**III.6**, **III.7**, **III.8** e **III.9**) verifica-se que a amplitude da oscilação diminui, sendo que quanto mais distante da entrada do trocador tubular, menor a amplitude.

Para o cálculo do tempo de retenção ("holding time") foram utilizados menores valores de temperatura, dentro da faixa em destaque nas **Tabelas do Anexo III.2**, procurando simular uma condição de menor letalidade no processo térmico.

Os parâmetros térmicos: calor específico e condutividade térmica foram estimados baseados nas equações de CHOI & OKOS (1986) e SWEAT (1986), respectivamente, que utilizam o valor médio dos componentes do alimento. Assim para o leite de coco com 18% temos: **21,54%** de sólidos totais (X_s), **18,00%** de gordura (X_f), **2,02%** de proteína (X_p), **0,21%** de cinzas (X_a), **1,67%** de açúcares totais (X_c) e **78,46%** de água (X_w). Substituindo estes valores na equação 2 e 3 encontra-se **3,689 kJ/Kg.°C** e **k = 0,488 W/m.°C**, respectivamente.

$$C_p = 1,547.X_c + 1,711.X_p + 1,928.X_f + 0,908.X_a + 4,180.X_w \quad (2)$$

$$K = 0,58.X_w + 0,25.X_c + 0,16.X_f \quad (3)$$

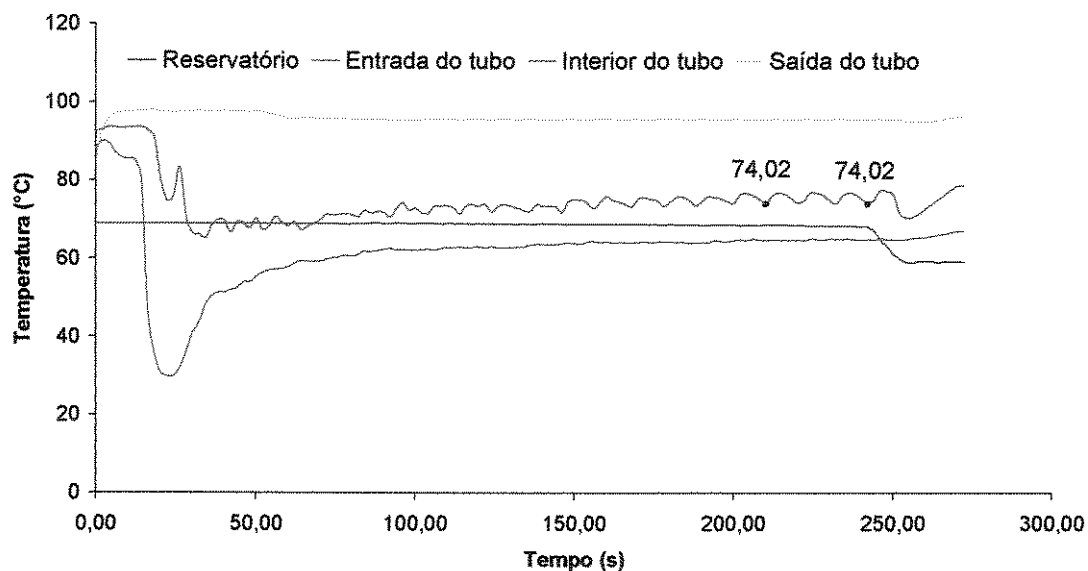


Figura III.5. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 77 cm da entrada.

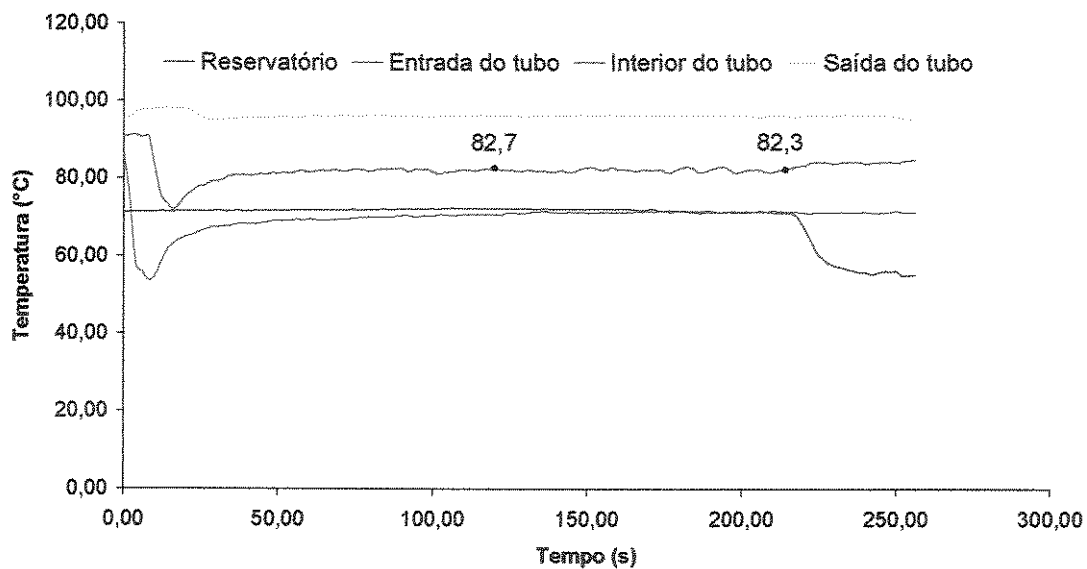


Figura III.6. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de 228 cm da entrada.

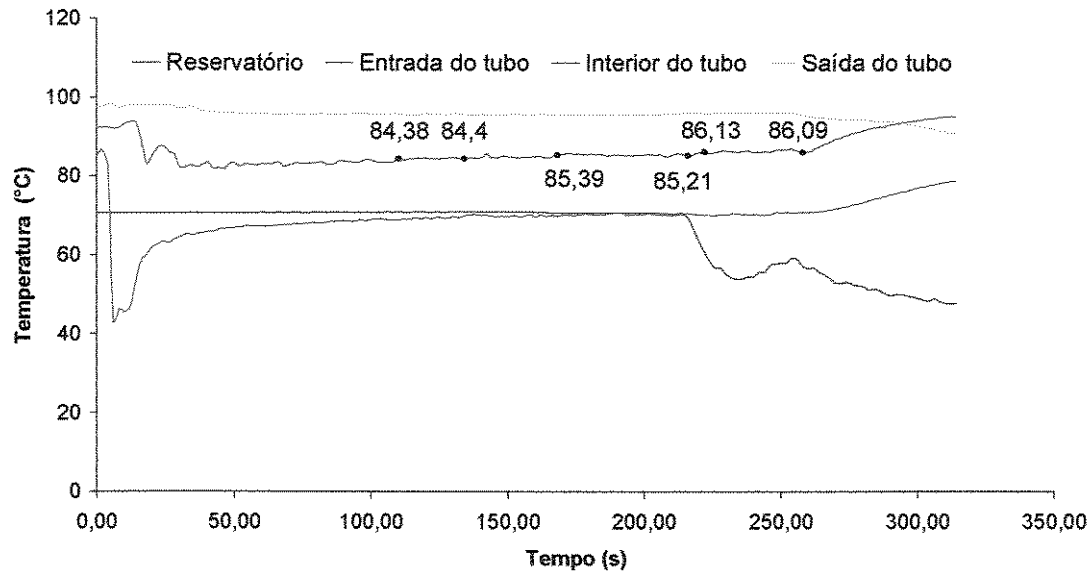


Figura III.7. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de **325** cm da entrada.

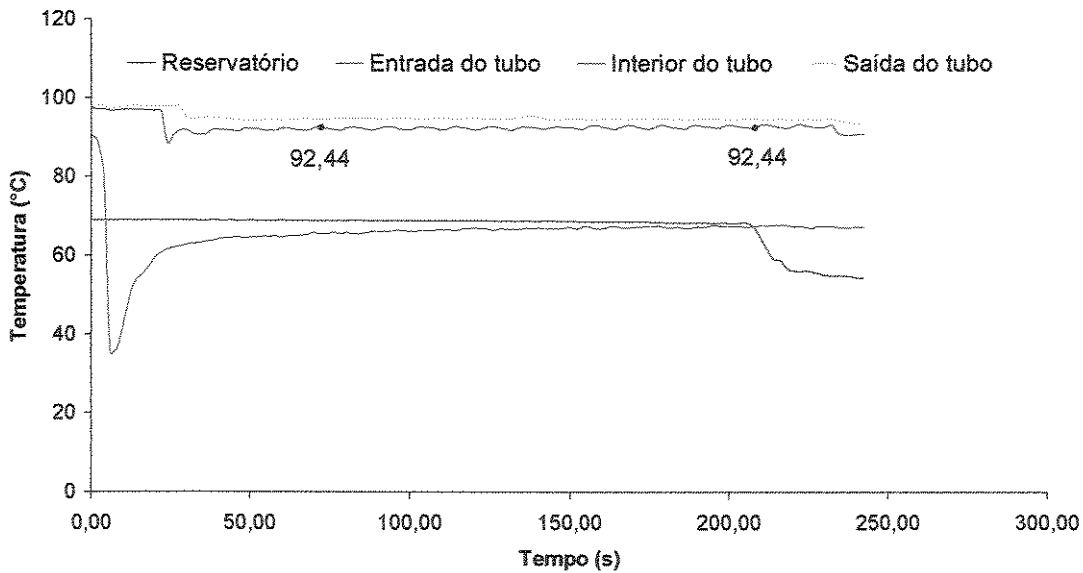


Figura III.8. Valores de temperatura do produto medidas no trocador tubular à distância de **543** cm da entrada.

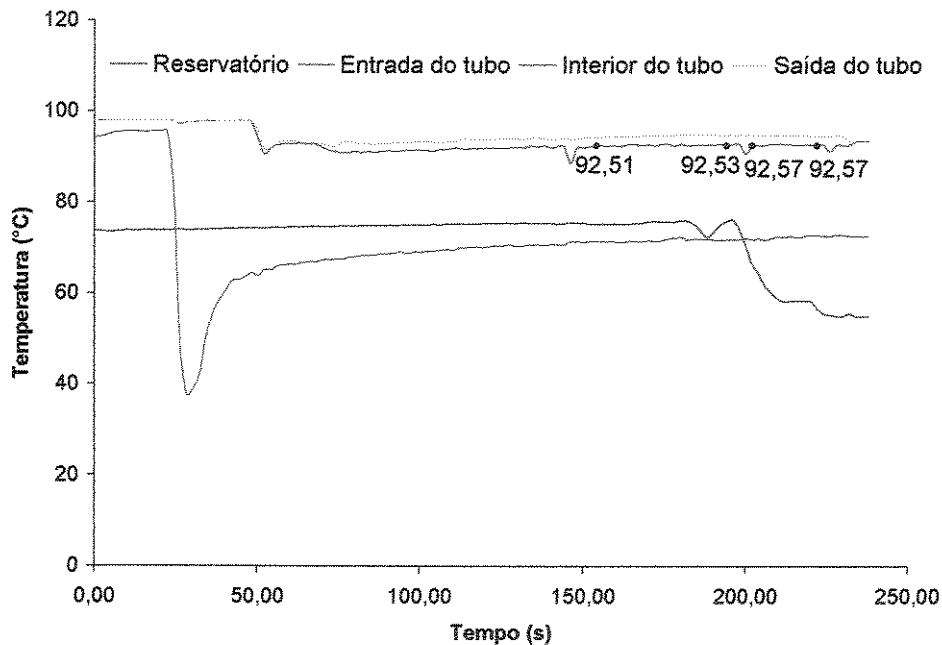


Figura III.9. Valores de temperatura medidas no trocador tubular à distância de 689 cm da entrada.

III.4.3. Estimativa do tempo de retenção no trocador tubular

Os valores das propriedades térmicas, viscosidade e densidades do leite de coco, estimados anteriormente foram utilizados no cálculo do tempo de retenção. Abaixo segue as características da serpentina e do produto utilizadas para esta determinação.

a) Características do tubo de aquecimento (serpentina):

Comprimento do tubo (L) = 8,00 m

Diâmetro interno do tubo (Di) = $7,6 \cdot 10^{-3}$ m

Diâmetro externo do tubo (De) = $9,5 \cdot 10^{-3}$ m

Material = aço inox

Vazão de produto = 876,65 ml/min

Área da seção transversal interna (A) = $\pi \cdot Di^2/4$

b) Características do leite de coco

Densidade (ρ) = 967,85 Kg/m³ (a 84°C)

Viscosidade (μ) = 6,7 x 10⁻³ Pa.s (a 84°C)

Viscosidade (μ) = 5,9 x 10⁻³ Pas (a 98°C)

Calor específico (**Cp**) = 3689 J/Kg.K

Vazão volumétrica ($\dot{M}$) = 5,2599 x 10⁻² m³/h ou 1,461083 x 10⁻⁵ m³/s

Condutividade térmica (**k**) = 0,515703 W/m.K

Temperatura inicial do produto (**T_i**) = 64,5°C

Temperatura final do produto (**T_∞**) = 92,5°C

A vazão volumétrica de **876,65 ml/min** (5,2599.10⁻² m³/h) proporcionada pelo homogeneizador foi convertida para vazão mássica utilizando-se o valor da densidade média (84,5°C), obtendo-se o valor de **50,908 kg/h**. Considerando que não ocorre acúmulo na tubulação obtém-se uma velocidade média ($\bar{v}$) de **0,322 m/s**.

Utilizando-se a equação (4) obtém-se valores entre **224,163** a **335,310** como adimensionais de Reynolds (Re) para temperatura entre 64,5 a 92,5°C, respectivamente. Estes valores mostram que o produto escoar por regime de fluxo laminar (Re < 2100).

$$Re = \frac{\rho \cdot Di \cdot \bar{v}}{\mu} \quad (4)$$

Em seguida determinou-se o valor da adimensional de Prandtl, que descreve a densidade da camada da fronteira hidrodinâmica comparada com a camada da fronteira térmica. É a taxa entre a difusividade térmica do momento para a difusividade do calor. Ao aplicar a equação (5) obtém-se o valor de **47,9274**, como o valor é muito maior que 1, a difusividade molecular do calor será muito menor do àquele do momento. Portanto, o calor irá dissipar muito lentamente. O valor desta adimensional para água é ao redor de 10, para fins de comparações.

$$Pr = \frac{\mu.Cp}{k} \quad (5)$$

O adimensional de Nusselt foi determinado utilizando-se a equação empírica (6) sugerida por SIEDER & TATE (1936). Ela é formada pelo coeficiente convectivo de transferência de calor (h) e pode ser visto como um aumento na taxa de transferência de calor causado pela convecção sobre o a condução. Neste estudo específico, o h ficou em função de uma posição na serpentina (cm) a partir do seu ponto de entrada, inserindo-se os dados, obtém-se a relação apresentada na equação (7).

$$Nu = 1,86.(Re.Pr.\frac{Di}{L})^{0,33}.\left(\frac{\mu_f}{\mu_i}\right)^{0,14} \quad (6)$$

$$h = 637,904.L^{-0,33} \quad (7)$$

Para determinação da posição ou o ponto na tubulação a partir do qual o produto apresentava uma temperatura constante de pasteurização (“holding time”), foi necessário determinar quantidade de calor necessária para elevar a temperatura do produto de 64,5°C até 92,5°C aplicando-se a equação (8). As temperaturas utilizadas foram provenientes dos históricos de temperatura apresentados nas tabelas do **Anexo III.2**, considerando-se as temperaturas mais baixas, por motivos mencionados anteriormente. A quantidade de calor encontrado foi de 1460,66 Watts.

$$\dot{Q} = \dot{m} \int Cp.dT \quad (8)$$

Confrontando-se o valor encontrado (Equação 8) com a equação (9) obtém-se o valor de 6,28 m, indicando que o produto percorre esta distância dentro do trocador tubular para atingir a temperatura de 92,5°C e percorre o restante do percurso nesta temperatura, ou seja, 1,72 m, equivalente à retenção (holding time) de 5,34 s, obtido utilizando-se o valor da velocidade média do fluido. O valor de h encontrado na equação (7) é substituído na equação (9) para obter este valor.

$$Q = h.A.\left(\frac{(T_f - T_i) - (T_f - T_x)}{\ln\left(\frac{(T_f - T_i)}{(T_f - T_x)}\right)}\right) \quad (9)$$

O valor da taxa de aquecimento (j_h) de 0,09266 foi obtido utilizando-se a temperatura do meio de aquecimento, inicial e final do produto, e o tempo de permanência do fluido dentro do trocador (Equação 10), este determinado através da velocidade média do leite de coco dentro da tubulação. As temperaturas determinadas para cada segmento da tubulação ou intervalo de tempo estão apresentadas na tabela do **Anexo III.3**. Com os valores obtidos foi construído o gráfico da **Figura III.10**, onde foram inseridos os valores experimentais, mostrando que estes estão próximos dos valores calculados.

$$J_h = \frac{\ln(T_{meio} - T_{final}) - \ln(T_{meio} - T_{inicial})}{t} \quad (10)$$

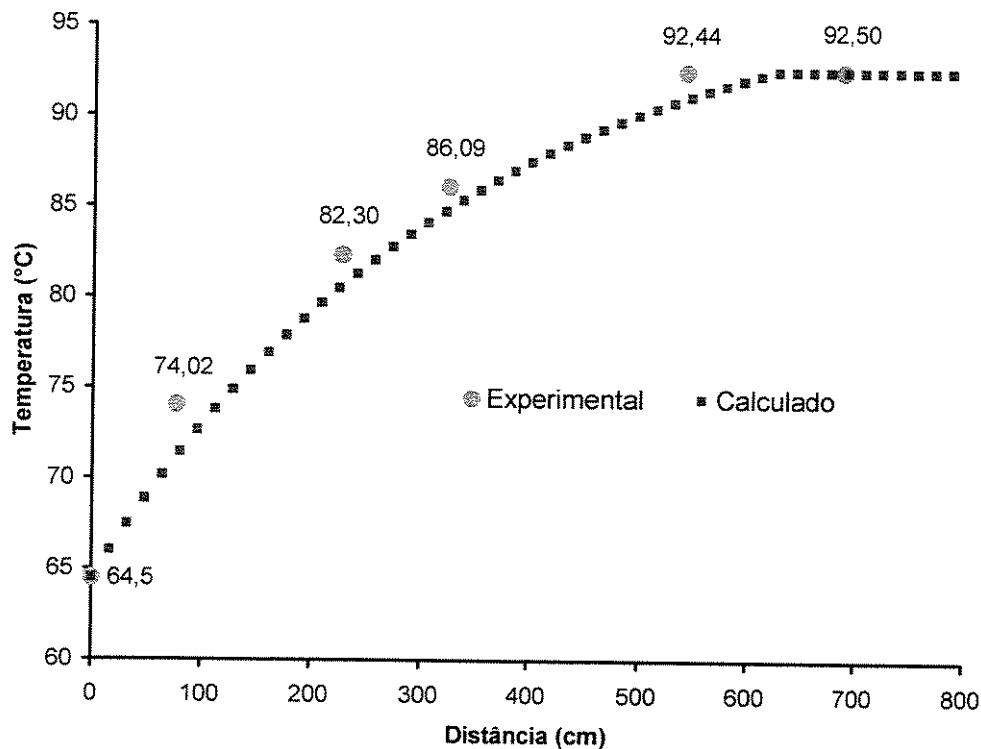


Figura III.10. Perfis de temperaturas calculados e obtidos experimentalmente.

III.4.4. Comparativo entre o processo contínuo e em batelada

Considerando os parâmetros de resistência térmica do *C. botulinum* tem-se o valor D (tempo para reduzir em 90% a população inicial de esporos) igual a 0,21 minutos para uma temperatura de 121°C e z (variação de temperatura necessária para diminuição de 90% do valor D) de 10°C. Assim, o tempo para a redução de 90% da população inicial a 121°C é de 0,21 minutos. Caso a temperatura seja reduzida para 111°C, o tempo de redução decimal aumentaria para 2,1 minutos e se a temperatura fosse reduzida para 101°C esse tempo seria de 21 minutos. O valor de 12 reduções decimais (12D) é o tratamento mínimo que se dá a um alimento processado de baixa acidez estocado sem refrigeração. Caso a temperatura de processo fosse 101°C o seu valor D seria de 21 minutos multiplicado por 12 reduções, ou seja, 252 minutos. Para temperatura de pasteurização de 98°C, o tempo para obter 12 reduções seria de 502,80 minutos

(8,38 horas), processo inviável. Na **Tabela III.5** são apresentados os tempos de processos, estimados para cada temperatura de processo visando obter a esterilização comercial do produto.

Tabela III.5. Tempos de processo necessários para obter a esterilização comercial do leite de coco não acidificado.

Temperatura de processo (°C)	Valor D	Tempo de processo (min.)	
		5 reduções decimais	12 reduções decimais
121	0,21	1,05	2,52
111	2,1	10,50	25,2
101	21	105,00	252
98	41,9	209,50	502,8
92,5	148,67	743,34	1784,02
90	246,37	1321,87	3172,49

Caso o microrganismo seja um fungo ou uma levedura, microrganismos que podem ser encontrado em alimentos ácidos e altamente ácidos ou em produtos concentrados adoçados, têm-se para leveduras mais resistentes um valor $D_{65,5}$ de 1 minuto. Processos de pasteurização baseados nesse D (tempo de redução decimal), são efetivos para eliminá-los. Entre os fungos, os ascósporos de *Byssoschlamys nivea* e *Byssoschlamys fulva* apresentam notável resistência térmica, o que pode tornar-se problemático em alimentos ácidos enlatados, causando desintegração das frutas, devido à ação de pectinases. O fungo *B. fulva* possui um valor $D_{90^{\circ}\text{C}}$ entre 1 e 12 minutos e um valor z de 6 a 7°C. Na **Tabela III.6** são apresentados os tempos de processos para diferentes temperaturas.

Pode-se constatar, através dos dados apresentados na **Tabela III.5**, que a pasteurização utilizada para o leite de coco não destrói os esporos de *C. botulinum* e, portanto, fatores adicionais de controle devem ser utilizados, tais

como redução da atividade de água, temperaturas baixas durante a estocagem e / ou acidificação. Por outro lado, o tempo de pasteurização de 70 minutos a 98°C aplicado para garrafas de 200 ml é excessivamente longo para destruição de fungos altamente termorresistentes como o *B. nivea*. Observa-se pela **Tabela III.6** que um tempo de 10,36 minutos é o suficiente para promover 12 reduções decimais utilizando-se a mesma temperatura de processo. Caso os valores de D e z utilizados fossem os menores da faixa, ter-se-ia os valores apresentados na **Tabela III.7**.

Tabela III.6. Tempos de processos em diferentes temperaturas necessários para obter a destruição do fungo *B. fulva*, considerando $D_{90^{\circ}\text{C}} = 12$ e $z = 7^{\circ}\text{C}$.

Temperatura de processo (°C)	Valor D	Tempo de processo (min.)	
		(5 reduções decimais)	(12 reduções decimais)
121	0,0004	0,002	0,005
111	0,012	0,06	0,14
101	0,32	1,61	3,86
98	0,86	4,32	10,36
92,5	5,27	26,36	63,27
90	12,00	60	144,00

Através de dados experimentais, elaborou-se a **Tabela III.8**, onde se constata que o tempo de subida (“come-up time”) de temperatura do produto até a temperatura de processo ($97,5 \pm 0,5$) é suficiente para eliminar esporos de *Byssoschlamys fulva*, entretanto o processo todo é insuficiente para eliminar esporos de *Clostridium botulinum*.

Na **Figura III.11** é apresentada a história térmica do processo de pasteurização em batelada do leite de coco em garrafas de 200 ml. Pode-se observar em destaque a temperatura a partir do qual se inicia o processo ($97,01^{\circ}\text{C}$) e a temperatura após 60 minutos ($97,96^{\circ}\text{C}$).

Tabela III.7. Tempos de processos em diferentes temperaturas necessários para obter a destruição do fungo *B. fulva*, considerando $D_{90^{\circ}\text{C}} = 1$ e $z = 6^{\circ}\text{C}$.

Temperatura de processo ($^{\circ}\text{C}$)	Valor D	Tempo de processo (min.)	
		(5 reduções decimais)	(12 reduções decimais)
121	$6,81 \times 10^{-6}$	$3,41 \times 10^{-5}$	$8,18 \times 10^{-5}$
111	$3,16 \times 10^{-4}$	$1,58 \times 10^{-3}$	$3,79 \times 10^{-3}$
101	$1,47 \times 10^{-2}$	0,07	0,17
98	$4,64 \times 10^{-2}$	0,23	0,56
92,5	0,38	1,91	4,60
90	1	5	12

Tabela III.8. Letalidade do processo de pasteurização para *Byssochlamys fulva* e *C. botulinum* em banho maria para leite de coco em embalagens de vidro de 200 ml, determinados através de dados experimentais.

Intervalo de tempo (s)	Intervalos de temperatura (°C)		Letalidade (min.)	
	Meio	Produto	D ₉₀ = 12	D ₁₂₁ = 0,21
			z = 7	z = 10
0 - 4142	30,08 98,02	41,07 – 96,97	158,31	0,07
4144 - 8102	97,92 - 97,92	96,99 – 97,87	878,81	0,40
0 - 8102	30,08 -97,92	41,07- 97,87	1037,12	0,47

Para o processo contínuo em trocador tubular, obteve-se uma letalidade para o processo todo de 0,38 minutos, considerando-se como microrganismo alvo o *Byssochlamys fulva* ($D_{90^{\circ}\text{C}} = 12$ e $z = 7$) conforme pode ser observado na tabela do **Anexo III.4**, aplicando-se o mesmo procedimento para determinar a letalidade para *Clostridium botulinum* ($D_{121^{\circ}\text{C}} = 0,21$ e $z = 10$) obteve-se o valor de 0,00026 minutos (**Anexo III.4**). Comparando-se os valores da letalidade na pasteurização em banho maria com os valores obtidos no processo contínuo (trocador tubular) estes são bem menores, mas levando se em consideração que ambos não destroem o *Clostridium botulinum* em níveis seguros (12 reduções), a vantagem do trocador tubular, desde que seja aplicado a tecnologia dos métodos combinados, como o uso de depressores de atividade de água e acidificação do

produto, é o menor custo de processo, que leva em consideração: o número de garrafas/hora, gasto de energia, preservação das qualidades físicas (manutenção das propriedades dos estabilizantes), qualidades químicas e sensoriais.

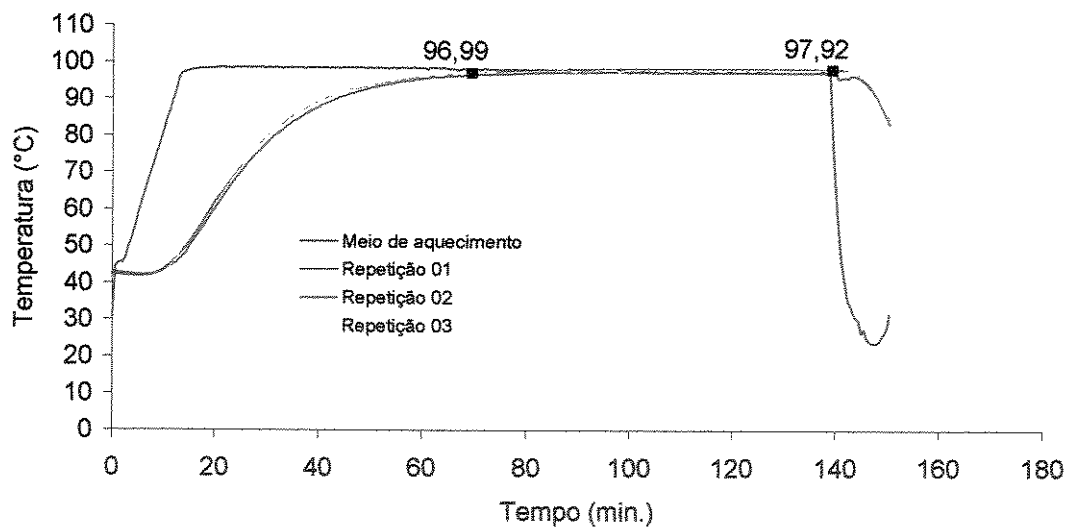


Figura III.11. História térmica do processo de pasteurização de leite de coco padronizado para 18% de gordura em banho-maria.

III.5. Conclusões

Para a temperatura utilizada para processar o leite de coco padronizado para 18%, verifica-se um comportamento newtoniano. A estimativa de energia incorporada no leite de coco durante a sua pasteurização no trocador tubular foi de 1460,66 Watts para se atingir a temperatura de 92,5°C, utilizando-se esta quantidade de energia na equação que envolve energia e distância percorrida pelo produto, verifica-se o valor de 6,28 m a partir da entrada da tubulação, sendo os restantes 1,72 m a distância percorrida pelo produto na temperatura de 92,5°C até a saída, que corresponde ao tempo de 5,34 s. Os valores estimados no trocador tubular estão próximos dos valores coletados experimentalmente, podendo estes serem utilizados para determinar a letalidade do processo térmico. Assim, no trocador térmico tubular o produto permanece 5,34 segundos a 92,5°C.

A pasteurização convencional do leite de coco é realizada em banho maria a 98°C / 60 minutos. Durante a formulação do produto, este é submetido a um pré aquecimento (65°C) para hidratação dos estabilizantes e depois envasado para pasteurização final. Durante esta pasteurização, é necessário observar que existe o tempo de subida da temperatura do produto até 98°C e o tempo de resfriamento, ou seja, ocorre um sobrecozimento do produto.

Os dois processos térmicos não são adequados para garantir a esterilização comercial do produto, pois a 98°C seria necessário um tempo de processo de 502,8 minutos e a 92,5°C um tempo de 1784,0 minutos, para se obter 12 reduções decimais na população de *Clostridium botulinum*.

Sendo o objetivo da pesquisa o uso da tecnologia dos métodos combinados, recomenda-se utilizar a pasteurização em trocador tubular, para destruir as formas vegetativas e microrganismos presentes no leite de coco, pois os esporos remanescentes poderão ser inibidos através da redução a_w e pH.

III.6. Referências bibliográficas

- CHOI, Y. & HARNETT, J. P. Non-newtonian fluids in circular pipe flow. **Advances in Heat Transfer**, v. 15, p. 60-134, 1982.
- CHOI, Y. & OKOS, M. R. Effects of temperature and composition on the thermal properties of food. In: "Food Engineering and Process Applications", Vol. 1. "Transport Phenomena". (M. Le Maguer and P. Jelen, eds.), pp. 93-101. Elsevier Applied Science Publishers, London.1986.
- DISNEY, R. W. The specific heat of some cereal grains. **Cereal Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 229-239, 1954.
- KAZARIAN, E. A. & HALL, C. W. Thermal properties of grain. **Transaction of the ASAE**, v. 8, n. 1, p.33-38, 1965.
- LEWIS, M. J. Physical properties of foods and food processing systems. Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- PASSOS, E. F.; ESCOBEDO, J. F.; NUNES, E. L.; GEOCZE, K. C. & OLIVEIRA, C. F. P. Automatização de uma bancada para medição de condutividade térmica com sonda miniaturas. **XI Seminário Adunesp**, Guaratinguetá, 1990.
- SASSERON, J. L. Avaliação de propriedades físicas e curvas de secagem em camadas finas de amêndoa de cacau. Universidade Federal de Viçosa, 1984. (Tese de mestrado).
- SIEDER, E. N. & TATE, C. E. Heat transfer and pressure drop of liquids in tubes. **Ind. Eng. Chem.**, v. 28, p. 1429, 1936.
- SWEAT, V. E. Thermal properties of foods. In: "Engineering Properties of Foods", (M. A. Rao & S. S. H. Rizvi, eds.), pp. 49-87. Marcel Dekker Inc., New York, 1986.

Capítulo IV - Comportamento de estabilizantes em diferentes processamentos

IV.1. Resumo

A obtenção de um produto estável, sob o aspecto microbiológico, através da aplicação de tecnologias de processamento, envolvendo diferentes tratamentos térmicos, uso de aditivos para reduzir o valor da atividade de água e do pH, precisa atender também a aceitação pela aparência do produto. Nesta etapa, foi verificado como cada fator envolvido na conservação está interferindo na estabilidade física do produto, uma vez que o aspecto visual é um fator determinante na aceitação do produto. Desta forma, foram avaliados o comportamento de alguns estabilizantes físicos (celulose microcristalina (CMC), carragena, pectina e produto comercial contendo CMC, goma xantana e carragena (Meyprogen-Rhodia)) frente aos diferentes níveis de redução de pH e diferentes tempos de pasteurização, isoladamente e de forma associada. No leite de coco não acidificado é possível obter combinações de carragena (0 – 0,42%) e CMC (0 – 0,054%) que proporciona uma melhor estabilidade quando processado em batelada. Para esse mesmo processo verifica-se que a acidificação do leite de coco para pH 4,5 acaba interferindo na ação dos estabilizantes, prejudicando muito a estabilidade do produto. Os processos térmicos curtos e o não uso da acidificação favorecem a estabilidade do produto quando são utilizadas misturas de carragena e CMC, ou estabilizantes comerciais (Meyprogen – Rhodia). A pectina nas dosagens utilizadas (0,1; 0,3 e 0,5%) não proporcionou o resultado desejado, e a acidificação na presença de pectina favoreceu a turvação da parte aquosa, que ao invés de se tornar translúcida, apresentou-se fluida e esbranquiçada.

IV.2. Introdução

A estabilidade física durante o armazenamento apresenta relação com as condições as quais o alimento foi submetido durante a industrialização e armazenamento. A vida de prateleira de uma emulsão pode, muitas vezes, ser determinada por meio de testes relativamente rápidos. Armazenamento de produtos em temperatura elevada, por período da ordem de duas semanas, pode ser satisfatório. Similarmente, estocagem a temperaturas abaixo da temperatura ambiente pode ser importante. Algumas emulsões de tintas são testadas através de testes de congelamento e descongelamento e isto constitui um tratamento particularmente severo (BECHER, 1965).

O leite de coco apresenta alguns problemas de estabilidade física, ou seja, separação das fases oleosa e aquosa. Ocorrem também, problemas de caráter físico-químico, como é o caso da coagulação da fração protéica do leite, devido ao tratamento térmico a temperaturas elevadas (UBOLDI EIROA *et al.*, 1975).

Alguns estudos sobre a adição de emulsificantes e estabilizantes em leite de coco foram realizados por UBOLDI EIROA *et al.* (1975); SOLER *et al.* (1987); SOLER *et al.* (1991). Entretanto, existe a dificuldade de se avaliar o comportamento e o tempo de separação para produtos que podem ser armazenados por períodos longos (24 meses), como é o caso do leite de coco industrializado. O problema de separação no produto é crítico, para todos os níveis de gordura encontrado no leite de coco comercializado.

Com o intuito de se obter um produto microbiologicamente estável, através da aplicação de tecnologias de processamento, envolvendo diferentes tratamentos térmicos, adição de aditivos que reduzem o valor da atividade de água e do valor do pH, é necessário também verificar como cada fator envolvido está interferindo na estabilidade física e no equilíbrio elétrico dos componentes que tem como função estabilizar o produto, uma vez que o aspecto visual é um fator determinante na aceitação do produto. Desta forma foi estudado o comportamento de alguns estabilizantes físicos frente a diferentes níveis de

redução de pH e diferentes tempos de pasteurização, isoladamente e de forma associada.

IV.3. Material e métodos

Para todos os testes com estabilizantes, o leite de coco sempre foi preparado a partir do concentrado contendo 40% de gordura, para obtenção de uma padronização final de 18%. Os testes foram realizados com alguns estabilizantes, incluindo carragenas, celulose microcristalina (Avicell), CMC (Carboximetilcelulose), xantana e pectina, na forma isolada ou combinada, sob condições de pH reduzido (menores que 6) e diferentes processos de pasteurização: sistema em batelada e contínuo em trocador de calor tubular.

Alguns estabilizantes comerciais estão presentes no mercado na forma de misturas de componentes (premix), visando facilitar a sua adição ou mesmo para utilização no preparo em produtos específicos. Um dos produtos testados neste trabalho foi uma mistura de estabilizantes, denominado Meyprogen FA 2963/MS, que é uma formulação contendo CMC, goma xantana e carragena recomendado pelo fabricante (Rhodia Food) para aplicação em leite de coco na dosagem de 0,3%. Os demais estabilizantes supracitados foram utilizados na forma isolada ou combinados.

Nos dois primeiros testes descritos a seguir (itens IV.3.1. e IV.3.2.) os estabilizantes foram adicionados ao leite de coco sob agitação à temperatura ambiente. Nos demais testes, os estabilizantes foram adicionados ao leite de coco sob agitação, após este atingir 70°C, seguido da homogeneização sob 200 kgf/cm² (GAULLIN – Modelo 15M – 8TASMD), deste ponto em diante o produto foi submetido a um dos dois tipos de tratamento térmico avaliado.

Os dois tipos de processos térmicos foram utilizados: (1) o processo contínuo, que consistiu de um trocador de calor tubular, que implica na seqüência

ininterrupta das etapas de homogeneização (200 kgf/cm²), pasteurização e envase do produto. Este processo é rápido (92,5°C por 5,34 segundos), se comparado com (2) o processo em batelada (60 minutos a 98°C). No processo descontínuo, após a homogeneização segue o envase e posterior pasteurização em batelada.

IV.3.1. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco sem acidificação

Nesta primeira etapa foi estudado o comportamento da adição de celulose microcristalina (FMC - Avicel GP1615) e carragena (FMC - XP3492) no leite de coco não acidificado. Os estabilizantes foram adicionados no produto padronizado sob agitação à temperatura ambiente. Subseqüentemente este foi homogeneizado durante 10 minutos (200 Kgf/cm²) antes do envase e posteriormente submetido ao processo de pasteurização em batelada. O delineamento utilizado para avaliar o efeito da combinação destes dois estabilizantes é apresentado na **Tabela IV.1**.

Tabela IV.1. Delineamento experimental composto rotacional para duas variáveis e três níveis para avaliar o efeito dos estabilizantes no leite de coco.

Ensaio	Valores codificados		Valores reais	
	Avicel 1615	Carragena XP3492	(%) de Avicel 1615	(%) Carragena XP3492
01	-1	-1	0,06	0,007
02	1	-1	0,36	0,007
03	-1	1	0,06	0,043
04	1	1	0,36	0,043
05	-1,414	0	0	0,025
06	1,414	0	0,42	0,025
07	0	-1,414	0,21	0
08	0	1,414	0,21	0,054
09	0	0	0,21	0,025
10	0	0	0,21	0,025
11	0	0	0,21	0,025

IV. 3.2. Uso de CMC e Carragena em leite de coco acidificado

Nesta segunda etapa foi estudado o comportamento da adição de celulose microcristalina (FMC - Avicel GP1615) e carragena (FMC - XP3492) no leite de

coco acidificado com ácido fosfórico até obter um valor de pH 4,5. Utilizou-se o mesmo procedimento e processo térmico aplicado no item **IV.3.1.** para o preparo dos ensaios, diferenciando apenas na adição de ácido fosfórico para obtenção de um valor de pH igual a 4,5. O delineamento utilizado foi o mesmo apresentado na **Tabela IV.1.**

IV. 3.3. Efeito da acidificação, tempo de pasteurização, concentração e tipos de estabilizantes

As formulações dos itens **IV.3.1.** e **IV.3.2.** que apresentaram produtos mais estáveis fisicamente (0,36% de CMC e 0,043% de Carragena; 0,21% de CMC e 0,025% de Carragena) foram preparadas novamente e submetidos aos dois processos de pasteurização: de tempo curto em trocador tubular e longo no processo em batelada. Os produtos Meyprogen (composto de CMC, xantana e carragena) e pectina também foram avaliados nos dois tipos de processos térmicos em diferentes concentrações e condição de acidificação, conforme os subitens a seguir.

IV. 3.3.1. Leite de coco contendo 0,36% de celulose microcristalina (Avicel GP1615) e 0,043% de Carragena (XP3492)

Foram realizadas comparações entre a pasteurização em batelada e a pasteurização em trocador tubular no leite de coco padronizado para 18% de gordura. Os estabilizantes na combinação de 0,36% de celulose microcristalina (Avicel GP1615) e 0,043% de Carragena (XP3492) foram adicionados ao leite de coco sob agitação após este atingir 70°C, seguido da homogeneização conforme descrito no item **2.** Para cada tipo de pasteurização foi verificado também o efeito da adição de ácido fosfórico, consistindo esta etapa na avaliação de 4 combinações de processos:

1. Leite de coco não acidificado e pasteurizado em batelada;

2. Leite de coco acidificado com ácido fosfórico até pH 4,5 e pasteurizado em batelada;
3. Leite de coco não acidificado e pasteurizado em trocador de calor tubular;
4. Leite de coco acidificado com ácido fosfórico até pH 4,5 e pasteurizado em trocador de calor tubular;

IV. 3.3.2. Leite de coco contendo 0,21% de CMC (Avicel 1615) e 0,025% de Carragena (XP3492)

Nesta avaliação foi adicionado ao leite de coco padronizado (18% de gordura) sob agitação 0,21% de CMC (Avicel 1615) e 0,025% de Carragena (XP3492) após este atingir 70°C. Como estaria sendo avaliado um processo térmico mais curto, optou-se por valores intermediários de estabilizantes, para verificar a interferência na estabilidade. Foram realizados três tratamentos para essa combinação de estabilizantes:

1. Leite de coco pasteurizado a 92,5°C / 5,34 segundos;
2. Leite de coco pasteurizado a 98°C / 60 minutos;
3. Leite de coco pasteurizado a 98°C / 60 minutos e acidificado com ácido fosfórico até pH 4,5.

IV. 3.3.3. Efeito da concentração do estabilizante Meyprogen

Neste teste foi verificado o efeito de três diferentes dosagens deste produto (0,2; 0,3 e 0,5%) no leite de coco padronizado para 18% de gordura, já que o produto final apresenta modificação quanto ao seu pH e possivelmente o comportamento dos estabilizantes pode ser alterado. A pasteurização foi realizada num trocador tubular, este processo é de tempo mais curto em relação à pasteurização tradicional. Neste caso o leite de coco padronizado foi aquecido a 70°C e em seguida o estabilizante foi adicionado sob agitação, o pH ajustado para 4,5 com ácido fosfórico, homogeneizado a 200 kgf/cm² e pasteurizado a 92,5°C / 5,34 segundos.

IV. 3.4. Leite de coco contendo 0,5% de Meyprogen (Rhodia)

Os testes realizados no item IV.3.6 demonstraram que dosagens maiores de Meyprogen para o produto acidificado proporcionavam melhor estabilização. Desta forma, foi verificado o efeito da adição de 0,5% de Meyprogen (Rhodia Food) no leite de coco padronizado para 18% de gordura, nas seguintes condições de processamento:

1. Pasteurizado a 98°C / 60 minutos;
2. Pasteurizado a 92,5°C / 5,34 segundos;
3. Pasteurizado a 92,5°C / 5,34 seg. e pH 5,0 ajustado com ácido fosfórico;
4. Pasteurizado a 92,5°C / 5,34 seg. e pH 4,5 ajustado com ácido fosfórico.

IV. 3.5. Efeito da adição de pectina

As pectinas quando submetidas ao processo de desesterificação por métodos químicos empregando ácidos, soluções aquosas de álcalis ou amônia em meio alcoólico levam a formação de pectinas de baixo teor de metoxilas, que dependendo do método empregado, apresenta diferenças na viscosidade, e, portanto, no teor de geleificação.

Essas pectinas de baixo teor de grupos metoxílicos (abaixo de 7%), não formam géis da mesma maneira que as pectinas de alto teor de grupos metoxílicos, mas geleificam facilmente em presença de íons divalentes, sem adição de sacarose.

Com o intuito de verificar o comportamento da pectina com baixo teor de éster parcialmente amidado extraído de bagaço cítrico (GENU tipo 8006 – CPKELCO) em leite de coco, foram realizadas 3 avaliações em leite de coco padronizado para 18% de gordura, conforme descritos a seguir:

1. Adição de diferentes teores: neste ensaio foram testados teores de pectina de 0,1; 0,3 e 0,5% no leite de coco, adicionados ao leite de coco sob

agitação após este atingir 70°C. Em seguida o material foi homogeneizado a 200 kgf/cm², pasteurizado a 92,5°C / 5,34 segundos e envasado;

2. Adição de diferentes teores em leite acidificado com ácido fosfórico para pH 5,0: foram realizados 3 tratamentos com os mesmos teores de pectina que o ensaio anterior. O ácido foi adicionado após a incorporação da pectina a 70°C sob agitação. Em seguida o material foi homogeneizado a 200 kgf/cm², pasteurizado a 92,5°C / 5,34 segundos e envasado;
3. Adição de diferentes teores em leite acidificado para pH 4,5: procedimento semelhante ao item anterior, entretanto o pH foi ajustado para 4,5.

A instabilidade física mais comum em emulsões óleo em água é a separação da fase dispersa devido à diferença da densidade entre as fases. Esta instabilidade pode aumentar através de mecanismos como aglutinação dos glóbulos de gordura, floculação ou coalescência (MULDER & WALSTRA, 1974). Além disso, as proteínas do leite de coco que possuem uma ação benéfica na estabilidade, pedem parte desta capacidade devido ao processo térmico, podendo ser mais maléfico quanto mais longo for o processo térmico aplicado (SOLER *et al.*, 1991).

A separação de fases dos experimentos foi avaliada pela medida da altura da fase aquosa translúcida, formada dentro dos frascos mantidos em repouso após o processo térmico.

IV. 4. Resultados e discussões

IV. 4.1. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco sem acidificação

A estabilidade física do leite de coco não acidificado, contendo 18% de gordura e diferentes concentrações de estabilizantes, foi avaliada semanalmente. A **Figura IV.1** mostra como as diferentes concentrações de estabilizantes interferiram na qualidade do produto. Pode-se observar que a celulose microcristalina influenciou grandemente a estabilidade do produto, diferentemente

da carragena, que interferiu muito pouco, conforme apresentado, também no gráfico da **Figura IV 2**.

Segundo DROHAN *et al.* (1997), as carragenas apresentam um comportamento muito bom quanto à formação de gel quando associadas as proteínas do leite, como o leite de coco possui proteínas, a carragena adicionada melhorou a estabilidade do produto, conforme apresentados nos frascos dos ensaios 2, 4 e 8 (**Figura IV.1**).

SOLER *et al.* (1986) observaram que o aumento na concentração de CMC de 0,10 para 0,40% melhorou a estabilidade produto, entretanto, observou que o produto que continha 30% de gordura e 0,40% de CMC apresentava uma viscosidade alta, não característico do produto comercial. Para eles, a adição de 0,20% de CMC e 0,06% de carragenato + goma guar, foram os tratamentos mais estáveis, e os tratamentos contendo 0,15% de CMC e 0,10% de carragenato + goma guar apresentaram estabilidade inferior. Isso demonstra que o aumento no teor de carragena não compensa a diminuição de CMC quanto ao aspecto da estabilidade. Nos resultados obtidos neste trabalho, observa-se que a carragena adicionada sempre melhorou a estabilidade do produto, apesar das pequenas quantidades adicionadas. SOLER *et al.* (2001) trabalhando com emulsões simuladas de leite de coco observaram que a separação de fases foi menor quando houve adição de carragena (0,005% p/p).

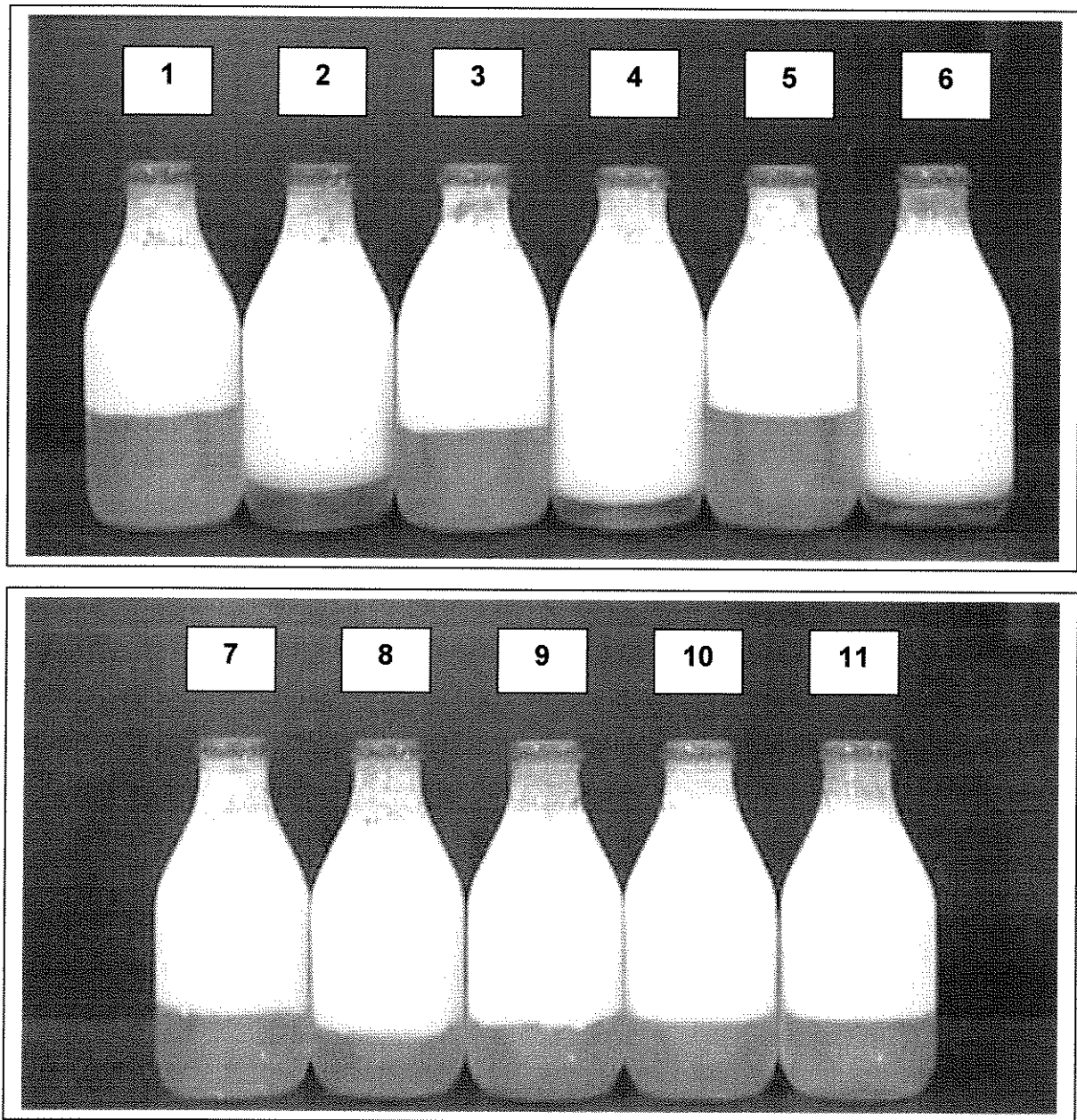


Figura IV.1. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco (18% de gordura) não acidificado, após 3 semanas do processamento (1- 0,06% de CMC e 0,007% de carragena; 2- 0,36% de CMC e 0,007% de carragena; 3- 0,06% de CMC e 0,043% de carragena; 4- 0,36% de CMC e 0,043% de carragena; 5- 0,0% de CMC e 0,025% de carragena; 6- 0,42% de CMC e 0,025% de carragena; 7- 0,21% de CMC e 0,0% de carragena; 8- 0,21% de CMC e 0,054% de carragena; 9, 10 e 11 - 0,21% de CMC e 0,025% de carragena).

De acordo com os resultados apresentados na **Tabela IV.2**, pode-se verificar que os resultados obtidos através da regressão multivariada foram significativos, sendo que o valor de F encontrado foi cerca de 100 vezes superior ao valor tabelado ($F_{(5, 5)} = 5,05$). A quantidade de celulose microcristalina utilizada apresentou efeitos linear e quadrático significativos, enquanto que a carragena apresentou apenas um efeito linear significativo, ao nível de 5% de probabilidade (**Tabela IV.4**).

Na avaliação duas semanas após o processo (**Figura IV.3**) mostra que o produto continuou apresentando separação de fases, entretanto, em velocidade menor se comparado a da primeira semana. As variáveis que afetaram o comportamento foram as mesmas apresentadas na primeira semana (**Tabela IV.3**).

O tratamento 6 (combinação da concentração de 0,42% de celulose microcristalina e 0,025% de carragena) foi o que apresentou menor altura de separação (**Figura IV.4**).

SOLER *et al.* (2001) constataram altura de separação entre 60 a 70 mm, quando utilizaram emulsões simuladas de leite de coco (25% de gordura, 0,3% de CMC e 0,005% de carragena. Quando adicionaram proteínas do leite de coco nas emulsões simuladas, aproximando à composição do leite de coco, observaram uma diminuição na altura de separação para 2,5 a 3,5 mm. Os resultados obtidos nesta pesquisa (Figuras IV.2, IV.3 e IV.4), observa-se que a altura de separação dos tratamentos foi inferior a 50 mm, e foi possível obter produtos mais estáveis como a formulação do tratamento 6, seguido pelos tratamentos 4 e 2. O tratamento 2 é uma formulação mais próxima utilizada por SOLER *et al.* (2001), e apresentou uma altura de separação inferior a 15 mm.

Tabela IV.2. Análise de variância da estabilidade do leite de coco não acidificado após uma semana, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).

Análise de variância	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p-nível
Regressão	1912,26	5	382,45	513,15*	0,000001
Residual	3,726	5	0,74		
Total	1915,99				

* Significativo ao nível de 5%.

$$z = 29,25 - 15,0793 * x - 1,8446 * y - 3,2844 * x^2 - 0,2969 * y^2 + 0,8 * x * y$$

x = Celulose microcristalina (% p/p)

y = Carragena (% p/p)

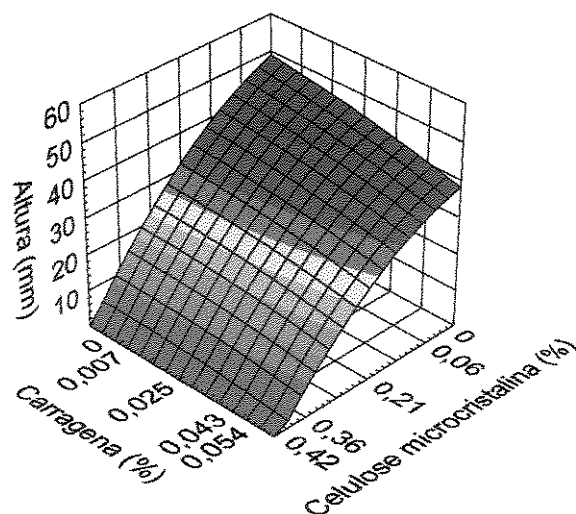


Figura IV.2. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco não acidificado (18% de gordura), 1 semana após o processamento.

Tabela IV.3. Análise de variância da estabilidade do leite de coco não acidificado após duas semanas, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).

Análise de variância	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p-nível
Regressão	1928,46	5	385,69	289,20	0,000004
Residual	6,67	5	1,34		
Total	1935,13				

* Significativo ao nível de 5%.

$$z = 29,7917 - 15,1207 * x - 1,9517 * y - 3,3521 * x^2 - 0,1771 * y^2 + 0,6500 * x * y$$

x = Celulose microcristalina (% p/p)
y = Carragena (% p/p)

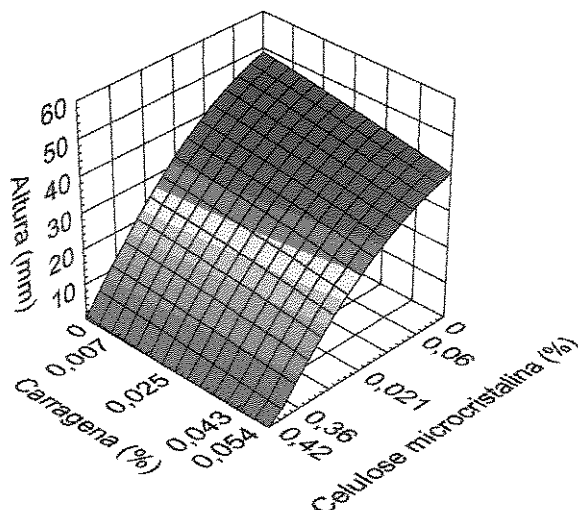


Figura IV.3. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco não acidificado (18% de gordura), 2 semanas após o processamento.

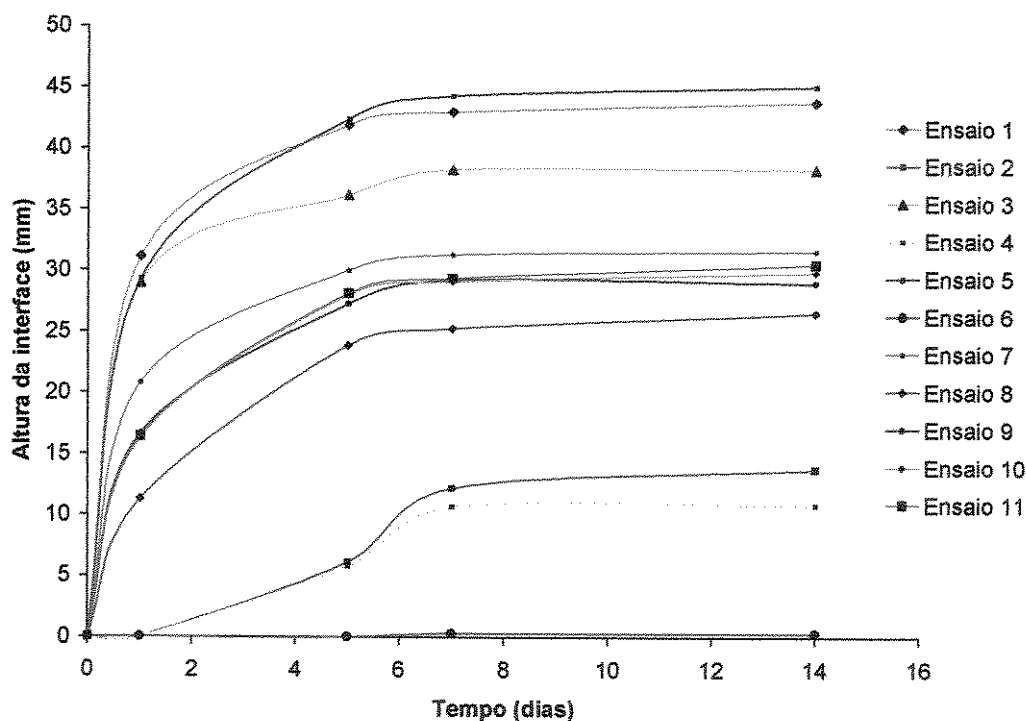


Figura IV.4. Velocidade de separação de fases em leite de coco não acidificado contendo diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP 3492) em função do tempo de estocagem.

IV.4.2. Uso de Celulose Microcristalina e Carragena em leite de coco acidificado

Quando o leite de coco foi acidificado para um pH de 4,5 com ácido fosfórico, pode-se observar que houve uma separação muito mais acentuada após uma semana (**Figuras IV.5 e IV.7**), ou seja, a acidificação prejudicou sensivelmente a estabilidade do produto.

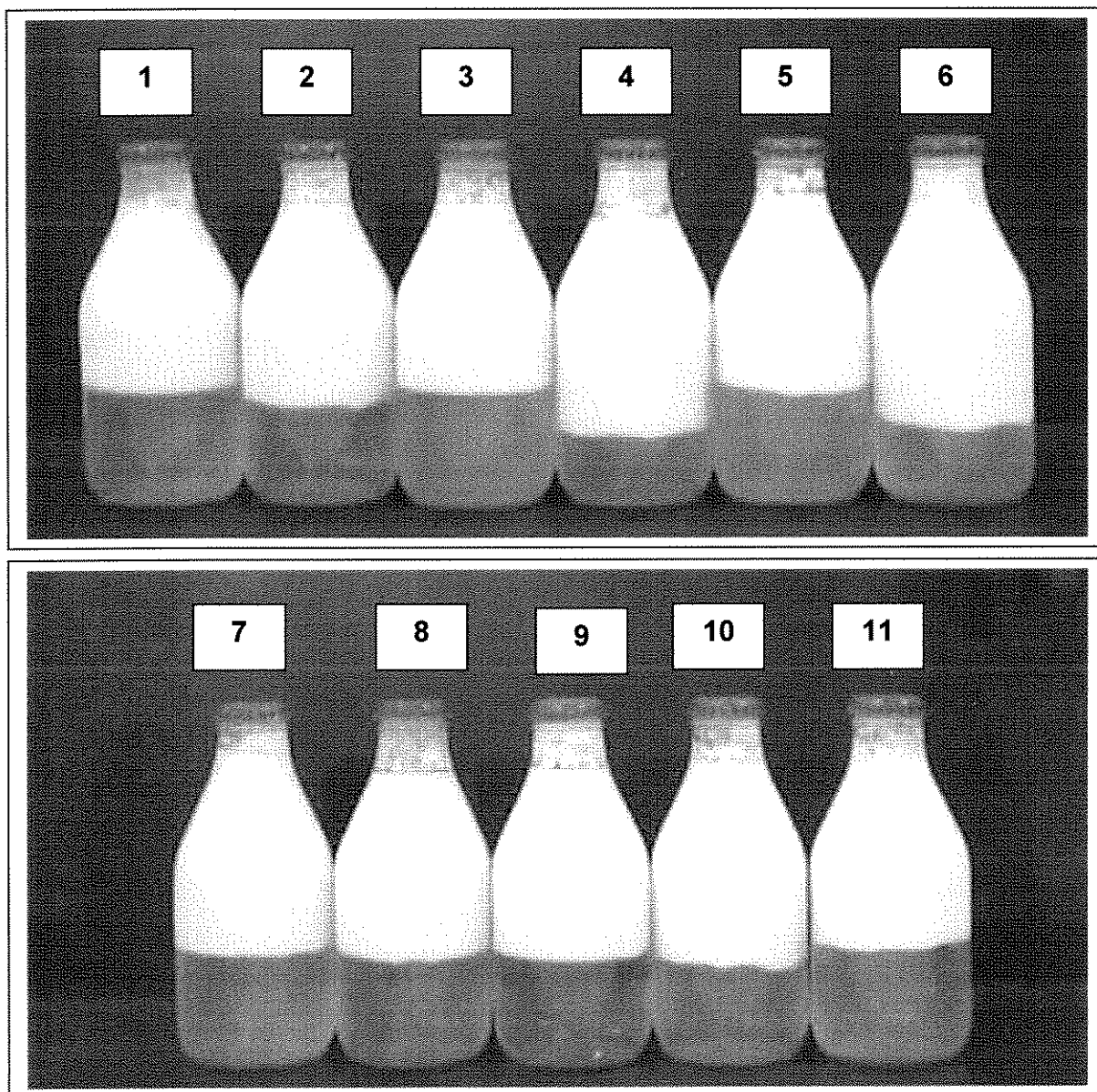


Figura IV.5. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco (18% de gordura) acidificado com ácido fosfórico (pH 4,5) após 3 semanas do envasamento (1- 0,06% de CMC e 0,007% de carragena; 2- 0,36% de CMC e 0,007% de carragena; 3- 0,06% de CMC e 0,043% de carragena; 4- 0,36% de CMC e 0,043% de carragena; 5- 0,0% de CMC e 0,025% de carragena; 6- 0,42% de CMC e 0,025% de carragena; 7- 0,21% de CMC e 0,0% de carragena; 8- 0,21% de CMC e 0,054% de carragena; 9, 10 e 11 - 0,21% de CMC e 0,025% de carragena).

Observa-se através da **Tabela IV.5**, que existem diferenças entre os tratamentos (Valor de F encontrado é 7,55 vezes superior ao tabelado $F_{(5, 5)} = 5,05$). Entre os tratamentos, o ensaio 4 foi o que apresentou um resultado melhor, porém uma estabilidade muito inferior se comparado com o ensaio 4 não acidificado. Pelo gráfico da **Figura IV.6**, pode-se observar que houve um efeito linear e quadrático de celulose microcristalina, enquanto que a carragena apresentou um efeito linear e combinado com a celulose microcristalina fato que pode ser constatado na **Tabela IV.4** e **Figura IV.6**.

Tabela IV.4. Coeficientes das equações obtidos na avaliação da estabilidade de leite de coco não acidificado e acidificado com ácido fosfórico em pH 4,5.

Coeficientes	Após 1 semana		Após 2 semanas
	Não acidificado	Acidificado	não acidificado
Intercepto	29,25	45,89	29,79
CM.	-15,08 *	-5,345 *	-15,12 *
CA	-1,85 *	-2,05 *	-1,95 *
CM x CM	-3,28 *	-2,62 *	-3,35 *
CA x CA	-0,30	0,01	-0,18
CM x CA	0,80	-3,39 *	0,65
R	0,99	0,99	0,99
R ²	0,99	0,97	0,99
R ² ajust.	0,99	0,95	0,99
F(5, 5)	513,15	38,14	289,20
Erro padrão est.	0,86	1,35	1,15

* Significativo ao nível de 5%.

Tabela IV.5. Análise de variância da estabilidade do leite de coco acidificado após uma semana, utilizando diferentes níveis de celulose microcristalina (Avicel 1615) e carragena (XP3492).

Análise de variância	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p-nível
Regressão	350,33	5	70,07	38,14*	0,000551
Residual	9,18	5	1,84		
Total	359,51				

Significativo ao nível de 5%.

$$z = 45,8933 - 5,34468 * x - 2,04912 * y - 2,61573 * x^2 - 0,00927 * y^2 - 3,38625 * x * y$$

x = Celulose microcristalina (% p/p)
y = Carragena (% p/p)

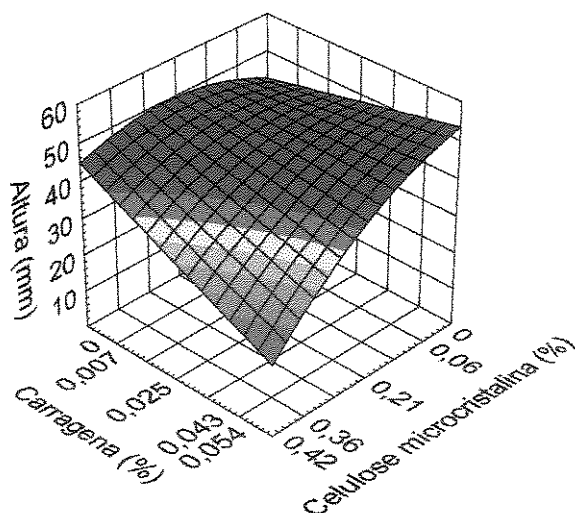


Figura IV.6. Efeito da adição de diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP3492) em leite de coco acidificado (18% de gordura), 1 semana após o processamento.

GANZ (1969) discute amplamente as propriedades da CMC e suas interações entre o produto e grupos protéicos. Essas interações estão relacionadas com o pH do meio e o tipo de proteína. De modo geral, quando uma

molécula de CMC combina com uma de proteína, provavelmente, por vários pontos, poderá ocorrer um aumento de solubilidade da proteína, podendo dar origem a um precipitado ou a um complexo solúvel formado próximo ao ponto isoelétrico das proteínas. Esse complexo confere grande estabilidade às proteínas em relação à precipitação por aquecimento ou resfriamento. Pode-se constatar que a acidificação do leite de coco para um valor de pH 4,5, prejudicou muito a estabilidade do leite, em todas as combinações de estabilizantes.

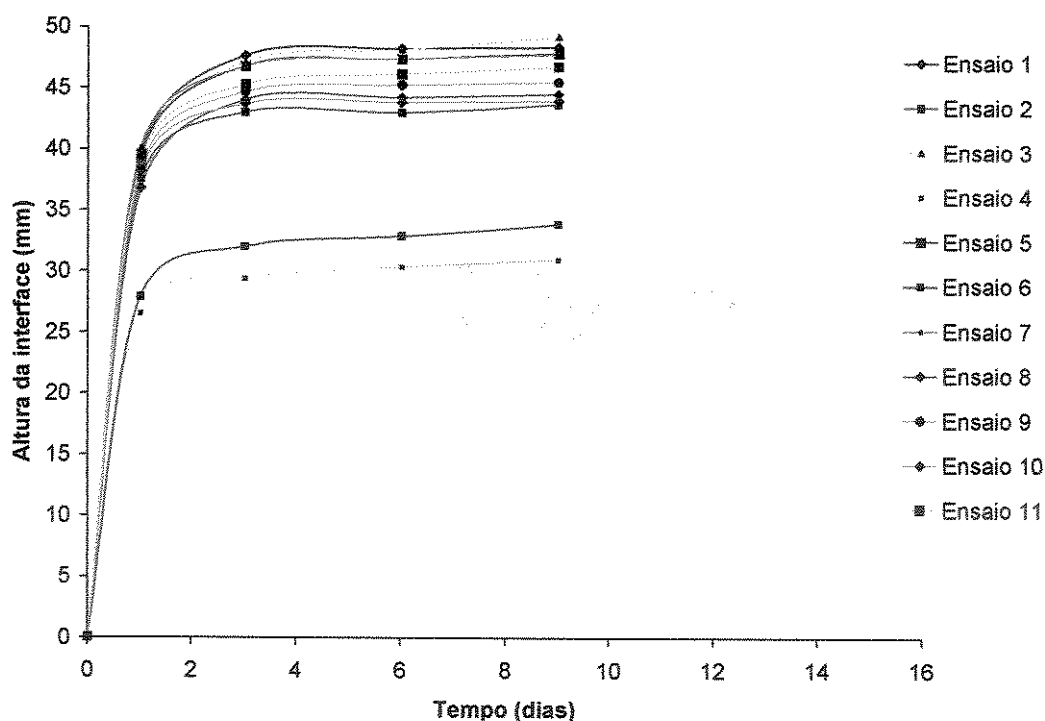


Figura IV.7. Velocidade de separação de fases em leite de coco acidificado (pH 4,5) contendo diferentes concentrações de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e Carragena (XP 3492) em função do tempo de estocagem.

Comparando-se as **Figuras IV.4 e IV.7**, pode-se constatar que a acidificação acelerou o processo de separação de fases. Enquanto que o ensaio 6 havia sido o melhor tratamento quando não houve acidificação (**Figura IV.4**) e neste caso (**Figura IV.7**) o melhor tratamento foi o 4, que foi formulado com 0,36%

de celulose cristalina e 0,043% de carragena. Quanto aos tratamentos que apresentaram separação mais rápida, tem-se para o caso dos produtos não acidificados, que o 5 foi o que mostrou pouca estabilidade (0% de celulose cristalina e 0,025% de carragena) enquanto que nos acidificados o 3 foi o pior (0,06 de celulose cristalina e 0,043% de carragena). No caso dos acidificados, a separação de fases foi bem mais rápida, sendo que no 3º dia pós-processo já havia ocorrido quase que a completa separação e somente os tratamentos 4 e 6 apresentaram uma altura de separação de fases entre menor que 34 mm, os demais tratamentos concentraram-se na faixa entre 43 e 48 mm. No caso do leite de coco não acidificado a separação de fases entre os tratamentos mostrou uma distribuição para o intervalo de separação entre 0 e 50 mm durante o período de avaliação (**Figura IV.4**), para os tratamentos submetidos à acidificação observa-se para o mesmo período que a maioria dos tratamentos logo após o 3º dia apresentou uma altura de interface entre 40 e 50 mm.

IV.4.3. Efeito do processo de pasteurização e acidificação sobre os estabilizantes

Pela **Figura IV.8** pode-se constatar o efeito da acidificação sobre a estabilidade do leite de coco contendo 0,36% de CMC (Avicel 1615) e 0,043% de Carragena (XP3492). Sob as mesmas condições de tratamento térmico, o produto acidificado mostrou que a sua estabilidade é afetada (frascos 2 e 4). Observa-se também que o tempo de pasteurização interfere na estabilidade, sendo que quanto mais longo o processo maior é a separação de fases (frasco 3). Um tratamento térmico mais rápido manteve o produto estável (frasco 1).

Comportamento semelhante ocorre em outras concentrações de estabilizantes, conforme pode ser observado na **Figura IV.9**. Entretanto, neste caso, o teor de CMC (Avicel 1615) era menor (0,21%) e não foi suficiente para manter a estabilidade da emulsão, se comparado com teores maiores (0,36%), conforme pode ser observado na **Figura IV.8** (frasco 1).

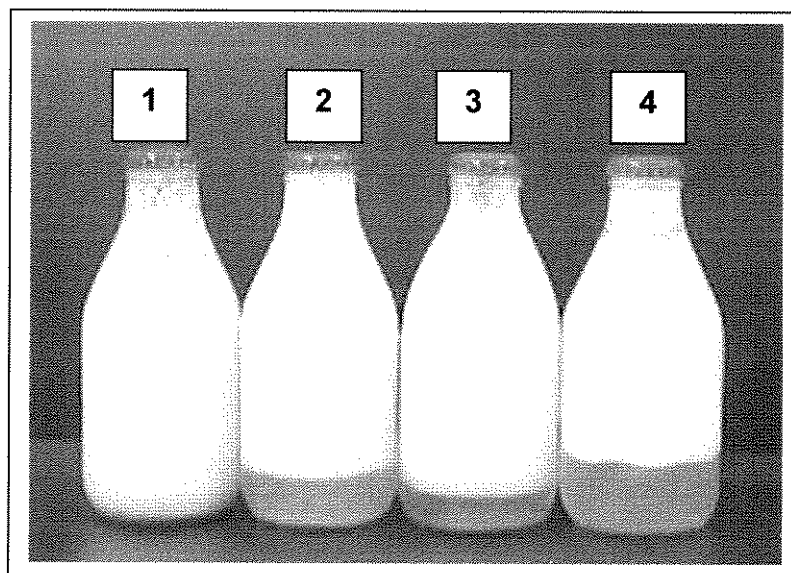


Figura IV.8. Efeito de diferentes tratamentos no leite de coco (18% de gordura) estabilizado com 0,36% de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e 0,043% de Carragena (XP3492): 1- pasteurizado 92,5°C/5,34 s; 2 – pasteurizado 92,5°C/5,34 s e acidificado pH 4,5; 3 - pasteurizado 98°C/60 min.; 4 - pasteurizado 98°C/60 min e acidificado pH 4,5.

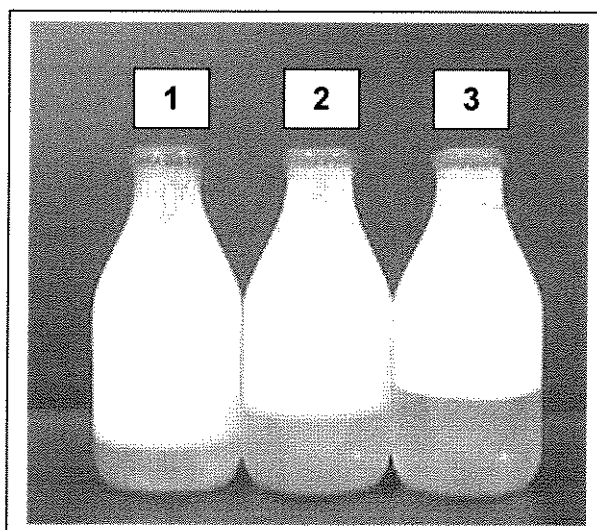


Figura IV.9. Efeito de diferentes tratamentos no leite de coco (18% de gordura) estabilizado com 0,21% de Celulose Microcristalina (Avicel 1615) e 0,025% de Carragena (XP3492): 1- pasteurizado 92,5°C/5,34 s; 2 - pasteurizado 98°C/60 min.; 3 - acidificado (pH 4,5) e pasteurizado 98°C/60 min.

Na **Figura IV.10** é ilustrado o efeito de diferentes concentrações de Meyprogen (Rhodia), uma mistura de CMC, carragena e xantana, na estabilidade do leite de coco acidificado. Pode-se constatar que níveis mais elevados de estabilizantes (0,5% de Meyprogen) são necessários para que não ocorra a separação de fases.

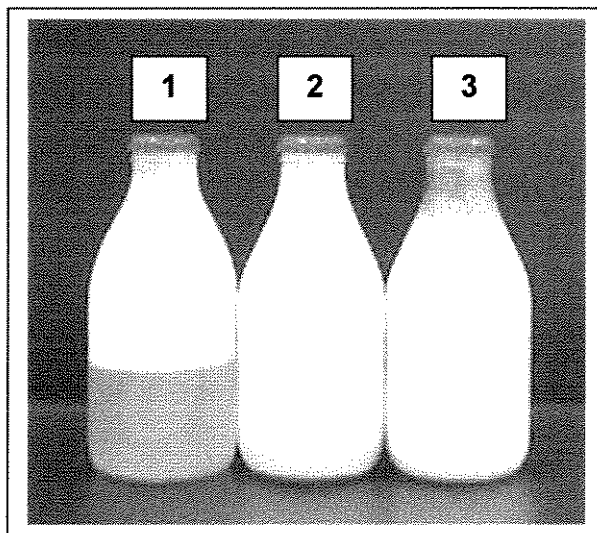


Figura IV.10. Leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 (ácido fosfórico) com diferentes concentrações de Meyprogen (CMC+Carragena+Xantana) (1 – 0,2%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) pasteurizado a 92,5°C/5,34 s.).

Pela **Figura IV.11**, pode-se observar que o processo de pasteurização longo é prejudicial à estabilidade do produto. O uso de 0,5% de Meyprogen como estabilizante mostra que não houve diferenças na separação entre os testes realizados com a pasteurização rápida para diferentes pHs (frascos 2, 3 e 4), mas foi constatado diferenças de viscosidades entre os produtos, sendo que aqueles com pH mais baixos estavam mais fluidos.

As **Figuras IV.12 a IV.14** mostram o efeito do uso de pectina (CPKelco GENU tipo 8004) no leite de coco. No leite de coco não acidificado, as diferentes dosagens de pectina utilizada tiveram pouca influência na estabilidade, ocorrendo a separação poucas horas após o processamento (**Figura IV.12**). Os diferentes ajustes de pH (4,5 ou 5,0) também não mostraram melhoria na estabilidade. Quando o produto foi acidificado para pH 5,0 (**Figura IV.13**), pode-se observar que existe uma separação de fases (conforme indicado pelas setas), apesar da parte aquosa apresentar uma tonalidade branca. O mesmo ocorreu quando o pH foi ajustado para 4,5 (**Figura IV.14**).

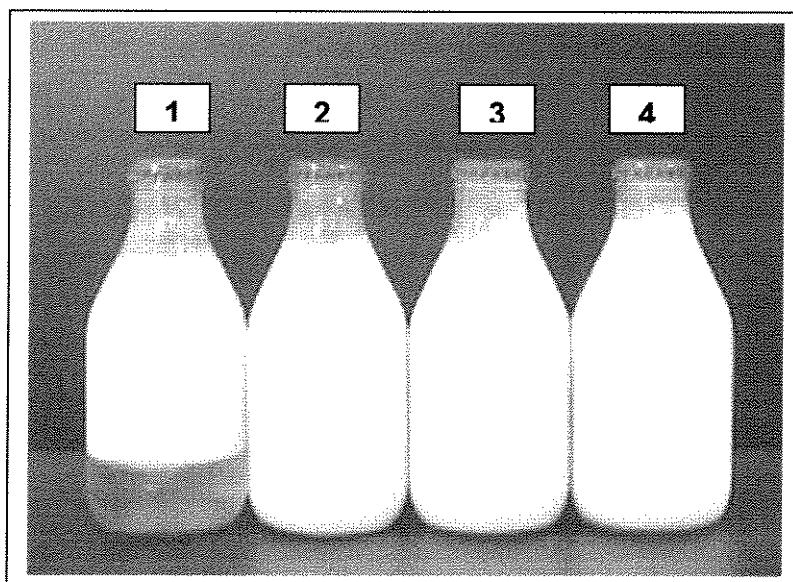


Figura IV.11. Leite de coco (18% de gordura) suplementado com 0,5% de Meyprogen (CMC+Carragena+Xantana) submetido a diferentes processos: **1** – pasteurizado 98°C/60 min.; **2** – pasteurizado 92,5°C/5,34 s; **3** – pasteurizado 92,5°C/ 5,34 s e pH 5,0; **4** - pasteurizado 92,5°C/5,34 s e pH 4,5.

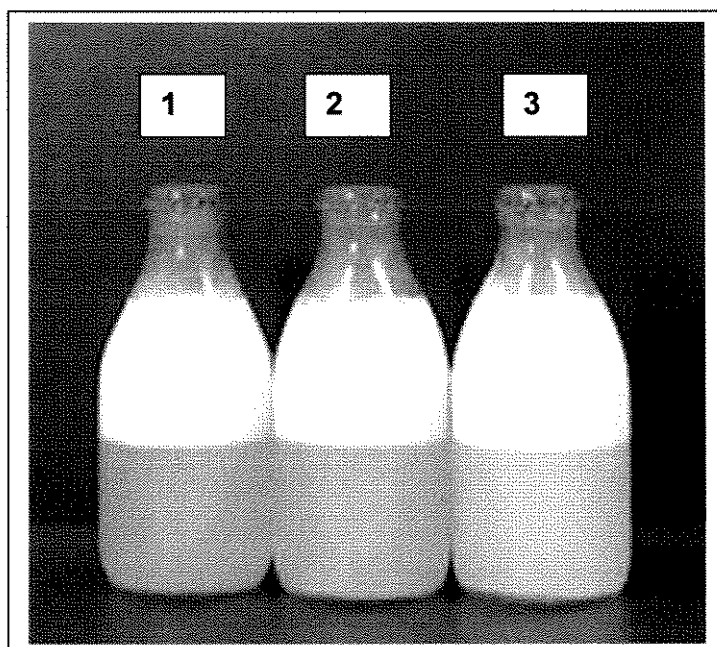


Figura IV.12. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), não acidificado e pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, com enchimento a quente após 24 horas do envase.

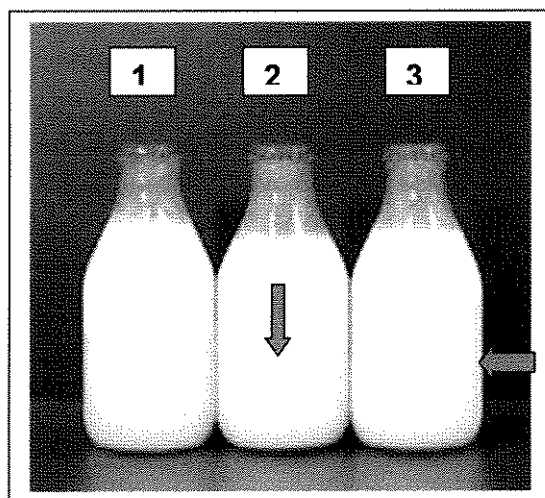


Figura IV.13. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), pH ajustado para 5,0 e pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, após 24 horas do envase.

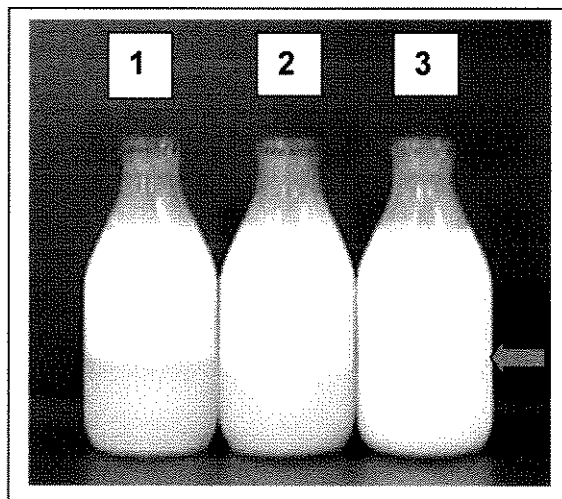


Figura IV.14. Efeito da adição de diferentes teores de pectina (1 – 0,1%; 2 – 0,3%; 3 – 0,5%) em leite de coco (18% de gordura), pH ajustado para 4,5, pasteurizado a 92,5°C/5,34 s, enchimento à quente, após 24 horas do envase.

IV.5. Conclusões

No leite de coco não acidificado é possível obter combinações de carragena e celulose microcristalina que proporcionam uma melhor estabilidade quando processado em batelada (banho maria).

Verifica-se que a acidificação do leite de coco acaba interferindo na ação dos estabilizantes sobre a emulsão, prejudicando muito a estabilidade do produto.

Processos térmicos curtos e o não uso da acidificação favorecem a estabilidade do produto quando são utilizadas uma mistura de carragena e celulose microcristalina, assim como misturas comerciais de estabilizantes (Meyprogen – Rhodia).

A pectina nas dosagens utilizadas não proporcionou o resultado desejado e, a acidificação na presença de pectina favoreceu a turvação da parte aquosa, que ao invés de se tornar translúcida, apresentou-se esbranquiçada.

Recomenda-se o uso da pasteurização em trocador tubular (92,5°C / 5,34 s) por favorecer a estabilidade do produto se comparado ao processo em batelada (98°C / 60 min.). A acidificação deve ser realizada apenas quando necessário e neste caso procurar acidificar pouco o produto. Quanto aos estabilizantes recomenda-se o uso de 0,3% de CMC ou produtos comerciais contendo esse estabilizante. O uso de pectina não apresentou resultados satisfatórios.

IV.6. Referências bibliográficas

- BECHER, P. Emulsions: Theory and Practice, p. 423. Reinhold Publishing Corp., New York. 1965.
- DROHAN, D. D.; TZIBUOLA, A. A.; McNULTY, D.; HORNE, D. S. Milk protein – carrageenan interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 1, p. 101-107, 1997.
- GANZ, A. J. CMC and hidroxypropyl cellulose – Versatile gums for food use. **Food Product Development**, v. 3, n. 6, p. 65-74, 1969.
- MULDER, H.; WALSTRA, P. Stability of fat emulsion. Ch. 6. In: the milk fat globule: Emulsion Science as Applied to Milk Products and Comparable Foods, Commonwealth Agricultural Bureaux. P. 101. Farnham Royal and Pudoc Wageningen, Bucks, England. 1974.
- SOLER, M. P.; SANTANA, L. R. R.; DE MARTIN, Z. J. Estudo da estabilidade física do leite de coco do tipo comercial. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 23(4): 391-407, 1986.
- SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; MATARAZZO, A. A. W.; BARUFATI, C. S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera*, L.) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(2): 285-296, 1991.
- SOLER, M. P.; VITALI, A. A.; QUEIROZ, M. B.; SCAMPARINI, A. R. P. Aplicação de hidrocolóides na estabilidade de emulsões simuladas do leite de coco. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p. 57-66, 2001.
- UBOLDI EIROA, M. N.; LEITÃO, M. F. F.; DE MARTIN, Z. J. & KATO, K. Microbiologia do leite de coco. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, (6): 1-10, 1975.

Capítulo V - Método rápido para avaliar a estabilidade de emulsões

V.1. Resumo

Apesar dos avanços ocorridos na tecnologia do tratamento térmico e estabilização da emulsão, o leite de coco processado ainda apresenta algumas mudanças físicas após o processamento e que se evolui durante o armazenamento. Esta estabilidade tem sido relacionada com as condições de processo, uso de espessantes e combinações de estabilizantes adicionadas ao produto. Métodos tradicionais de avaliar a estabilidade de leite de coco consiste em manter as garrafas em ambiente em temperatura controlada e medir a evolução da separação das fases, além de demorado requer área especial para armazenamento. Neste trabalho foi desenvolvido um método acelerado que permite obter respostas em curtos períodos de tempo (minutos). Um disco composto por duas placas de policarbonato (189 mm de diâmetro x 6 mm de espessura), foi montado de forma a resultar num diâmetro interno e altura de 160 mm e 8,5 mm, respectivamente, proporcionando um volume interno de 170,9 cm³. O disco é acoplado ao rotor de uma centrífuga, cuja rotação é controlada por um inversor. Uma luz emitida pelo laser diodo colocado próximo a borda do disco (comprimento de onda de 640 – 660 nm de potência máxima de saída < 5mV) atravessa o disco quando vazio e atinge um fotorresistor colocado na face oposta, cuja resistência diminui se a luminosidade for mais intensa. O produto a ser analisado é submetido à força **g** proporcional a rotação do disco, promovendo a separação das fases, fazendo com que a resistência diminua no transcorrer da análise na região da borda do disco. Para uma rotação de 2000 rpm obtém-se um valor **g** de 358,76, correspondendo ao tempo de 10 minutos para que ocorra a separação visível das fases. Relacionando esses dados com os de literatura, o tempo encontrado, corresponde ao tempo real de 2,73 dias para que seja visível a separação.

V.2. Introdução

O leite de coco é obtido pela prensagem da polpa de coco ralado e embalado em garrafas de 200 ml. Este produto tem alta aceitação na culinária brasileira. Apesar das melhorias ocorridas na tecnologia do tratamento térmico e estabilização da emulsão, o produto ainda apresenta algumas mudanças físicas. A estabilidade física durante o armazenamento tem sido relacionada com as condições de processo, uso de espessantes e combinações de estabilizantes adicionadas ao produto. O tradicional método de avaliar a estabilidade de leite de coco consiste em manter as garrafas em ambiente com temperatura controlada. A separação de fase do produto é medida em milímetros. Este método além de ser demorado, requer área especial para armazenamento das garrafas.

Testes acelerados são utilizados para predizer a estabilidade de uma emulsão para um longo tempo, sob condições normais (SHERMAN, 1971). ACTON & SAFFLE (1970) incubaram emulsões a 37°C por 24 horas e expressaram a estabilidade em termos de conteúdo de umidade em amostras de 5 ml retiradas do topo das embalagens quando comparadas com o conteúdo de umidade inicial da emulsão. SMITH & DAIRIKI (1975) determinaram a estabilidade de emulsões pela manutenção destas por 24 horas a 23°C e expressaram a estabilidade baseada no total de gordura na parte superior da embalagem depois do armazenamento, relativa ao total de gordura na amostra original. Similarmente, TORNBERG & HERMANSSON (1977) usaram a relação entre a gordura na centrifuga na fase inferior e a emulsão original como índice de estabilidade. YASUMATSU *et al.* (1972) bem como WANG & KINSELLA (1976) usaram a quantidade de gordura recuperada depois da centrifugação de emulsões aquecidas como um índice de estabilidade. PETROWSKI (1974) estudou a estabilidade da emulsão pela medida de óleo livre depois da centrifugação a 37.000 x g por 10 minutos e avaliaram a constante dielétrica do produto depois do tratamento em microondas. Estes métodos são laboriosos e consomem muito tempo.

Para melhor avaliar a estabilidade de emulsões durante o armazenamento, a indústria necessita de métodos fáceis que simulem a aceleração do processo de envelhecimento e reduzam o tempo para avaliar a estabilidade de produtos recém preparados.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método que permitisse obter respostas em curtos períodos de tempo (minutos) utilizando métodos acelerados, para avaliar a estabilidade da emulsão quando submetido ao envelhecimento acelerado, utilizando uma centrífuga para gerar acelerações várias vezes maior que a aceleração da gravidade, acoplado a sensores fotoelétricos e registradores, permitindo acompanhar a separação de fases.

V.3. Material e métodos

V.3.1. Matéria-prima

Foi utilizado leite de coco concentrado (40% de gordura) tipo comercial pasteurizado. O produto foi padronizado para 18% de gordura, apresentando assim: 2,01% de proteínas; 1,67% de carboidratos; 0,21% de minerais e 0,21% de fibras.

O leite de coco concentrado foi diluído com água e acrescentando 0,3% de estabilizante (Meyprogen) FA2963/MS (Rhodia Food).

V.3.2. Preparo do leite de coco padronizado para 18% de gordura

A água e os ingredientes foram misturados em um tanque e aquecidos até 70°. Depois o produto foi homogeneizado a uma pressão de 200 kg / cm² (Gaullin Co. Modelo 15TM8TASMD) e pasteurizado a 92,5°C / 5,34 s com enchimento quente em garrafas de 200 ml. Após 24 horas as amostras do leite de coco processado foram submetidas ao teste de separação em centrífuga.

V.3.3. Acessório para centrifugação

Foi construído um disco utilizando duas placas de policarbonato (189 mm diâmetro x 6 mm de espessura), sendo colocada entre elas um anel acrílico de 180 mm de diâmetro externo, 160 mm de diâmetro interno e espessura de 8,5 mm, proporcionando um volume interno de disco com capacidade de 170,9 cm³.

V.3.4. Transmitância óptica da emulsão

Foi utilizada uma lâmpada laser diodo (comprimento de onda de 640 ~ 660 nm de potência máxima de saída < 5mW) que emite o laser sobre a superfície plana do disco de policarbonato, neste caso posicionado a 2,5 mm da borda do diâmetro interno do anel. Na face oposta do disco foi colocado um fotorresistor, que é um resistor cuja resistência (Ω) diminui conforme a intensidade luminosa aumenta, resultando em valor muito elevado, quando o fotorresistor não recebe iluminação (**Figura V.1**). A resistência foi medida através de um multímetro (Minipa - Modelo ET 2615) com coletor de dados.

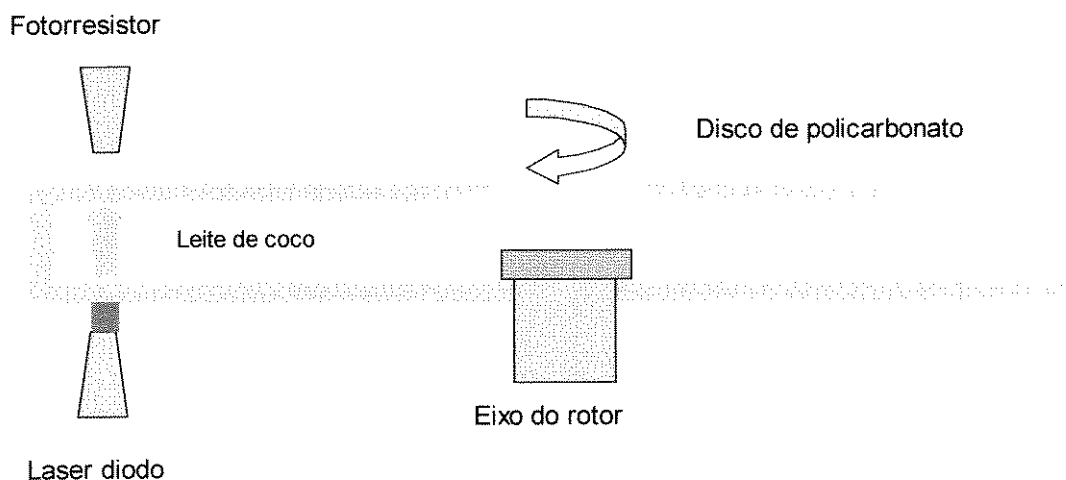


Figura V.1. Desenho do aparelho medidor da resistência elétrica resultante da intensidade luminosa através da emulsão.

Uma alíquota de 100 ml de leite de coco foi injetado (tempo de injeção de 5 segundos em média) no interior do disco após alcançar a velocidade fixa desejada (2000 rpm). Os testes foram realizados a 25°C.

Os valores da resistência elétrica devem apresentar relação com o aspecto visual do produto e mostrar o momento do início da separação das fases. Para este fim, foi utilizada uma câmera digital (Logitech Inc. Model Click Smart 510) sendo registrada a separação das fases do produto a cada minuto, logo após a injeção da amostra.

V.4. Resultados e discussões

A formulação comercial usada neste estudo foi homogeneizada, visando reduzir o diâmetro dos glóbulos de gordura e possuía estabilizantes para evitar a separação de fases. Entretanto, na forma atual como eles são aplicadas ao leite de coco, a estabilidade apresentada é temporária, pois alguns dias após o processamento já é possível observar a separação de fases.

De acordo com BECHER (1965) se for assumido que a estabilidade é diretamente proporcional à força gravitacional, o comportamento da emulsão, em longo prazo, pode ser avaliada pela centrifugação em velocidade moderada. Pela Lei de Stoke, a centrifugação age sobre a emulsão desestabilizando as gorduras dispersas resultando em um aumento de tamanho dos glóbulos de gordura (KESSLER, 1981). Sob estas circunstâncias, a Lei de Stoke torna-se:

$$v = \frac{2\varpi^2.Rr^2(d_1 - d_2)}{9\eta} \quad (1)$$

onde a aceleração devido à gravidade g pode ser substituída por $\varpi^2.R$, onde ϖ é a velocidade angular da centrífuga e R é a distância da amostra do centro de rotação do ponto onde se deseja determinar a aceleração linear (a_r).

Quando o disco está em movimento circular e supondo existir uma referência, marca ou ponto na superfície próximo à borda e este passando pela posição P1 representada na **Figura V.2**. Após um intervalo de tempo Δt , o ponto estará passando pela posição P2. Neste intervalo de tempo Δt , o raio que acompanha o ponto em seu movimento descreve um ângulo $\Delta\theta$

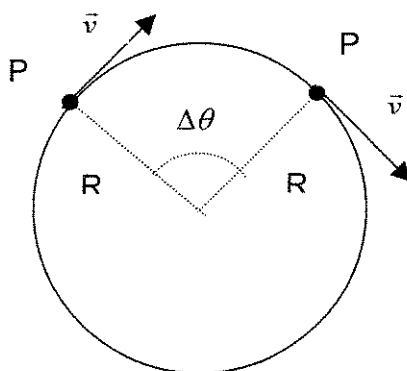


Figura V.2. Representação do disco em movimentação angular.

A relação entre o ângulo descrito pelo ponto marcado e o intervalo de tempo gasto para descrevê-lo é denominado *velocidade angular* da partícula. Representando a velocidade angular por ω temos:

$$\omega = \Delta\theta / \Delta t \quad (2)$$

A velocidade definida pela relação $V = \Delta d / \Delta t$, é a *velocidade linear*, para distingui-la da *velocidade angular*. As definições de V e ω são semelhantes: a velocidade linear se refere à distância percorrida na unidade de tempo, enquanto a velocidade angular se refere ao *ângulo descrito* na unidade de tempo.

A velocidade angular nos fornece uma informação sobre a rapidez com que o ponto marcado no disco está girando. De fato, quanto maior for a velocidade angular de um corpo, maior será o ângulo que ele descreve por unidade de tempo, isto é, ele estará girando mais rapidamente.

No movimento circular uniforme, o módulo da velocidade da válvula permanece constante e, então, o disco utilizado não possui uma aceleração tangencial ($\mathbf{a}_t = \alpha \cdot \mathbf{r}$) e a aceleração angular ($\alpha = d\omega/dt$) é nula. Entretanto, como a direção do vetor velocidade varia continuamente, considerando um ponto fixo no disco (ou uma partícula qualquer nas mesmas condições) possui uma aceleração centrípeta $\vec{a}_c$. Na **Figura V.3.** estão representados os vetores $\vec{v}$ e $\vec{a}_c$ em quatro posições diferentes do disco. Observe que o vetor $\vec{a}_c$ tem a direção do raio e aponta sempre para o centro da circunferência.

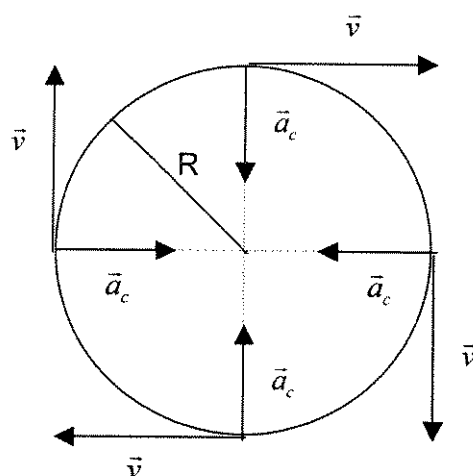


Figura V.3. Representação dos vetores atuantes sobre o disco.

Podemos deduzir, matematicamente, que o valor da aceleração centrípeta no movimento circular é dado por:

$$a_c = \frac{v^2}{R} \text{ ou } \omega^2 \cdot R \quad (3)$$

A relação entre V e ω no movimento circular uniforme, a velocidade linear pode ser obtida pela relação:

$$v = \frac{2\pi R}{T} \text{ ou } v = \left(\frac{2\pi}{T}\right) R \quad (4)$$

Como $2\pi/T$ é a velocidade angular, conclui-se que:

$$v = \omega.R \quad (5)$$

Esta equação permite calcular a velocidade linear V , quando se conhece a velocidade angular ω e o raio R da trajetória. Observa-se que ela só é válida se os ângulos estiverem medidos em radianos.

Observa-se que o valor de $\bar{a}_c$ é proporcional ao quadrado da velocidade e inversamente proporcional ao raio da circunferência. Portanto, quanto mais próximo do centro do disco o ponto ou a partícula considerada (R pequeno) e maior a velocidade de rotação, resultará em grande aceleração centrípeta.

A partir destas considerações tem-se que o disco utilizado, com raio interno de 8 cm e velocidade de rotação de 2000 rpm, proporciona um valor de g 358,76. Durante a centrifugação a resistência elétrica foi medida (**Figura V.4**). Três leituras em diferentes repetições foram realizadas.

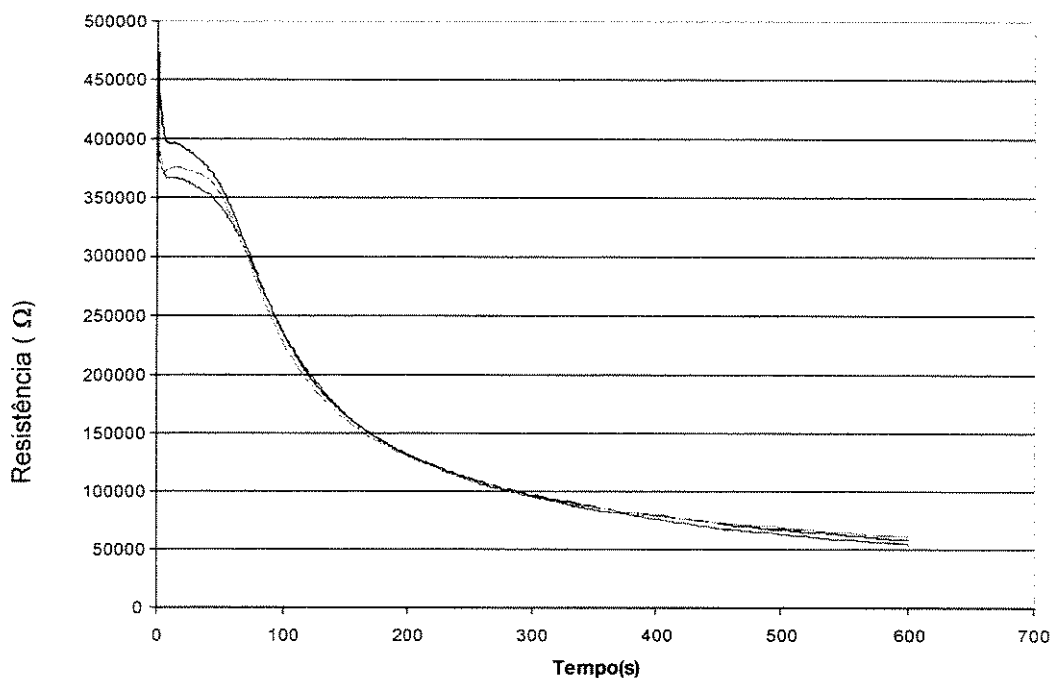


Figura V.4. Efeito do tempo de centrifugação a 358.76 x g sobre a resistência elétrica (Ω) recebida pelo fotorresistor em três diferentes repetições no leite de coco.

Pode-se observar pelo gráfico que as curvas são muito similares. Na **Tabela V.1**, pode-se observar os valores da resistência elétrica a cada 60 segundos depois da injeção da amostra. Para relacionar as medidas da resistência elétrica com a separação de fases foi necessário fotografar o disco com o leite de coco durante a centrifugação a cada minuto. Pode-se observar que depois de 6 minutos na centrífuga já é possível observar uma separação visível e após 10 minutos ela se torna mais nítida (**Figura V.5**).

Tabela V.1. Medidas da resistência elétrica (Ω) recebidas pelo fotorresistor durante a centrifugação do leite de coco a 358.76 x g.

Tempo (s)	Repetições			Média (Ω)	Desvio padrão
	1	2	3		
0	436500	473500	427200	445733.3	± 18511.11
60	325900	336900	330000	330933.3	± 3977.78
120	202700	200200	194000	198966.7	± 3311.11
180	143000	143200	140500	142233.3	± 1155.56
240	113600	114900	113800	114100	± 533.33
300	95600	97100	96300	96333.33	± 511.11
360	83000	84900	84900	84266.67	± 844.44
420	73000	76900	76500	75466.67	± 1644.44
480	65400	69100	71000	68500	± 2066.67
540	59400	65100	65400	63300	± 2600.00
600	54800	58200	61000	58000	± 2133.33

Segundo BECHER (1965) uma velocidade de rotação de 3750 rpm em uma centrífuga de 10 cm de raio por um período de 5 horas deve equivaler ao efeito da gravidade de aproximadamente um ano. Considerando $g \times \text{tempo}$ ser uma constante e usando estas relações para o valor g de 358,76 e o tempo 10 minutos como sendo o de separação nítida de fases, tem-se que em 2,73 dias já é possível observar a separação de fases no produto. Para o produto utilizado contendo estes teores de gordura (18%) e estabilizantes (0,3%) este tempo tem sido observado nas garrafas.

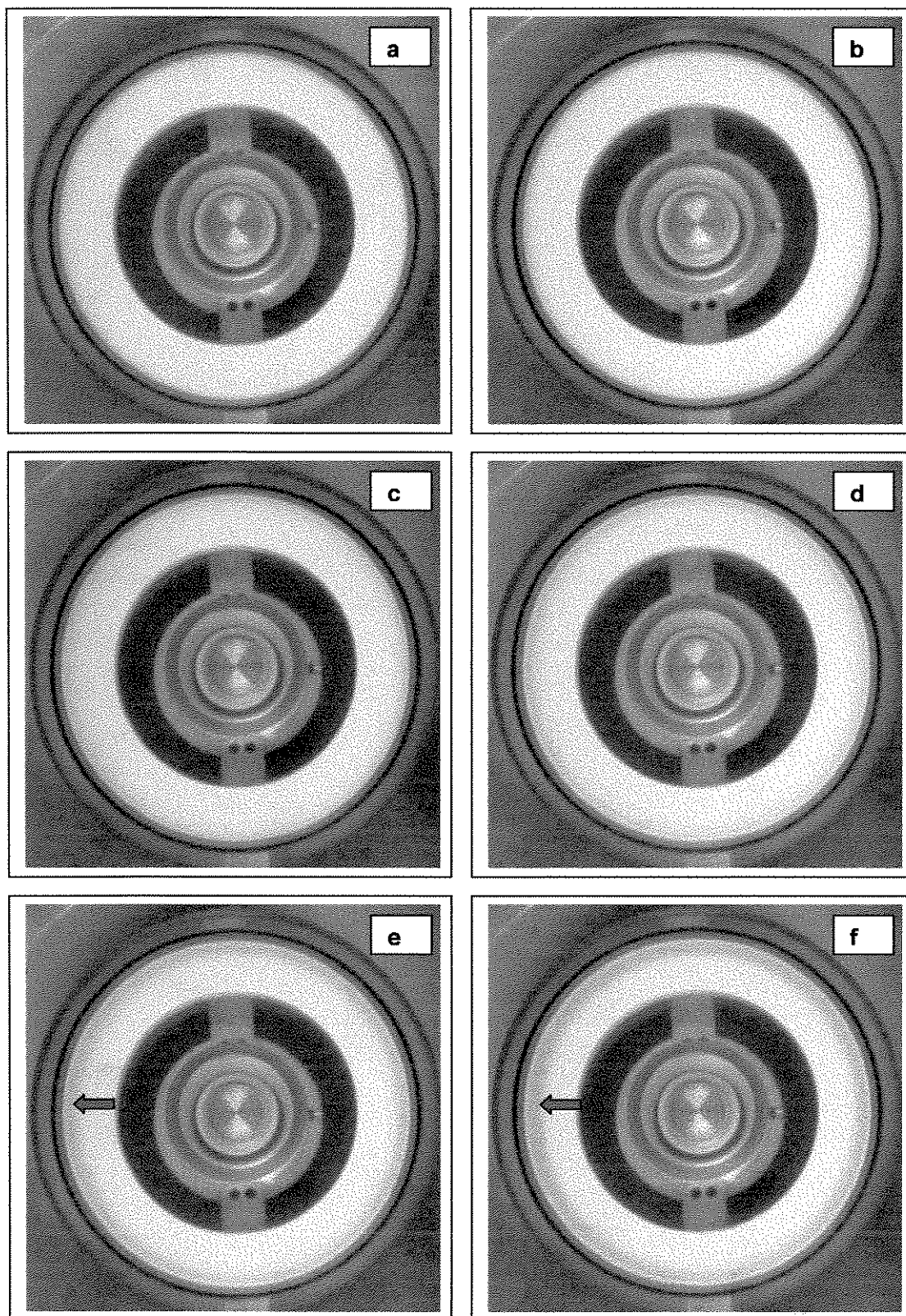


Figura V.5. Fotos digitais do disco durante a centrifugação a 2000 rpm após a injeção das amostras (1, 2, 4, 6, 10 e 12 minutos são indicados como: **a**, **b**, **c**, **d**, **e** e **f**, respectivamente).

V.5. Conclusões

Os resultados mostram que a estabilidade da emulsão pode ser determinada pela metodologia descrita. É simples, rápida, fácil de se realizar e de baixo custo, se comparada com os testes de medição de água ou conteúdo de gordura, que podem demorar de 20 a 30 minutos para cada amostra. Além disso, a medição da resistência elétrica é uma medida física direta que dá mais precisão quanto ao estado do produto. Este método pode ser usado para controle de qualidade de produtos ou desenvolvimento de novos alimentos emulsionados. Outros estudos estão em progresso para correlacionar a vida-de-prateleira e a estabilidade dos testes acelerados.

Os métodos convencionais, como manutenção das garrafas em repouso requer além do tempo, pois o leite de coco tem um prazo de validade de 1 ano, espaço para armazenar o produto. Os testes através do aquecimento e resfriamento do produto, são laboriosos e requerem equipamentos adicionais, além da necessidade de um estudo da cinética de separação para diferentes temperaturas, diferentes da temperatura normal de armazenamento do produto.

V.6. Referências bibliográficas

- ACTON, J. C. & SAFFLE, R. L. Stability of oil in water emulsions. **Journal of Food Science**, 5: 852 - 859 , 1970.
- BECHER, P. Emulsions: Theory and Practice, p. 423. Reinhold Publishing Corp., New York. 1965.
- KESSLER, H. G. Centrifugation-separation by cyclone. Ch. 3. in Food Engineering and Dairy Technology, Verlag A., p. 60. Kessler Pub., New York, 1981.
- PETROWSKI, G. E. Determination of emulsion stability by microwave irradiation. **Journal of American Oil Chemistry Society**, 51: 110 - 111, 1974.
- SHERMAN, P. Accelerated tests of emulsion stability. **Soap Perfumery Cosmetics**. 44: 693 -699 , 1971.

- SMITH, L. M. & DAIRIKI, T. J. Stability of milk fat emulsions. 1. Preparation of model oil-in-water emulsions and evaluation of their stability. **Journal of Dairy Science**, 58:1249 - 1253 , 1975.
- TORNBERG, E. & HERMANSSON, A. M. Functional characterization of proteins stabilized emulsion: effects of processing. **Journal of Food Science**, 42(2): 468 - 472, 1977.
- WANG, J. C. & KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: Alfafa leaf proteins. **Journal of Food Science**, 41(2): 286 - 292, 1976.
- YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORIKATA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T. & ISHII, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agric. Biol. Chem.** 36: 719 - 727, 1972..

Capítulo VI - Resistência térmica de Clostridium sporogenes (PA3679)

VI.1. Resumo

Para novas formulações ou métodos de processamento, a legislação solicita “evidência científica” para comprovar que o tratamento térmico utilizado é o mais apropriado. De todos os métodos disponíveis para resultar em “evidência científica”, os estudos clássicos com embalagens inoculadas são reconhecidos para fornecer a última prova da adequação do processo para uma série de condições específicas. Com o objetivo de validar o processamento térmico desenvolvido para o leite de coco modificado através do “Sistema de Embalagens Inoculadas”, que combina um tratamento térmico brando em trocador tubular, redução do pH e da atividade de água do produto, foi determinada a resistência térmica de *C. sporogenes* PA3679, empregando-se o método do tubo TDT selado e recuperação de sobreviventes em meio DRCM (Diferencial Reinforced Clostridia Media). Os valores de **D** e **z** encontrados para *C. sporogenes* PA3679 em leite de coco padronizado (18% de gordura) são considerados similares aos de outros trabalhos e portanto de confiabilidade, podendo ser utilizados na determinação do processo teórico de esterilização, bem como a suspensão de esporos empregada na avaliação da adequação do processamento térmico do leite de coco, por meio do estudo com embalagens inoculadas. Pela resistência térmica encontrada seria necessário um processo a 121°C durante 14,96 minutos, para reduzir 11 ciclos logarítmicos.

VI.2. Introdução

A resistência térmica dos microrganismos depende das suas características e do tipo de alimento no qual estão contidos. As condições nutricionais podem aumentar ou diminuir a resistência térmica, mas o efeito vai depender da composição de cada meio usado. Este efeito não pode ser generalizado, cada caso deverá ser estudado particularmente.

Existem diferentes métodos de determinação da resistência térmica de microrganismos, como o dos tubos de destruição térmica (TDT), utilizados para substâncias líquidas; latas TDT, usadas para purês viscosos; método do frasco de três bocas, utilizado para produtos aquecidos a temperaturas menores que a da água em ebulição. A escolha do método depende do tipo de alimento e sistema de aquecimento (BLOCHER & BUSTA, 1983).

A suscetibilidade dos microrganismos ao calor úmido pode ser expressa em termos da relação entre o tempo e temperatura. Duas expressões são comumente utilizadas pelos microbiologistas: Tempo de morte térmica (TMT) e tempo de redução decimal (valor D). O TMT é o mais curto espaço de tempo requerido para destruir todos os microrganismos de uma amostra, quando exposta a uma temperatura específica sob condições padrões. Neste teste, em vários intervalos de tempo do tratamento pelo calor, amostras da população microbiana são retiradas e cultivadas. O método determina o tempo mínimo de exposição capaz de destruir todos os microrganismos. O valor D é o tempo requerido para diminuir uma população microbiana de uma amostra em 90% a uma temperatura pré-determinada. Uma amostragem da população é realizada em vários intervalos. Difere da medida pelo TMT que resulta em 0% de sobreviventes. O tempo de redução decimal que resulta em 10% de sobreviventes é mais bem determinado (PERKINS, 1983).

Na determinação do TMT ou do valor D, os fatores que podem afetar a resistência térmica de microrganismos são os intrínsecos (tipo, cepa, estágio de desenvolvimento, concentração inicial de microrganismos) e os extrínsecos (pH,

nutrientes e temperatura), durante o desenvolvimento e o tratamento térmico (REYNOLDS *et al.*, 1952; CAMERON *et al.*, 1980; BLOCHER & BUSTA, 1983).

Além do valor D, outro parâmetro determinado através da avaliação da resistência térmica é o valor z (STUMBO, 1973, RUSSEL, 1982, PFLUG, 1982). O valor z corresponde ao intervalo da temperatura que ocasiona uma variação de 10 vezes no valor D, ou seja, 1 ciclo logarítmico. Estes parâmetros são extremamente importantes na indústria de alimentos, em que o tempo de processamento ótimo e a temperatura devem ser estabelecidos para vários alimentos enlatados. A excessiva exposição ao calor prejudica a qualidade dos alimentos e, assim, é imperativo conhecer a menor temperatura e o mais curto espaço de tempo que efetivamente tratará o produto.

As bactérias esporuladas anaeróbicas estão entre os microrganismos a serem destruídos pelo tratamento térmico, são encontradas principalmente no solo, sendo responsáveis pela contaminação em leites, vegetais e em outros alimentos. Dentro deste grupo encontra-se o *Clostridium botulinum*, bactéria mesófila, produtor da toxina de maior letalidade entre as de origem biológica, merecendo, portanto, medidas extremas de controle no sentido de se evitar sua presença nos alimentos enlatados de baixa acidez (LEITÃO & JUNQUEIRA, 1995).

Para evitar a contaminação da planta de processo por *C. botulinum*, é recomendado a utilização dos esporos de *C. sporogenes* (PA3679) Nas usinas de processamento, a fim de evitar a contaminação por *C. botulinum*, eles recomendam que os esporos da cepa PA3679 de *Clostridium sporogenes* sejam utilizados como o organismo teste. Esse microrganismo não é toxigênico, é ligeiramente mais resistente e tem as mesmas necessidades fisiológicas que o *C. botulinum*. Assim, os esporos desse microrganismo são amplamente utilizados nos estudos designados para avaliar a adequação do processo térmico empregado ao alimento de baixa acidez. Para atingir essa finalidade, é essencial que a cepa do microrganismo utilizado tenha a habilidade de

repetidamente produzir grandes quantidades ($>10^6$) de esporos com resistência térmica comparável (NCA, 1968; TOWNSEND *et al.*, 1956).

Com o objetivo de validar o processamento térmico desenvolvido para o leite de coco modificado, que combina um tratamento térmico brando em trocador tubular, redução do pH e da atividade de água do produto através do “Sistema de Embalagens Inoculadas”, foi determinada a resistência térmica de *C. sporogenes* PA3679, empregando-se o método do tubo TDT selado e recuperação de sobreviventes em meio DRCM (Diferencial Reinforced Clostridia Media).

VI.3. Material e métodos

VI.3.1. Matéria-prima

Foram utilizados cocos maduros (*Cocos nucifera*, L.) adquiridos na região de Campinas (CEASA). O endosperma foi fragmentado no triturador Kitchen Aid e finalmente prensado em um cilindro perfurado com auxílio de um pistão hidráulico. O líquido obtido foi padronizado para 18% de gordura, resultando na composição apresentada na **Tabela VI.1**.

Tabela VI.1. Composição centesimal do leite de coco padronizado para 18% de gordura.

Composição	% gordura
Sólidos totais	21.54
Matéria graxa	18.00
Proteína bruta	2.02
Cinzas	0.21
Açúcares totais	1.67
Água	78.46

O leite de coco obtido foi pasteurizado a 98°C / 60 minutos, conforme processos convencionais da indústria. O leite de coco assim obtido foi prontamente armazenado sob refrigeração (5°C) e utilizado dentro de 48 horas. O leite de coco obtido apresentou baixa acidez (pH = 6,2±0,1).

VI.3.2. Preparação dos esporos

Foi utilizada cepa de PA 3679, estocada na Unidade Laboratorial de Referência de Microbiologia / ITAL. Após inoculação em meio de carne cozida (Cooked Meat Mild - CMM) e ativação dos esporos através de choque térmico a 80°C durante 10 minutos, seguido de resfriamento (DOWNES, 2001), a cepa foi incubada a 35°C durante 48h. Após incubação, 0,2ml do caldo da cultura foi inoculado em superfície de placas de Petri contendo o meio Ágar Gema de Ovo Anaeróbio (EYA), formulado de acordo com FDA (1998), sem adição de gema de ovo. As placas foram incubadas em anaerobiose a 35°C durante 3 dias e, posteriormente, em temperatura ambiente durante mais 3 a 5 dias, nas mesmas condições de atmosfera. As colônias foram removidas da superfície do ágar das placas com auxílio de alça de Drigalski e adição de 5 ml de água destilada estéril para cada placa. A seguir, foram transferidas com pipeta para tubo de centrifuga. A suspensão obtida foi lavada por centrifugação a 5.000 rpm (3900 x **g**) durante 20 minutos por três vezes, utilizando água destilada estéril para re-suspensão entre as centrifugações. A suspensão de esporos lavados foi submetida à microscopia para confirmação da presença de esporos e à contagem através da técnica de Número Mais Provável (NMP) em tubos múltiplos (FDA, 1998) contendo o meio CMM estratificado com Ágar 2%. Os esporos foram preparados conforme o fluxograma da **Figura VI.1**.

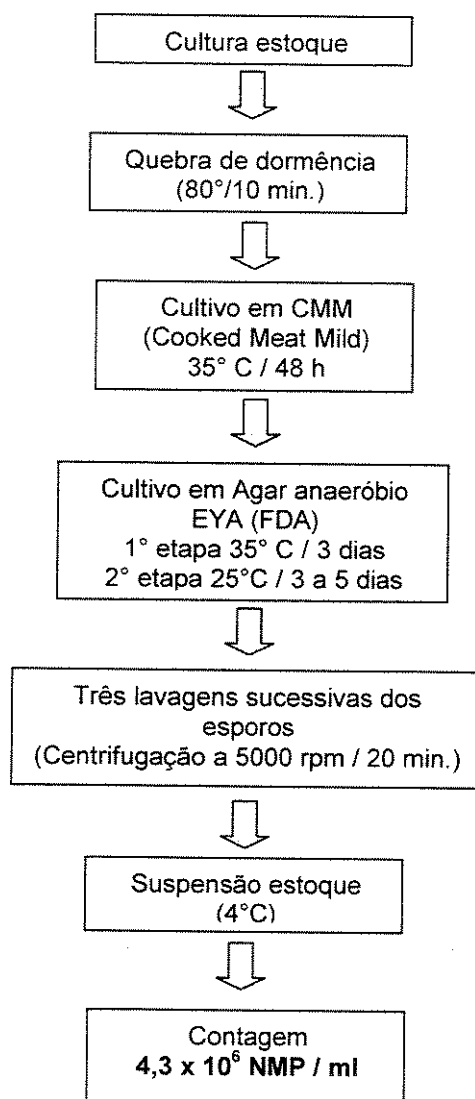


Figura VI.1. Fluxograma de multiplicação de esporos de *Clostridium sporogenes* PA3679 (DOWNES & ITO, 2001; FDA, 1998).

VI.3.3. Resistência térmica dos esporos de *Clostridium sporogenes*

Após a obtenção das suspensões de esporos, foram realizados testes para determinação da resistência térmica do microrganismo PA3679, em diferentes temperaturas, a fim de se obter dados sobre os valores de **D** e **z**, seguindo-se as metodologias descritas por STUMBO (1973).

A determinação foi executada no leite de coco. Alíquota de 2 ml de leite de coco inoculado com os esporos preparados (população de esporos de 1×10^4 NMP/ml) foi pipetada em cada ampola com capacidade de 5 ml (14 mm Ø interno x 42 mm x 0,5 mm espessura), e fechado hermeticamente. Cada replicata de 5 ampolas foi imersa em óleo mineral aquecido em banho termostático (modelo UH4-VEB MLW), durante 5 diferentes intervalos de tempo de exposição para cada temperatura, conforme apresentado na **Tabela VI.2**, seguida do resfriamento em banho de gelo, limpeza e abertura com assepsia.

Tabela VI.2. Temperaturas e tempos de exposição das emulsões de leite de coco contendo inóculos de *Clostridium sporogenes* PA3679.

Temperatura (°C)	Tempo de exposição (min.)
110	20
	40
	60
	80
	100
118	4
	8
	12
	16
	20
121	1
	2
	3
	4
	5

A recuperação dos sobreviventes foi realizada nas próprias ampolas. O gargalo foi rompido e 2 ml de caldo DRCM (Diferencial Reinforced Clostridial Media) adicionado. A seguir as ampolas foram seladas com 1 ml de vaspar, e incubadas a 35°C até se obter leitura constante. O crescimento pode ser observado pela produção de gás e turvação do meio pelo microrganismo. Detalhes do procedimento podem ser visualizados nas fotografias do **Anexo VI.1**.

Os valores D para cada temperatura do ensaio e o valor **z**, foram calculados empregando-se o procedimento de STUMBO *et al.* (1950). Os parâmetros D e z são importantes no projeto de um processo térmico, pois indicam, respectivamente, o tempo para diminuição de 90% da população de esporos e a variação de temperatura necessária para diminuição em 90% do valor D.

$$D(\text{min}) = \frac{t}{\log(N_0) - \log(X)} \quad (1)$$

onde,

t = tempo de tratamento térmico corrigido em minutos.

No = número inicial de esporos.

X = Número Mais Provável de esporos sobrevivente (UFC / tratamento), calculado pela equação:

$$X = \frac{2,303}{a} \left[\frac{n}{q} \right] \quad (2)$$

onde,

n = número de ampolas utilizadas em cada tempo de aquecimento.

q = número de ampolas estéreis após o período de incubação.

a = ml do substrato com inoculo submetido ao tratamento térmico.

O valor z pode ser determinado através da equação a seguir:

$$z = \frac{(T_1 - T_2)}{\log D_2 - \log D_1} \quad (3)$$

Onde,

T = temperatura (°C).

D = tempo de redução decimal (min.).

VI.4. Resultados e discussões

VI.4.1. Resistência Térmica dos Esporos

Os resultados observados nesta pesquisa para a resistência térmica dos esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679) são concordantes com a maioria dos trabalhos sobre o assunto, com destaque para as publicações de GOLDONI *et al.* (1980), RODRIGO & MARTINEZ (1988), GAZE & BROWN (1990), SILLA SANTOS *et al.* (1992) e CAMERON *et al.* (1980). Neste último, os autores, estudando a resistência térmica de *Clostridium sporogenes* (PA3679) em solução tampão de fosfato e purê de ervilha tamponado, com valores de pH na faixa de 5,0 a 7,0, verificaram que o aumento da acidez, em geral, é acompanhado de um decréscimo da resistência térmica dos esporos, embora o efeito do pH seja mais pronunciado nas temperaturas de processamento mais elevadas do que nas baixas. GOLDONI *et al.* (2001) determinaram a resistência térmica de *Clostridium sporogenes* (PA 3679) em purê de cenoura, empregando o método do tubo TDT selado e recuperação de sobreviventes em meio de infusão de fígado e encontraram valores de $D_{115^{\circ}\text{C}} = 4,44$ minutos, $D_{118^{\circ}\text{C}} = 2,46$ minutos, $D_{121^{\circ}\text{C}} = 1,11$ minutos, e $z = 9,97^{\circ}\text{C}$. Estes dados foram considerados similares e de confiabilidade, para serem utilizados na determinação do processo teórico de esterilização, bem como a suspensão de esporos empregada na avaliação da adequação do processamento térmico do purê de cenoura, por meio do estudo com embalagens inoculadas.

Quanto aos valores de z , estes tendem a variar menos com as condições de ensaio. CAMERON *et al.* (1980) obtiveram para o *C. sporogenes* PA3679, em purê de cenoura, valores de z que variaram de 9,2 (pH 5,0) a 12,2 $^{\circ}\text{C}$ (pH 7,0). BLOCHER & BUSTA (1983) discutiram os resultados de vários autores com relação à resistência térmica de linhagens de *C. botulinum* 62A em “spanish rice” e A16037 em tampão fosfato e suco de tomate com o pH variando de 4,0 a 7,0. Os valores de z encontrados ficaram na faixa de 8,61 a 9,93 $^{\circ}\text{C}$.

Neste estudo, o valor de $z = 12,78$ foi obtido utilizando-se as médias dos valores D nas temperaturas de 110, 118 e 121 $^{\circ}\text{C}$. Nas **Tabelas VI.3, VI.4 e VI.5**

são apresentadas para cada temperatura e tempo de aquecimento o número de ampolas positivas, com os respectivos valores de D. Na **Tabela VI.6** são apresentados os valores médios de **D** para cada temperatura e o valor de **z** calculado. Na **Figura VI.2** está apresentada a curva de resistência térmica de *C. sporogenes* PA3679 em leite de coco.

Os resultados de resistência térmica devem ser confiáveis, tanto para a determinação do processo teórico de esterilização, como para o estudo com embalagens inoculadas. Neste sentido, para a definição do ponto final de um processo térmico de preservação de alimentos, deve-se levar em conta uma especificação numérica bastante objetiva.

PFLUG (1987) tentou especificar o ponto final de processo em termos da probabilidade de uma lata do lote produzido deteriorar, levando-se em conta problemas de vazamento e outras falhas de processo, inclusive humanas. Na verdade, prevendo-se o nível de contaminação-limite permitida em termos de unidades deterioradas por lote, PFLUG (1987) definiu a condição de ponto final de processo como Probabilidade de uma Unidade Não Estéril (PUNE), e sugeriu um valor de $PUNE = 10^{-9}$ para a prevenção de problemas de saúde pública. A contaminação inicial deve ser conhecida e monitorada. Sugerindo um valor teórico inicial de 10^2 esporos de mesófilos/lata, o processo térmico recomendado corresponderia a um F_0 (tempo de processo equivalente à temperatura de 121°C) no processo capaz de destruir ou inativar 11 ciclos logarítmicos ($\log 10^2 - \log 10^{-9}$) do microrganismo alvo. Baseado nos resultados seria necessário um processo a 121°C durante 14,96 minutos para completar 11 ciclos logarítmicos.

O conceito de Pflug é bem mais lógico que o processo baseado no $F_0 = 12D$, uma vez que este último não leva em conta a população inicial de esporos no alimento, nem mesmo a probabilidade de contaminação no produto final, sendo apenas um indicativo da intensidade do processo aplicado. Levando-se em conta que a resistência térmica dos esporos de *C. botulinum* diminui com o decréscimo

do valor do pH, principalmente abaixo de pH 6,0, um valor de F_0 baseado em 12D para um alimento com pH 7,0 será obviamente superestimado.

Obviamente, para aplicação do conceito de ponto final de processo de Pflug existe a necessidade da implantação de programas de boas práticas de fabricação (BPF) e um sistema efetivo de Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) de modo a evitar que ocorram problemas de deterioração e perdas econômicas pela contaminação inicial excessiva e/ou pela sobrevivência de microrganismos mesófilos e/ou termófilos.

Tabela VI.3. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de *Clostridium sporogenes** (PA3679) a 110°C.

Tempo de aquecimento corrigido (minutos)	Número de ampolas (Tubos TDT selados)			Valores de $D_{110^{\circ}\text{C}}$ (minutos)
	Aquecidas	Positivas	Estéreis	
25,9	5	5	0	9,23
45,9	5	3	2	
65,9	5	0	5	
85,9	5	0	5	
105,9	5	0	5	

Média do valor $D_{110^{\circ}\text{C}} = 9,23$, desvio padrão = 0

* População de esporos da suspensão estoque = $4,3 \times 10^6$

População de esporos da suspensão teste = $4,3 \times 10^4$.

Tabela VI.4. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de *Clostridium sporogenes** (PA3679) a 118°C.

Tempo de aquecimento corrigido (minutos)	Número de ampolas (Tubos TDT selados)			Valores de $D_{118^{\circ}\text{C}}$ (minutos)
	Aquecidas	Positivas	Estéreis	
9,2	5	3	2	2,07
13,2	5	2	3	2,74
17,2	5	0	5	3,99
21,2	5	1	4	
25,2	5	0	5	

Média do valor $D_{118^{\circ}\text{C}} = 2,93$, desvio padrão = 0,97

* População de esporos da suspensão estoque = $4,3 \times 10^6$

População de esporos da suspensão teste = $4,3 \times 10^4$.

Tabela VI.5. Resultados da determinação da termorresistência dos esporos de *Clostridium sporogenes** (PA3679) a 121°C.

Tempo de aquecimento corrigido (minutos)	Número de ampolas (Tubos TDT selados)			Valores de $D_{121^{\circ}\text{C}}$ (minutos)
	Aquecidas	Positivas	Estéreis	
6,2	5	3	2	1,25
7,2	5	2	3	1,37
8,2	5	1	4	1,47
9,2	5	0	5	
10,2	5	0	5	

Média do valor $D_{121^{\circ}\text{C}} = 1,36$, desvio padrão = 0,11

* População de esporos da suspensão estoque = $4,3 \times 10^6$

População de esporos da suspensão teste = $4,3 \times 10^4$.

Tabela VI.6. Valores de D (em minutos) a diferentes temperaturas e valor de z (°C) calculado, para suspensão de esporos de *Clostridium sporogenes* PA3679

Temperatura de aquecimento (°C)	Valores de D (minutos)	Valor de z (°C)
110	9,23	
118	2,93	12,78
121	1,36	

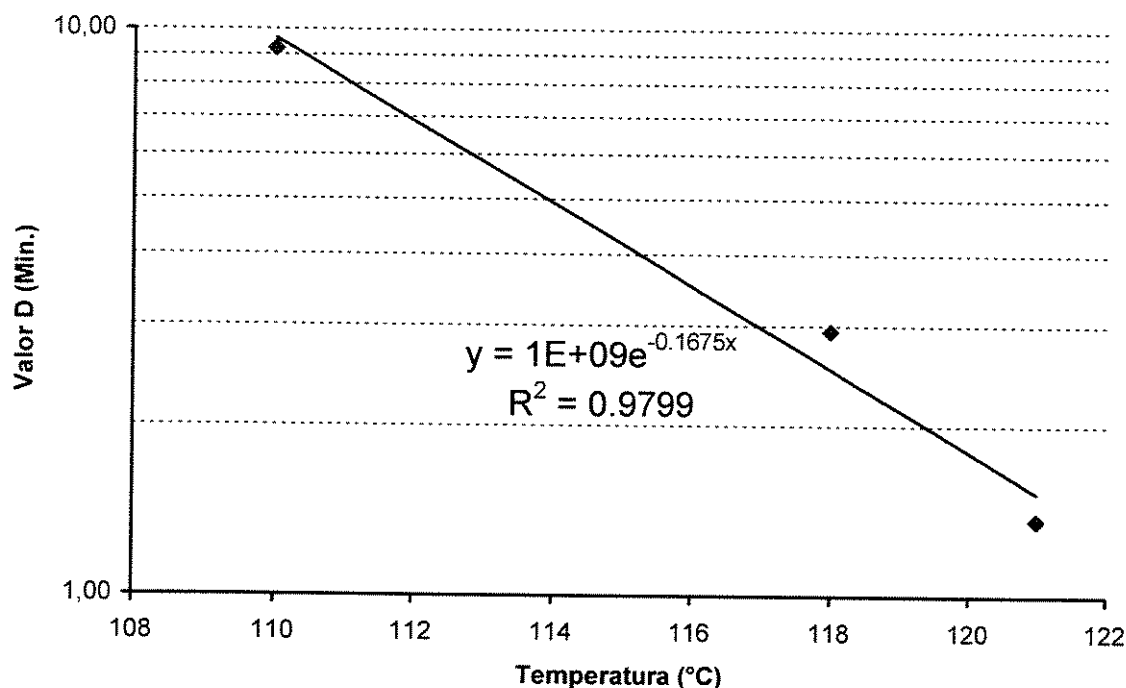


Figura VI.2. Curva de destruição térmica de esporos de *C. sporogenes* PA3679 em leite de coco padronizado (18% de gordura).

VI.5. Conclusões

Os valores de **D** e **z** encontrados para a cepa de *C. sporogenes* PA3679 em leite de coco padronizado (18% de gordura) são considerados similares aos de outros trabalhos e, portanto, de confiabilidade, podendo ser utilizados na determinação do processo teórico de esterilização, bem como a suspensão de esporos empregada na avaliação da adequação do processamento térmico do leite de coco, por meio do estudo com embalagens inoculadas. Pela resistência térmica encontrada seria necessário um processo a 121°C durante 14,96 minutos para completar 11 ciclos logarítmicos.

VI.6. Referências bibliográficas

- BLOCHER, J. C., BUSTA, F. F. Bacterial spore resistance to acid. **Food Technology**, (11):87 – 99, 1983.
- CAMERON, M. S., LEONARD, S. J., BARRET, E. L. Effect of moderately acidic pH on heat resistance of *Clostridium sporogenes* spores in phosphat buffer and in buffered pea purée. **Appl. Environ. Microbiol.**, 39(5):943-949, 1980.
- DOWNES, F. P., ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington: Americam Public Health Association - APHA, c. 24, p. 239-243, 2001, 676p.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) **Bacteriological Analytical Manual**. 8ed. Revision A. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Arlington, VA, USA, 1998 (disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>).
- GAZE, J. E., BROWN, K. L. Comparative heat resistance studies on spores of *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes* and *Bacillus stearothermophilus*. Technical Memo Randum, Campden **Food & Drink Research Association**, n. 568, 54p., 1990.
- GOLDONI, J. S., KOJIMA, S., LEONARD, S., HEIL, J. R. Growing spores of PA3679 in formulation of beef heart infusion broth. **Journal of Food Science**, 45: 467-470, 1980.
- GOLDONI, J. S., TOSELLO, R., SCHMIDT, F. L. Determinação da resistência Térmica de *Clostridium sporogenes* (PA3679) em Purê de Cenoura. **Brazilian Journal**, 55, 2001.
- LEITÃO, M. F. F.; JUNQUEIRA, V. C. A. Microbiologia aplicada à esterilização de alimentos. In: **Princípios de esterilização de alimentos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos. 1995. p. 1-24.
- NATIONAL CANNER ASSOCIATION. Canners foods principles of thermal process control and container closure evaluation. **The Food Processors Institute**, Berkeley, Calif. USA, 1975.
- NATIONAL CANNER ASSOCIATION. Laboratory manual for food processors 3. ed. Westport, AVI, v. 1, 336, 1968.
- NATIONAL CANNER ASSOCIATION. Process for low-acid canned foods in metal containers. 11 ed. NCA Research Laboratory Bull., Washington. D. C., (26-L):1-61, 1976.
- PERKINS, J. J. Principles and Methods of Sterilization in Health Sciences, 2^a ed., Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1983.
- PFLUG, I. J. Textbook for and introductory course in the microbiology engineering of sterilization processes. 5 ed. Minneapolis: Enviromental Sterilization Lab., 1982.

- PFLUG, I. J. Endpoint of a Preservation Process. **J. Food Protection**, 50(4):347-351, 1987.
- REYNOLDS, H.; KAPLAN, A. M.; SPENCER, F. B.; LICHTENSTEIN, H. Thermal destruction of cameron's putrefactive anaerobe 3679 in food substrates. **Food Research**, v. 17, n. 2, p. 153-167, 1952.
- RODRIGO, M., MARTINEZ, A. Determination of a process time for a new product: canned low acid artichoke hearts. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 23:31-41, 1988.
- RUSSEL, A. D. The destruction of bacterial spores. London: Academic Press, 1982.
- SILLA SANTOS, M. H., NUÑEZ KALASIC, H., CASADO GOTI, A., RODRIGO, M. The effect of pH on the thermal resistance of *Clostridium sporogenes* (PA3679) in asparagus purée acidified with citric acid and glucono- δ -lactone. **Int. J. Food Microbiol.**, 16: 275-281, 1992.
- STUMBO, C. R. Thermobacteriology in food processing. 2. ed. New York, Academic Press, 329p., 1973.
- STUMBO, C. R., MURPHY, J. R., CONCHRAN, J. Nature of thermal death time curves for PA3679 and *Clostridium botulinum*. **Food Technol.**, 4(8):321-326, 1950.
- TOWNSEND, C. T., SOMERS, I. I., LAMB, F. C., OLSON, N. A. A laboratory manual for the canning industry. 2nd. Ed. NCA, Research Laboratories. Washington, D. C., 1956.
- VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington D. C., Third Edition, 1219p., 1992.

Capítulo VII - Tecnologia dos métodos combinados na conservação do leite de coco

VII.1. Resumo

A preservação dos alimentos pelo uso dos métodos combinados se resume na aplicação de tratamentos suaves para preservar a qualidade sensorial do produto, mas combinando os parâmetros (ou obstáculos), para que atuem sinergisticamente para inibir ou retardar o crescimento microbiano resultando em produtos estáveis à temperatura ambiente. Nesta pesquisa foram aplicadas três barreiras para impedir a deterioração microbiológica por *C. sporogenes* PA3679 no leite de coco: redução do pH; redução da atividade de água e a pasteurização. Foi observado nos tubo de ensaio que mesmo no leite de coco não inoculado com esporos de *Clostridium sporogenes* PA3679 e naqueles com inóculo de $2,0 \times 10^0$ e $2,0 \times 10^2$ esporos / 20 ml de leite de coco, houve alteração microbiológica, que eram combinações de altos valores de pH e a_w (pH = 5,78 / a_w = 0,984; pH = 5,25 / a_w = 0,990) após incubação a 35°C. Em análises microbiológicas constatou-se que havia presença de *Bacillus* sp, ou seja, houve algum tipo de contaminação por este microrganismo durante a obtenção do leite de coco e a pasteurização aplicada não foi suficiente para destruir seus esporos. Quando quantidades maiores de inóculo foram usadas ($2,0 \times 10^4$ esporos / 20 ml de leite de coco) houve alteração microbiológica também no ensaio com pH = 6,00 e a_w = 0,970, após o 21º dia de incubação, provavelmente, durante esse período o microrganismo desenvolveu mecanismos para superar as barreiras impostas. Em pHs inferiores, para o mesmo nível de atividade de água não houve alteração no conteúdo dos tubos. No teste em escala piloto utilizando garrafas de 200 ml somente a combinação de pH = 4,50 e a_w = 0,970 não apresentou alteração microbiológica. Ao adicionar os conservantes benzoato de sódio (1000 ppm) e metabissulfito de sódio (500 ppm) à combinação de pH = 5,25 e a_w = 0,990, também não houve deterioração microbiológica.

VII.2. Introdução

A preservação dos alimentos pelo uso dos métodos combinados se resume na aplicação de parâmetros combinados (ou obstáculos) que podem agir sinergisticamente para inibir ou retardar o crescimento microbiano, resultando em produtos estáveis à temperatura ambiente (FOX & LONCIN, 1982; CHIRIFE & FAVETO, 1992).

As barreiras microbiológicas comuns utilizadas na preservação de alimentos são: temperatura, atividade de água (a_w), acidez (pH), potencial redox (Eh), conservantes (e. g. nitritos, sorbato e sulfitos) e microrganismos competitivos (e. g. bactérias ácido lácticas). Embora mais de 60 barreiras potenciais para alimentos, que melhoram a estabilidade e / ou qualidade dos produtos, já tenham sido descritas, a lista das possíveis barreiras para a preservação de alimentos ainda não está completa (LEISTNER, 1999).

Cada alimento inócuo e estável requer certos tipos de obstáculos, que diferem em qualidade e intensidade de acordo com cada produto em particular, de modo a manter a população natural de microrganismos sob controle (LEISTNER, 1995).

A preservação dos alimentos baseada nos métodos combinados pode ser aplicada para melhorar os produtos tradicionais assim como para desenvolver novos produtos. Métodos combinados asseguram estabilidade e segurança apesar do tratamento brando e resultam em produtos com melhores propriedades sensoriais e nutricionais (LEISTNER, 1992).

Segundo CHIRIFE (1993), uma boa parte dos alimentos tradicionais preservados pela redução da atividade de água utilizam, muitas vezes, condições austeras (como alto teor de açúcar, sal, alta temperatura, alta acidez e secagem exagerada) e encontram-se, por vezes, em faixa de atividade de água (a_w) relativamente baixa. Em alguns casos, o uso destas condições induz mudanças drásticas irreversíveis nos constituintes e estrutura do material, o que resulta em

um alimento cujas características físicas e sensoriais não são muito aceitáveis após o preparo pelo consumidor.

Em trabalho recente CHAWLA & CHANDER (2004) estudaram a segurança microbiológica proporcionada pelas barreiras (redução da a_w , irradiação e embalagem à vácuo utilizadas em produtos cárneos curados. O uso de a_w de 0,85 e embalagem à vácuo preveniu o crescimento de *Bacillus cereus*, *Clostridium sporogenes* e *Staphylococcus aureus* durante 3 meses a temperatura ambiente. Leveduras e fungos que podem crescer sobre estes produtos depois de 2 meses foram inativados pela irradiação.

CHEN *et al.* (2002) avaliaram o efeito de NaCl, ácido cítrico, hipofosfito de sódio em carne suína curada (si-raw) para reduzir a a_w e pH para controlar o crescimento microbiano. Contagem de anaeróbicos, bactérias ácido lácticas e aeróbios foram menores que 10^6 , 10^5 e 10^2 ufc/g, respectivamente. O conteúdo de NaCl foi $> 5,46\%$, a $a_w < 0,939$ e $\text{pH} < 4,27$. *Clostridium botulinum* e *Trichinella spiralis* não foram detectados nos produtos, sugerindo que as barreiras são efetivas na conservação deste produto.

LOMBARD *et al.* (2000) avaliaram o uso de ácido para reduzir o pH, NaCl e glicerol para reduzir a a_w , conservantes para inibir o crescimento microbiano, gordura para retardar o envelhecimento e o tratamento térmico para destruir as formas vegetativas em um tipo de pão enlatado. O aumento da concentração de NaCl de 8 para 16 g/kg diminuiu a a_w e aumentou o volume do produto. A adição de glicerol (150 a 180 g/kg) diminuiu a a_w em níveis capaz de inibir a germinação de *Clostridium botulinum*. O propionato de cálcio (0,15%) e a gordura não afetaram as características do produto. Eles sugerem que *Bacillus subtilis* também foi controlado por estes fatores, prolongando a vida de prateleira do produto.

SIKES & EHIOBA (1999) estudaram a viabilidade de usar sacarose em várias combinações com EDTA e BHA para prevenir o crescimento de *Clostridium perfringens* em meio de cultura. Uma combinação de 1:1:1 de sacarose, EDTA e BHA em concentração mínima de 150 ppm apresentou efeito inibitório. EDTA em

níveis acima de 150 ppm não apresentou efeito biocida, mas funcionou como um potencializador em sistemas combinados.

SANCHEZ-PASCUAL *et al.* (2001) aplicaram a tecnologia de barreiras para desenvolver um patê de pescado (*Pseudopercis semifasciata*) utilizando como barreiras redução da a_w pela adição de glicerol, álcool ou melaço, acidificação com ácido cítrico, e inclusão de sorbato de potássio como antifúngico. As melhores qualidades sensoriais foram alcançadas em patê apresentando $a_w = 0,89$, contendo 25% de glicerol.

RAO *et al.* (1992) comentam sobre as vantagens dos alimentos que não necessitam de refrigeração para conservação, a importância da tecnologia dos métodos combinados na manufatura de alimentos estáveis, principalmente nos países em desenvolvimento,. Cita como exemplo um produto curado estável por 14 ou mais dias a 30°C, que é preparado utilizando tratamento térmico brando, pouca redução da a_w e pH. As combinações recomendadas são: valor F 0,8/ a_w 0,97/pH 5,0 ou valor F 0,4/ a_w 0,96/pH 5,0. A qualidade sensorial dos produtos auto-estáveis apresentou propriedades sensoriais aceitáveis.

GUYNOT *et al.* (2005) utilizaram a tecnologia dos métodos combinados para controlar fungos deterioradores em produtos de confeitaria de umidade intermediária. O efeito da concentração (0 a 0,3%) de conservantes ácidos (benzoato de sódio, sorbato de potássio e propionato de cálcio), pH (4,5 e 5,5) e a_w (0,80 a 0,90) foram investigados. O conservante mais efetivo em todos os níveis foi o sorbato de potássio, sendo que outros conservantes foram efetivos somente em baixos valores de a_w . A atividade antifúngica do sorbato de potássio foi menor em pH 5,5, nesta condição em concentração de 0,3% foi efetivo em a_w de 0,80. Os resultados que encontraram sugerem que o sorbato de potássio pode ser usado para prevenir a deterioração por fungos xerofílicos de produtos panificados ligeiramente ácidos.

HIMANISH & RADHAKRISHNA (2001) padronizaram um processo para preparar carne cozida de carneiro com vegetais utilizando a tecnologia dos

métodos combinados, incluindo barreiras tais como a_w , pH, pressão de cozimento, alta temperatura, baixa temperatura, potencial de óxido redução. O produto final apresentava 37,68% de umidade, 33,15% de gordura e pH 5,58 se manteve estável por mais de 4 meses a temperatura ambiente ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) e seis meses em temperatura de refrigeração ($3 \pm 2^\circ\text{C}$). Pouches de laminados de polietileno apresentaram melhores resultados do que pouches de polipropileno.

McMEEKIN *et al.* (2000) estudaram modelos de crescimento bacterianos, incluindo interações de fatores durante o crescimento de populações, combinando efeitos como temperatura e a_w . Sob determinadas circunstâncias esses efeitos podem ser aditivos ou sinérgicos.

ABELLANA *et al.* (1999) estudaram o efeito da temperatura ($5-30^\circ\text{C}$), a_w (0.775-0.90) e suas interações sobre a taxa de germinação e crescimento micelial de 3 espécies de *Eurotium* (*E. amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum*) isolados de produtos panificados. A germinação foi rápida em $a_w > 0,85$, com um linear aumento com o tempo para todos os isolados. Em condições de stress de água, a germinação foi lenta. A interação da a_w x temperatura foi predita utilizando o modelo de Gompertz modificado por Zwietering, concluindo que os dados detalhados de germinação podem ser utilizados para desenvolver abordagens sobre a tecnologia dos métodos combinados para prevenir deterioração dos alimentos por fungos. Em trabalho semelhante em grão de milho MARIN *et al.* (1998) estudaram o efeito da temperatura ($5-45^\circ\text{C}$), a_w (0,995-0,75) e suas interações sobre a taxa de germinação de esporos de *Aspergillus ochraceus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium aurantiogriseum* e *P. hordei*. Constataram que a germinação foi muito rápida em $a_w > 0,90$ com um aumento linear com o tempo em todas as espécies. A a_w mínima para germinação foi geralmente menor do que para o crescimento.

Nesta pesquisa foram aplicadas três barreiras para impedir a deterioração microbiológica por *C. sporogenes* PA3679 no leite de coco:

- I. Redução do pH;

- II. Redução da atividade de água.
- III. Pasteurização, cujo objetivo principal era destruir as formas vegetativas de microrganismos deterioradores e patogênicos que possam estar presentes;

Detalhes sobre o procedimento para escolher o ácido utilizado como agente conservador está descrito no **Capítulo I**. Entre os ácidos estudados, o ácido selecionado foi o ácido fosfórico, por interferir menos no sabor e ser mais eficiente na redução do pH no leite de coco.

No **Capítulo II** foram avaliados alguns depressores de atividade de água (a_w). Entre os solutos selecionados para compor a formulação do leite de coco modificado, tem-se: o cloreto de sódio pelo seu poder depressor; o glicerol, por ser um composto com bom poder redutor, e interferir pouco no sabor; e, finalmente, a glicose, por apresentar também um bom poder depressor e interferir positivamente no sabor, mascarando o sabor ácido quando o ácido fosfórico estiver presente nas formulações.

Uma revisão sobre como os eletrólitos e não eletrólitos reduzem a atividade de água é apresentada nesse Capítulo abordando também, como os programas computacionais podem auxiliar na predição da atividade de água quando combinações de depressores são utilizadas em uma determinada formulação.

Considerações sobre o processo de pasteurização atualmente utilizado pela indústria processadora de leite de coco são apresentados no **Capítulo III**. A efetividade deste processo térmico na destruição de *C. botulinum* não é suficiente, apesar do longo período de tratamento, representando um gasto energético durante o processo. Em contrapartida, foi demonstrado um processo térmico contínuo com enchimento à quente do leite de coco, onde foi necessário determinar algumas características do produto que foram utilizados para calcular este processo, resultando num tratamento de 92,5°C durante 5,34 segundos ("holding time").

Esta etapa do estudo teve como objetivo utilizar os três fatores analisados e utilizá-los de forma combinada no leite de coco para verificar a efetividade deste tratamento sobre a inibição da germinação de *C. sporogenes* PA3679.

VII.3. Material e métodos

VII.3.1. Critérios para escolha das formulações

O pH do leite de coco foi reduzido através da adição de diferentes níveis de ácido fosfórico. A acidificação do produto para reduzir o pH para valores menores que 4,6, combinado com a pasteurização, é uma forma de conservação do produto, pois através do aquecimento serão eliminados as formas vegetativas e a partir deste pH, esporos remanescentes não conseguirão germinar.

Entretanto, apesar do ácido fosfórico apresentar menor interferência no sabor em relação aos demais ácidos testados, o ajuste do pH do produto para valores inferiores a 4,6 torna o produto final com pouca aceitabilidade, conforme testes sensoriais preliminares. Uma alternativa branda para inibir a germinação de esporos de bactérias mesófilas seria trabalhar com uma terceira barreira microbiológica, que por questão de viabilidade econômica e facilidade de uso a opção seria reduzir a atividade de água através da incorporação de solutos à formulação. Entre os solutos comumente aplicado aos alimentos temos o cloreto de sódio (NaCl) , a glicose e o glicerol.

Pode-se observar que o uso de NaCl como único depressor de atividade de água não é a melhor opção, pois o sabor do produto seria prejudicado. Mas por sua capacidade de reduzir a atividade de água optou-se por sua inclusão à formulação. A glicose e o glicerol quando usados isoladamente, também devem ser adicionados em quantidades apreciáveis. A adição de glicose teria como segunda função mascarar o sabor ácido, juntamente com o glicerol, que tem um poder depressor maior que a glicose.

VII.3.2. Obtenção do composto de solutos

Utilizou-se o Software Predia_w, que calcula a atividade de água de um produto final através de equações para soluções de eletrólitos (NaCl) e não eletrólitos (glicose e glicerol), permitindo realizar várias combinações com estes três solutos com auxílio da planilha EXCELL® e prever as respectivas atividades de água, conforme mostrado nas tabelas do **Anexo VII.1**. Nestas tabelas estão destacadas (negrito) as atividades de água menores que 0,970, que é a partir do qual se tem algum efeito inibidor sobre a multiplicação do *Clostridium botulinum*. Considerando-se apenas o valor da atividade de água, este valor não inibiria a germinação dos esporos, entretanto, se levar em conta os efeitos sinérgicos, que podem ocorrer com os diferentes níveis de redução de pH, este valor de atividade de água pode ser suficiente para inibir a germinação dos esporos.

Dos valores de atividade de água demonstradas nas tabelas do **Anexo VII.1**, a escolha da combinação de solutos para compor a formulação do leite de coco modificado foi baseado na aceitabilidade através de análise sensorial.

VII.3.3. Análise sensorial

O critério para escolha da combinação de solutos para compor o leite de coco modificado foi baseado na aceitabilidade do produto através da análise sensorial. Foi utilizado o método de escala hedônica, neste teste o provador expressa o grau de gostar ou desgostar das amostras numa escala de 9 pontos que vai de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo”, conforme ficha de avaliação sensorial apresentado no **Anexo VII.2**. Foram oferecidos aos provadores o manjar de coco (ingredientes básicos do manjar: leite de coco, 200 g; leite de vaca integral 100g; sacarose, 60 g; amido de milho, 25 g), substituindo o ingrediente leite de coco comercial pelas variações deste ingrediente propostas a seguir. Em todas as etapas foi utilizado o leite de coco acidificado (pH 4,5) com ácido fosfórico. Numa primeira etapa foram seis diferentes concentrações de

cloreto de sódio (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0% p/p). Após a escolha da concentração de NaCl, esta será incorporada a formulação e em seguida será escolhido uma das seis concentração de glicose (0; 3; 6; 9; 12 e 15% p/p) através da análise sensorial. Por último foi selecionada entre seis concentrações de glicerol (0; 2; 4 ;6 ; 8 e 10% p/p);a ser incorporada na formulação. Em todas as etapas foram utilizados 10 provadores treinados.

VII.3.4. Planejamento experimental

Foram realizados quatro experimentos, todos delineados pela Metodologia de Superfície de Resposta (**Tabela VII.1**). A **Figura VII.1** mostra a distribuição dos tratamentos em um plano. Cada experimento continha um nível de esporos (inóculo) de *Clostridium sporogenes* PA3679, sendo eles: sem adição de esporos (testemunha), nível de $2,0 \times 10^0$; $2,0 \times 10^2$ e $2,0 \times 10^4$ esporos por tubo de ensaio adicionado de 20 ml de leite de coco formulado conforme delineamento. Cada tratamento foi preparado em replicatas de 5 tubos.

Tabela VII.1. Delineamento experimental composto rotacional para duas variáveis e três níveis para avaliar o efeito do pH e atividade de água.

Ensaio	Valores codificados		Valores reais	
	pH	a_w	pH	a_s
01	-1	-1	4,72	0,956
02	1	-1	5,78	0,956
03	-1	1	4,72	0,984
04	1	1	5,78	0,984
05	-1,414	0	4,50	0,970
06	1,414	0	6,00	0,970
07	0	-1,414	5,25	0,950
08	0	1,414	5,25	0,990
09	0	0	5,25	0,970
10	0	0	5,25	0,970
11	0	0	5,25	0,970

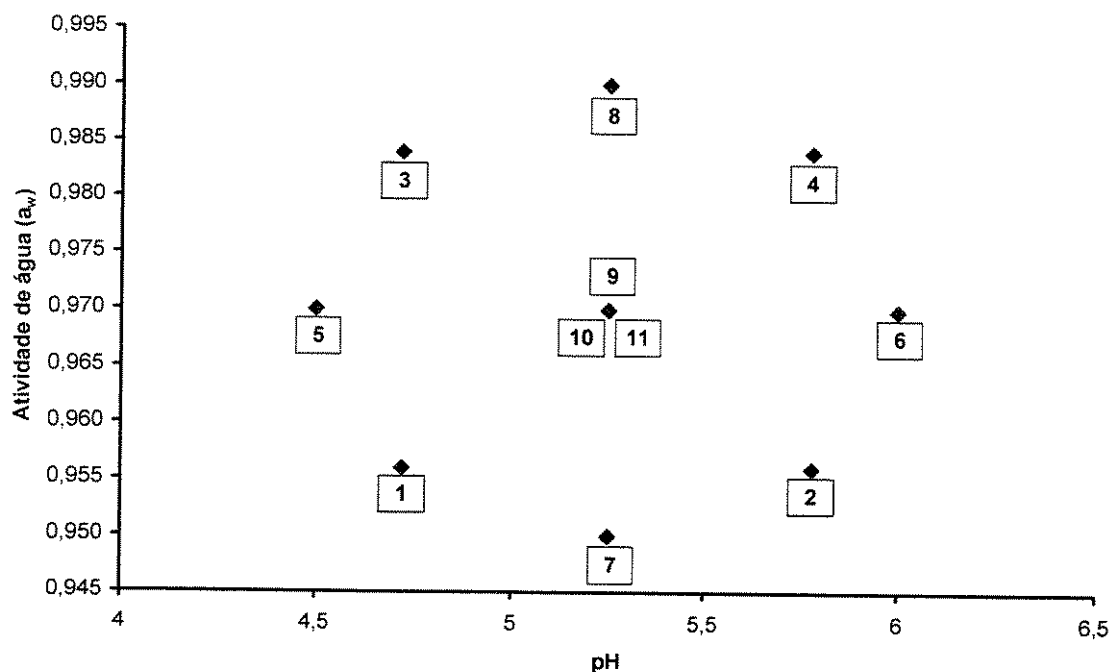


Figura VII.1. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental utilizado para avaliar a estabilidade microbiana do leite de coco.

VII.3.4. Obtenção da matéria-prima

Foram utilizados endospermas congelados de cocos maduros (*Cocos nucifera*, L.) fornecidos pela Ducôco Produtos Alimentícios S. A. O material descongelado foi fragmentado em moinho de martelo (TREU mod. OB 63202) montado com um tamiz de perfuração de 5 mm. Em seguida, o coco ralado foi prensado na extratora (FMC mod. 35) montado com uma peneira de malha de 0,05 mm. O leite obtido foi analisado quanto ao seu teor de gordura através do método de Gerber. O pH do produto foi ajustado para o valor desejado, conforme delineamento experimental apresentado na **Tabela VII.1**.

A atividade de água foi reduzida utilizando um composto formado por três solutos: cloreto de sódio (NaCl), glicose e glicerol. Em todos os tratamentos foram utilizadas as mesmas proporções destes três componentes, sendo variada apenas

a dosagem do composto para cada tratamento para se obter a atividade de água desejada.

VII.3.5. Preparo de embalagens inoculadas

Esporos de *C. sporogenes* PA3679 em suspensão foram inoculados em tubos de ensaio (20 x 250 mm) esterilizados, em três níveis: $2,0 \times 10^0$; $2,0 \times 10^2$ e 2×10^4 esporos por tubo. Para que a água da suspensão não interferisse na a_w de água das formulações de leite de coco, foi necessário promover o seu congelamento (-18°C) e posterior sublimação da água no liofilizador (STOKES - modelo 904-024-2), durante 24 horas.

As formulações de leite de coco modificadas foram preparadas conforme delineamento apresentado na **Tabela VII.1**, em seqüência aleatória. Todos os ingredientes foram colocados em um Béquer, exceto o estabilizante, e o pH foi corrigido para o valor desejado (os valores dos pHs variaram de 4,5 a 6,0), conforme delineamento. Em seguida a mistura foi aquecida até 60°C para facilitar a hidratação de 0,3% de estabilizante carboximetilcelulose (Induskol FG-5000, Denver Cotia Ind. Prod. Químicos Ltda.). Os valores de atividade de água foram confirmados em testes preliminares (os valores da a_w variaram de 0,950 a 0,990). A mistura foi homogeneizada (mod. Gaulin) e pasteurizada em trocador tubular (98°C / 5,34 s) e 20 ml de formulação foi adicionada em cada tubo de ensaio, que foi selado com vaspar e resfriado em água à temperatura ambiente. O material foi incubado a 35°C para verificar o desenvolvimento do microrganismo, que se caracteriza pela formação de gás, odor putrefativo e turvação do produto.

VII.3.6. Preparo de embalagens inoculadas em escala piloto

Esta etapa foi realizada após a obtenção dos resultados do item anterior (VII.3.5). Da mesma forma foram utilizados esporos de *Clostridium sporogenes*

(PA3679), agora sendo inoculados em garrafas de 200 ml, na concentração de $2,0 \times 10^2$ esporos / frasco. Em algumas garrafas não foram inoculados esporos para servirem como testemunha. As formulações testadas foram àquelas consideradas como promissoras na inibição de microrganismos nos tubos de ensaio, conforme **item VII.4**. Um teste adicional foi realizado, utilizando-se a formulação 8 (pH 5,25 e a_w 0,990, complementada por conservantes químicos: 1000 ppm de benzoato de sódio e 500 ppm de metabissulfito de sódio. Estas formulações a serem avaliadas foram pasteurizado em trocador tubular (92,5°C / 5,34 s) e envasado a quente nas garrafas, seguido do fechamento hermético com tampas metálicas.

Para cada formulação foram preparadas 10 garrafas com inoculo, exceto para a formulação 2, cujo número de garrafas foi 11. O número de garrafas para os testes sem inoculo variou para cada tratamento, de acordo com a disponibilidade do produto formulado.

Após o processo, as garrafas foram mantidas a 35°C, temperatura para o desenvolvimento dos esporos inoculados, sendo avaliados semanalmente para verificação da alteração do leite de coco, através formação de gases e turvação do produto.

VII.4. Resultados e discussões

VII.4.1. Composição de solutos

O uso de NaCl para compor a formulação do leite de coco é importante, devido ao seu grande poder depressor de a_w . Analisando a **Tabela VII.2** observa-se que existe diferenças significativas entre as concentrações de NaCl. Pela **Figura VII.2** observa-se que em concentrações acima de 0,2% de NaCl, o produto recebeu notas inferiores, possivelmente por intensificar o sabor ácido do produto. Em concentrações entre 0,4% a 0,8% as médias das notas foram muito próximas, sendo que a concentração de 0,6% não diferiu significativamente da 0,8% (Tukey a nível de 5%). Como o critério é escolher a concentração que diminui mais a a_w , e

que altere pouco o sabor, optou-se pela concentração de 0,8%. A concentração menor (0,2%), apesar de afetar pouco no sabor, diminuiria muito pouco a a_w e o inverso ocorreria com a concentração mais alta (1,0%).

Tabela VII.2. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo diferentes adição NaCl.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	5	66,48	13,30	24,91*	2,25	3,12
Prov.	9	31,68	3,52	6,60*	1,99	2,63
Resíduo	45	24,02	0,53			
Total	59					

* Significativo ao nível de 5%.

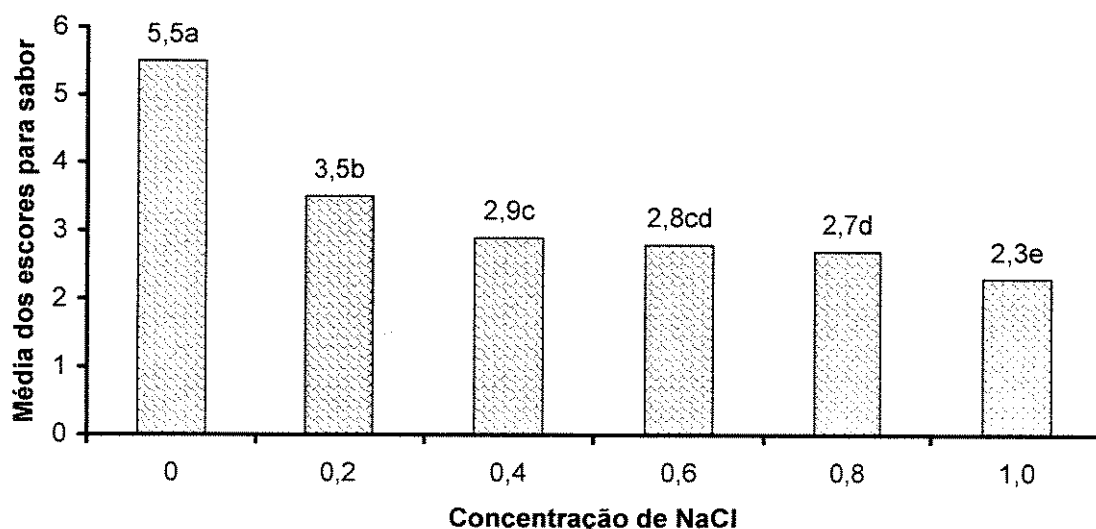


Figura VII.2. Médias dos escores para sabor em manjar contendo leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, apresentando diferentes adição de NaCl.

Em seguida, foi avaliado diferentes concentração de glicose na presença de 0,8% de NaCl. Pela **Tabela VII.3** observa-se que existem diferenças significativas entre os tratamentos. Pela **Figura VII.3** observa-se que as concentrações maiores (12 e 15% de glicose) apresentaram as maiores notas, provavelmente por

mascararem o sabor ácido e salgado. A concentração de 9% de glicose apresentou uma nota intermediária. Concentrações inferiores apresentaram notas baixas, provavelmente por mascarar muito pouco o sabor ácido e salgado no manjar. Como a glicose apresenta um poder depressor de a_w inferior ao glicerol, optou-se pela concentração de 9% de glicose, tendo em vista que se pretende utilizar um terceiro depressor de a_w , o glicerol, evitando-se desta forma excessivas concentrações de sólidos solúveis no produto.

Tabela VII.3. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl e diferentes adição de glicose.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	5	178,88	35,77	59,00*	2,25	3,12
Prov.	9	4,82	0,53	0,88 ^{ns}	1,99	2,63
Resíduo	45	27,28	0,61			
Total	59					

* Significativo ao nível de 5%.

^{ns} Não significativo

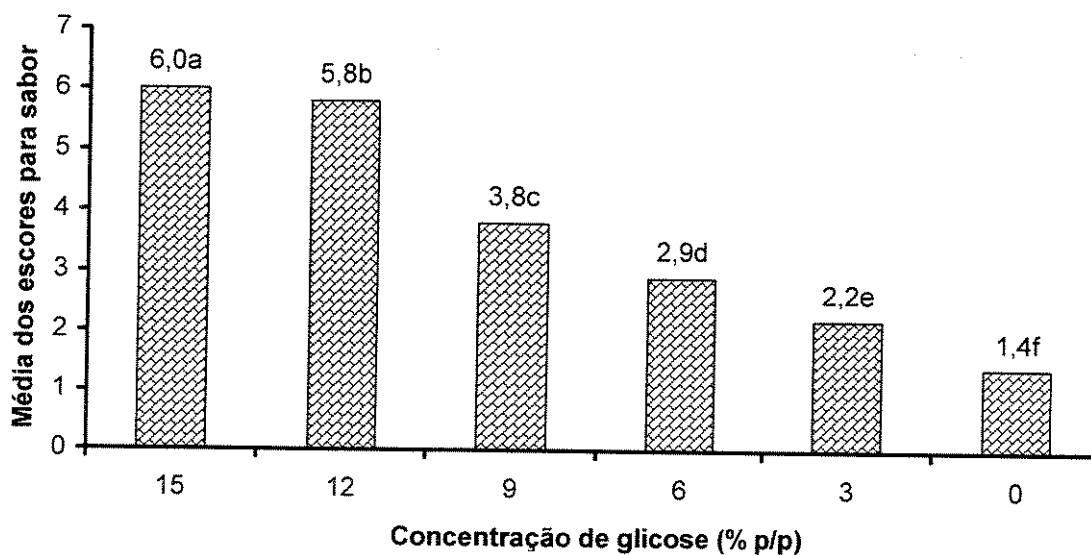


Figura VII.3. Médias dos escores para sabor em manjar contendo leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl e diferentes adição de glicose.

Na última etapa, foi escolhida a concentração de glicerol. Pela **Tabela VII.4** observa-se que existem diferenças entre as concentrações avaliadas. Pela **Figura VII.4** verifica-se que até concentração de 4% existe um aumento na aceitação, a partir do qual reduziu-se a aceitabilidade, provavelmente pelo fato do glicerol conferir um sabor residual, descrito pelos provadores como amargo. Através destes testes, determinou-se a composição de 0,8% de NaCl, 12% de glicose e 4% de glicerol. Essa combinação de solutos foi considerada no estudo como o composto básico de solutos e que conferiria ao leite de coco padronizado (18% de gordura) uma atividade de água de 0,958 (**Tabela 5 do Anexo VII.1**).

Tabela VII.4. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl, 9% glicose e diferentes adições de glicerol.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	5	36,25	7,27	9,05*	2,25	3,12
Prov.	9	9,15	1,02	1,26 ^{ns}	1,99	2,63
Resíduo	45	36,15	0,80			
Total	59					

* Significativo ao nível de 5%.

^{ns} Não significativo

A partir da combinação de solutos, foram calculadas as atividades de água para os múltiplos e frações (**Tabela 1 do Anexo VII.2**) desta proporção para identificar os pontos correspondentes (em negrito) em valores de atividade de água, conforme delineamento apresentado na **Tabela VII.1**.

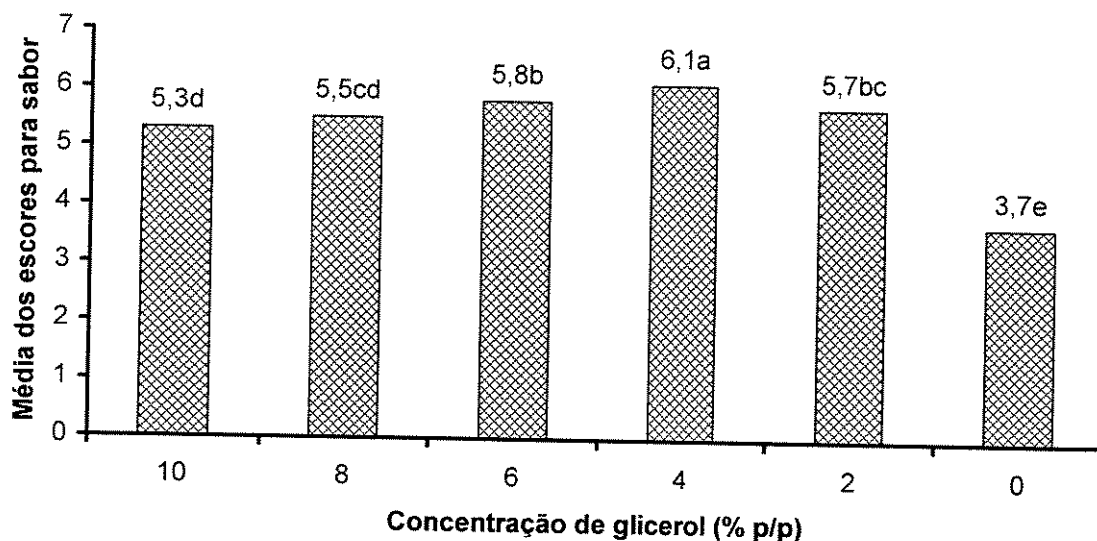


Figura VII.4. Médias dos escores para sabor de manjar utilizando leite de coco (18% de gordura) acidificado para pH 4,5 com ácido fosfórico, contendo 0,8% de NaCl, 9% glicose e diferentes adição de glicerol.

VII.4.2. Embalagens inoculadas

Pela **Tabela VII.5** pode-se observar que, mesmo no leite de coco não inoculado com esporos de *Clostridium sporogenes* PA3679, houve alteração microbiológica do produto após incubação a 35°C. Neste experimento, somente os tratamentos 4 e 8 apresentaram turvação do leite de coco e formação de gás, ou seja, as combinações de pH e a_w (pH = 5,78 / a_w = 0,984; pH = 5,25 / a_w = 0,990). A **Figura VII.5** apresenta em destaque os tratamentos que apresentaram desenvolvimento de microrganismos. Para verificar que tipo de microrganismo estava presente, os tubos que apresentaram alterações foram submetidos a análises microbiológicas, onde se constatou que havia presença de *Bacillus* sp, ou seja, houve algum tipo de contaminação por este microrganismo durante a obtenção do leite de coco. Assim, foi realizada a contagem microbiológica em placa (DOWNES & ITO, 2001) do leite de coco (padronizado para 18% de gordura) pasteurizado em trocador tubular, onde-se constatou uma população de *Bacillus* sp. de $1,2 \times 10^2$ esporos / gramas de leite de coco. Como o objetivo do experimento era verificar a eficiência dos obstáculos, tem-se que as combinações

dos obstáculos dos tratamentos 4 e 8 não foram capazes de inibir o crescimento de *Bacillus* sp. No **Anexo VII.4** são apresentadas fotografias com exemplos de tubos com presença de microrganismos formando gases e deslocando o váspar.

Nas **Tabela VII.6** e **VII.7** os resultados são idênticos aos da **Tabela VII.5**, ou seja, para os níveis de inóculo de $2,0 \times 10^0$ e $2,0 \times 10^2$ por 20 ml de leite de coco, somente os tratamentos 4 e 8 permitiram alteração no produto (**Figuras VII.6** e **VII.7**). Nestes dois casos também foram constatadas as presenças de *Bacillus* sp e de *Clostridium sporogenes* PA3679 (microrganismo inoculado).

Tabela VII.5. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de coco sem inoculação de *Clostridium sporogenes* PA3679, na série de 5 tubos (NMP).

Ensaio	Valores				Nº de tubos com alteração		
	codificados		reais		2º dia	3º dia	21º dia
	pH	a _w	pH	a _w			
01	-1	-1	4,72	0,956	-	-	-
02	1	-1	5,78	0,956	-	-	-
03	-1	1	4,72	0,984	-	-	-
04	1	1	5,78	0,984	5	5	5
05	-1,414	0	4,50	0,970	-	-	-
06	1,414	0	6,00	0,970	-	-	-
07	0	-1,414	5,25	0,950	-	-	-
08	0	1,414	5,25	0,990	3	5	5
09	0	0	5,25	0,970	-	-	-
10	0	0	5,25	0,970	-	-	-
11	0	0	5,24	0,970	-	-	-

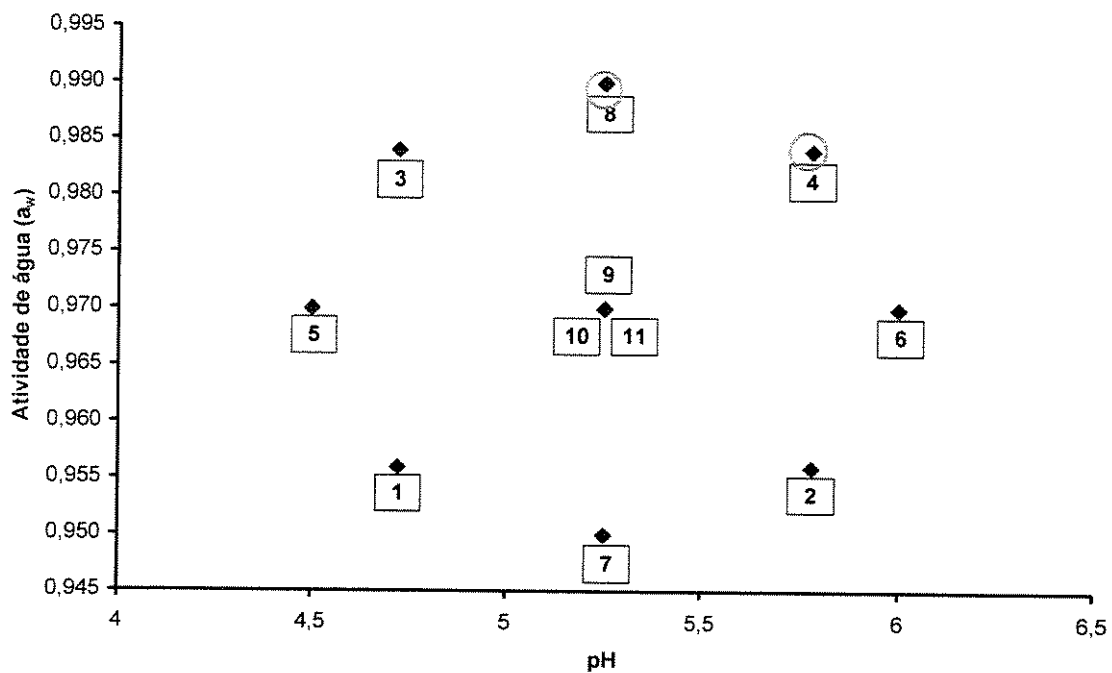


Figura VII.5. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica quando não foi inoculado esporos de *C. sporogenes* (PA3679).

Tabela VII.6. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^0$ esporos/ 20 ml de *Clostridium sporogenes* PA3679, na série de 5 tubos (NMP).

Ensaio	Valores				N° de tubos com alteração		
	codificados		reais		2° dia	3° dia	21° dia
	pH	a _w	pH	a _w			
01	-1	-1	4,72	0,956	-	-	-
02	1	-1	5,78	0,956	-	-	-
03	-1	1	4,72	0,984	-	-	-
04	1	1	5,78	0,984	5	5	5
05	-1,414	0	4,50	0,970	-	-	-
06	1,414	0	6,00	0,970	-	-	-
07	0	-1,414	5,25	0,950	-	-	-
08	0	1,414	5,25	0,990	5	5	5
09	0	0	5,25	0,970	-	-	-
10	0	0	5,25	0,970	-	-	-
11	0	0	5,24	0,970	-	-	-

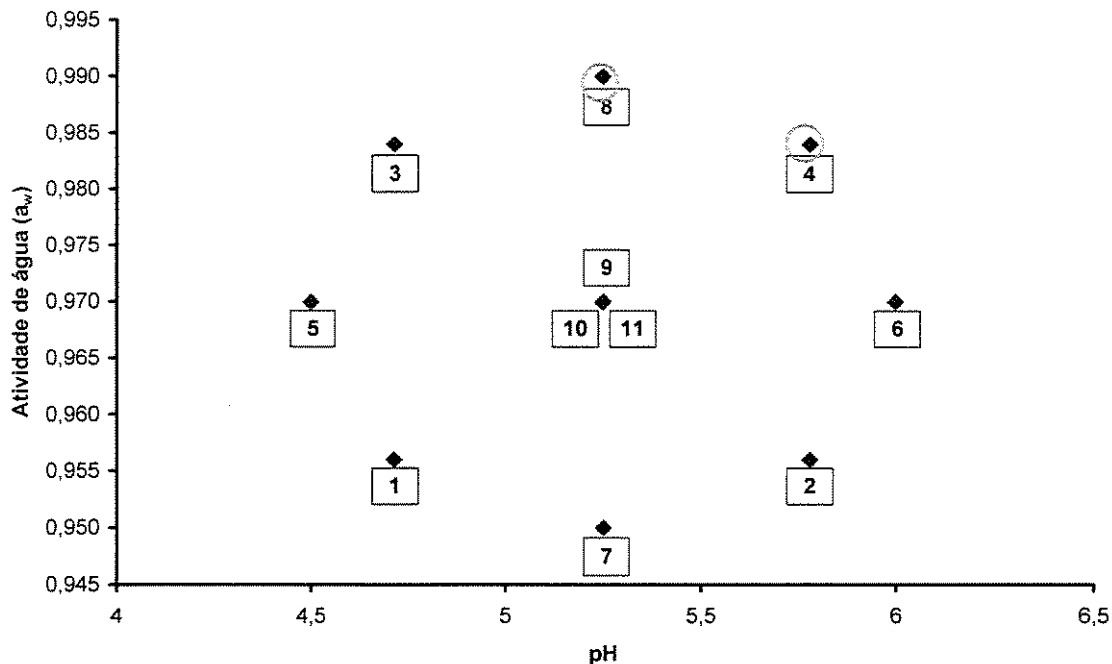


Figura VII.6. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o nível de inoculo de $2,0 \times 10^0$ esporos/20 ml de leite de coco.

Tabela VII.7. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^2$ esporos/ 20 ml de *Clostridium sporogenes* PA3679 na série de 5 tubos (NMP).

Ensaio	Valores				N° de tubos com alteração		
	codificados		reais		2° dia	3° dia	21° dia
	pH	a _w	pH	a _w			
01	-1	-1	4,72	0,956	-	-	-
02	1	-1	5,78	0,956	-	-	-
03	-1	1	4,72	0,984	-	-	-
04	1	1	5,78	0,984	5	5	5
05	-1,414	0	4,50	0,970	-	-	-
06	1,414	0	6,00	0,970	-	-	-
07	0	-1,414	5,25	0,950	-	-	-
08	0	1,414	5,25	0,990	4	5	5
09	0	0	5,25	0,970	-	-	-
10	0	0	5,25	0,970	-	-	-
11	0	0	5,24	0,970	-	-	-

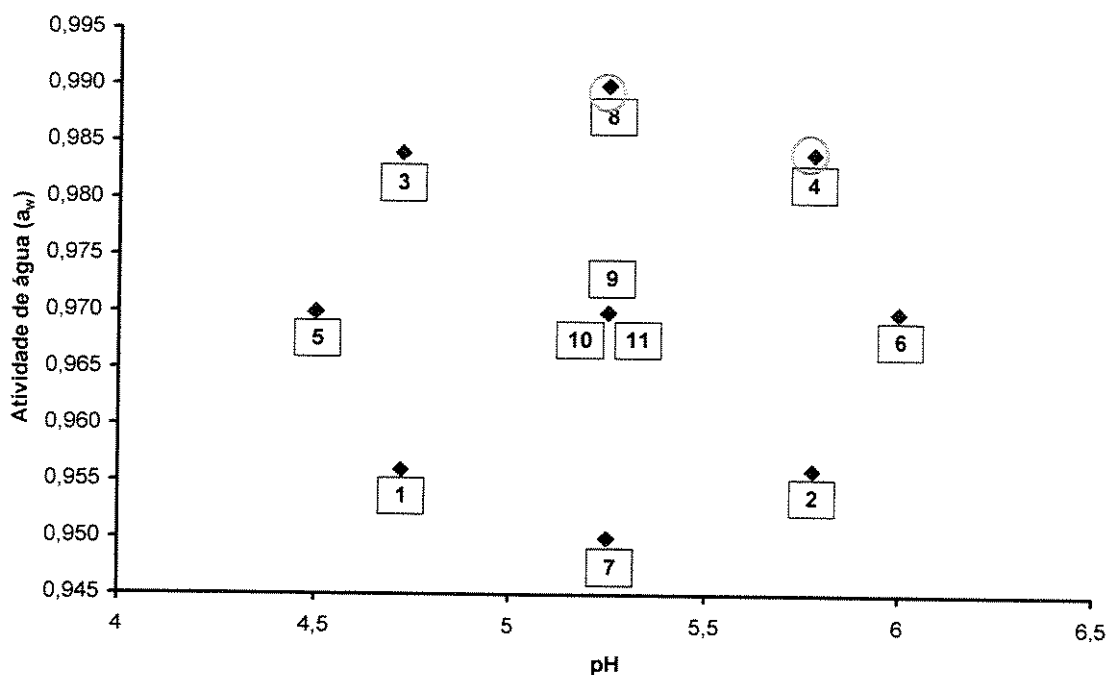


Figura VII.7. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o nível de inóculo de $2,0 \times 10^2$ esporos/20 ml de leite de coco.

Quando foi utilizado um nível maior de inóculo ($2,0 \times 10^4$ esporos por 20 ml de leite de coco) pode-se observar que houve alteração microbiológica nos tratamentos 4, 6 e 8 (Tabela VII.8). A Figura VII.8 apresenta em destaque os tratamentos que apresentaram desenvolvimento de microrganismos. Foi constatado alteração no tratamento 6 após o 21º dia de incubação, indicando que, durante esse período, o microrganismo conseguiu superar as barreiras impostas. O pH deste tratamento era 6 (pH natural do leite de coco) e isso pode ter permitido que os microrganismos superassem uma atividade de água de 0,970, já que em pH inferiores, para o mesmo nível de atividade de água (tratamentos 5, 9, 10 e 11), não houve alteração nos tubos.

Tabela VII.8. Evolução do número de tubos com alteração microbiológica no leite de inoculado com $2,0 \times 10^4$ esporos/ 20 ml de *Clostridium sporogenes* PA3679, na série de 5 tubos (NMP).

Ensaio	Valores				Tubo com alteração		
	codificados		reais		2º dia	3º dia	21º dia
	pH	a _w	pH	a _w			
01	-1	-1	4,72	0,956	-	-	-
02	1	-1	5,78	0,956	-	-	-
03	-1	1	4,72	0,984	-	-	-
04	1	1	5,78	0,984	5	5	5
05	-1,414	0	4,50	0,970	-	-	-
06	1,414	0	6,00	0,970	-	-	5
07	0	-1,414	5,25	0,950	-	-	-
08	0	1,414	5,25	0,990	5	5	5
09	0	0	5,25	0,970	-	-	-
10	0	0	5,25	0,970	-	-	-
11	0	0	5,24	0,970	-	-	-

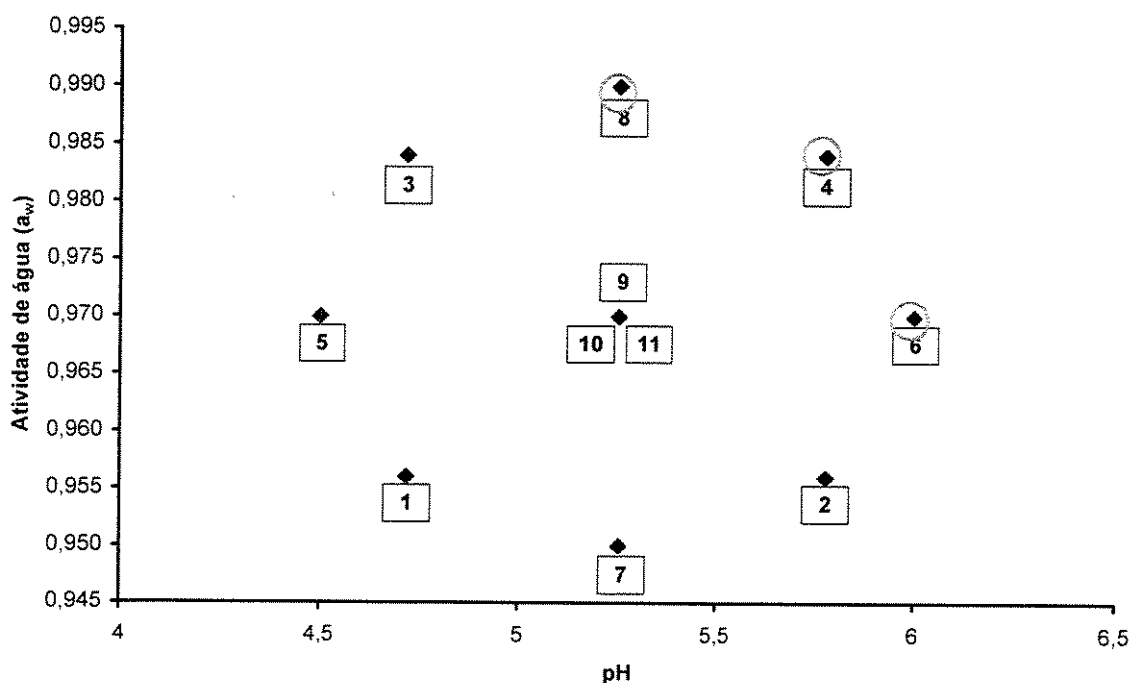


Figura VII.8. Distribuição dos tratamentos do delineamento experimental destacando os pontos com alteração microbiológica para o maior nível de inoculo ($2,0 \times 10^4$ esporos/20 ml de leite de coco).

VII.4.3. Embalagens inoculadas em escala piloto

Após três semanas incubadas a 35°C tem-se o resultado apresentado na **Figura VII.9**. De forma geral, os resultados foram diferentes aos dos testes realizados em tubos de ensaio, uma vez que, era de se esperar que em nenhum deles ocorresse o desenvolvimento microbiano, entretanto, estes resultados estão mais próximo da realidade por ter sido realizado em escala piloto.

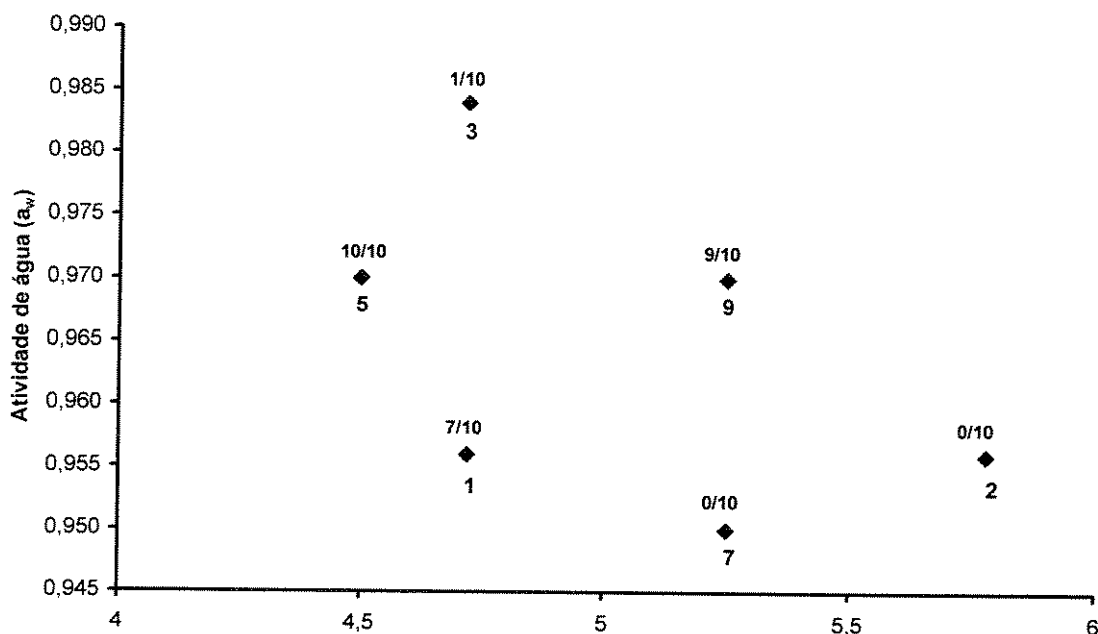


Figura VII.9. Distribuição dos tratamentos dos tratamentos avaliados, apresentando a relação entre o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas contendo $2,0 \times 10^2$ esporos de *C. sporogenes* em cada garrafa de 200 ml.

Para a formulação 5, de 10 frascos incubados com esporos de *C. sporogenes* (PA3679) todos continuaram a manter as características do leite de coco, ou seja, sem a formação de gases ou turvação do produto. O ajuste para pH 4,5 favoreceu a conservação dos produtos obtidos com essa formulação. Para a formulação 2 e 7, todos os frascos apresentaram deterioração do produto. Apesar da a_w ter sido ajustado para de 0,956 e 0,950, respectivamente, o pH entre 5,25 a 5,78 não foi capaz de impedir a deterioração microbiana. Para a formulação 1,

apenas 3 frascos apresentaram deterioração, o pH 4,72 e a_w 0,956 tornaram o produto menos propício ao desenvolvimento microbiano. Para a formulação 3, somente um frasco manteve inalterada as características do produto. Provavelmente o maior valor de a_w (0,984) em relação ao da formulação 1, possa ter favorecido um pouco o desenvolvimento microbiano. Para a formulação 9, 9 frascos mantiveram as características do produto. Se for comparado com os demais tratamentos em relação aos valores de pH e a_w , era de se esperar que mais frascos apresentassem deterioração.

Resultados semelhantes ocorreram quando foram utilizados frascos sem a presença de esporos de *C. sporogenes* (Figura VII.10). Gerando indícios de que algum outro microrganismo contaminante natural poderia estar presente na matéria-prima. Através de análise microbiológica nos frascos deteriorados constatou-se a presença de *Bacillus* sp.

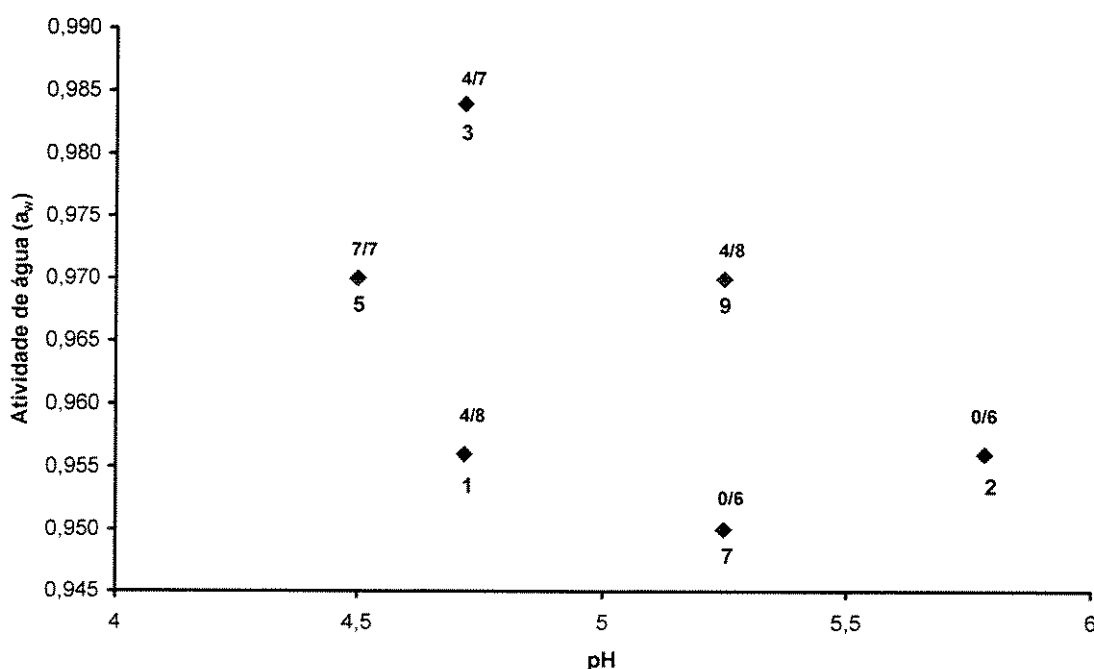


Figura VII.10. Distribuição dos tratamentos dos tratamentos avaliados, apresentando a relação entre o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas envasadas sem inoculação de *C. sporogenes* (PA3679).

Observa-se na **Figura VII.11** que os resultados que na primeira semana após o processamento e incubação, continuaram sendo os mesmos até a terceira semana, no caso das embalagens inoculadas com esporos de *C. sporogenes*. Pela **Figura VII.12**, observa-se que apenas os frascos da formulação 1 apresentaram aumento de número de garrafas contaminadas, indicando que os microrganismos presentes continuaram superando as barreiras de conservação nesse período.

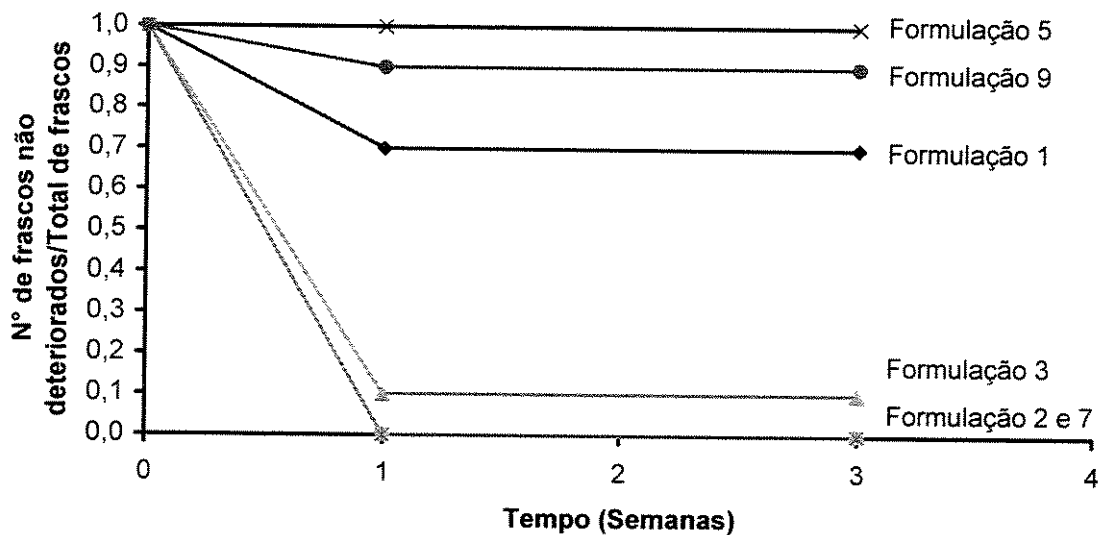


Figura VII.11. Evolução da relação n° de frascos não deteriorados / total de frascos para embalagens inoculadas com $2,0 \times 10^2$ esporos de *C. sporogenes* em cada garrafa de 200 ml.

O uso de conservantes químicos benzoato de sódio (1000 ppm) e metabissulfito de sódio (500 ppm) mostraram efeito antimicrobiano para conservação do produto até o período de avaliação de 3 semanas, conforme apresentado nas **Figuras VII.13 e VII.14**. A formulação apresentava um pH ajustado para 5,25 e a_w 0,990, este último, no valor natural do leite de coco. Provavelmente a ação dos conservantes esteja sendo potencializada pelo ajuste do pH para valor abaixo de 6, aumentando a quantidade de conservantes na forma não dissociada.

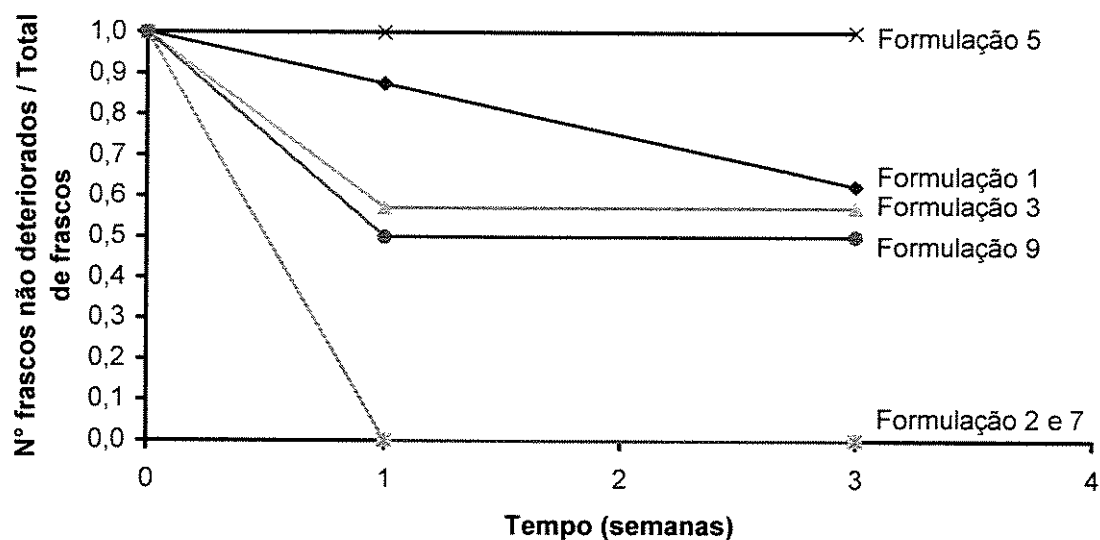


Figura VII.12. Evolução da relação n° de frascos não deteriorados / total de frascos para embalagens sem inoculação de esporos de *C. sporogenes* (PA3679).

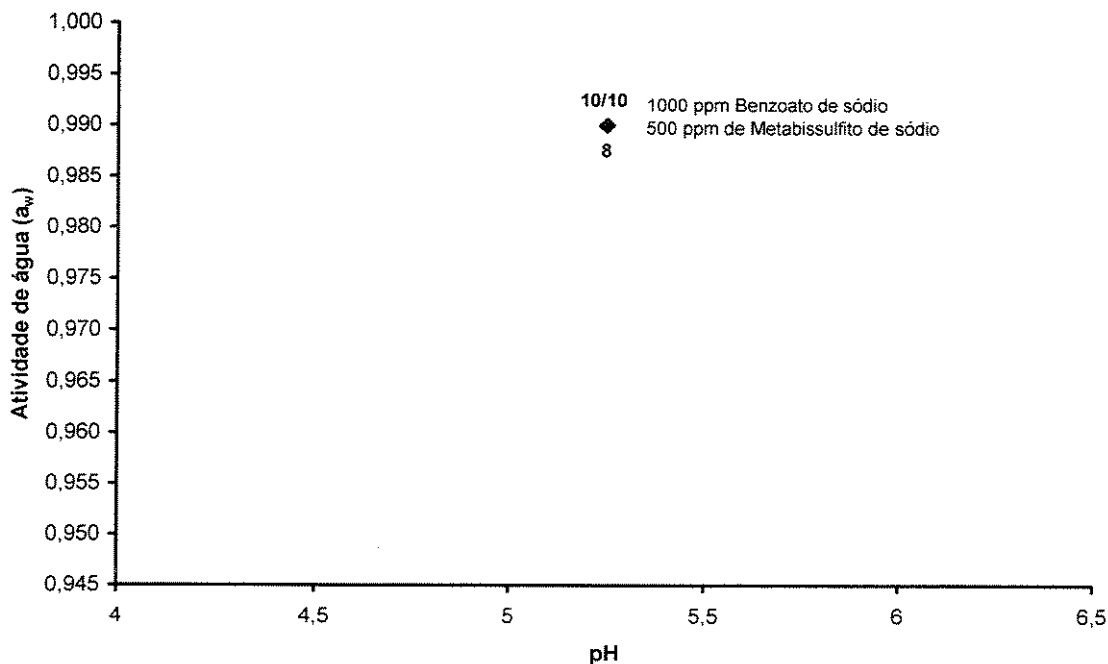


Figura VII.13. Distribuição do tratamento avaliado, apresentando o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas contendo contendo $2,0 \times 10^2$ esporos de *C. sporogenes* em cada garrafa de 200 ml.

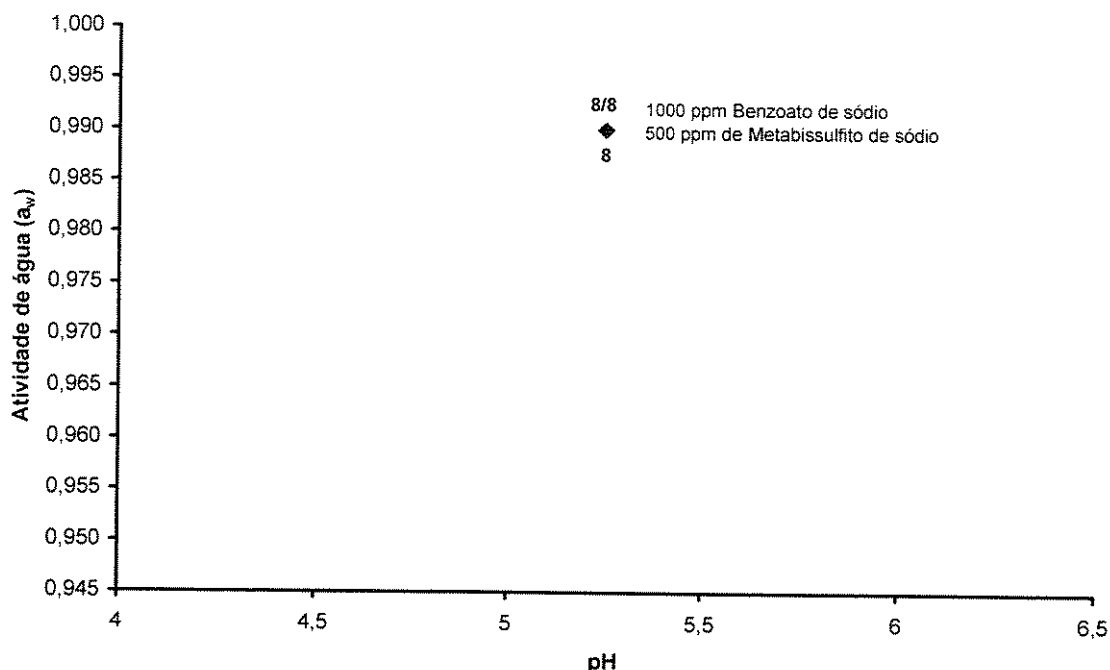


Figura VII.14. Distribuição do tratamento avaliado, apresentando o número de garrafas não deterioradas pelo número total de garrafas sem inoculação de esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679).

VII.5. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos nos testes em tubos de ensaio, formulações apresentando combinações de alta atividade de água e pH, não conseguiram inibir o desenvolvimento microbiano, seja ele para esporos do microrganismo inoculado artificialmente (*C. sporogenes* PA3679) ou contaminante natural do processo (*Bacillus* sp.). Outras combinações não favoreceram o desenvolvimento, mas é preciso que haja um controle preciso no uso destas formulações, uma vez que o intervalo entre condições que favorecem ou não o desenvolvimento dos microrganismos em questão são muitos pequenos.

No teste de embalagens inoculadas em escala piloto somente apenas uma combinação de pH e a_w conseguiu inibir o desenvolvimento microbiano. Por ser mais próximo da realidade, recomenda-se a formulação com pH = 4,50 e a_w = 0,970 (formulação 5), combinação que inibe a germinação de esporos e fornece

ocorrendo com a formulação 8, adicionada de conservantes químicos. Neste caso, a ação antimicrobiana do conservante químico esteja sendo potencializada pela redução do pH para 5,25. A exemplo da formulação 8, a adição de conservantes químicos provavelmente poderia potencializar a ação antimicrobiana das formulações 7 (pH = 5,25 e a_w = 0,950) e 9 (pH = 5,25 e a_w = 0,970), por estarem ajustados no mesmo valor de pH. As formulações 3 (pH = 4,72 e a_w = 0,984) e 1 (pH = 4,72 e a_w = 0,956) por apresentarem o valor de pH ajustado para um valor mais baixo, possivelmente teriam uma ação antimicrobiana mais potencializada, por aumentarem a quantidade de formas não dissociadas dos conservantes.

Para trabalhos futuros, recomenda-se o uso combinado de diferentes concentrações de conservantes químicos com os fatores estudados até o momento, próxima das regiões de não crescimento, assim como a avaliação sensorial das formulações promissoras no controle microbiano.

VII.6. Referências bibliográficas

- ABELLANA, M.; BENEDI, J.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Water activity and temperature effects on germination and growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* isolates from bakery products. **Journal of Applied Microbiology**, v. 87, n. 3, p. 371-380, 1999.
- CHAWLA, S. P.; CHANDER, R. Microbiological safety of shelf-stable meat products prepared by employing hurdle technology. **Food-Control**, v. 15, n. 7, p. 559-563, 2004.
- CHEN, M. T. ; LIN, Y. S.; TSAI, H. T. ; KUO, H. L. Efficiency of hurdle technology applied to raw cured meat (si-raw) processing. **Asian-Australasian-Journal-of-Animal-Sciences.**; v. 15, n. 11, 1646-1652, 2002.
- CHIRIFE, J. Physicochemical aspects of food preservation by combined factors. **Food Control**, Oxford, 4(4):210-215, 1993.
- CHIRIFE, J. & FAVETTO, G. J. Some physico-chemical basis of food preservation by combined methods. **Food Research International**, 25(5): 389-396, 1992.

- CHIRIFE, J. & FAVETTO, G. J. Some physico-chemical basis of food preservation by combined methods. **Food Research International**, 25(5): 389-396, 1992.
- FOX, M. & LONCIN, M. Investigations into the microbiological stability of water rich foods processed by a combination of methods. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, Londres, 15(6):321-325, 1982.
- GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARIN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5-5.5). **International Journal of Food Microbiology**, v. 101, n. 2, p. 161-168, 2005.
- HIMANISH, D.; RADHAKRISHNA, K. Preservation of mutton as ready-to-eat curry by hurdle technology. **Journal of Food Science and Technology, India**; v. 38, n. 3, 287-289, 2001.
- LEISTNER, L. Combined methods for food preservation. In; Shafiur Rahman, M. (Ed.), **Handbook of Food Preservation**, Marcel Dekker, New York, pp. 457-485. 1999.
- LEISTNER, L. Food preservation by combined methods. **Food Research International**, 25(2): 151-158, 1992.
- LEISTNER, L. Principles and applications of hurdle technology. In: Gould, G. W. (ed.) **New methods of food preservation**. Londres, Chapman & Hall, 1995. p. 1-22.
- LOMBARD, G. E.; WEINERT, I. A. G.; MINNAAR, A.; TAYLOR, J. R. N. Preservation of South African steamed bread using hurdle technology. **Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie**, v. 33, n. 2, 138-143, 2000.
- MARIN,-S; SANCHIS,-V; SAENZ,-R; RAMOS,-A-J; VINAS,-I; MAGAN,-N. Ecological determinants for germination and growth of some *Aspergillus* and *Penicillium* spp. from maize grain. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, n.1, p. 25-36, 1998.
- McMEEKIN, T. A.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D.; ROSS, T.; SALTER, M.; TIENUNGOON, S. Quantifying the hurdle concept by modelling the bacterial growth/no growth interface. **International Journal of Food Microbiology**, v. 55, n.1-3, p. 93-98, 2000.
- RAO, J. K.; DRESEL, J.; LEISTNER, L. Application of hurdle technology in developing countries, considering paneer as an example. **Mitteilungsblatt-der-Bundesanstalt-fuer-Fleischforschung,-Kulmbach**, v. 31, n. 117, p. 293-297,1992.
- SANCHEZ-PASCUAL, G. L.; CASALES, M. R.; YEANNES, M. I.. Elaboration of a pate of Brazilian sandperch (*Pseudopercis semifasciata*) by hurdle combination. **Alimentaria**, n. 319, p. 97-101, 2001.

SIKES, A.; EHIOBA, R. Feasibility of using food-grade additives to control the growth of *Clostridium perfringens*. **International-Journal-of-Food-Microbiology**, v. 46, n. 3: 179-185, 1999.

Capítulo VIII - Análise sensorial de leite de coco modificado

VIII.1. Resumo

Este trabalho foi realizado logo após a avaliação dos métodos combinados utilizando tubos de ensaio inoculados com esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679). O objetivo foi avaliar o aspecto sensorial das formulações que foram efetivas no controle dos microrganismos *Clostridium sporogenes* PA3679 e *Bacillus* sp (pH 4,72 e a_w 0,984; pH 4,72 e a_w 0,956; pH 4,50 e a_w 0,970; pH 5,78 e a_w 0,956; pH 5,25 e a_w 0,950; pH 5,25 e a_w 0,970). O alimento veículo escolhido para testar as formulações foi o manjar de coco. Numa primeira etapa, as formulações de leite de coco foram simplesmente adicionadas à fórmula do manjar de coco, constatando que não houve diferenças entre as formulações de leite de coco testadas, entretanto, existe uma tendência da formulação com pH 4,72; a_w 0,984, ser superior às demais, seguida pelas formulações com pH 4,72; a_w 0,956 e pH 4,50; a_w 0,970. Como o leite de coco modificado proporcionava sabor doce devido à presença de glicose e glicerol na formulação, os testes foram repetidos compensando-se este sabor através da equivalência em doçura, e constatou-se que a formulação com pH 4,72; a_w 0,984, foi superior (significativo a nível de 5% de probabilidade), seguido pela formulação com pH 4,50; a_w 0,970. Os testes comparativos com o produto comercial foram realizados com as formulações com pH 4,72; a_w 0,984 e pH 4,50; a_w 0,970, sendo que quando não houve a compensação do sabor doce, os testes não demonstraram diferenças significativas, e, pelas notas apresentadas, o produto comercial foi melhor, seguido da formulação com pH 4,72; a_w 0,984. Ao realizar a compensação do sabor doce, o produto comercial demonstrou ser o melhor (significativo ao nível de 5% de probabilidade) seguido da formulação com pH 4,50; a_w 0,970.

VIII.2. Introdução

A medida da doçura não pode ser determinada quantitativamente em termos físicos e químicos absolutos, necessitando o uso de métodos sensoriais subjetivos, realizados com equipes de provadores treinados.

A sacarose é usualmente utilizada como padrão para comparação, sendo o poder adoçante de outros adoçantes (edulcorantes) estimados em relação a ela, de maneira relativa.

O balanço entre o sabor ácido e o doce é importante no resultado final do flavor. O sabor doce prolongado causado por adoçantes (ciclamatos e sacarina, por exemplo) deve ser compensado pelo aumento do nível de acidez. Alguns produtos têm também que ser formulados com níveis de edulcorantes abaixo da intensidade ótima (por causa dos indesejáveis "after-tastes") e, nestes casos, deve-se cuidar para diminuir o nível de acidez. Estes acertos obviamente têm de ser feitos através de avaliações organolépticas, onde o flavor e a doçura estão em jogo. A aplicação de desenho estatístico bem planejado diminui consideravelmente o número de testes.

Os métodos sensoriais, também chamados subjetivos, são baseados nas respostas aos estímulos. Um estímulo pode ser definido como qualquer ativador químico ou físico que provoque resposta do receptor. O receptor para cada um dos nossos sentidos é especializado em receber somente uma classe de estímulo. Os impulsos nervosos são levados pelos receptores ao cérebro, para interpretá-los em sensações. Um estímulo produz uma sensação cujas dimensões são intensidade, extensão, duração, qualidade e gosto ou desgosto. Esses estímulos podem ser medidos por métodos físicos ou químicos e a sensação por processos psicológicos (CHAIB, 1973).

A energia mínima capaz de produzir uma sensação é chamada de limite mínimo de percepção absoluta (threshold). Como a energia do estímulo cresce, a

sensação altera e é diferente para cada sentido (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1968).

Para a aplicação dos métodos subjetivos, empregam-se equipes de degustadores selecionados e às vezes, necessariamente treinados, que se baseiam em suas próprias impressões sensoriais para o julgamento de um alimento. Desta forma, pode-se dizer que o elemento humano é o aparelho que registra as medidas.

A doçura é uma qualidade que é detectada pelo paladar e depende muito de como o teste é conduzido. Os alimentos muitas vezes contêm misturas de açúcares, juntamente com outros compostos. Neste caso, a doçura relativa de um açúcar, pode ser influenciada não só pelos outros açúcares como também pelos outros compostos presentes. Ao se comparar à doçura relativa dos açúcares em soluções diluídas é costume usar a sacarose como padrão (**Tabela VIII.1**) para se ter idéia desses valores.

Tabela VIII.1. Grau de doçura de vários açúcares e adoçantes (SCHUTZ & PILGRIM, 1957).

Adoçantes	Doçura relativa
Sacarina	30.600
Dulcim	9.070
Ciclamanto de cálcio	3.380
Frutose	115
Sacarose	100
Mel	87
Glicerol	84
Melaço	74
Glucose	61
Galactose	59
Manose	59
Maltose	46
Lactose	30

O objetivo do uso da análise sensorial, nesta etapa do trabalho, foi para verificar, entre as formulações que inibiram o crescimento de *C. sporogenes* PA3679 e *Bacillus* sp. nos testes de validação utilizando tubos de ensaio, qual se aproximava mais do leite de coco comercial.

VIII.3. Material e métodos

VIII.3.1. Formulações de leite de coco

As formulações de leite de coco que inibiram o crescimento de *C. sporogenes* PA3679 e *Bacillus* sp foram novamente preparadas utilizando leite de coco concentrado (40% de gordura) fornecido pela Ducôco Produtos Alimentícios S.A., sem a inoculação de esporos de microrganismos. Na **Tabela VIII.2** são apresentadas as formulações utilizados na avaliação sensorial.

Tabela VIII.2. Formulações de leite de coco utilizadas na avaliação sensorial.

Formulações	Códigos	pH	a_w	Estabili- zante	NaCl	Glicerol	Glicose
				%	%	%	%
01	581	4,72	0,956	0,45	1,0	5	11,25
02	921	5,78	0,956	0,45	1,0	5	11,25
03	365	4,72	0,984	0,45	0,16	0,8	1,8
05	827	4,50	0,970	0,45	0,66	3,3	7,425
07	415	5,25	0,950	0,45	1,04	5,2	11,71
09		5,25	0,970	0,45	0,66	3,3	7,425
10	278	5,25	0,970	0,45	0,66	3,3	7,425
11		5,25	0,970	0,45	0,66	3,3	7,425

Pode-se observar, das formulações de validação com embalagem (tubos de ensaio) inoculada, três (3) permitiram o desenvolvimento do microrganismo,

restando assim, 8 formulações (1, 2, 3, 5, 7, 9, 10, 11) que foram considerados aptos para serem submetidos aos testes sensoriais, entretanto, três repetições referem-se ao ponto central do delineamento (formulações 9, 10 e 11), que foram representados apenas por uma formulação. Ao final restaram seis formulações que foram submetidos à análise sensorial.

VIII.3.2. Método sensorial

Nesta avaliação foi utilizado o método de escala hedônica, o provador expressa o grau de gostar ou desgostar das amostras numa escala que vai de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo”. A escala pode ser de 5 a 9 pontos. No teste aplicado a escala utilizada foi de 9 pontos. Os valores podem ser analisados estatisticamente pela análise de variância.

Este método pode também ser aplicado a consumidores se for bem explicado e se as decisões requeridas são simples. É também usado para produtos novos, controle de qualidade e, ainda, para medir a capacidade de

VIII.3.3. Análise sensorial de manjar de coco

As análises foram realizadas com 10 provadores habituados a realizar este tipo de teste sensorial. Foi empregado o teste de avaliação do sabor e aceitação global utilizando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (desgostei muitíssimo = nota 1 e gostei muitíssimo = nota 9), conforme **Anexo VIII.2**.

A sobremesa manjar de coco (**Tabela VIII.3**) foi utilizado como o alimento para ser preparado com o leite de coco modificado, pelo fato de ser uma sobremesa que contém poucos ingredientes e desta forma pouca interferência no sabor do produto em desenvolvimento. Como seis amostras num único teste seria uma quantidade que poderia levar à fadiga sensorial dos provadores, optou-se por realizar o teste em duas sessões, obtendo-se assim, para cada sessão a formulação que proporcionasse a maior aceitação. Cada amostra para

degustação, foi preparada em copos descartáveis de café (capacidade de 50 ml) e entregue aos provadores, codificada com números de 3 dígitos (**Tabela VIII.2**), acompanhada de um copo de água (para ser utilizado pelo provador entre as amostras).

VIII.3.4. Compensação de açúcar

O leite de coco modificado possui componentes adicionados que proporcionam o sabor doce (glicose e glicerol) e o sabor salgado (NaCl) que podem causar interferência na percepção do sabor ácido (ácido fosfórico). Como a sacarose é um dos componentes na formulação base do manjar de coco, proporcionando o sabor doce, as análises sensoriais dos leites de cocos modificados foram realizadas em dois blocos. Um bloco com todas as formulações apenas substituindo o leite de coco comercial tradicional (**Tabela VIII.3**) por uma das formulações de leite de coco modificado (**Tabela VIII.2**). Um outro bloco, também com todas as formulações, entretanto, realizando a substituição de parte da sacarose da formulação (**Tabela VIII.3**) pelos adoçantes presentes nas formulações (**Tabela VIII.2**), compensando assim o sabor doce através da doçura relativa (**Tabela VIII.2**). São apresentadas na **Tabela VIII.4** as doçuras equivalentes da glicose e glicerol, assim como a quantidade correspondente de sacarose remanescente na formulação do manjar de coco. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey (nível de 5% de significância).

Tabela VIII.3. Formulação básica do manjar de coco.

Ingredientes	Quantidade (g)
Leite de coco	200
Leite de vaca integral	100
Sacarose	60
Amido de milho	25

Tabela VIII.4. Quantidades equivalentes de glicerol e glicose, e teor remanescente de sacarose na formulação final no preparo do manjar.

Formulações	Glicerol (%) ¹	Glicose (%) ¹	Glicerol (g) ²	Glicose (g) ²	Sacarose (g) ³
1	5	11,25	8,4	13,725	37,875
2	5	11,25	8,4	13,725	37,875
3	0,8	1,8	1,344	2,196	56,46
5	3,3	7,425	5,544	9,0585	45,3975
7	5,2	11,71	8,736	14,2862	36,9778
9	3,3	7,425	5,544	9,0585	45,3975

¹ Porcentagem (p/p) original de glicerol e glicose adicionado na preparação do leite de coco.

² Peso em gramas equivalente em sacarose para 200 g de produto (1 garrafa de 200 ml).

³ Corresponde ao peso de sacarose remanescente na formulação original do manjar de coco (60 gramas de sacarose menos os equivalentes das colunas 4 e 5).

VIII.4. Resultados e discussões

VIII.4.1. Sem compensar o sabor doce

A simples adição do leite de coco modificado (formulações) de leite de coco no preparo do manjar não demonstrou diferença estatisticamente significativa quanto ao sabor (**Figuras VIII.1a e VIII.1b, Tabelas VIII.5 e VIII.6**) e à aceitação global (**Figuras VIII.2a e VIII.2b, Tabelas VIII.7 e VIII.8**), entretanto, pode-se observar uma tendência do tratamento 3 ser superior aos demais, enquanto que

as formulações 1 e 5 se assemelharam quanto comparados para estas características.

Tabela VIII.5. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3, ou 9), não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	24,27	12,13	3,54 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	39,37	4,37	1,27 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	61,73	3,43			
Total	29	125,27				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Tabela VIII.6. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	SQ	QM	F	5%	1%
Trat.	2	8,07	4,03	2,73 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	90,70	10,08	6,82**	2,46	3,6
Resíduo	18	26,60	1,48			
Total	29	125,37				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Tabela VIII.7. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3 ou 9), não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	18,47	9,23	2,20 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	37,47	4,16	0,99 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	75,53	4,20			
Total	29	131,47				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Tabela VIII.8. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	SQ	QM	F	5%	1%
Trat.	2	4,87	2,43	1,01 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	49,47	5,50	2,30 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	43,13	2,40			
Total	29	97,47				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

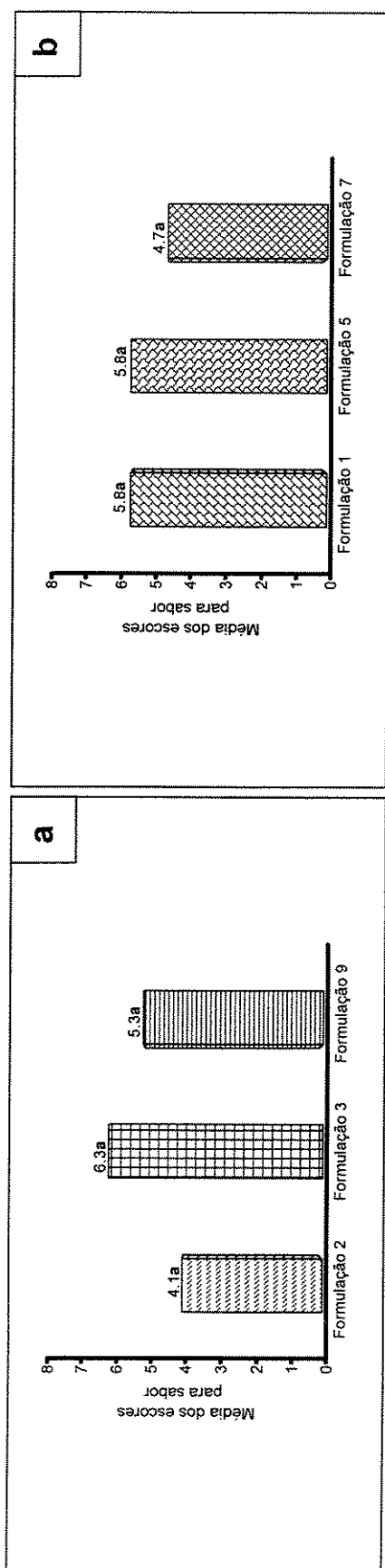


Figura VIII.1. Média dos escores para sabor sem a compensação do sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.

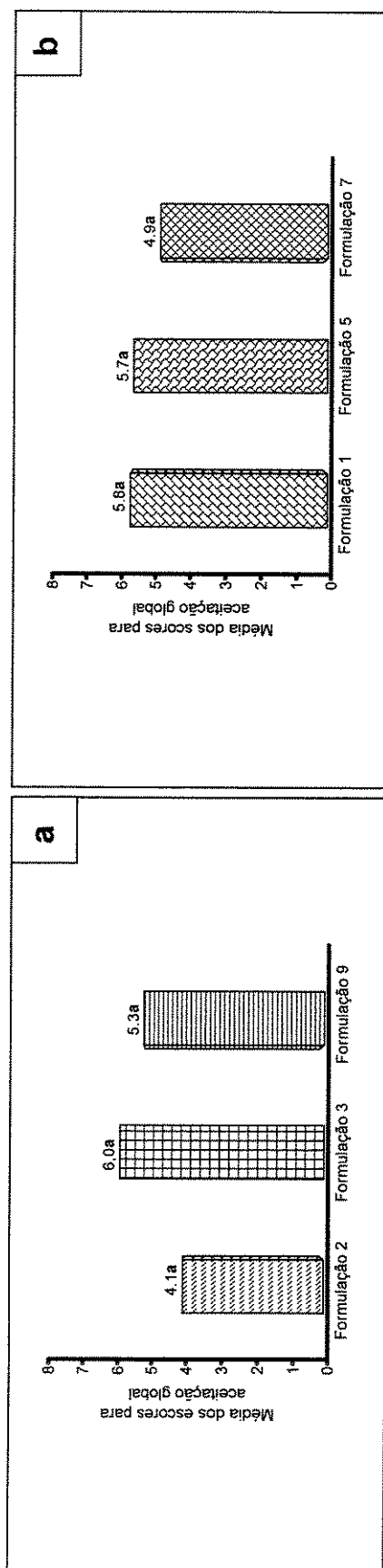


Figura VIII.2. Média dos escores para aceitação global sem a compensação do sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.

VIII.4.2. Compensando o sabor doce

O leite de coco formulado continha solutos (glicose e glicerol) que proporcionava o sabor doce. Assim, foi realizado um segundo teste sensorial, substituindo-se equivalentemente parte da doçura proporcionada pela sacarose utilizada como ingrediente do manjar, pela doçura proporcionada pelo glicerol e a glicose presente nas formulações do leite de coco modificado (formulações: 1, 2, 3, 5, 7, 9, 10, 11), através de suas doçuras equivalentes.

Pelos dados obtidos na análise sensorial, pode-se observar que as formulações 2, 3 e 9 apresentaram diferenças significativas entre eles (**Figura VIII.3a e Tabela VIII.9**) quanto ao sabor, sendo que o tratamento 3 foi o que apresentou maior nota, seguido do tratamento 9, o tratamento 2 foi inferior aos demais pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). Entre as formulações 1, 5 e 7 (**Figura VIII.3b e Tabela VIII.10**) não houve diferenças significativas, entretanto o tratamento 5 apresentou a melhor nota.

Na avaliação global (**Figuras VIII.4a e VIII.4b**), os resultados foram semelhantes aos obtidos na avaliação do sabor. Da mesma forma, o tratamento 5, apesar de não ter apresentado diferenças estatísticas (**Tabelas VIII.11 e VIII.12**) em relação aos demais, foi o que apresentou a maior nota.

Tabela VIII.9. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3, ou 9), compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	54,47	27,23	22,76**	3,55	6,01
Prov.	9	31,47	3,50	2,92*	2,46	3,6
Resíduo	18	21,53	1,20			
Total	29	107,47				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

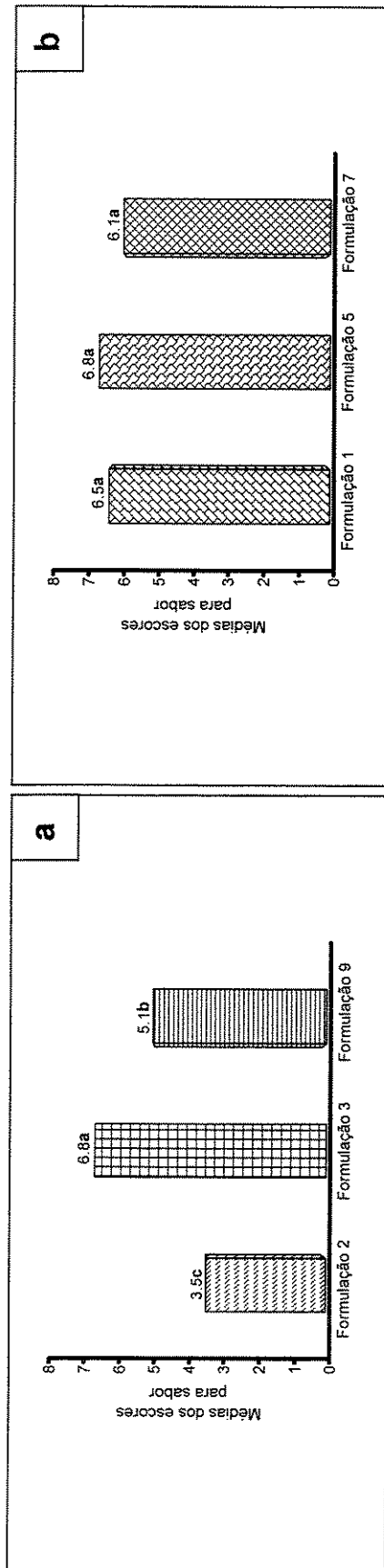


Figura VIII.3. Média dos escores para sabor compensando o sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.

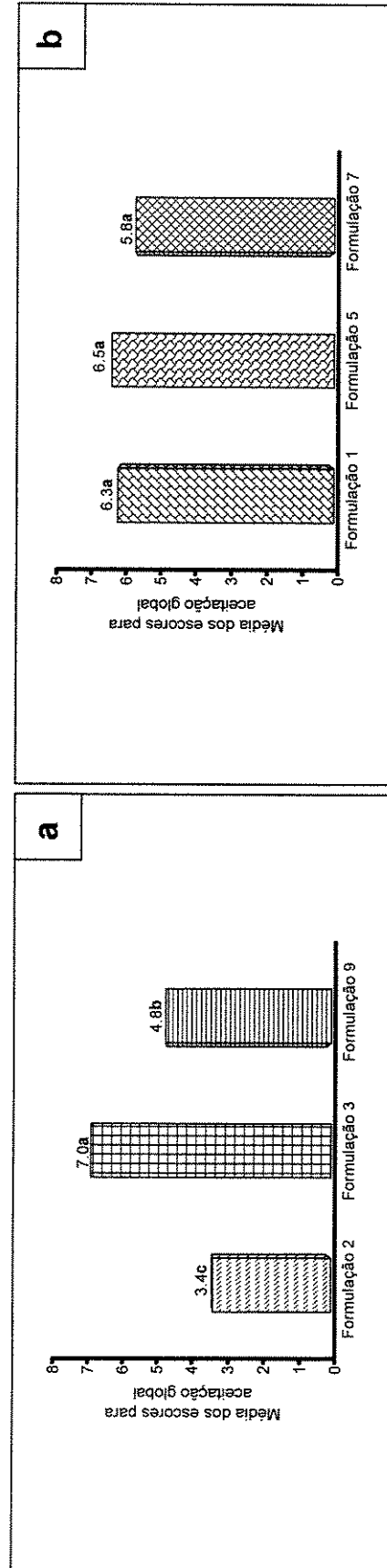


Figura VIII.4. Média dos escores para aceitação global compensando o sabor doce na formulação do manjar: (a) etapa 1; (b) etapa 2.

Tabela VIII.10. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	2,47	1,23	0,08 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	63,47	31,73	2,15 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	29,53	14,77			
Total	29	95,47				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Tabela VIII.11. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 2, 3 ou 9), compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	65,87	32,93	30,45**	3,55	6,01
Prov.	9	20,53	2,28	2,11 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	19,47	1,08			
Total	29	105,87				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Tabela VIII.12. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco modificado (formulações 1, 5 ou 7), compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	2,60	1,30	0,07 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	48,13	24,07	1,41 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	34,07	17,03			
Total	29	84,80				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

VIII.4.3. Comparação com o leite de coco comercial

Obtida as formulações com maior aceitação, realizou-se um comparativo entre estas (formulações 3 e 5) e o leite de coco comercial (18% de gordura).

Pode-se observar que quando não foi realizada a compensação do sabor doce (**Figura VIII.5**), as formulações 3 e 5 e o produto comercial não demonstraram diferenças significativas (**Tabela VIII.13**), entretanto, houve uma tendência do produto comercial ser melhor quanto ao sabor, seguido do tratamento 3. Quando foi realizada a compensação do sabor doce (**Figura VIII.6**), devido à contribuição da glicose e glicerol nesta característica, os resultados demonstraram diferenças significativas (**Tabela VIII.14**) entre as formulações, sendo que o produto comercial foi melhor. As formulações 5 e 3 não demonstraram diferenças significativas, entretanto o tratamento 5 apresentou maiores notas.

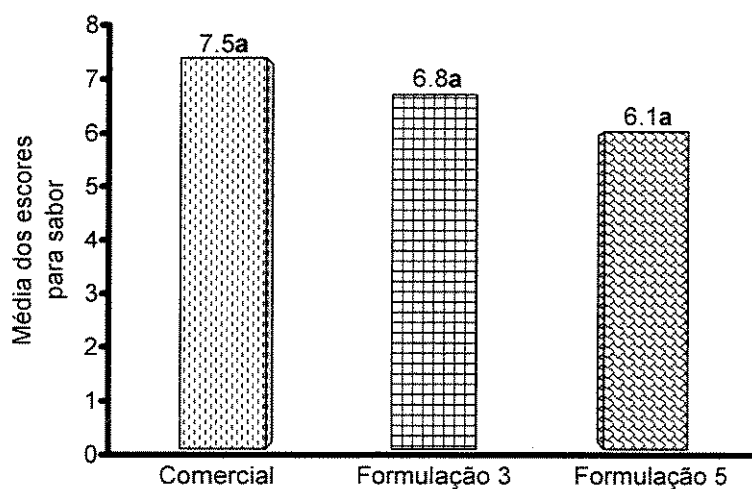


Figura VIII.5. Média dos escores para sabor entre o produto comercial, formulações 3 e 5, sem compensar o sabor doce na formulação.

Tabela VIII.13. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	9,80	4,90	2,58 ^{ns}	3,55	6,01
Prov.	9	30,80	3,42	1,80 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	34,20	1,90			
Total	29	74,80				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

Na avaliação global, o produto comercial apresentou maior nota. Quando não houve a compensação do sabor doce (**Figura VIII.7**), o produto comercial e o tratamento 3 não mostraram diferenças significativas (**Tabela VIII.15**), entretanto, quando houve a compensação do sabor doce (**Figura VIII.8**), foi o tratamento 5 que não apresentou diferenças em relação ao produto comercial. Nos dois casos, as formulações 3 e 5 não mostraram diferenças significativas (**Tabelas VIII.15 e VIII.16**), entretanto quando não houve a compensação, o tratamento 3 apresentou melhor nota, e ao compensar o sabor doce, o tratamento 5 foi melhor.

Tabela VIII.14. Análise de variância da avaliação do sabor do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	27,80	13,90	8,28**	3,55	6,01
Prov.	9	23,20	2,58	1,54 ^{ns}	2,46	3,6
Resíduo	18	30,20	1,68			
Total	29	81,20				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

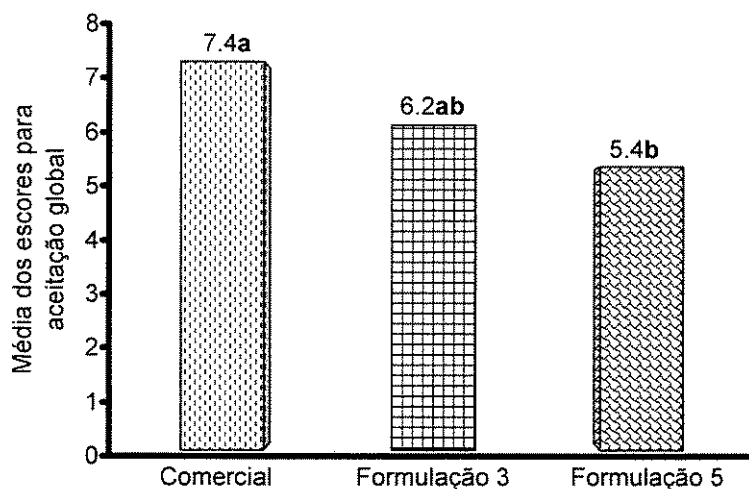


Figura VIII.6. Média dos escores para aceitação global entre o produto comercial, formulações 3 e 5, sem compensar o sabor doce na formulação.

Tabela VIII.15. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, não compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	20,27	10,13	6,74**	3,55	6,01
Prov.	9	37,33	4,15	2,76*	2,46	3,6
Resíduo	18	27,07	1,50			
Total	29	84,67				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

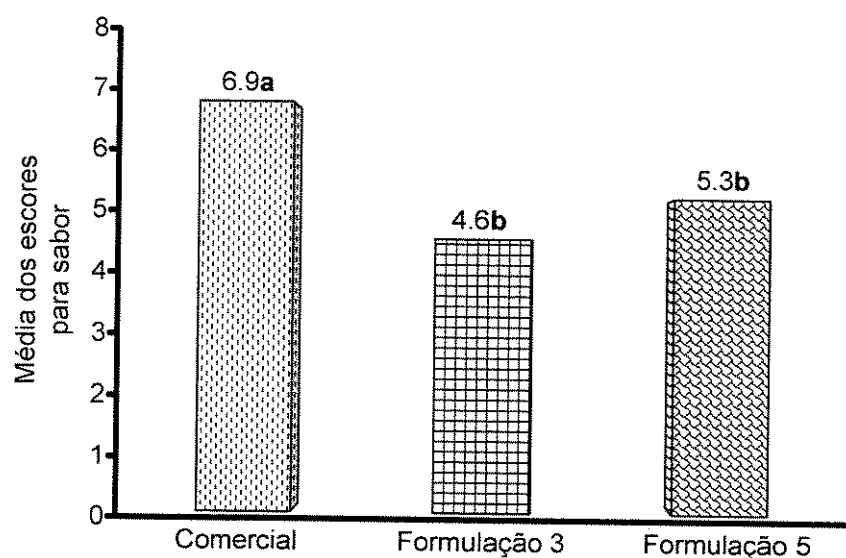


Figura VIII.7. Média dos escores para sabor entre o produto comercial, formulações 3 e 5, compensando o sabor doce na formulação.

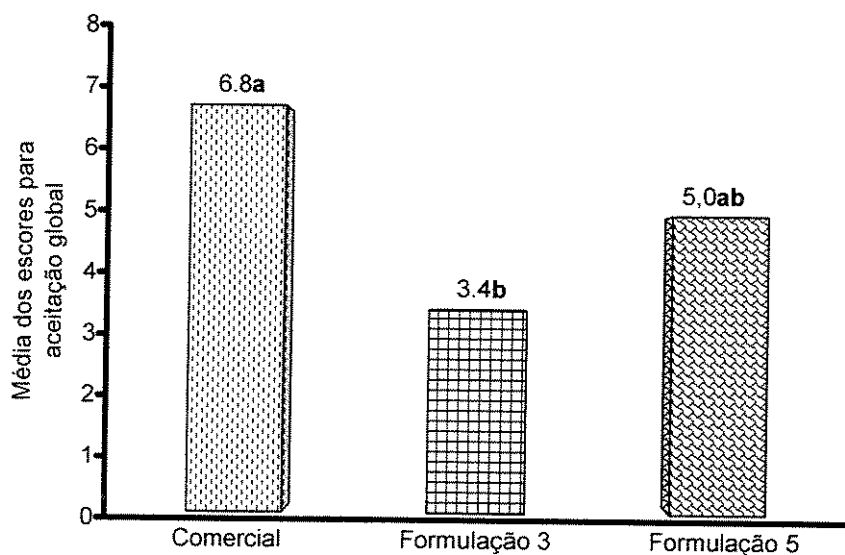


Figura VIII.8. Média dos escores para aceitação global entre o produto comercial, formulações 3 e 5, compensando o sabor doce na formulação.

Tabela VIII.16. Análise de variância da avaliação da aceitação global do manjar utilizando o leite de coco das formulações 3, 5 e produto comercial, compensando o sabor doce da formulação.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	5%	1%
Trat.	2	57,87	28,93	17,67**	3,55	6,01
Prov.	9	36,53	4,06	2,48*	2,46	3,6
Resíduo	18	29,47	1,64			
Total	29	123,87				

* Significativo ao nível de 5%.

**Significativo ao nível de 1%

^{ns} Não significativo

VIII.5. Conclusões

Pelos resultados da análise sensorial, pode-se verificar que existe uma interferência da intensidade do sabor doce em mascarar o sabor ácido do leite de coco modificado (formulações 3 e 5).

A formulação 5 ($\text{pH} = 4,5$ e $a_w = 0,970$) apresentou apresentou uma aceitação sensorial próxima ao do produto comercial, enquanto que a formulação 3 ($\text{pH} = 4,72$ e $a_w = 0,984$) apresentou uma aceitação um pouco inferior, estatisticamente diferente.

Os produtos desenvolvidos apresentaram características sensoriais próximas às do produto comercial, apesar da adição de cloreto de sódio e ácido fosfórico. Existe potencial para comercialização do produto com as modificações propostas, entretanto, dependendo da compensação ou não da doçura relativa, a aceitação por parte do consumidor será diferente.

VIII.6. Referências bibliográficas

- SCHUTZ, H. G. & PILGRIM, F. J. Sweetness of various compounds and its measurement. **Food Research**, 22:206, 1957.
- CHAIB, M. A. Métodos de avaliação da textura da carne. Tese de mestrado. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1973. 98p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. New York, ASTM, 1968. 77p.

CONCLUSÕES GERAIS

As formulações apresentando combinações de alta atividade de água e pH, não conseguiram inibir o desenvolvimento microbiano, seja ele para esporos de microrganismos inoculado (*C. sporogenes* PA3679) ou contaminantes naturais (*Bacillus* sp.). Outras combinações não apresentaram desenvolvimento, porém o intervalo entre estas condições e aquelas que favorecem o desenvolvimento dos microrganismos em questão são muitos estreitos, nas faixas limites.

Recomenda-se portanto a formulação com pH 4,50 e a_w 0,970, combinação que inibe a germinação de esporos e fornece uma margem de segurança maior durante a elaboração do produto. Conforme comprovado também através do teste em embalagens inoculadas em escala piloto;

O uso combinado da redução da a_w e pH, associado aos conservantes químicos, demonstrou um efeito satisfatório no controle microbiano, favorecido principalmente pela redução do pH, que aumenta a quantidade do composto antimicrobiano na forma não dissociada, responsável pela ação antimicrobiana;

Pelos resultados da análise sensorial, pode-se verificar que o sabor doce nas formulações com pH 4,50; a_w 0,970; 0,45% estabilizante; 0,66% NaCl; 3,3% glicerol; 7,425% glicos) e pH 4,72; a_w 0,984; 0,45% estabilizante; 0,16% NaCl; 0,8% glicerol; 1,8% glicose, mascaram o sabor ácido do leite de coco modificado, entretanto, somente a formulação 5 apresentou efeito antimicrobiano satisfatório.

Os produtos desenvolvidos apresentaram características sensoriais próximas às do produto comercial, apesar da adição dos solutos para reduzir a atividade de água e pH.

Em suma, é possível obter um produto semelhante ao produto atualmente comercializado, quanto à aceitabilidade pelo consumidor e estabilidade física, sem

o uso de conservantes químicos, aplicando-se as tecnologias opcionais demonstradas neste trabalho.

No leite de coco não acidificado é possível obter combinações de carragena e celulose microcristalina que proporcionam uma melhor estabilidade quando processado em batelada (banho-maria).

Verifica-se que a acidificação do leite de coco acaba interferindo na ação dos estabilizantes sobre a emulsão, prejudicando muito a estabilidade do produto.

Processos térmicos curtos e a não acidificação favorecem a estabilidade do produto quando são utilizadas uma mistura de carragena e celulose microcristalina, assim como misturas comerciais de estabilizantes.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Através deste trabalho inicial sobre conservação do leite de coco utilizando a tecnologia dos métodos combinados, verifica-se que é possível utilizar outras combinações de formulações, utilizando os mesmos depressores de atividade de água e redutor de pH, conforme apresentado nas tabelas em anexo. Deixando sempre claro que será necessário VALIDAR o novo método proposto, uma vez que o simples fato de utilizar um mesmo valor de pH e / ou atividade de água em formulações diferentes não garantirá a segurança do produto, pois poderá haver a influência da interação destes compostos com componentes da matéria-prima e desta forma influir sobre os mecanismos de germinação dos esporos de *Clostridium botulinum* ou outra espécie de esporulado mesófilo presente na matéria-prima ou nos ingredientes adicionados ao produto.

Com os resultados deste trabalho abre-se a oportunidade de se trabalhar com outros fatores de conservação do produto. Sendo um deles, o uso de conservantes químicos associados às barreiras utilizadas neste trabalho, uma vez que a redução do pH aumenta a efetividade de alguns conservantes, principalmente daqueles utilizados comercialmente no leite de coco.

Caberia um estudo mais detalhado sobre os estabilizantes e espessantes aplicados neste estudo, além de outros, de forma a equacionar o problema da separação de fases, principalmente pelo balanço hidrofílico e lipofílico dos diferentes estabilizantes potencialmente aplicáveis ao produto, principalmente sob esta nova condição: produto submetido a tratamento térmico mais brando, acidificado e em presença de depressores de atividade de água, além do fato de existir no mercado leite de coco com diferentes padronizações.

Associado ao estudo da estabilidade tem-se o método acelerado para avaliar a estabilidade do produto, que sem dúvida, é uma ferramenta suplementar ao estudo de vida-de-prateleira do produto, necessitando de um estudo mais

refinado, de forma a correlacionar o tempo previsto obtido através do equipamento com o tempo de separação sob condições normais de armazenamento.

Quanto à avaliação sensorial, que foi realizada somente para os ensaios que não apresentaram deterioração microbiana, e estes escolhidos através de uma única combinação de solutos, sendo que se alterava entre as formulações apenas a proporção destes em relação à quantidade de leite de coco, assim, outras combinações potencialmente inibitória para o crescimento microbiano e de melhor palatabilidade, provavelmente futuramente deverão ser VALIDADAS e avaliadas sensorialmente.

Anexos

Anexo I.1. Ficha de avaliação sensorial para escolha do ácido.

Ficha de avaliação sensorial de leite de coco acidificado

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____.

Você está recebendo 6 amostras codificadas de leite de coco acidificado.

1. Por favor, prove as amostras e avalie o quanto você gostou ou desgostou do **SABOR** utilizando a escala abaixo.

9. Gostei muitíssimo
 8. Gostei muito
 7. Gostei moderadamente
 6. Gostei levemente
 5. Nem gostei / nem desgostei
 4. Desgostei levemente
 3. Desgostei moderadamente
 2. Desgostei muito
 1. Desgostei muitíssimo

Código da amostra	Notas
452	
591	
679	
751	
939	
398	

2. Comentários

Anexo I.2. Tabelas de acidificação utilizando diferentes ácidos.

Tabela 1. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de ácido fosfórico 1N e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,81	0,0082
0,50	5,67	0,0164
0,75	5,66	0,0245
1,00	5,64	0,0327
1,25	5,59	0,0409
1,50	5,54	0,0491
1,75	5,47	0,0572
2,00	5,47	0,0654
2,25	5,44	0,0736
2,50	5,39	0,0818
2,75	5,36	0,0899
3,00	5,32	0,0981
3,25	5,29	0,1063
3,50	5,24	0,1145
3,75	5,23	0,1226
4,00	5,22	0,1308
4,25	5,21	0,1390
4,50	5,14	0,1472
4,75	5,11	0,1553
5,00	5,08	0,1635
5,25	5,06	0,1717
5,50	5,03	0,1799
5,75	5,01	0,1880
6,00	4,98	0,1962
6,25	4,96	0,2044
6,50	4,93	0,2126
6,75	4,92	0,2207
7,00	4,88	0,2289
7,25	4,87	0,2371
7,50	4,83	0,2453
7,75	4,82	0,2534
8,00	4,78	0,2616
8,25	4,77	0,2698
8,50	4,74	0,2780
8,75	4,72	0,2861
9,00	4,69	0,2943
9,25	4,67	0,3025
9,50	4,64	0,3107
9,75	4,62	0,3188
10,00	4,59	0,3270
10,25	4,57	0,3352
10,50	4,54	0,3434
10,75	4,54	0,3515
11,00	4,51	0,3597
11,25	4,48	0,3679
11,50	4,46	0,3761
11,75	4,46	0,3842

12,00	4,41	0,3924
12,25	4,39	0,4006
12,50	4,38	0,4088
12,75	4,34	0,4169
13,00	4,33	0,4251
13,25	4,31	0,4333
13,50	4,28	0,4415
13,75	4,26	0,4496
14,00	4,23	0,4578
14,25	4,21	0,4660
14,50	4,20	0,4742
14,75	4,16	0,4823
15,00	4,13	0,4905
15,25	4,11	0,4987
15,50	4,10	0,5069
15,75	4,06	0,5150
16,00	4,05	0,5232
16,25	4,03	0,5314
16,50	4,00	0,5396
16,75	3,96	0,5477
17,00	3,95	0,5559
17,25	3,93	0,5641
17,50	3,91	0,5723
17,75	3,88	0,5804
18,00	3,87	0,5886
18,25	3,85	0,5968
18,50	3,82	0,6050
18,75	3,80	0,6131
19,00	3,78	0,6213
19,25	3,77	0,6295
19,50	3,73	0,6377
19,75	3,70	0,6458
20,00	3,68	0,6540

Tabela 2. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de ácido láctico 1N e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,71	0,0225
0,50	5,64	0,0450
0,75	5,55	0,0676
1,00	5,43	0,0901
1,25	5,35	0,1126
1,50	5,28	0,1351
1,75	5,10	0,1576
2,00	5,13	0,1802
2,25	5,05	0,2027
2,50	4,98	0,2252
2,75	4,93	0,2477
3,00	4,89	0,2702
3,25	4,83	0,2928
3,50	4,76	0,3153
3,75	4,70	0,3378
4,00	4,65	0,3603
4,25	4,61	0,3828
4,50	4,56	0,4054
4,75	4,53	0,4279
5,00	4,50	0,4504
5,25	4,45	0,4729
5,50	4,42	0,4954
5,75	4,40	0,5180
6,00	4,35	0,5405
6,25	4,32	0,5630
6,50	4,28	0,5855
6,75	4,25	0,6080
7,00	4,22	0,6306
7,25	4,20	0,6531
7,50	4,19	0,6756
7,75	4,15	0,6981
8,00	4,14	0,7206
8,25	4,12	0,7432
8,50	4,17	0,7657
8,75	4,09	0,7882
9,00	4,05	0,8107
9,25	4,04	0,8332
9,50	4,02	0,8558
9,75	3,99	0,8783
10,00	3,96	0,9008
10,25	3,92	0,9233
10,50	3,91	0,9458
10,75	3,89	0,9684
11,00	3,87	0,9909

11,25	3,86	1,0134
11,50	3,84	1,0359
11,75	3,84	1,0584
12,00	3,82	1,0810
12,25	3,81	1,1035
12,50	3,79	1,1260
12,75	3,79	1,1485
13,00	3,78	1,1710
13,25	3,76	1,1936
13,50	3,76	1,2161
13,75	3,74	1,2386
14,00	3,73	1,2611
14,25	3,73	1,2836
14,50	3,71	1,3062
14,75	3,69	1,3287
15,00	3,69	1,3512
15,25	3,68	1,3737

Tabela 3. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de **ácido cítrico** 1N e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,72	0,0160
0,50	5,66	0,0320
0,75	5,46	0,0480
1,00	5,37	0,0640
1,25	5,36	0,0800
1,50	5,27	0,0960
1,75	5,17	0,1120
2,00	5,12	0,1280
2,25	5,09	0,1440
2,50	5,04	0,1600
2,75	4,97	0,1760
3,00	4,90	0,1920
3,25	4,87	0,2080
3,50	4,85	0,2240
3,75	4,80	0,2400
4,00	4,77	0,2560
4,25	4,76	0,2720
4,50	4,69	0,2880
4,75	4,66	0,3040
5,00	4,61	0,3200
5,25	4,51	0,3360
5,50	4,48	0,3520
5,75	4,44	0,3680
6,00	4,43	0,3840
6,25	4,39	0,4000
6,50	4,38	0,4160
6,75	4,36	0,4320
7,00	4,30	0,4480
7,25	4,31	0,4640
7,50	4,28	0,4800
7,75	4,26	0,4960
8,00	4,25	0,5120
8,25	4,23	0,5280
8,50	4,20	0,5440
8,75	4,18	0,5600
9,00	4,17	0,5760
9,25	4,15	0,5920
9,50	4,12	0,6080
9,75	4,10	0,6240
10,00	4,09	0,6400
10,25	4,07	0,6560
10,50	4,06	0,6720
10,75	4,04	0,6880
11,00	4,02	0,7040

11,25	4,01	0,7200
11,50	3,99	0,7360
11,75	3,98	0,7520
12,00	3,98	0,7680
12,25	3,94	0,7840
12,50	3,94	0,8000
12,75	3,93	0,8160
13,00	3,91	0,8320
13,25	3,90	0,8480
13,50	3,88	0,8640
13,75	3,86	0,8800
14,00	3,86	0,8960
14,25	3,85	0,9120
14,50	3,83	0,9280
14,75	3,82	0,9440
15,00	3,80	0,9600
15,25	3,80	0,9760
15,50	3,78	0,9920
15,75	3,77	1,0080
16,00	3,75	1,0240
16,25	3,75	1,0400
16,50	3,74	1,0560
16,75	3,72	1,0720
17,00	3,72	1,0880
17,25	3,71	1,1040
17,50	3,69	1,1200
17,75	3,69	1,1360
18,00	3,67	1,1520

Tabela 4. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de **ácido málico** 1N e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,64	0,0168
0,50	5,59	0,0335
0,75	5,51	0,0503
1,00	5,41	0,0670
1,25	5,34	0,0838
1,50	5,22	0,1006
1,75	5,17	0,1173
2,00	5,10	0,1341
2,25	5,02	0,1508
2,50	4,97	0,1676
2,75	4,92	0,1844
3,00	4,88	0,2011
3,25	4,84	0,2179
3,50	4,79	0,2346
3,75	4,74	0,2514
4,00	4,71	0,2682
4,25	4,67	0,2849
4,50	4,59	0,3017
4,75	4,62	0,3184
5,00	4,58	0,3352
5,25	4,53	0,3520
5,50	4,48	0,3687
5,75	4,45	0,3855
6,00	4,42	0,4022
6,25	4,37	0,4190
6,50	4,35	0,4358
6,75	4,32	0,4525
7,00	4,22	0,4693
7,25	4,21	0,4860
7,50	4,19	0,5028
7,75	4,16	0,5196
8,00	4,14	0,5363
8,25	4,12	0,5531
8,50	4,09	0,5698
8,75	4,07	0,5866
9,00	4,06	0,6034
9,25	4,04	0,6201
9,50	4,03	0,6369
9,75	4,01	0,6536
10,00	3,98	0,6704
10,25	3,96	0,6872
10,50	3,95	0,7039
10,75	3,93	0,7207
11,00	3,91	0,7374

11,25	3,90	0,7542
11,50	3,88	0,7710
11,75	3,88	0,7877
12,00	3,86	0,8045
12,25	3,85	0,8212
12,50	3,83	0,8380
12,75	3,82	0,8548
13,00	3,80	0,8715
13,25	3,80	0,8883
13,50	3,78	0,9050
13,75	3,77	0,9218
14,00	3,77	0,9386
14,25	3,75	0,9553
14,50	3,74	0,9721
14,75	3,72	0,9888
15,00	3,72	1,0056
15,25	3,70	1,0224
15,50	3,70	1,0391
15,75	3,68	1,0559
16,40	3,67	1,0995

Tabela 5. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de **ácido tartárico 1N** e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,65	0,0188
0,50	5,58	0,0375
0,75	5,48	0,0563
1,00	5,32	0,0750
1,25	5,26	0,0938
1,50	5,15	0,1126
1,75	5,03	0,1313
2,00	4,95	0,1501
2,25	4,86	0,1688
2,50	4,83	0,1876
2,75	4,76	0,2064
3,00	4,68	0,2251
3,25	4,61	0,2439
3,50	4,54	0,2626
3,75	4,52	0,2814
4,00	4,46	0,3002
4,25	4,39	0,3189
4,50	4,34	0,3377
4,75	4,31	0,3564
5,00	4,25	0,3752
5,25	4,22	0,3940
5,50	4,17	0,4127
5,75	4,12	0,4315
6,00	4,09	0,4502
6,25	4,05	0,4690
6,50	4,02	0,4878
6,75	4,01	0,5065
7,00	3,97	0,5253
7,25	3,93	0,5440
7,50	3,91	0,5628
7,75	3,88	0,5816
8,00	3,86	0,6003
8,25	3,83	0,6191
8,50	3,81	0,6378
8,75	3,79	0,6566
9,00	3,77	0,6754
9,25	3,74	0,6941
9,50	3,71	0,7129
9,75	3,68	0,7316
10,00	3,65	0,7504

Tabela 6. Alteração dos valores de pH do leite de coco (padronizado para 25% de gordura) com o a adição de **ácido acético 1N** e sua respectiva quantidade em gramas.

Volume da solução ácida (ml)	pH	Massa do ácido (g)
0,00	5,77	0,0000
0,25	5,58	0,0150
0,50	5,48	0,0300
0,75	5,46	0,0450
1,00	5,30	0,0601
1,25	5,29	0,0751
1,50	5,22	0,0901
1,75	5,15	0,1051
2,00	5,10	0,1201
2,25	5,07	0,1351
2,50	5,02	0,1501
2,75	4,91	0,1651
3,00	4,88	0,1802
3,25	4,87	0,1952
3,50	4,85	0,2102
3,75	4,83	0,2252
4,00	4,82	0,2402
4,25	4,78	0,2552
4,50	4,75	0,2702
4,75	4,74	0,2852
5,00	4,70	0,3003
5,25	4,69	0,3153
5,50	4,67	0,3303
5,75	4,65	0,3453
6,00	4,64	0,3603
6,25	4,62	0,3753
6,50	4,60	0,3903
6,75	4,57	0,4053
7,00	4,55	0,4204
7,25	4,54	0,4354
7,50	4,54	0,4504
7,75	4,52	0,4654
8,00	4,51	0,4804
8,25	4,51	0,4954
8,50	4,49	0,5104
8,75	4,47	0,5254
9,00	4,47	0,5405
9,25	4,44	0,5555
9,50	4,44	0,5705
9,75	4,43	0,5855
10,00	4,43	0,6005
10,25	4,42	0,6155
10,50	4,41	0,6305
10,75	4,39	0,6455
11,00	4,38	0,6606

11,25	4,38	0,6756
11,50	4,38	0,6906
11,75	4,36	0,7056
12,00	4,35	0,7206
12,25	4,33	0,7356
12,50	4,33	0,7506
12,75	4,33	0,7656
13,00	4,33	0,7807
13,25	4,33	0,7957
13,50	4,32	0,8107
13,75	4,32	0,8257
14,00	4,32	0,8407
14,25	4,30	0,8557
14,50	4,30	0,8707
14,75	4,28	0,8857
15,00	4,27	0,9008
15,25	4,27	0,9158
15,50	4,27	0,9308
15,75	4,27	0,9458
16,00	4,25	0,9608
16,25	4,24	0,9758
16,50	4,22	0,9908
16,75	4,22	1,0058
17,00	4,20	1,0209
17,25	4,20	1,0359
17,50	4,19	1,0509
17,75	4,19	1,0659
18,00	4,19	1,0809
18,25	4,19	1,0959
18,50	4,17	1,1109
18,75	4,17	1,1259
19,00	4,17	1,1410
19,25	4,17	1,1560
19,50	4,17	1,1710
19,75	4,15	1,1860
20,00	4,15	1,2010
20,25	4,15	1,2160
20,50	4,14	1,2310
20,75	4,14	1,2460
21,00	4,14	1,2611

Anexo III.1. Fotografias do sistema de pasteurização utilizando um trocador de calor tubular.

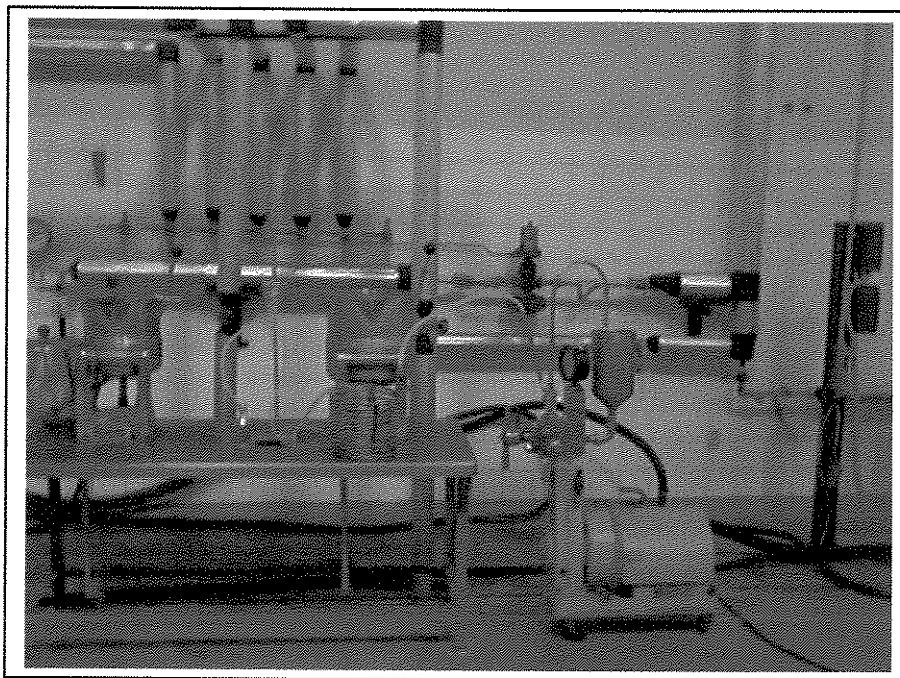


Figura 1. Homogeneizador acoplado ao pasteurizador (trocador de calor tubular).

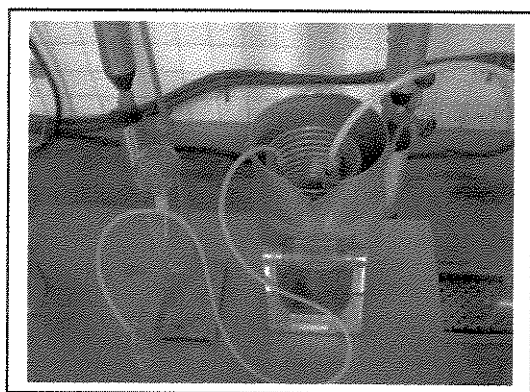


Figura 3. Serpentina dentro do tacho de aquecimento.

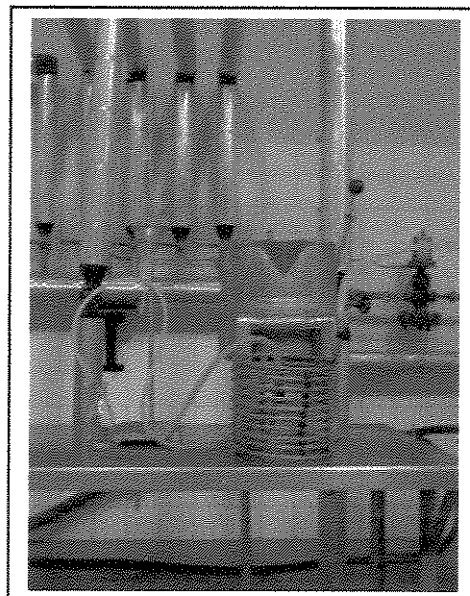


Figura 2. Detalhe da serpentina tubular em aço inox.

Anexo III.2. Tabelas de temperaturas do produto dentro do trocador tubular.**Tabela 1.** Valores de temperatura obtidos experimentalmente no trocador tubular à distância de **77** cm da entrada da serpentina.

Tempo (s)	Temperaturas (°C)			
	Reservatório	Entrada	Interior	Saída
0,00	68,95	88,25	92,42	85,13
2,00	68,91	90,01	92,92	92,64
4,00	68,84	89,53	93,59	95,62
6,00	68,89	86,96	93,48	97,06
8,00	68,91	85,69	93,16	97,38
10,00	68,93	85,41	93,44	97,57
12,00	68,91	85,15	93,48	97,53
14,00	68,95	80,22	93,63	97,68
16,00	68,91	46,53	92,66	97,96
18,00	68,89	35,99	90,73	98,04
20,00	68,91	30,8	79,69	97,44
22,00	68,89	29,9	74,67	97,59
24,00	68,91	29,95	76,01	97,36
26,00	68,91	31,99	83,17	97,55
28,00	68,93	36,18	70,42	97,49
30,00	68,91	41,09	66,42	97,46
32,00	68,91	43,68	66,13	97,72
34,00	68,84	48,12	65,18	97,53
36,00	68,89	50,34	68,35	97,64
38,00	68,86	51,28	69,88	97,59
40,00	68,91	51,28	69,72	97,64
42,00	68,86	51,95	66,7	97,59
44,00	68,86	52,42	69,25	97,57
46,00	68,89	53,9	69,07	97,55
48,00	68,91	53,9	67,74	97,51
50,00	68,86	55,29	70,28	97,64
52,00	68,84	56,3	67,28	97,49
54,00	68,84	56,93	68,23	97,19
56,00	68,86	57,2	70,69	96,54
58,00	68,89	57,3	69,22	96,33
60,00	68,93	57,89	68,39	95,81
62,00	68,84	58,79	69,31	95,74
64,00	68,84	59,25	67,26	96,02
66,00	68,84	59,11	68,16	96,05
68,00	68,86	59,13	68,91	95,9
70,00	68,86	59,29	69,81	95,77
72,00	68,86	59,8	71,31	95,62
74,00	68,86	60,1	71	95,77
76,00	68,89	60,37	71,34	95,85
78,00	68,82	60,78	71,36	95,68
80,00	68,89	60,49	71,23	95,57
82,00	68,91	61,1	70,6	95,53
84,00	68,91	61,79	72,28	95,55
86,00	68,98	61,7	71,54	95,53

88,00	68,98	61,99	71,97	95,44
90,00	68,95	62,29	71,72	95,53
92,00	68,93	62,59	70,6	95,38
94,00	69	62,15	72,91	95,42
96,00	68,98	62,2	74,25	95,4
98,00	68,91	62,06	72,28	95,42
100,00	68,95	62,04	72,97	95,38
102,00	68,98	62,2	71,56	95,46
104,00	69	62,27	71,65	95,62
106,00	69,02	62,15	73,33	95,62
108,00	68,93	62,56	73,46	95,64
110,00	69	62,7	73,49	95,53
112,00	69	62,65	73,06	95,59
114,00	68,93	62,91	71,45	95,57
116,00	68,89	62,7	73,6	95,66
118,00	68,89	62,91	73,82	95,66
120,00	68,93	63	73,33	95,62
122,00	68,91	62,77	73,87	95,66
124,00	68,91	62,95	72,05	95,51
126,00	68,93	62,77	73,44	95,59
128,00	68,86	62,72	73,84	95,68
130,00	68,86	62,77	73,31	95,59
132,00	68,77	62,88	73	95,53
134,00	68,84	62,95	72,3	95,64
136,00	68,82	63,43	72,1	95,72
138,00	68,84	63,75	73,84	95,64
140,00	68,86	63,57	73,42	95,55
142,00	68,86	63,63	73,35	95,55
144,00	68,84	63,52	73,38	95,57
146,00	68,77	63,84	71,83	95,53
148,00	68,82	63,88	74,58	95,66
150,00	68,8	63,86	75,07	95,59
152,00	68,8	63,72	75,03	95,4
154,00	68,73	64,25	74,38	95,46
156,00	68,75	64,34	72,84	95,59
158,00	68,73	64,07	74,4	95,62
160,00	68,68	64,34	75,9	95,77
162,00	68,68	64,02	75	95,59
164,00	68,73	64,07	74,49	95,51
166,00	68,71	64,07	73,87	95,53
168,00	68,73	63,97	73,22	95,64
170,00	68,73	64,11	75,25	95,66
172,00	68,73	64,27	75,61	95,53
174,00	68,71	64,11	75,18	95,51
176,00	68,71	64,22	74,85	95,66
178,00	68,64	64,25	73,46	95,68
180,00	68,71	64,29	74,56	95,77
182,00	68,64	64,11	75,74	95,66
184,00	68,66	64,2	75,72	95,62
186,00	68,66	63,97	74,89	95,57
188,00	68,59	63,95	73,58	95,62

190,00	68,5	64,04	74,71	95,7
192,00	68,48	64,11	75,96	95,62
194,00	68,55	64,59	75,58	95,51
196,00	68,55	64,36	75,34	95,44
198,00	68,55	64,29	74,58	95,51
200,00	68,53	64,63	74,2	95,59
202,00	68,5	64,72	76,36	95,64
204,00	68,5	64,57	76,76	95,49
206,00	68,5	65	76,12	95,49
208,00	68,5	64,86	75,36	95,46
210,00	68,53	64,7	74,02	95,53
212,00	68,53	64,84	76,1	95,62
214,00	68,53	64,77	76,79	95,59
216,00	68,53	64,57	76,43	95,53
218,00	68,48	64,66	75,38	95,53
220,00	68,48	64,59	74,16	95,53
222,00	68,46	64,66	75,05	95,64
224,00	68,41	64,97	76,94	95,64
226,00	68,35	64,91	76,74	95,51
228,00	68,28	64,86	76,18	95,51
230,00	68,35	65,02	74,92	95,55
232,00	68,32	64,88	74,13	95,7
234,00	68,3	64,95	76,14	95,7
236,00	68,35	65,02	76,79	95,57
238,00	68,32	64,93	76,47	95,46
240,00	68,26	64,79	75,36	95,53
242,00	68,07	64,88	74,02	95,51
244,00	67,06	64,84	75,18	95,62
246,00	64,79	64,97	77,41	95,64
248,00	63,13	64,88	77,14	95,55
250,00	61,19	64,86	76,43	95,55
252,00	59,94	64,79	71,63	95,53
254,00	59,2	64,93	70,48	95,01
256,00	58,88	65,11	70,62	94,99
258,00	59,36	65,27	71,47	94,99
260,00	59,29	65,47	72,66	94,97
262,00	59,23	65,77	73,87	95,08
264,00	58,93	65,99	75,09	95,38
266,00	59,25	66,33	76,32	95,62
268,00	59,11	66,67	77,43	96,09
270,00	59,16	67,04	78,52	96,33
272,00	59,16	67,04	78,52	96,33

Dados estatísticos do intervalo entre 210 a 242 segundos do início da coleta de dados.

Média	64,8	64,82	75,62	95,57
Desvios	0,12	0,14	1,07	0,07
Variância	0,015	0,019	1,079	0,004

Tabela 2. Valores de temperatura obtidos experimentalmente no trocador tubular à distância de **228** cm da entrada da serpentina.

Tempo (s)	Temperatura (°C)			
	Reservatório	Entrada	Interior	Saída
0,00	71,31	86,24	90,6	95,62
2,00	71,34	74,42	91,1	95,74
4,00	71,36	57,41	91,1	97,12
6,00	71,36	55,96	90,6	97,72
8,00	71,40	53,72	90,6	97,79
10,00	71,38	54,80	82,7	97,85
12,00	71,43	58,15	75,6	97,96
14,00	71,38	61,56	73,4	98,00
16,00	71,38	63,13	71,9	97,98
18,00	71,45	64,32	73,4	97,98
20,00	71,49	64,97	75,4	98,07
22,00	71,47	65,38	76,6	97,34
24,00	71,54	66,06	77,8	96,20
26,00	71,49	66,67	78,0	95,59
28,00	71,56	67,33	79,1	95,08
30,00	71,61	67,42	79,3	95,10
32,00	71,58	67,60	79,6	95,06
34,00	71,54	67,65	80,6	95,29
36,00	71,61	68,07	80,7	95,42
38,00	71,63	68,37	80,8	95,57
40,00	71,54	68,26	80,8	95,74
42,00	71,61	68,26	80,8	95,64
44,00	71,61	68,39	81,1	95,62
46,00	71,61	68,66	81,0	95,66
48,00	71,61	69,02	81,4	95,79
50,00	71,63	69,11	81,2	95,87
52,00	71,72	69,07	81,4	95,96
54,00	71,74	69,18	81,3	95,72
56,00	71,74	69,43	81,9	95,77
58,00	71,76	69,22	82,0	95,90
60,00	71,76	69,58	81,6	96,02
62,00	71,79	69,27	81,9	96,13
64,00	71,76	69,20	82,1	95,87
66,00	71,85	69,20	81,9	95,85
68,00	71,83	69,38	82,2	95,98
70,00	71,85	69,45	82,0	96,09
72,00	71,88	69,47	81,9	96,22
74,00	71,90	69,65	82,2	96,09
76,00	71,88	69,79	82,3	96,00
78,00	71,92	69,90	82,1	96,05
80,00	71,94	70,03	81,8	96,15
82,00	71,94	69,94	82,3	96,22
84,00	71,97	70,01	82,3	96,24
86,00	71,94	70,01	82,5	96,13
88,00	72,03	70,17	82,5	96,07
90,00	72,05	70,39	82,5	96,07

92,00	71,99	70,33	81,8	96,11
94,00	72,08	70,08	82,4	96,22
96,00	72,03	70,19	82,3	95,96
98,00	72,05	70,24	82,4	95,85
100,00	72,12	70,30	81,7	95,96
102,00	72,10	70,69	81,1	96,07
104,00	72,23	70,60	81,6	96,13
106,00	72,28	70,44	81,7	96,09
108,00	72,21	70,55	82,1	96,05
110,00	72,14	70,69	82,2	95,98
112,00	72,14	70,66	82,0	96,11
114,00	72,35	70,69	82,0	96,18
116,00	72,19	70,64	82,4	96,26
118,00	72,19	70,64	82,5	96,05
120,00	72,19	70,75	82,7	96,05
122,00	72,19	70,60	82,2	96,13
124,00	72,19	71,16	82,1	96,22
126,00	72,14	71,18	82,1	96,33
128,00	72,17	70,98	81,9	96,11
130,00	72,14	71,09	82,0	95,98
132,00	72,14	71,34	82,0	96,07
134,00	72,08	71,36	81,8	96,24
136,00	72,14	71,52	82,0	96,33
138,00	72,10	71,31	81,7	96,28
140,00	72,10	71,20	81,8	96,05
142,00	72,03	71,09	82,1	96,11
144,00	72,05	71,36	81,5	96,20
146,00	72,05	71,25	81,9	96,30
148,00	72,10	71,23	82,5	96,37
150,00	72,08	71,20	82,7	96,20
152,00	72,03	71,07	82,8	96,11
154,00	72,03	71,29	82,2	96,22
156,00	72,03	71,20	82,2	96,28
158,00	72,08	71,29	82,8	96,41
160,00	72,05	71,25	82,3	96,30
162,00	71,97	71,20	82,3	96,07
164,00	71,99	71,31	82,2	96,13
166,00	71,90	71,47	81,9	96,22
168,00	71,88	71,40	82,2	96,30
170,00	71,99	71,56	82,1	96,30
172,00	71,99	71,38	82,2	96,09
174,00	71,65	71,56	82,3	96,05
176,00	71,49	71,74	81,5	96,13
178,00	71,38	71,72	81,9	96,33
180,00	71,58	71,58	82,6	96,35
182,00	71,47	71,63	83,0	96,24
184,00	71,27	71,43	82,6	96,18
186,00	71,16	71,47	81,6	96,18
188,00	71,36	71,58	81,8	96,24
190,00	71,31	71,61	82,5	96,35
192,00	71,23	71,31	82,9	96,22

194,00	71,29	71,40	83,0	96,22
196,00	71,40	71,47	82,3	96,22
198,00	71,25	71,43	81,4	96,22
200,00	71,29	71,36	81,9	96,35
202,00	71,29	71,43	82,1	96,28
204,00	71,38	71,40	82,2	96,02
206,00	71,38	71,61	82,2	95,66
208,00	71,34	71,40	81,7	96,07
210,00	71,23	71,65	81,7	96,13
212,00	71,07	71,56	82,2	96,22
214,00	71,16	71,34	82,3	96,09
216,00	71,05	71,49	82,8	95,92
218,00	69,92	71,36	83,1	96,02
220,00	67,17	71,25	83,2	96,15
222,00	64,32	70,98	84,0	96,30
224,00	61,15	71,31	84,2	96,24
226,00	59,39	71,29	84,3	96,05
228,00	58,19	71,25	84,1	96,13
230,00	57,43	71,25	83,8	96,20
232,00	57,11	71,25	84,1	96,28
234,00	56,67	71,27	84,2	96,39
236,00	56,21	71,25	84,1	96,22
238,00	55,77	71,31	84,3	96,20
240,00	55,77	71,38	83,8	96,26
242,00	55,36	71,25	84,0	96,35
244,00	55,82	71,18	84,1	96,41
246,00	56,14	71,20	84,3	96,13
248,00	56,00	71,36	84,3	96,05
250,00	56,10	71,61	84,0	95,90
252,00	54,90	71,29	84,5	95,64
254,00	55,10	71,20	84,8	95,18
256,00	55,10	71,20	84,8	95,18

Dados estatísticos do intervalo entre 120 a 214 segundos do início da coleta de dados.

Média	71,75	71,35	82,15	96,19
Desvios	0,38	0,23	0,40	0,13
Variância	0,148	0,051	0,159	0,017

Tabela 3. Valores de temperatura obtidos experimentalmente no trocador tubular à distância de 325 cm da entrada da serpentina.

Tempo (s)	Temperatura (°C)			
	Reservatório	Entrada	Interior	Saída
0,00	70,69	85,15	92,46	97,44
2,00	70,66	86,55	92,36	97,66
4,00	70,73	82,38	92,33	98,22
6,00	70,66	43,2	92,05	98,24
8,00	70,62	46,22	92,29	97,21
10,00	70,62	45,49	93,22	97,81
12,00	70,66	46,69	93,63	97,89
14,00	70,62	53,16	93,59	97,94
16,00	70,6	58,33	89,23	97,96
18,00	70,6	60,14	83,22	97,96
20,00	70,66	61,92	85,17	97,96
22,00	70,73	62,75	87,18	97,96
24,00	70,73	63,47	87,55	98
26,00	70,71	63,09	86,13	98,07
28,00	70,62	64,04	85,32	97,74
30,00	70,6	64,54	82,18	97,19
32,00	70,64	65,25	82,4	97,4
34,00	70,64	65,22	82,67	97,66
36,00	70,64	65,36	82,27	97,21
38,00	70,69	65,63	82,82	96,58
40,00	70,69	65,9	83,46	96,3
42,00	70,66	65,95	81,9	96,09
44,00	70,69	66,45	82,09	96,13
46,00	70,73	66,56	81,81	96,18
48,00	70,73	66,88	83,17	95,94
50,00	70,66	67,01	83,19	95,94
52,00	70,69	67,19	82,56	95,85
54,00	70,71	67,4	83,08	95,74
56,00	70,66	67,31	82,93	95,83
58,00	70,73	67,28	82,78	95,85
60,00	70,75	67,24	83,08	95,81
62,00	70,73	67,31	83,06	95,81
64,00	70,73	67,46	83,15	95,59
66,00	70,75	67,6	83,46	95,59
68,00	70,73	67,62	82,47	95,64
70,00	70,75	67,65	82,89	95,85
72,00	70,75	68,05	83,19	95,77
74,00	70,78	67,87	83,15	95,59
76,00	70,73	68,01	83,11	95,77
78,00	70,75	68,19	83,22	95,74
80,00	70,78	68,07	83,35	95,77
82,00	70,8	68,07	83,61	95,79
84,00	70,8	68,44	82,89	95,68
86,00	70,8	68,48	83,02	95,62
88,00	70,8	68,75	83,74	95,74
90,00	70,8	68,68	83,74	95,7

92,00	70,8	68,64	83,61	95,83
94,00	70,84	68,57	83,48	95,92
96,00	70,84	68,98	83,61	95,87
98,00	70,87	68,73	84,14	95,9
100,00	70,87	69	84,07	95,72
102,00	70,84	69,11	83,59	95,74
104,00	70,87	69,25	83,41	95,7
106,00	70,91	68,93	83,37	95,66
108,00	70,89	68,95	83,63	95,85
110,00	70,91	68,95	84,38	95,72
112,00	70,87	69,11	84,14	95,62
114,00	70,89	69,04	84,29	95,49
116,00	70,93	69,52	84,45	95,44
118,00	70,91	69,22	84,51	95,66
120,00	70,96	69,45	84,64	95,83
122,00	70,89	69,25	84,29	95,72
124,00	70,91	69,72	84,36	95,7
126,00	70,89	69,34	84,42	95,55
128,00	70,91	69,38	84,58	95,68
130,00	70,91	69,79	84,73	95,85
132,00	70,93	69,52	84,45	95,79
134,00	70,96	70,01	84,4	95,62
136,00	70,96	70,19	84,64	95,53
138,00	70,93	70,28	84,51	95,53
140,00	70,91	70,01	84,71	95,79
142,00	70,98	70,1	85,65	95,57
144,00	70,96	69,88	84,67	95,7
146,00	70,98	69,81	84,71	95,68
148,00	70,98	69,85	85,06	95,57
150,00	70,93	69,76	84,84	95,68
152,00	71	69,99	84,77	95,79
154,00	71	69,7	84,69	95,72
156,00	70,91	69,92	84,86	95,68
158,00	70,93	70,17	84,86	95,64
160,00	70,89	69,74	84,91	95,64
162,00	70,84	70,17	84,95	95,72
164,00	70,78	69,76	84,6	95,72
166,00	70,73	70,08	84,91	95,64
168,00	70,69	69,88	85,39	95,55
170,00	70,71	70,1	85,54	95,49
172,00	70,71	70,28	85,76	95,62
174,00	70,69	69,99	85,54	95,59
176,00	70,69	70,17	85,61	95,59
178,00	70,69	70,37	85,43	95,62
180,00	70,69	70,35	85,5	95,55
182,00	70,64	70,17	85,45	95,62
184,00	70,64	70,3	85,56	95,66
186,00	70,69	70,44	85,17	95,57
188,00	70,69	70,62	85,32	95,51
190,00	70,69	70,71	85,34	95,51
192,00	70,69	70,64	85,28	95,57

194,00	70,64	70,12	85,15	95,7
196,00	70,66	70,26	85,26	95,64
198,00	70,71	70,33	85,3	95,59
200,00	70,66	70,42	85,48	95,57
202,00	70,64	70,57	85,5	95,53
204,00	70,64	70,26	85,34	95,7
206,00	70,57	70,21	85,45	95,77
208,00	70,55	70,15	84,95	95,77
210,00	70,42	69,99	85,28	95,72
212,00	70,51	70,35	85,69	95,77
214,00	70,62	70,24	85,56	96,05
216,00	69,4	70,57	85,21	96,07
218,00	66,67	70,39	85,61	96,07
220,00	63,54	70,24	86,02	96,02
222,00	60,87	70,12	86,13	95,92
224,00	58,33	70,12	85,76	95,92
226,00	56,74	70,03	86,09	96,05
228,00	56,7	70,28	86,37	95,96
230,00	55,27	70,19	86,37	95,94
232,00	54,27	70,46	86,2	95,98
234,00	53,9	70,48	86,18	95,98
236,00	54,02	70,35	86,29	96,05
238,00	54,53	70,28	86,44	96,05
240,00	54,46	70,24	86,07	96,02
242,00	55,7	70,26	86,09	96,05
244,00	55,68	70,19	86,24	96,02
246,00	57,43	70,33	86,11	96,07
248,00	57,85	70,75	86,61	96,09
250,00	57,89	70,71	86,74	96,15
252,00	57,99	70,82	86,66	96,13
254,00	59,16	70,71	86,92	96
256,00	58,86	70,78	86,44	95,9
258,00	57,18	70,75	86,09	95,49
260,00	56,56	70,82	86,15	95,23
262,00	56,7	70,91	86,81	95,01
264,00	55,82	71,07	87,49	94,86
266,00	55,01	71,25	88,16	94,75
268,00	53,97	71,49	88,75	94,62
270,00	52,95	71,79	89,36	94,58
272,00	52,81	72,03	89,8	94,45
274,00	53,23	72,3	90,34	94,39
276,00	52,6	72,73	90,84	94,26
278,00	52,11	73,04	91,16	94,21
280,00	52	73,4	91,53	94,24
282,00	51,21	73,8	91,88	94,17
284,00	51,35	74,13	92,18	94,02
286,00	51,09	74,51	92,46	94,02
288,00	50,2	74,85	92,7	93,93
290,00	49,64	75,25	92,94	93,83
292,00	49,97	75,58	93,22	93,72
294,00	49,92	75,96	93,48	93,54

296,00	49,67	76,27	93,72	93,33
298,00	49,34	76,67	93,98	93,09
300,00	49,06	76,96	94,11	92,83
302,00	48,57	77,32	94,32	92,55
304,00	48,29	77,58	94,52	92,23
306,00	48,87	77,87	94,67	91,9
308,00	48,15	78,16	94,86	91,58
310,00	47,8	78,43	95,01	91,21
312,00	47,61	78,58	95,12	90,9
314,00	47,61	78,58	95,12	90,9

Dados estatísticos do intervalo entre 168 a 216 segundos do início da coleta de dados.

Média	70,60	70,30	85,40	95,65
Desvio	0,26	0,21	0,18	0,15
Variância	0,067	0,045	0,033	0,021

Tabela 4. Valores de temperatura obtidos experimentalmente no trocador tubular à distância de **543** cm da entrada da serpentina.

Tempo (s)	Temperatura (°C)			
	Reservatório	Entrada	Interior	Saída
0,00	68,93	90,69	97,42	97,83
2,00	68,93	88,77	97,06	97,96
4,00	68,95	78,96	97,04	98,24
6,00	68,93	35,22	96,67	97,23
8,00	68,89	36,27	96,78	97,62
10,00	68,95	42,14	96,95	97,85
12,00	68,93	49,29	96,97	97,89
14,00	68,95	53,81	96,99	97,96
16,00	68,93	55,13	96,91	97,92
18,00	68,91	56,97	96,76	97,94
20,00	68,91	59,29	96,71	97,92
22,00	68,91	60,69	96,45	97,85
24,00	68,93	61,47	88,62	97,83
26,00	68,93	62,04	90,62	97,81
28,00	68,93	62,24	91,73	97,77
30,00	68,89	62,81	91,66	95,01
32,00	68,93	63,02	90,79	94,69
34,00	68,84	63,11	90,64	94,86
36,00	68,86	63,54	90,75	95,12
38,00	68,89	63,66	91,94	95,01
40,00	68,89	64,18	91,94	94,88
42,00	68,84	64,45	91,77	94,73
44,00	68,89	64,43	91,66	94,69
46,00	68,82	64,75	91,36	94,54
48,00	68,86	64,41	92,14	94,28
50,00	68,89	64,57	92,07	94,19
52,00	68,84	64,59	92,05	94,26
54,00	68,84	64,86	91,86	94,41
56,00	68,84	64,77	91,62	94,52
58,00	68,86	65	91,86	94,47
60,00	68,89	64,5	92,31	94,37
62,00	68,84	65,09	92,16	94,47
64,00	68,86	65	91,94	94,52
66,00	68,8	65,07	91,77	94,73
68,00	68,84	65,41	91,64	94,73
70,00	68,84	65,75	92,36	94,49
72,00	68,84	65,47	92,44	94,49
74,00	68,86	65,5	92,23	94,58
76,00	68,86	65,81	91,94	94,75
78,00	68,86	65,56	91,68	94,82
80,00	68,84	65,72	92,38	94,84
82,00	68,89	65,56	92,53	94,82
84,00	68,89	65,47	92,36	94,86
86,00	68,84	65,84	92,1	94,86
88,00	68,86	66,15	91,86	94,86
90,00	68,84	66,11	92,12	94,71

92,00	68,84	66,04	92,7	94,71
94,00	68,84	66,18	92,59	94,78
96,00	68,82	66,42	92,25	94,93
98,00	68,82	66,27	92,03	94,88
100,00	68,82	66,11	91,86	94,88
102,00	68,86	66,22	92,57	94,67
104,00	68,84	66,31	92,64	94,65
106,00	68,84	66,27	92,44	94,69
108,00	68,84	66,52	92,12	94,9
110,00	68,84	66,58	91,86	95,01
112,00	68,75	66,52	92,33	94,82
114,00	68,75	66,31	92,79	94,67
116,00	68,77	66,76	92,57	94,73
118,00	68,75	66,76	92,25	94,8
120,00	68,75	66,88	91,86	95,03
122,00	68,73	66,72	92,1	94,78
124,00	68,77	66,76	92,7	94,67
126,00	68,71	66,4	92,66	94,65
128,00	68,68	66,76	92,27	94,73
130,00	68,71	66,65	92,05	94,69
132,00	68,68	66,63	91,79	94,78
134,00	68,68	66,67	92,57	94,88
136,00	68,73	66,85	92,62	95,34
138,00	68,68	66,81	92,55	95,31
140,00	68,66	66,95	92,29	95,21
142,00	68,71	66,81	92,07	94,88
144,00	68,71	66,79	92,42	94,56
146,00	68,68	66,76	92,79	94,56
148,00	68,66	67,04	92,53	94,6
150,00	68,64	67,13	92,44	94,73
152,00	68,59	66,74	92,14	94,6
154,00	68,55	67,31	92,1	94,62
156,00	68,55	67,35	92,81	94,56
158,00	68,55	66,76	92,9	94,43
160,00	68,5	66,85	92,66	94,65
162,00	68,53	67,26	92,38	94,93
164,00	68,48	67,46	92,03	94,75
166,00	68,53	67,08	92,68	94,6
168,00	68,48	67,08	92,96	94,54
170,00	68,53	67,15	92,83	94,71
172,00	68,48	67,15	92,44	94,67
174,00	68,48	67,42	92,1	94,75
176,00	68,44	67,4	92,36	94,73
178,00	68,41	67,49	92,96	94,65
180,00	68,37	67,1	92,92	94,67
182,00	68,32	67,04	92,57	94,49
184,00	68,32	67,24	92,29	94,62
186,00	68,3	66,9	92,1	94,56
188,00	68,28	66,9	92,92	94,56
190,00	68,26	67,26	93,05	94,71
192,00	68,26	67,13	92,79	94,69

194,00	68,21	67,53	92,62	94,65
196,00	68,16	67,51	92,31	94,65
198,00	68,19	67,42	92,74	94,56
200,00	68,14	67,26	93,07	94,54
202,00	68,12	67,35	92,85	94,56
204,00	68,23	67,26	92,68	94,65
206,00	68,16	67,24	92,42	94,69
208,00	66,88	67,44	92,44	94,69
210,00	64,11	67,58	93,18	94,52
212,00	61,33	67,49	93,13	94,47
214,00	58,97	67,76	92,87	94,56
216,00	58,74	67,78	92,53	94,62
218,00	56,81	67,71	92,23	94,49
220,00	56,14	67,44	92,87	94,43
222,00	55,96	67,26	93,29	94,34
224,00	56,17	67,22	92,96	94,58
226,00	55,94	66,9	92,7	94,56
228,00	55,5	67,42	92,42	94,49
230,00	55,03	67,35	92,64	94,47
232,00	54,87	67,44	93,16	94,65
234,00	54,78	67,13	91,14	94,32
236,00	54,76	67,06	90,58	93,91
238,00	54,71	67,04	90,45	93,72
240,00	54,34	67,13	90,69	93,59
242,00	54,34	67,13	90,69	93,59

Dados estatísticos do intervalo entre 72 a 208 segundos do início da coleta de dados.

Média	68,59	66,73	92,43	94,73
Desvio	0,30	0,57	0,34	0,17
Variância	0,096	0,320	0,114	0,030

Tabela 5. Valores de temperatura obtidos experimentalmente no trocador tubular à distância de **689** cm da entrada da serpentina.

Tempo (s)	Temperatura (°C)			
	Reservatório	Entrada	Interior	Saída
0,00	73,64	94,11	97,85	97,94
2,00	73,69	94,45	97,92	98
4,00	73,55	94,78	97,92	97,92
6,00	73,62	95,29	97,94	97,96
8,00	73,64	95,42	97,92	97,94
10,00	73,89	95,59	97,92	97,94
12,00	73,73	95,62	97,94	97,92
14,00	73,82	95,46	97,96	97,96
16,00	73,78	95,49	97,96	97,96
18,00	73,82	95,57	97,96	97,96
20,00	73,78	95,55	97,96	97,94
22,00	73,84	95,42	97,96	97,92
24,00	73,87	81,5	97,87	97,96
26,00	73,93	48,47	97,21	97,36
28,00	73,89	37,69	97,46	97,44
30,00	73,93	38,98	97,59	97,68
32,00	74	42,21	97,7	97,74
34,00	74,02	50,51	97,81	97,83
36,00	74,05	55,47	97,81	97,89
38,00	74,07	58,38	97,83	97,87
40,00	74,22	60,55	97,83	97,87
42,00	74,11	62,7	97,85	97,87
44,00	74,25	62,93	97,89	97,85
46,00	74,27	63,47	97,81	97,81
48,00	74,29	64,5	97,55	97,66
50,00	74,29	63,79	94,17	96,09
52,00	74,34	65,13	90,56	91,81
54,00	74,42	65,13	91,97	92,03
56,00	74,47	65,97	92,51	93
58,00	74,42	66,2	92,85	93,42
60,00	74,56	66,31	92,79	93,54
62,00	74,51	66,47	92,94	93,39
64,00	74,58	66,74	92,85	92,92
66,00	74,6	66,9	92,68	92,94
68,00	74,56	66,97	92,66	92,92
70,00	74,65	67,37	92,05	92,79
72,00	74,63	67,33	91,25	92,44
74,00	74,67	67,51	91,14	92,31
76,00	74,78	67,46	90,84	93,24
78,00	74,8	67,94	90,97	93,31
80,00	74,78	68,07	91,23	93,16
82,00	74,85	68,32	90,88	92,94
84,00	74,85	68,28	91,16	92,9
86,00	74,92	68,32	90,95	92,77
88,00	74,85	68,66	91,12	93
90,00	74,98	68,66	91,29	92,9

92,00	74,94	68,8	91,23	93,2
94,00	74,96	69,11	91,27	93,09
96,00	74,96	68,77	91,38	93,11
98,00	74,98	69,07	91,4	93,26
100,00	75,05	69,04	91,51	93,29
102,00	75,05	69,27	91,49	93,26
104,00	75,16	69,2	91,23	93,26
106,00	75,07	69,49	91,68	93,16
108,00	75,29	69,67	91,64	93,29
110,00	75,21	69,54	91,86	93,37
112,00	75,21	69,97	91,86	93,59
114,00	75,21	70,1	91,71	94,17
116,00	75,23	70,1	91,9	93,91
118,00	75,27	70,19	91,81	93,72
120,00	75,32	70,06	91,9	93,8
122,00	75,32	70,42	91,86	93,91
124,00	75,34	70,44	91,94	93,98
126,00	75,45	70,57	91,92	94,08
128,00	75,38	70,66	92,03	94,04
130,00	75,43	70,3	92,12	94,06
132,00	75,43	70,53	92,05	93,72
134,00	75,38	70,6	92,42	94,24
136,00	75,32	70,71	92,14	94,39
138,00	75,41	70,53	92,38	94
140,00	75,38	70,84	92,1	93,74
142,00	75,29	70,73	92,27	93,85
144,00	75,34	70,75	92,4	94,15
146,00	75,58	71,43	88,62	93,96
148,00	75,45	71,4	91,86	93,96
150,00	75,43	71,29	92,03	94,24
152,00	75,29	71,47	92,27	94,24
154,00	75,25	71,38	92,51	94,43
156,00	75,23	71,34	92,46	94,41
158,00	75,23	71,38	92,38	94,6
160,00	75,23	71,34	92,49	94,56
162,00	75,25	71,18	92,42	94,54
164,00	75,29	71,49	92,72	94,54
166,00	75,41	71,47	92,72	94,56
168,00	75,54	71,38	92,46	94,65
170,00	75,7	71,61	92,77	94,78
172,00	75,83	71,45	92,44	94,69
174,00	75,74	71,61	92,72	94,69
176,00	75,7	72,01	92,9	94,75
178,00	75,74	72,17	92,42	94,75
180,00	75,96	72,39	92,83	94,97
182,00	75,96	71,83	92,57	94,82
184,00	75,27	72,03	92,57	94,86
186,00	73,93	71,92	92,62	94,8
188,00	72,39	71,97	92,62	94,8
190,00	73,55	71,81	92,62	94,84
192,00	75,03	71,76	92,77	94,9

194,00	75,87	71,79	92,53	94,75
196,00	76,14	71,9	92,66	94,84
198,00	74,05	71,83	92,79	94,82
200,00	70,48	72,12	90,73	94,84
202,00	66,56	71,88	92,57	94,84
204,00	64,27	72,05	92,49	94,82
206,00	61,74	71,76	92,55	94,84
208,00	60,05	72,21	92,83	94,75
210,00	58,86	72,5	92,81	94,78
212,00	58,15	72,41	92,79	94,73
214,00	58,35	72,59	92,68	94,71
216,00	58,35	72,28	92,64	94,69
218,00	58,31	72,57	92,68	94,67
220,00	58,33	72,77	92,68	94,62
222,00	56,72	72,7	92,57	94,62
224,00	55,61	72,64	92,66	94,6
226,00	55,27	72,55	91,29	94,6
228,00	54,99	72,95	92,62	94,75
230,00	55,03	72,88	92,55	94,73
232,00	55,57	72,57	92,66	93,61
234,00	54,97	72,55	93,48	93,31
236,00	54,97	72,55	93,48	93,31
238,00	54,97	72,55	93,48	93,31
Média			93,33992	
Desvio			2,408871	
Dados estatísticos do intervalo entre 154 a 194 segundos do início da coleta de dados.				
Média	75,19	71,68	92,60	94,70
Desvio	0,88	0,32	0,15	0,15
Variância	0,776	0,103	0,022	0,023

Anexo III.3. Tabela de estimativa das temperaturas no trocador de calor tubular.**Tabela 1.** Distância percorrida, tempo e temperatura do leite de coco no interior trocador tubular determinado matematicamente.

Intervalos de tempo (s)	Tempo acumulado (s)	Temperatura no tempo t	Distância percorrida (cm)
0,00	0,00	64,50	0,00
0,50	0,50	66,02	16,10
0,50	1,00	67,46	32,20
0,50	1,50	68,85	48,30
0,50	2,00	70,17	64,40
0,50	2,50	71,43	80,50
0,50	3,00	72,63	96,60
0,50	3,50	73,78	112,70
0,50	4,00	74,87	128,80
0,50	4,50	75,92	144,90
0,50	5,00	76,92	161,00
0,50	5,50	77,88	177,10
0,50	6,00	78,79	193,20
0,50	6,50	79,66	209,30
0,50	7,00	80,49	225,40
0,50	7,50	81,28	241,50
0,50	8,00	82,04	257,60
0,50	8,50	82,76	273,70
0,50	9,00	83,45	289,80
0,50	9,50	84,11	305,90
0,50	10,00	84,74	322,00
0,50	10,50	85,34	338,10
0,50	11,00	85,91	354,20
0,50	11,50	86,46	370,30
0,50	12,00	86,98	386,40
0,50	12,50	87,48	402,50
0,50	13,00	87,96	418,60
0,50	13,50	88,41	434,70
0,50	14,00	88,84	450,80
0,50	14,50	89,26	466,90
0,50	15,00	89,65	483,00
0,50	15,50	90,03	499,10
0,50	16,00	90,39	515,20
0,50	16,50	90,74	531,30
0,50	17,00	91,07	547,40
0,50	17,50	91,38	563,50
0,50	18,00	91,68	579,60
0,50	18,50	91,97	595,70
0,50	19,00	92,24	611,80
0,50	19,50	92,50	627,90
0,50	20,00	92,50	644,00
0,50	20,50	92,50	660,10
0,50	21,00	92,50	676,20
0,50	21,50	92,50	692,30

0,50	22,00	92,50	708,40
0,50	22,50	92,50	724,50
0,50	23,00	92,50	740,60
0,50	23,50	92,50	756,70
0,50	24,00	92,50	772,80
0,50	24,50	92,50	788,90
0,50	25,00	92,50	805,00

Anexo III.4. Tabela de estimativa da letalidade no trocador de calor tubular.**Tabela 1.** Valores de tempo, distância percorrida, temperatura, taxa letal e letalidade para o processamento térmico do leite de coco no trocador tubular

Tempo (s)	Distância (cm)	Temperatura do produto (°C)	Taxa letal $T_{ref} = 90^{\circ}\text{C}$ $z = 7$	Letalidade	Taxa letal T_{ref} $= 121^{\circ}\text{C}$ $z = 10$	Letalidade
0,0	0,0	64,50	0,00	0,00	0,000	0,00000
0,5	16,1	66,02	0,00	0,00	0,000	0,00000
1,0	32,2	67,46	0,00	0,00	0,000	0,00000
1,5	48,3	68,85	0,00	0,00	0,000	0,00000
2,0	64,4	70,17	0,00	0,00	0,000	0,00000
2,5	80,5	71,43	0,00	0,00	0,000	0,00000
3,0	96,6	72,63	0,00	0,00	0,000	0,00000
3,5	112,7	73,78	0,00	0,00	0,000	0,00000
4,0	128,8	74,87	0,01	0,00	0,000	0,00000
4,5	144,9	75,92	0,01	0,00	0,000	0,00000
5,0	161,0	76,92	0,01	0,00	0,000	0,00000
5,5	177,1	77,88	0,02	0,00	0,000	0,00000
6,0	193,2	78,79	0,03	0,00	0,000	0,00000
6,5	209,3	79,66	0,03	0,00	0,000	0,00000
7,0	225,4	80,49	0,04	0,00	0,000	0,00000
7,5	241,5	81,28	0,06	0,00	0,000	0,00000
8,0	257,6	82,04	0,07	0,00	0,000	0,00000
8,5	273,7	82,76	0,09	0,00	0,000	0,00000
9,0	289,8	83,45	0,12	0,00	0,000	0,00000
9,5	305,9	84,11	0,14	0,00	0,000	0,00000
10,0	322,0	84,74	0,18	0,00	0,000	0,00000
10,5	338,1	85,34	0,22	0,00	0,000	0,00000
11,0	354,2	85,91	0,26	0,00	0,000	0,00000
11,5	370,3	86,46	0,31	0,00	0,000	0,00000
12,0	386,4	86,98	0,37	0,00	0,000	0,00000
12,5	402,5	87,48	0,44	0,00	0,000	0,00000
13,0	418,6	87,96	0,51	0,00	0,000	0,00000
13,5	434,7	88,41	0,59	0,00	0,001	0,00000
14,0	450,8	88,84	0,68	0,01	0,001	0,00001
14,5	466,9	89,26	0,78	0,01	0,001	0,00001
15,0	483,0	89,65	0,89	0,01	0,001	0,00001
15,5	499,1	90,03	1,01	0,01	0,001	0,00001
16,0	515,2	90,39	1,14	0,01	0,001	0,00001
16,5	531,3	90,74	1,27	0,01	0,001	0,00001
17,0	547,4	91,07	1,42	0,01	0,001	0,00001
17,5	563,5	91,38	1,57	0,01	0,001	0,00001
18,0	579,6	91,68	1,74	0,01	0,001	0,00001
18,5	595,7	91,97	1,91	0,02	0,001	0,00001
19,0	611,8	92,24	2,09	0,02	0,001	0,00001
19,5	627,9	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
20,0	644,0	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
20,5	660,1	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001

21,0	676,2	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
21,5	692,3	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
22,0	708,4	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
22,5	724,5	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
23,0	740,6	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
23,5	756,7	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
24,0	772,8	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
24,5	788,9	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
25,0	805,0	92,50	2,28	0,02	0,001	0,00001
				0,38		0,00026

Anexo VI.1. Fotografias do teste de resistência térmica em esporos de *Clostridium sporogenes* (PA3679).



Figura 1. Fechamento hermético das ampolas com chama de maçarico.

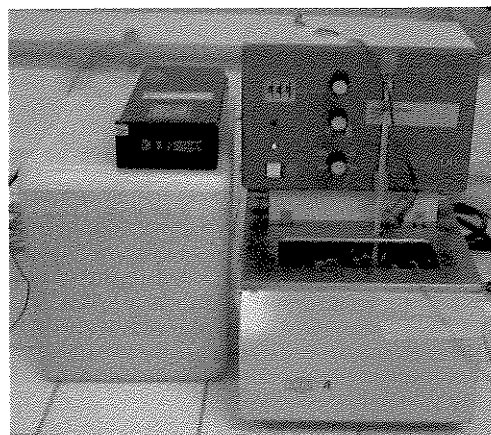


Figura 2. Banho termostático para aquecimento das ampolas.

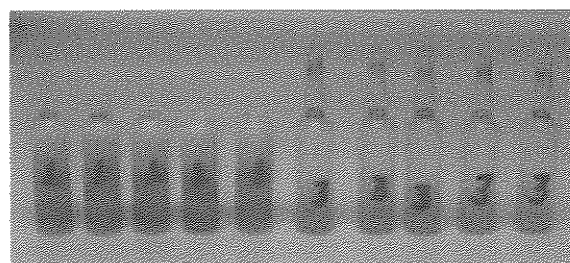


Figura 3. Ampolas retiradas do banho termostático (tubos da direita) e ampolas seladas com vâspar após adição do meio DRCM para recuperação de sobreviventes.

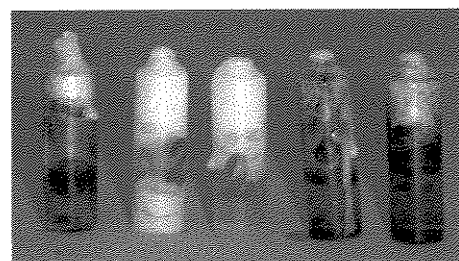


Figura 4. Ampolas apresentando deterioração por *Clostridium sporogenes* (PA3679) e ampolas sem deterioração pelo método do número mais provável (NMP).

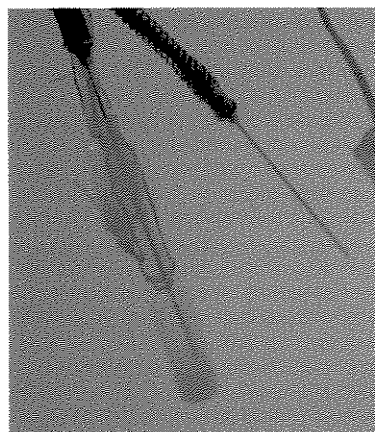


Figura 5. Detalhes do fechamento da ampola com termopar para monitoramento da temperatura do produto.

Anexo VII.1. Tabelas com valores preditos de a_w para diferentes formulações de leite de coco.

Tabela 1. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio e glicose na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Sem adição de glicerol

	Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
	0,0	0,989	0,988	0,986	0,985	0,984	0,982	0,981	0,978	0,976	0,975	0,973	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964
	0,2	0,987	0,986	0,984	0,983	0,982	0,980	0,979	0,976	0,974	0,973	0,971	0,969	0,967	0,966	0,964	0,962
	0,4	0,986	0,985	0,983	0,982	0,981	0,979	0,978	0,975	0,973	0,972	0,970	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961
	0,6	0,985	0,984	0,982	0,981	0,980	0,978	0,977	0,974	0,972	0,971	0,969	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960
	0,8	0,983	0,982	0,980	0,979	0,978	0,976	0,975	0,973	0,970	0,969	0,967	0,965	0,963	0,962	0,960	0,958
	1,0	0,982	0,981	0,979	0,978	0,977	0,975	0,974	0,972	0,969	0,968	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957
	1,2	0,980	0,979	0,977	0,976	0,975	0,973	0,972	0,970	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,959	0,957	0,955
	1,4	0,979	0,978	0,976	0,975	0,974	0,972	0,971	0,969	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954
	1,6	0,977	0,976	0,974	0,973	0,972	0,970	0,969	0,967	0,965	0,963	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952
	1,8	0,976	0,975	0,973	0,972	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964	0,962	0,960	0,958	0,955	0,953	0,951	0,951
	2,0	0,974	0,973	0,971	0,970	0,969	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,958	0,956	0,953	0,951	0,949	0,949
	2,2	0,973	0,972	0,970	0,969	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948
	2,4	0,971	0,970	0,968	0,967	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,958	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946
	2,6	0,969	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,949	0,948	0,946	0,944
	2,8	0,968	0,967	0,965	0,964	0,963	0,961	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,948	0,947	0,945	0,943	0,943
	3,0	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,947	0,945	0,943	0,941
Cloreto de sódio (% p/p)																	

Tabela 2. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 1% (p/p) de glicerol

		Glicose (% p/p)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Cloreto de sódio (% p/p)		0,0	0,986	0,985	0,983	0,982	0,981	0,979	0,977	0,975	0,973	0,972	0,970	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961
		0,2	0,984	0,983	0,981	0,980	0,979	0,977	0,976	0,973	0,971	0,970	0,968	0,966	0,964	0,963	0,961	0,970
		0,4	0,983	0,982	0,980	0,979	0,978	0,976	0,975	0,972	0,970	0,969	0,967	0,965	0,963	0,962	0,960	0,968
		0,6	0,982	0,981	0,979	0,978	0,977	0,975	0,974	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,966
		0,8	0,980	0,979	0,977	0,976	0,975	0,973	0,972	0,970	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,959	0,957	0,964
		1,0	0,979	0,978	0,976	0,975	0,974	0,972	0,971	0,969	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,958	0,956	0,962
		1,2	0,977	0,976	0,974	0,973	0,972	0,970	0,969	0,967	0,964	0,963	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,961
		1,4	0,976	0,975	0,973	0,972	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964	0,962	0,960	0,958	0,956	0,955	0,953	0,959
		1,6	0,974	0,973	0,971	0,970	0,969	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,957
		1,8	0,973	0,972	0,970	0,969	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,955
		2,0	0,971	0,970	0,968	0,967	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,958	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,953
	2,2	0,970	0,969	0,967	0,966	0,965	0,963	0,962	0,960	0,958	0,957	0,954	0,952	0,950	0,949	0,947	0,951	
	2,4	0,968	0,967	0,965	0,964	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,948	0,947	0,945	0,949	
	2,6	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,947	0,945	0,943	0,947	
	2,8	0,965	0,964	0,962	0,961	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942	0,944	
	3,0	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,942	

Tabela 3. Valores de atividade de água (a_w) previstas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 2% (p/p) de glicerol

	Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,984	0,983	0,981	0,980	0,979	0,977	0,975	0,973	0,971	0,970	0,968	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959
	0,2	0,982	0,981	0,979	0,978	0,977	0,975	0,973	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,966
	0,4	0,981	0,980	0,978	0,977	0,976	0,974	0,972	0,970	0,968	0,967	0,965	0,963	0,961	0,960	0,958	0,965
	0,6	0,980	0,979	0,977	0,976	0,975	0,973	0,971	0,969	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,959	0,957	0,963
	0,8	0,978	0,977	0,975	0,974	0,973	0,971	0,969	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960	0,958	0,957	0,955	0,961
	1,0	0,977	0,976	0,974	0,973	0,972	0,970	0,968	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,959
	1,2	0,975	0,974	0,972	0,971	0,970	0,968	0,967	0,965	0,962	0,961	0,959	0,957	0,955	0,954	0,952	0,957
	1,4	0,974	0,973	0,971	0,970	0,969	0,967	0,966	0,964	0,961	0,960	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,955
	1,6	0,972	0,971	0,969	0,968	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960	0,958	0,956	0,954	0,952	0,951	0,949	0,953
	1,8	0,971	0,970	0,968	0,967	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,957	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,951
	2,0	0,969	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,956	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,949
2,2	0,968	0,967	0,965	0,964	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,955	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,947	
2,4	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,946	0,945	0,943	0,945	
2,6	0,964	0,963	0,961	0,960	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,951	0,949	0,947	0,945	0,943	0,941	0,942	
2,8	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942	0,940	0,940	
3,0	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,938	

Tabela 4. Valores de atividade de água (a_w) previstas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 3% (p/p) de glicerol

Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,981	0,980	0,978	0,977	0,976	0,973	0,972	0,970	0,968	0,967	0,965	0,963	0,961	0,958	0,956
	0,2	0,979	0,978	0,976	0,975	0,974	0,972	0,970	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,958	0,963
	0,4	0,978	0,977	0,975	0,974	0,973	0,971	0,969	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960	0,958	0,957	0,961
	0,6	0,977	0,976	0,974	0,973	0,972	0,970	0,968	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,957	0,956	0,959
	0,8	0,975	0,974	0,972	0,971	0,970	0,968	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,955	0,954	0,957
	1,0	0,974	0,973	0,971	0,970	0,969	0,967	0,966	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951
	1,2	0,972	0,971	0,969	0,968	0,967	0,965	0,964	0,962	0,959	0,958	0,956	0,954	0,952	0,951	0,949
	1,4	0,971	0,970	0,968	0,967	0,966	0,964	0,963	0,961	0,958	0,957	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948
	1,6	0,969	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,955	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946
	1,8	0,968	0,967	0,965	0,964	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,954	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945
2,0	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,948	0,946	0,945	0,943	
2,2	0,965	0,964	0,962	0,961	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,947	0,945	0,944	0,942	
2,4	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942	0,940	
2,6	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	
2,8	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	
3,0	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,938	0,936	

Tabela 5. Valores de atividade de água (a_w) previstas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 4% (p/p) de glicerol

Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,978	0,977	0,975	0,974	0,972	0,970	0,969	0,967	0,965	0,964	0,962	0,958	0,957	0,955	0,953
	0,2	0,976	0,975	0,973	0,972	0,971	0,968	0,967	0,965	0,963	0,962	0,960	0,958	0,955	0,953	0,951
	0,4	0,975	0,974	0,972	0,971	0,970	0,967	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,955	0,954	0,952	0,950
	0,6	0,974	0,973	0,971	0,970	0,969	0,967	0,965	0,963	0,961	0,960	0,958	0,954	0,953	0,951	0,949
	0,8	0,972	0,971	0,969	0,968	0,967	0,965	0,963	0,961	0,959	0,958	0,956	0,952	0,951	0,949	0,947
	1,0	0,971	0,970	0,968	0,967	0,966	0,964	0,962	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,951	0,948	0,946
	1,2	0,969	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,961	0,959	0,956	0,955	0,953	0,951	0,949	0,946	0,944
	1,4	0,968	0,967	0,965	0,964	0,963	0,961	0,960	0,958	0,955	0,954	0,952	0,950	0,948	0,945	0,943
	1,6	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,952	0,950	0,948	0,946	0,943	0,941
	1,8	0,965	0,964	0,962	0,961	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,951	0,949	0,947	0,945	0,942	0,940
	2,0	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,943	0,940	0,938
2,2	0,962	0,961	0,959	0,958	0,957	0,955	0,954	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,943	0,941	0,939	0,937
2,4	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,940	0,937	0,935
2,6	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,938	0,936	0,934
2,8	0,957	0,956	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933
3,0	0,955	0,954	0,952	0,951	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,936	0,935	0,933	0,931

Tabela 6. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 5% (p/p) de glicerol

	Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,976	0,975	0,973	0,971	0,970	0,968	0,967	0,965	0,963	0,962	0,960	0,958	0,956	0,953	0,951	
	0,2	0,974	0,973	0,971	0,970	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,954	0,951	0,949	
	0,4	0,973	0,972	0,970	0,969	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960	0,959	0,957	0,955	0,952	0,950	0,948	
	0,6	0,972	0,971	0,969	0,968	0,966	0,964	0,963	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,952	0,949	0,947	
	0,8	0,970	0,969	0,967	0,966	0,965	0,963	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,949	0,947	0,945	
	1,0	0,969	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,960	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,949	0,946	0,944	
	1,2	0,967	0,966	0,964	0,963	0,962	0,960	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,947	0,944	0,942	
	1,4	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,959	0,958	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,943	0,941	
	1,6	0,964	0,963	0,961	0,960	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,950	0,948	0,946	0,944	0,941	0,939	
	1,8	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,949	0,947	0,945	0,943	0,940	0,938	
	2,0	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,943	0,941	0,938	0,936	
2,2	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,937	0,935		
2,4	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,935	0,933		
2,6	0,956	0,955	0,953	0,952	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,937	0,934	0,932		
2,8	0,955	0,954	0,952	0,951	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,936	0,933	0,931		
3,0	0,953	0,952	0,950	0,949	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929	

Tabela 7. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 6% (p/p) de glicerol

Glicose (% p/p)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0,0	0,973	0,972	0,970	0,968	0,967	0,965	0,964	0,962	0,960	0,959	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948
0,2	0,971	0,970	0,968	0,966	0,965	0,963	0,962	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946
0,4	0,970	0,969	0,967	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945
0,6	0,969	0,968	0,966	0,965	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944
0,8	0,967	0,966	0,964	0,963	0,962	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942
1,0	0,966	0,965	0,963	0,962	0,961	0,958	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941
1,2	0,964	0,963	0,961	0,960	0,959	0,957	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939
1,4	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938
1,6	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,947	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936
1,8	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935
2,0	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,937	0,935	0,933
2,2	0,957	0,956	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,938	0,936	0,934	0,932
2,4	0,955	0,954	0,952	0,951	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,936	0,935	0,933	0,931
2,6	0,953	0,952	0,950	0,949	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929
2,8	0,952	0,951	0,949	0,948	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935	0,933	0,932	0,930	0,928
3,0	0,950	0,949	0,947	0,946	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933	0,931	0,930	0,928	0,926

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Tabela 8. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 7% (p/p) de glicerol

	Glicose (% p/p)															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,970	0,968	0,966	0,965	0,964	0,962	0,961	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,949	0,947	0,945
	0,2	0,968	0,967	0,965	0,963	0,962	0,960	0,959	0,957	0,955	0,954	0,952	0,948	0,947	0,945	0,943
	0,4	0,967	0,966	0,964	0,962	0,961	0,959	0,958	0,956	0,954	0,953	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942
	0,6	0,966	0,965	0,963	0,961	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,952	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941
	0,8	0,964	0,963	0,961	0,960	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,944	0,943	0,941	0,939
	1,0	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,955	0,954	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,942	0,940	0,938
	1,2	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,941	0,940	0,938	0,936
	1,4	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,940	0,937	0,935
	1,6	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935
	1,8	0,957	0,956	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,941	0,939	0,937	0,936	0,934
2,0	0,955	0,954	0,952	0,951	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,936	0,934	0,932	0,930
2,2	0,954	0,953	0,951	0,950	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,937	0,935	0,934	0,932	0,930
2,4	0,952	0,951	0,949	0,948	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935	0,933	0,932	0,930	0,928
2,6	0,950	0,949	0,947	0,946	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933	0,931	0,930	0,928	0,926
2,8	0,949	0,948	0,946	0,945	0,944	0,942	0,941	0,939	0,937	0,936	0,934	0,932	0,930	0,929	0,927	0,925
3,0	0,947	0,946	0,944	0,943	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935	0,934	0,932	0,930	0,928	0,927	0,925	0,923

Tabela 9. Valores de atividade de água (a_w) previstas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 8% (p/p) de glicerol

Glicose (% p/p)																	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,966	0,965	0,964	0,963	0,962	0,960	0,959	0,957	0,955	0,954	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943
	0,2	0,965	0,964	0,962	0,961	0,960	0,958	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941
	0,4	0,964	0,963	0,961	0,960	0,959	0,957	0,956	0,954	0,952	0,951	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940
	0,6	0,963	0,962	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939
	0,8	0,961	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,938
	1,0	0,960	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,937
	1,2	0,958	0,957	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,939	0,937	0,935
	1,4	0,957	0,956	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,938	0,938	0,936	0,934
	1,6	0,955	0,954	0,952	0,951	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,937	0,936	0,934	0,932
	1,8	0,954	0,953	0,951	0,950	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,938	0,936	0,935	0,933	0,931
	2,0	0,952	0,951	0,949	0,948	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,939	0,938	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929
2,2	0,951	0,950	0,948	0,947	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,938	0,937	0,935	0,933	0,932	0,930	0,928	
2,4	0,949	0,948	0,946	0,945	0,944	0,942	0,941	0,939	0,937	0,937	0,935	0,933	0,931	0,930	0,928	0,926	
2,6	0,947	0,946	0,944	0,943	0,942	0,940	0,939	0,937	0,936	0,935	0,933	0,931	0,929	0,928	0,926	0,924	
2,8	0,946	0,945	0,943	0,942	0,941	0,940	0,939	0,937	0,935	0,934	0,932	0,930	0,928	0,927	0,925	0,923	
3,0	0,944	0,943	0,941	0,940	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933	0,932	0,930	0,928	0,926	0,925	0,923	0,922	

Tabela 10. Valores de atividade de água (a_w) previstas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 9% (p/p) de glicerol

	Glicose (% p/p)															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,962	0,961	0,960	0,959	0,958	0,956	0,955	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,944	0,941	0,939
	0,2	0,960	0,960	0,958	0,957	0,956	0,954	0,953	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939
	0,4	0,959	0,959	0,957	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,938	0,937
	0,6	0,959	0,958	0,956	0,955	0,954	0,952	0,951	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,940	0,937	0,936
	0,8	0,957	0,956	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,938	0,936	0,934
	1,0	0,956	0,955	0,953	0,952	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,937	0,935	0,933
	1,2	0,954	0,953	0,951	0,950	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,937	0,936	0,935	0,931
	1,4	0,953	0,952	0,950	0,949	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,935	0,934	0,930
	1,6	0,951	0,950	0,948	0,947	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,938	0,936	0,935	0,933	0,932	0,930
	1,8	0,950	0,949	0,947	0,946	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,937	0,936	0,934	0,932	0,931	0,929
	2,0	0,948	0,947	0,945	0,944	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,935	0,934	0,932	0,930	0,929	0,927
	2,2	0,947	0,946	0,944	0,943	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935	0,935	0,933	0,931	0,929	0,928	0,926
	2,4	0,945	0,944	0,942	0,941	0,940	0,938	0,937	0,935	0,934	0,933	0,931	0,929	0,927	0,926	0,924
	2,6	0,943	0,942	0,940	0,939	0,938	0,936	0,935	0,934	0,932	0,931	0,929	0,927	0,925	0,924	0,922
	2,8	0,942	0,941	0,939	0,938	0,938	0,936	0,935	0,933	0,931	0,930	0,928	0,926	0,924	0,923	0,922
	3,0	0,940	0,939	0,938	0,937	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929	0,928	0,926	0,924	0,922	0,922	0,920

Tabela 11. Valores de atividade de água (a_w) preditas através da equação de Ross, para adição de cloreto de sódio, glicose e glicerol na formulação de leite de coco modificado e padronizado para 18% de gordura.

Com adição de 10% (p/p) de glicerol

Glicose (% p/p)																	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Cloreto de sódio (% p/p)	0,0	0,959	0,958	0,956	0,956	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,947	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936
	0,2	0,957	0,956	0,955	0,954	0,953	0,951	0,950	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,939	0,938	0,936	0,934
	0,4	0,956	0,955	0,954	0,953	0,952	0,950	0,949	0,947	0,945	0,944	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933
	0,6	0,955	0,955	0,953	0,952	0,951	0,949	0,948	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,937	0,936	0,934	0,933
	0,8	0,954	0,953	0,951	0,950	0,949	0,947	0,946	0,944	0,942	0,941	0,939	0,937	0,935	0,934	0,933	0,931
	1,0	0,953	0,952	0,950	0,949	0,948	0,946	0,945	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,934	0,934	0,932	0,930
	1,2	0,951	0,950	0,948	0,947	0,946	0,944	0,943	0,941	0,939	0,938	0,936	0,934	0,933	0,932	0,930	0,928
	1,4	0,950	0,949	0,947	0,946	0,945	0,943	0,942	0,940	0,938	0,937	0,935	0,934	0,932	0,931	0,929	0,927
	1,6	0,948	0,947	0,945	0,944	0,943	0,941	0,940	0,938	0,936	0,935	0,933	0,932	0,930	0,929	0,927	0,925
	1,8	0,947	0,946	0,944	0,943	0,942	0,940	0,939	0,937	0,935	0,934	0,933	0,931	0,929	0,928	0,926	0,924
	2,0	0,945	0,944	0,942	0,941	0,940	0,938	0,937	0,935	0,933	0,933	0,931	0,929	0,927	0,926	0,924	0,922
2,2	0,944	0,943	0,941	0,940	0,939	0,937	0,936	0,934	0,932	0,932	0,930	0,928	0,926	0,925	0,923	0,921	
2,4	0,942	0,941	0,939	0,938	0,937	0,935	0,934	0,932	0,931	0,930	0,928	0,926	0,924	0,923	0,921	0,919	
2,6	0,940	0,939	0,937	0,936	0,935	0,933	0,932	0,931	0,929	0,928	0,926	0,924	0,922	0,921	0,919	0,917	
2,8	0,939	0,938	0,936	0,935	0,935	0,933	0,932	0,930	0,928	0,927	0,925	0,923	0,921	0,920	0,919	0,917	
3,0	0,937	0,936	0,935	0,934	0,933	0,931	0,930	0,928	0,926	0,925	0,923	0,921	0,920	0,919	0,917	0,915	

Anexo VII.2. Ficha de avaliação sensorial para manjar de leite de coco.

Ficha de avaliação sensorial para manjar de leite de coco.

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____.

Você está recebendo 6 amostras codificadas de manjar de leite de coco acidificado.

2. Por favor, prove as amostras e avalie o quanto você gostou ou desgostou do **SABOR** utilizando a escala abaixo.

- 9. Gostei muitíssimo
- 8. Gostei muito
- 7. Gostei moderadamente
- 6. Gostei levemente
- 5. Nem gostei / nem desgostei
- 4. Desgostei levemente
- 3. Desgostei moderadamente
- 2. Desgostei muito
- 1. Desgostei muitíssimo

Código da amostra	Notas
921	
278	
415	
827	
609	
365	

2. Comentários

Anexo VII.3. Tabela contendo diferentes formulações com valores de a_w preditos.

Tabela 1. Formulações de leite de coco (18% de gordura) modificado com cloreto de sódio, glicose e glicerol, com respectivas a_w determinadas através da equação de Ross.

Formulação	NaCl	Glicerol	Glicose	a_w ROSS	% solutos	% de H ₂ O	Sólidos	Total
1	0	0	0	0,990	0	77,900	22,1	100
2	0,040	0,200	0,450	0,988	0,690	77,210	22,1	100
3	0,160	0,800	1,800	0,984	2,760	75,140	22,1	100
4	0,240	1,200	2,700	0,981	4,140	73,760	22,1	100
5	0,320	1,600	3,600	0,978	5,520	72,380	22,1	100
6	0,424	2,12	6,123	0,974	7,314	70,586	22,1	100
7	0,480	2,400	5,400	0,972	8,280	69,620	22,1	100
8	0,520	2,600	5,850	0,970	8,970	68,930	22,1	100
9	0,560	2,800	6,300	0,969	9,660	68,240	22,1	100
10	0,600	3,000	6,750	0,967	10,350	67,550	22,1	100
11	0,620	3,100	6,975	0,966	10,695	67,205	22,1	100
12	0,640	3,200	7,200	0,965	11,040	66,860	22,1	100
13	0,660	3,300	7,425	0,964	11,385	66,515	22,1	100
14	0,680	3,400	7,650	0,963	11,730	66,170	22,1	100
15	0,720	3,600	8,100	0,962	12,420	65,480	22,1	100
16	0,740	3,700	8,325	0,961	12,765	65,135	22,1	100
17	0,800	4,000	9,000	0,958	13,800	64,100	22,1	100
	0,840	4,200	9,450	0,956	14,490	63,410	22,1	100
18	0,880	4,400	9,900	0,954	15,180	62,720	22,1	100
19	0,920	4,600	10,350	0,952	15,870	62,030	22,1	100
20	0,960	4,800	10,800	0,950	16,560	61,340	22,1	100
21	1,000	5,000	11,250	0,948	17,250	60,650	22,1	100
22	1,040	5,200	11,700	0,946	17,940	59,960	22,1	100
23	1,041	5,204	11,709	0,946	17,954	59,946	22,1	100
24	1,052	5,260	11,835	0,945	18,147	59,753	22,1	100
25	1,060	5,300	11,925	0,945	18,285	59,615	22,1	100

Anexo VII.4. Fotografias de tubos de ensaio demonstrando deslocamento de vsper por gases formado por microrganismos.

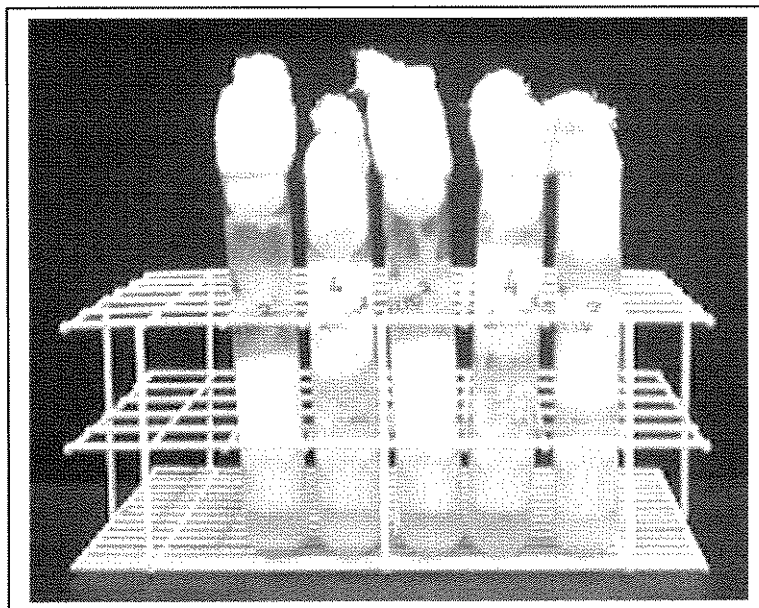


Figura 1. Tubos em teste de validação de processo contendo inóculo de esporos de *C. sporogenes* (PA3679) ($2,0 \times 10^2$) utilizando a formulação 4 (pH = 5,78 e $a_w = 0,984$) de leite de coco, mostrando deslocamento do vsper devido a formação de gás.

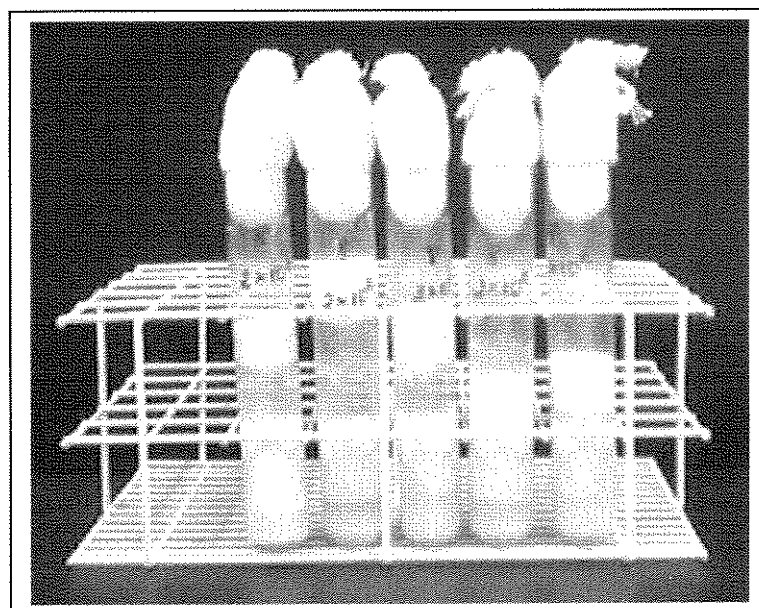


Figura 2. Tubos em teste de validação de processo contendo inóculo de esporos de *C. sporogenes* (PA3679) ($2,0 \times 10^4$) utilizando a formulação 4 (pH = 5,25 e $a_w = 0,990$) de leite de coco, mostrando deslocamento do vsper devido a formação de gás.

Anexo VIII.1. Ficha de avaliação sensorial para leite de coco modificado.

Ficha de avaliação sensorial para leite de coco modificado

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____.

Você está recebendo 3 amostras codificadas de manjar de coco, preparada com leite de coco modificado.

3. Por favor, prove as amostras e avalie o quanto você gostou ou desgostou do **SABOR** utilizando a escala abaixo.

9. Gostei muitíssimo
 8. Gostei muito
 7. Gostei moderadamente
 6. Gostei levemente
 5. Nem gostei / nem desgostei
 4. Desgostei levemente
 3. Desgostei moderadamente
 2. Desgostei muito
 1. Desgostei muitíssimo

Código da amostra	591	819	654
Notas			

2. De MODO GERAL avalie o quanto você gostou ou desgostou de cada uma delas utilizando a escala acima.

Código da amostra	591	819	654
Notas			

3. Descreva o que você mais gostou e o que você menos gostou de cada uma das amostras.

Código das amostras	Mais gostei	Menos gostei