

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**ADEQUAÇÕES TÉCNICAS DE UM SISTEMA  
ASSÉPTICO PARA LEITE E BEBIDAS DE ALTA  
ACIDEZ EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

**Eduardo Henrique Miranda Walter**  
Engenheiro de Alimentos

**Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria**  
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

**Campinas  
2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

W171a Walter, Eduardo Henrique Miranda  
Adequações técnicas de um sistema asséptico para leite e bebidas de alta acidez em embalagens flexíveis / Eduardo Henrique Miranda Walter. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: José de Assis Fonseca Faria  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Sistema asséptico. 2. Embalagem flexível. 3. Leite UAT.  
4. Suco de frutas. 5. Chá. I. Faria, José de Assis Fonseca.  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Technical evaluation of an aseptic system for milk and high acid beverages in flexible pouches

Palavras-chave em inglês (Keywords): Aseptic system, Flexible pouch, UHT milk, Fruit juices, Tea

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: José de Assis Fonseca Faria  
Carlos Alberto Rodrigues Anjos  
Pilar Rodriguez de Massaguer  
Rodrigo Rodrigues Petrus  
Rosa Maria Vercelino Alves

Data de defesa: 11/02/2010

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria  
Universidade Estadual de Campinas/FEA

---

Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos  
Universidade Estadual de Campinas/FEA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Georgiana Sávia Brito Aires  
Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Maria André Bolini  
Universidade Estadual de Campinas/FEA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Pilar Rodriguez de Massaguer  
Universidade Estadual de Campinas/FEA

---

Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus  
Universidade de São Paulo/FZEA

---

Dr<sup>a</sup>. Rosa Maria Vercelino Alves  
Instituto de Tecnologia de Alimentos/CETEA

---

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig  
Universidade Estadual de Campinas/FEA

## DEDICATÓRIA

*Dedico esta tese à minha amada família, em especial  
à Michele, minha esposa,  
a Paulo Anibal e Solanda, meus pais, e  
à Maria Alice, Mauro Sérgio e Márcio Vinício, meus irmãos.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, pela saúde, pela paz, pela fé no trabalho e pelas alegrias;

Ao Professor José de Assis F. Faria, pelos ensinamentos, pelas orientações e pela amizade;

Aos membros da banca, Professores Carlos A. R. Anjos, Georgiana S. B. Aires, Helena M. A. Bolini, Pilar R. Massaguer, Rodrigo R. Petrus, Rosa M. V. Alves, Salvador M. Roig, pelas correções e pelas sugestões oportunas;

Aos Professores da Faculdade de Engenharia de Alimentos, em especial a Arnaldo Y. Kuaye, Carlos R. F. Grosso, Mirna L. Gigante, Walkiria H. Viotto, pelos ensinamentos e pelas colaborações;

A Adriano, Cláudio e Wellington, meus amigos e referência de trabalho, pelos ideais, pela força nos processamentos e nas publicações;

À Milena e à Priscila, pela realização conjunta dos experimentos e pela amizade;

À Kimie, por fazer do Laboratório de Embalagens um lugar tranquilo de se trabalhar e pelo pronto atendimento nas diversas solicitações, bem como amizade;

Aos queridos estagiários dos Laboratórios de Embalagens e de Leite e Derivados, Aline, Ana Paula, Carla, Carolina, Jaqueline, João, Renata, Taís, Tatiana e Verediana, pelo árduo trabalho na planta piloto e nas bancadas dos laboratórios;

Aos alunos de iniciação científica, Ana Laura, Joyce, Diego e Matheus, por compartilharem o trabalho e os conhecimentos;

Aos outros amigos do Laboratório de Embalagens, Luciana, Eliene, Gisele e Clívia, pelas colaborações na pesquisa e pela convivência fraternal;

A João Miranda, meu tio querido, pelas correções no texto e pela amizade;

Aos amigos do mestrado e doutorado, Rodrigo, Cíntia, Leonel, Maria Tereza, Fabinho, Gabi, Tina, Fara, Matheus, Gabriela, Ricardo, Raquel, Neliza, Cdnir,

Roger, Cristiano, Andréa, Maristela, Luciana Esper, Celina, Juliana, Fátima, Vanessa, Marisa, Marcília, Cibele, Luciana Fontes, Roja, Nelson, Anderson, Salatir, Márcio, Mariano, Valquíria, Sérgio, Carol, Dani, Lívia, pelas colaborações e por compartilharem alegrias e angústias;

Aos funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos, em especial ao Aduino, Ana Lourdes, Ana Maria, Bete, Leonel, Diana, Dirce, Nilson, Oscar e Renata, bem como Alessandra, Bernadete, Denir, Jaime, José Roberto, Luciana, Marlene, Marquinhos, Tânia, Creuza, Cláudia, Geraldo, Maria, Luciana, Sueli, Cosme, Maria José, Odair, Valter, pelas ideias, pelas colaborações e pela carinhosa atenção;

À Sumá Indústria e Comércio Ltda., pelo convênio firmado para testar a sua máquina de embalagem e pelos inúmeros suportes técnicos prestados pelo Paulo, Miguel, Marcelo, Ronaldo, Rogério, Raquel e Vera;

À Alitec Comércio e Indústria Ltda., pelo suporte técnico e pelo fornecimento do homogeneizador a preço de custo, nas pessoas de Maria José, Valdomiro e Valentin;

Às empresas Ecolab Química Ltda., Peróxido do Brasil Ltda., Asseio Controle de Pragas Urbanas Ltda. pelas parcerias para doação de materiais e pelos suportes técnicos;

À Cargill do Brasil, em nome do Erivelton Peixoto, pelo convênio firmado para o processamento das bebidas de fruta e chás;

À Dixie Toga S. A., em nome da Cristina Sartoretto e Márcia Rodrigues, pelo convênio firmado para testar as embalagens laminadas flexíveis;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio concedido para construção da linha de processamento;

Ao povo brasileiro, à Unicamp e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela oportunidade de realizar o doutorado e pela concessão de bolsas de estudos.

# SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO GERAL .....	3
CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA - ESPECIFICAÇÕES PARA O PROCESSAMENTO E A EMBALAGEM ASSÉPTICA DE BEBIDAS .....	11
RESUMO.....	12
1 - INTRODUÇÃO.....	12
2 - ESPECIFICAÇÕES ASSÉPTICAS.....	16
3 - ESTERILIDADE COMERCIAL .....	19
4 - EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS .....	21
5 - HIGIENIZAÇÃO DA LINHA DE PROCESSAMENTO E EMBALAGEM.....	25
6 - ESTERILIZAÇÃO COMERCIAL DO PRODUTO.....	28
7 - OPERAÇÃO DE EMBALAGEM ASSÉPTICA .....	37
8 - QUALIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE SISTEMA .....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO PARA LEITE LONGA VIDA EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS .....	65
RESUMO.....	66
1 - INTRODUÇÃO.....	67
2 - MATERIAL E MÉTODOS .....	70
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	87
4 - CONCLUSÕES .....	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DE EMBALAGENS FLEXÍVEIS PARA O ACONDICIONAMENTO ASSÉPTICO DE LEITE LONGA VIDA .....	107
RESUMO.....	108
1 - INTRODUÇÃO.....	109
2 - MATERIAL E MÉTODOS .....	111
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	125
4 - CONCLUSÕES .....	135
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	136

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO PARA BEBIDAS DE ALTA ACIDEZ EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS.....	140
RESUMO.....	141
1 - INTRODUÇÃO.....	142
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	144
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	156
4 - CONCLUSÕES.....	165
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	166
CONCLUSÕES GERAIS.....	171
ANEXOS.....	172

## RESUMO GERAL

Os sistemas assépticos são uma das tecnologias mais empregadas na conservação de bebidas à temperatura ambiente, compondo um mercado dinâmico e promissor de produtos, embalagens e equipamentos. O objetivo desse trabalho foi avaliar um sistema asséptico projetado para produzir 1.000 L/h de leite longa vida e bebidas de alta acidez (dois tipos de chás e quatro refrescos mistos de maçã, pera e pêsego), com uma taxa de defeitos de 0,1%. As embalagens consistiram em bolsas flexíveis com termossoldagem tipo almofada de polietileno de baixa densidade pigmentado de branco com dióxido de titânio, tradicionalmente utilizado para leite pasteurizado, e laminado multicamada com propriedades de barreira ao oxigênio e à luz. Foram realizadas 15 produções de leite longa vida e quatro das bebidas de alta acidez. Os testes foram conduzidos num sistema composto por equipamentos comerciais (tanques, bombas, válvulas, tubulações e trocador de calor) e em desenvolvimento (tanque de produto e máquina de embalagem tipo forma, enche e fecha), todos destinados às indústrias de pequena escala de produção. O sistema foi avaliado com base em testes de esterilização comercial e análises de aceitação sensorial dos produtos. A taxa de defeitos nas produções de leite longa vida ficou na ordem de 2%, enquanto para as bebidas de alta acidez de 0,4%. A aceitação sensorial do leite longa vida nas embalagens de polietileno, estocadas no escuro, variou entre quatro e sete semanas, de acordo com a qualidade da matéria-prima, enquanto a aceitação sensorial do produto exposto à luz foi de alguns dias. Na embalagem laminada, a luz não afetou a estabilidade do produto, que teve uma vida de prateleira entre 12 e 24 semanas, dependendo da matéria-prima. Esses resultados comprovaram a viabilidade das embalagens para a conservação do produto. Entretanto, o sistema deverá passar por melhorias, alcançando desse modo o potencial para aplicação em indústrias de pequena escala de produção. A simplicidade da linha de processamento e embalagem contribuiu para quebrar o paradigma de que os sistemas assépticos têm de ser sofisticados e onerosos.

## **ABSTRACT**

Aseptic systems are one of the main technologies employed for shelf stable milk and juices, creating a dynamic and promising market for products, packaging and equipments. The aim of this study was to evaluate an aseptic system designed to produce 1000 L/h long-life milk and high acidity soft drinks (two teas and four soft drinks, mixed with apple, pear and peach), with a defect rate of 0.1 %. The packages were pillow-style pouches of low density polyethylene pigmented white with titanium dioxide, traditionally used for packaging pasteurized milk in Brazil, and multilayer laminate with oxygen and light barrier properties. There were performed 15 trials of long-life milk and four of soft drinks. Tests were conducted in the system composed of commercial equipment (tanks, pumps, valves, piping and heat exchanger), product tank, and form/fill/seal packaging machine, all used to small-scale production. The system evaluation was based on tests for commercial sterility and sensory acceptability testing of the products. The defect rate in the production of long-life milk was around 2%, while in high acidity drinks of 0.4%. The sensory acceptability of long-life milk in polyethylene containers, stored in the dark, ranged from four to seven weeks, according to the quality of raw material, while for the products exposed to light, it was of a few days. In the laminated bag, light did not affect the stability of the product, which had a shelf life ranged from 12 to 24 weeks, depending on the raw material used. These results have proved the feasibility of both packs for the conservation of the product. However, the system must go through improvements, thereby achieving the potential for application in small-scale industries. The simplicity of the the processing and packaging system helped to break the paradigm that aseptic systems have to be sophisticated and expensive.

## **INTRODUÇÃO GERAL**

Os sistemas assépticos são definidos como o processamento de um produto comercialmente estéril e envase numa embalagem esterilizada, com um fechamento estéril e hermético de maneira a prevenir recontaminações microbianas do produto (CODEX ALIMENTARIUS, 1993). Essa tecnologia possibilita a esterilização do produto e da embalagem em separado, uma vez que o acondicionamento é realizado numa área limpa. Isso assegura a estabilidade do produto à temperatura ambiente sem o uso de conservantes químicos. Outra vantagem é o processamento em fluxo contínuo com um rápido aquecimento e resfriamento do produto antes do envase. Conseqüentemente, o produto final geralmente é de melhor qualidade sensorial e nutricional, por ser submetido a um tratamento térmico mais brando que na esterilização convencional através da embalagem ou o enchimento a quente (ROMANO; FARIA; ANJOS, 1998; RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

O mercado mundial de sistemas assépticos contabilizou 86 bilhões de litros e 187 bilhões de embalagens em 2008. Esse mercado vem crescendo a uma taxa média de 6% ao ano, sendo que na Ásia são contabilizados números na ordem de 13% desde 2003. As estimativas para 2013 são de 113 bilhões de litros e 265 bilhões de embalagens. O leite longa vida é o principal produto asséptico, compreendendo mais de 45% do mercado, seguido pelas bebidas não carbonatadas, com 40%, e os outros produtos lácteos, com os 15% restantes. Nesse mercado, amplamente diversificado e consolidado, o principal produto emergente são os alimentos infantis. As embalagens laminadas cartonadas detêm aproximadamente 75% do mercado, mas vem perdendo espaço, principalmente para bolsas flexíveis e garrafas de polietileno tereftalato (PET). Esse sistema é operado por mais de 11.000 indústrias de alimentos e mais de 30 empresas de equipamentos de envase asséptico (BRUCE, 2009; WARRICK RESEARCH; ZENITH INTERNATIONAL, 2009).

No Brasil, existem cinco empresas de envase asséptico, fornecedoras de equipamentos, para o mercado de embalagens de consumo e cerca de 10 para embalagens institucionais. Os sistemas para embalagens de consumo são praticamente dominados por uma única empresa, a pioneira Tetra Pak Ltda., a maior empresa mundial do setor. Outras empresas que vêm atuando no mercado brasileiro de embalagens de consumo são as seguintes: a Sig Combibloc Ltda., acondicionando os produtos em embalagens laminadas cartonadas de sete camadas (Papel/Polietileno (PE)/Cartão/PE/Alumínio/PE/PE) com diferentes tipos de sistemas de abertura (SIG COMBIBLOC, 2010); a Hamba Filltec GmbH & Co. KG, em garrafas co-extrusadas de polietileno de alta densidade (PEAD) em três camadas (PEAD branco/PEAD preto/PEAD branco) fechadas com selo de alumínio revestido com filme termosselante e uma sobretampa com rosca injetada em polietileno (GARCIA; ALVES, 2006; HAMBA FILLTEC, 2010); bem como a Elecster Aseptic Packaging Co. Ltda., a DuPont S.A. e a Sumá Indústria e Comércio Ltda., as três empregando bolsas flexíveis.

O sistema de processamento e envase asséptico da Elecster Aseptic Packaging Co. Ltda., empresa finlandesa, é comercializado pela Intermarketing Brasil Comercial e Serviços Ltda. A embalagem é produzida com filme co-extrusado de pelo menos cinco camadas (PE branco/Adesivo/copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH)/Adesivo/PE preto) e apresenta fechamento tipo três soldas laterais, formado pela fusão de material do lado interno com o do lado interno do filme (FRANÇA, 2008; NA TOCAIA..., 2006). A DuPont S.A. utiliza esse mesmo sistema de fechamento em filmes monocamada de PEBD linear, com três camadas (PE/Adesivo/PE) ou com cinco camadas (PE/Adesivo/EVOH/Adesivo/PE), de acordo a vida de prateleira desejada para o produto, entre 30 e 365 dias (DU PONT..., 1996; DU PONT, 2010). No sistema da Sumá Indústria e Comércio Ltda. são utilizados desde filmes monocamada de PEBD até filmes laminados para produção de bolsas flexíveis com fechamento tipo almofada, formada por duas soldas horizontais, fusões lado interno com lado interno, e uma solda vertical, centrada no verso da embalagem, fusão lado interno com lado externo (SUMÁ, 2010).

Os produtos assépticos produzidos no Brasil compreendem basicamente os lácteos, incluindo diferentes tipos de leite, com variações no conteúdo de gordura e nos ingredientes adicionados, bebidas lácteas não fermentadas saborizadas, com destaque para as achocolatadas, e outras especialidades lácteas, como o leite condensado e o creme de leite; as bebidas não carbonatadas, englobando sucos, refrescos e néctares de diferentes frutas, bem como os extratos aquosos de soja, os chás prontos para beber e as bebidas à base de café; produtos à base de tomate e outros molhos; alimentos para situações metabólicas especiais. Dentre esses produtos, destacou-se na última década o crescimento do consumo de bebidas não carbonatadas, especialmente, néctares, refrescos, bebidas à base de soja, chás gelados, e bebidas lácteas não fermentadas saborizadas, segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas (2010). Esse crescimento foi impulsionado pelo interesse público por questões de saúde e nutrição, bem como a disponibilização no mercado desses produtos prontos para beber através da tecnologia asséptica e outras intervenções tecnológicas para estabilização das bebidas à temperatura ambiente.

O mercado brasileiro de sucos e néctares de fruta foi estimado em 425 milhões de litros em 2008 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS, 2010). As embalagens laminadas cartonadas detêm 84% desse mercado, impulsionado pelo tamanho de 1 L que, por si só, representa 71% da participação total. O mercado de refrescos, composto por bebidas a base de soja, água de guaraná, água de coco e de outras frutas, foi estimado em aproximadamente um bilhão de litros. Nesse mercado, as embalagens laminadas cartonadas progressivamente ganham espaço na última década e registraram uma participação total de 44% em 2008, o que reflete um expressivo crescimento do consumo das bebidas à base de soja.

Os chás prontos para beber representam uma parcela menos expressiva do mercado de bebidas não alcoólicas, tendo sido estimado em 100 milhões de litros em 2008. Mesmo assim, os estudos de mercado têm apontado tendência de crescimento, perante o aumento da demanda de produtos naturais e funcionais,

apesar dos brasileiros não terem o hábito de tomar chás gelados. Os chás prontos para beber produzidos com conservantes químicos e acondicionados nas garrafas PET continuam o tipo mais popular, apesar disso, este tipo de sistema de processamento e embalagem vem perdendo espaço para o sistema asséptico, onde o produto é conservado sem o uso de conservadores químicos. Atualmente, a indústria brasileira de chás prontos para beber conservados através da tecnologia asséptica só produz esse tipo de bebida em embalagens laminadas cartonadas, apesar da Kronos do Brasil Ltda., empresa multinacional alemã, dispor do sistema em garrafas PET (KRONES, 2010).

O leite longa vida ou *ultra high-temperature* (UHT) destaca-se como o principal tipo de produto asséptico comercializado, apresentando um mercado estimado em cinco bilhões de litros de leite fluido ao ano ou de embalagens laminadas cartonadas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA, 2009). Esse produto foi introduzido no país em 1972, mas até o início dos anos de 1990 compreendia, apenas, cerca de 5% do mercado de leite fluido, dominado pelo leite pasteurizado em embalagens flexíveis de polietileno. Alves (2001) atribuiu esta pequena parcela de mercado ao desconhecimento do produto pelo consumidor e ao "desinteresse" das padarias - principal canal de vendas do leite fluido na época - em comercializá-lo. Além disso, a capacidade industrial instalada era baixa. Com a liberação de mercado externo pelo governo, iniciada em 1992, ocorreu uma concentração do setor de laticínios e um aumento da importância dos supermercados na distribuição de alimentos. Depois de uma década, o produto acondicionado nas embalagens laminadas cartonadas e estável à temperatura ambiente, passou a representar mais de 70% do mercado. Assim, o leite UHT passou a ser comercializado a preços competitivos ao leite pasteurizado, possibilitando o crescimento acelerado do consumo do produto no país. Nesse cenário, destaca-se também a opção do consumidor por um produto de maior conveniência na periodicidade de compra e estocagem.

As vantagens dos produtos assépticos transformaram o mercado de sistemas assépticos em um negócio atrativo. No entanto, existem barreiras consideráveis à entrada e permanência nesse mercado, tais como a complexidade inerente ao sistema, os investimentos demandados em pesquisa e desenvolvimento e a competitividade empresarial. Os sistemas assépticos devem ser planejados, implantados e validados de acordo com especificações assépticas, que contemplem a esterilidade comercial dos seus principais elementos: produto; superfícies de contato com o produto; material de embalagem; gases e equipamento (CODEX ALIMENTARIUS, 1993). Esses elementos são comuns a todos os tipos de sistemas assépticos, que se diferenciam pela maneira pela qual alcançam e mantêm a esterilidade comercial.

Na concepção de um sistema asséptico, as bolsas plásticas apresentam-se como uma das alternativas de embalagens mais simples. Esse tipo de embalagem racionaliza a quantidade de material utilizado, atribuindo-se características de economia e minimizando impactos ambientais do sistema. As propriedades mecânicas e de barreira são ajustáveis à qualidade e vida útil especificada para o produto. O sistema de produção da bolsa plástica, tipo forma, enche e fecha, é relativamente simples e apresenta flexibilidade quanto ao tamanho da embalagem.

As principais limitações das bolsas plásticas, para o acondicionamento de leite fluido, estão associadas à conveniência no manuseio e à praticidade do sistema de refechamento. O produto deve ser colocado num suporte para ser manuseado e a embalagem exige objetos cortantes para abertura, não apresentando dispositivo de fechamento. Todavia, essas deficiências podem ser sanadas utilizando-se a tecnologia de embalagens auto-sustentáveis e as tampas de abertura e refechamento.

O objetivo desse trabalho foi avaliar um sistema asséptico projetado para produzir 1.000 L/h de leite e bebidas de alta acidez (dois chás e quatro refrescos mistos de maçã, pera e pêssigo) com uma probabilidade de unidades não estéreis de 1:1.000. A concepção do sistema proposto nesse trabalho primou pela simplicidade e o baixo custo, adequada aos sistemas de pequena escala de

produção. As embalagens estudadas foram bolsas flexíveis com termosoldagem tipo almofada de polietileno de baixa densidade pigmentado de branco com dióxido de titânio, tradicionalmente utilizado para leite pasteurizado, e laminado multicamada com propriedades de barreira ao oxigênio e à luz. Os testes foram conduzidos num sistema composto por equipamentos comerciais (tanques, bombas, válvulas, tubulações e trocador de calor) e em desenvolvimento (tanque de produto e máquina de embalagem), todos destinados às indústrias de pequena escala de produção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, D.R. **Industrialização e comercialização do leite de consumo no Brasil**. 2001. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Index.cfm?fuseaction=opniao>>. Acesso em: 12 jan. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS. **Dados de mercado 2008**. ABIR - Canadean. Disponível em: <[http://www.abir.org.br/rubrique.php3?id\\_rubrique=180&var\\_recherche=registrar](http://www.abir.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=180&var_recherche=registrar)>. Acesso em: 16 jan. 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA. **Sobre o leite longa vida**. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Estatisticas.aspx>>. Acesso em: 11 nov. 2009.

BRUCE, B. **Global aseptic packaging to grow 30% in next five years**. Disponível em: <<http://www.foodbev.com/report/global-aseptic-packaging-to-grow-30-in-next-five-y>>. Acesso em: 17 dez. 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 40-1993: Code of hygienic practice for aseptically processed and packaged low-acid foods**. Rome: FAO/WHO, 1993. 34p.

DU PONT lança sistema de envase contra desperdício. **Leite & derivados**, n.29, p.71-72, jul./ago., 1996.

DU PONT. **Produtos & Serviços**. Sistemas de Embalagens Flexíveis. DuPont™ Pouch. Indústria. Disponível em: <[http://www2.dupont.com/Liquid\\_Packaging/pt\\_BR/products\\_services/pouch\\_new/pouch\\_system.html](http://www2.dupont.com/Liquid_Packaging/pt_BR/products_services/pouch_new/pouch_system.html)>. Acesso em: 15 jan. 2010.

FRANÇA, L. Ferve mercado de leite longa vida. **EmbalagemMarca**, n.105, p.20-22; 24; 26, maio, 2008.

GARCIA, E.E.C.; ALVES, R.M.V. Leite e derivados lácteos. In: OLIVEIRA, L.M. (Ed.). **Requisitos de proteção de produtos em embalagens plásticas rígidas**. Campinas: Cetea/Ital, 2006. Cap.20, p.101-135.

HAMBA FILLTEC. **Products and Solutions**. Fill and seal machine bottle filler. Disponível em: <<http://www.oystar.hamba.de/1654.html>>. Acesso em: 16 jan. 2010.

KRONES. **Sobre nos**. Tecnologia de envasamento e de fechamento, também para processos de envasamento asséptico a frio. Disponível em:  
<<http://www.krones.com.br/pt/1503.htm>>. Acesso em: 16 jan. 2010.

NA TOCAIA Pouch com barreira sonda chances de bulir com a caixa cartonada em leite longa vida. Plásticos em revista, n.516, p.20-22, jun., 2006.

RICHARDSON, P.S.; CHRISTIAN, G.; TUCKER, G.S. **Guidelines on the safe production of aseptically processed and packaged foods**. Gloucestershire: Campden & Chorleywood Food Research Association Group, 2007. 88p. (Guideline No. 53)

ROMANO, M.A.; FARIA, J.A.F.; ANJOS, C.A. Sistemas assépticos para alimentos em embalagens plásticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.2, p.180-188, 1998.

SIG COMBIBLOC. **Embalagem cartonada**. Disponível em:  
<[http://www.sig.biz/site/pt/brazil/3\\_carton\\_packaging/Carton\\_Packaging.jsp](http://www.sig.biz/site/pt/brazil/3_carton_packaging/Carton_Packaging.jsp)>. Acesso em: 15 jan. 2010.

SUMÁ. **Contato**. Disponível em: < <http://sumaind.com.br/contato.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

VON BOCKELMANN, B.; VON BOCKELMANN, I. **Long-life products: Heat-treated, aseptically packed: A guide to quality**. Värnamo: Fälth & Hässler, 1998. 246p.

WARRICK RESEARCH; ZENITH INTERNATIONAL. **Global Aseptic Packaging 2009**. Disponível em:  
<[http://www.zenithinternational.com/market\\_industry\\_reports/report\\_detail.asp?id=215](http://www.zenithinternational.com/market_industry_reports/report_detail.asp?id=215)>. Acesso em: 17 dez. 2009.

**CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA -  
ESPECIFICAÇÕES PARA O PROCESSAMENTO E A  
EMBALAGEM ASSÉPTICA DE BEBIDAS**

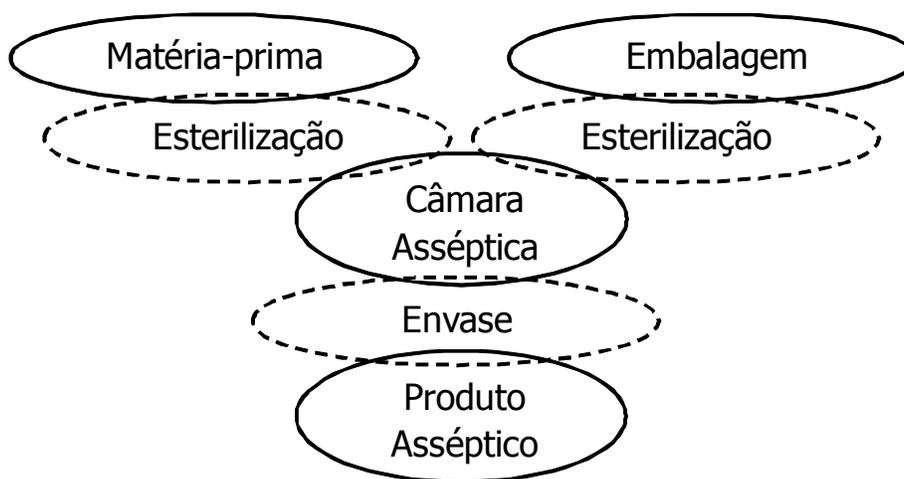
# ESPECIFICAÇÕES PARA O PROCESSAMENTO E A EMBALAGEM ASSÉPTICA DE BEBIDAS

## RESUMO

As especificações assépticas (*scheduled process*) englobam todas as condições necessárias para alcançar e manter a esterilidade comercial dos elementos do sistema: equipamento, embalagem e alimento. O objetivo dessa revisão foi levantar considerações para especificações de sistemas assépticos, bem como aspectos relacionados à sua qualificação e validação. A revisão foi baseada no código de práticas higiênicas do *Codex Alimentarius* para alimentos de baixa acidez processados e acondicionados assepticamente. Diante da limitada legislação existente para sistemas assépticos no Brasil, esse trabalho serve como estímulo para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelecer instrumentos legais para os atuais e futuros sistemas.

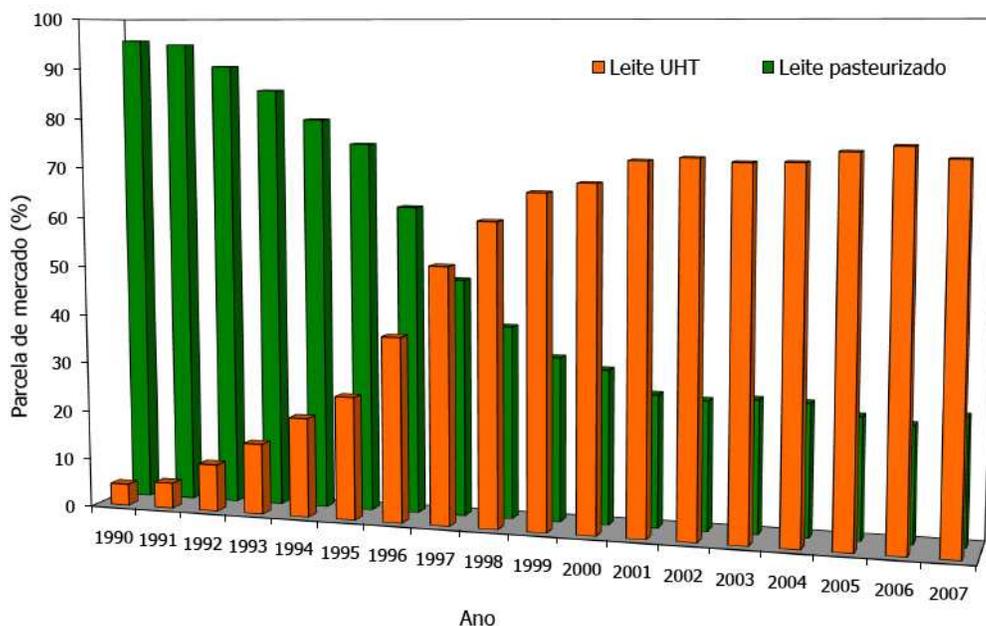
## 1 - INTRODUÇÃO

Os sistemas assépticos são definidos como o processamento de um produto comercialmente estéril e envase numa embalagem esterilizada, com um fechamento estéril e hermético de maneira a prevenir recontaminações microbianas do produto (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Essa tecnologia possibilita a esterilização do produto e da embalagem em separado, uma vez que o acondicionamento é realizado numa área limpa (Figura 1). Isso assegura a estabilidade do produto à temperatura ambiente sem o uso de conservantes químicos. Outro aspecto interessante é o processamento em fluxo contínuo com um rápido aquecimento e resfriamento do produto antes do envase. Conseqüentemente, o produto é submetido a um tratamento térmico mais brando que na esterilização convencional através da embalagem ou o enchimento a quente (ROMANO; FARIA; ANJOS, 1998; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998; RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007).



**Figura 1** - Diagrama genérico das etapas dos sistemas assépticos.

A tecnologia asséptica tem cerca de 80 anos, tendo sido desenvolvida a partir de 1927 na *American Can Company*, sob a coordenação de C. Olin Ball (MITCHELL, 1988). Entretanto, a sua aplicação em grande escala comercial e a diversificação dos produtos tem ocorrido nas últimas décadas. No Brasil, por exemplo, o leite *ultra high-temperature* (UHT) foi introduzido em 1972, mas até o início dos anos de 1990 compreendia, apenas, cerca de 5% do mercado de leite fluido, dominado pelo leite pasteurizado em embalagens flexíveis. Depois de uma década, o produto passou a representar mais de 70% do mercado, estimado atualmente em cinco bilhões de litros de leite fluido ao ano ou de embalagens laminadas cartonadas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA, 2009). A Figura 2 apresenta o comportamento do mercado de leite fluido no Brasil. Ademais, os produtos assépticos, que até a década de 1980 ficavam limitados principalmente aos sucos e leites, diversificaram as opções nas prateleiras dos mercados, incluindo alimentos particulados com carnes e vegetais.



**Figura 2** - Mercado de leite fluido no Brasil.

Fonte: Adaptado de Associação Brasileira de Leite Longa Vida (2009).

As vantagens dos produtos assépticos transformaram o mercado de equipamentos e embalagens num dos mais dinâmicos e promissores (SZEMPLENSKI, 2005). Nos Estados Unidos existem cerca de 30 tipos de sistemas assépticos comerciais, sendo que na década de 1980 o número era o dobro do atual e somente no período entre 1999 e 2005 foram criados 10 novos sistemas (BRODY, 2006). No Brasil, existem cinco sistemas para embalagens de consumo e cerca de 10 para embalagens institucionais. No entanto, existem barreiras consideráveis à entrada e permanência nesse mercado, tais como os investimentos demandados em pesquisa e desenvolvimento, a complexidade inerente ao sistema, e a competitividade empresarial.

Os sistemas assépticos devem ser planejados, implantados e validados de acordo com especificações assépticas, que contemplem a esterilidade comercial dos seus principais elementos: produto; superfícies de contato com o produto; material de embalagem; gases e equipamento. Esses elementos são comuns a todos os tipos de sistemas assépticos, diferenciando-se pela maneira pela qual alcançam e mantêm a esterilidade comercial.

As especificações assépticas (*scheduled process*) foram inicialmente desenvolvidas para esterilização ou apertização dos alimentos na embalagem, de modo a assegurar a estabilidade à temperatura ambiente. Mas o conceito passou a ser considerado de forma sistêmica, sendo aplicado em todo o mundo a partir da década de 1970, com a regulamentação americana da *Food and Drug Administration* (FDA) sobre Boas Práticas de Fabricação para alimentos enlatados de baixa acidez (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2009b) e acidificados (USFDA, 2009c). Naquela época a FDA também estabeleceu a exigência de uma permissão legal, baseada nas especificações assépticas, para que os produtos pudessem ser introduzidos no mercado (USFDA, 2009a). Essas legislações foram publicadas como consequência de uma série de surtos de botulismo que ocorreram devido ao processamento térmico inadequado de produtos de baixa acidez em embalagens hermeticamente fechadas ou pela acidificação insuficiente de produtos que deveriam ser de alta acidez (USFDA, 1997). No âmbito internacional, o *Codex Alimentarius* contemplou as especificações assépticas com o estabelecimento de recomendações para esterilização comercial pelo método convencional na embalagem (CODEX ALIMENTARIUS, 1993b) e através de sistemas assépticos (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a).

O propósito principal das normas e recomendações para produtos comercialmente estéreis é proteger os consumidores contra micro-organismos que apresentem risco considerável à saúde pública, especialmente *Clostridium botulinum*. Os esporos desses micro-organismos devem ser destruídos ou efetivamente inibidos de modo a evitar a germinação e subsequente produção da toxina botulínica, uma das mais fatais. Isso é alcançado através das Boas Práticas de Fabricação e programas complementares de segurança dos alimentos como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle.

Os programas de segurança e qualidade de alimentos devem incluir:

- Estabelecimento de programas de higienização e métodos de conservação, através de especificações assépticas, que possibilitem pelo menos a destruição ou inibição de esporos de *Clostridium botulinum*;
- Aplicação efetiva dos programas de higienização e métodos de conservação em sistemas de produção adequadamente controlados;
- Comprovação documental das especificações assépticas através da manutenção de registros.

A qualificação e validação dos sistemas assépticos visam provar que o mesmo funciona conforme as especificações assépticas. Isso envolve considerações quanto os pontos críticos de controle, a legislação pertinente, a produtividade, a taxa de não-esterilidade, dentre outros aspectos abordados nesse trabalho.

O objetivo dessa revisão foi levantar considerações para especificações de sistemas assépticos, bem como aspectos relacionados à sua qualificação e validação. A revisão foi baseada no código de práticas higiênicas para alimentos de baixa acidez processados e acondicionados assepticamente do Codex Alimentarius (1993a). Perante a limitada legislação existente para sistemas assépticos no Brasil, esse trabalho serve como base técnica para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelecer instrumentos legais específicos para os atuais e futuros sistemas.

## **2 - ESPECIFICAÇÕES ASSÉPTICAS**

As especificações assépticas (*scheduled process*) são definidas como todas as condições necessárias para alcançar e manter a esterilidade comercial dos elementos do sistema: equipamento, embalagem e produto (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Os fatores críticos para a destruição microbiana devem

ser planejados, testados, controlados e registrados, sendo listados na forma de um documento para validação da esterilidade comercial.

O estabelecimento das especificações assépticas deve ser efetuado por pessoas qualificadas ou organizações com infra-estrutura adequada, que atuem como autoridades em processos. Na indústria, as especificações assépticas devem estar documentadas e prontamente acessíveis para consulta, pelos responsáveis pelo sistema ou autoridades dos órgãos oficiais de jurisdição, consistindo num instrumento genérico para análise do sistema (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Essa documentação, preferencialmente, deve ser aprovada, datada e assinada pela autoridade em processo, responsável pela operação, responsável legal e proprietário do estabelecimento, firmando o compromisso de implementação, monitoramento, avaliação, registro e manutenção das especificações.

Os operadores do sistema devem estar sob a supervisão de uma pessoa treinada, que conheça os princípios do processamento e embalagem asséptica (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). A legislação americana determina que o supervisor seja satisfatoriamente aprovado em um curso de instruções sobre operação de autoclaves e sistemas assépticos, assim como inspeção do fechamento de embalagens (USFDA, 2009a; 2009b). No Brasil, esse curso vem sendo ministrado pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos - Campinas, SP.

Nos Estados Unidos, os sistemas assépticos de produtos de baixa acidez e acidificados sob jurisdição da FDA, são analisados através de documentos de registro (*process filling*). Existem dois tipos de documentos de registro, um para sistemas assépticos de produtos de baixa acidez, apresentado no Anexo I (USFDA, 2008b), e outro para todos os métodos de conservação de produtos comercialmente estéreis, exceto sistemas assépticos de baixa acidez, apresentado no Anexo II (USFDA, 2008a). Adicionalmente, a FDA exige uma documentação com especificações dos equipamentos, fatores críticos e controles dos sistemas assépticos, apresentada no Anexo III (USFDA, 2001d). Outras informações podem ser requeridas, incluindo o relatório da validação de processo em novos sistemas assépticos. Esses documentos devem ser providenciados por todos os

processadores de alimentos que comercializam produtos nos Estados Unidos, servindo para identificação de perigos potenciais à saúde pública e para monitorar o cumprimento da legislação. A FDA disponibiliza um guia de instruções, em formato eletrônico, para preenchimento de cada documento de registro (USFDA, 1997).

Os produtos não incluídos nas regulamentações da FDA para alimentos de baixa acidez em embalagens herméticas são os seguintes (USFDA, 1997; 2009a; 2009b):

- Alimentos ácidos, com pH normal ou natural  $\leq 4,6$ ;
- Bebidas alcoólicas;
- Alimentos fermentados, com redução do pH para 4,6 ou menos pela ação de micro-organismos produtores de ácidos;
- Alimentos processados sob a jurisdição do programa de carnes e frangos da *United States Department of Agriculture*;
- Alimentos com atividade de água  $\leq 0,85$ ;
- Alimentos que não são termicamente processados;
- Alimentos que não são acondicionados em recipientes hermeticamente fechados;
- Alimentos estocados, distribuídos e comercializados sob refrigeração, sendo visivelmente rotulados com informações como, mantenha refrigerado;
- Tomates e produtos derivados com pH final de equilíbrio  $< 4,7$ .

Os produtos não incluídos nas regulamentações da FDA para alimentos acidificados são (USFDA, 1997; 2009a; 2009c):

- Alimentos ácidos, com pH normal ou natural  $\leq 4,6$ ;
- Alimentos ácidos que contêm uma pequena quantidade de alimentos de baixa acidez e cujo pH final de equilíbrio não difere significativamente do componente predominante;
- Bebidas alcoólicas;
- Bebidas carbonatadas;
- Alimentos fermentados;
- Alimentos com atividade de água  $\leq 0,85$ ;
- Geléias, conservas de frutas e produtos similares.

### **3 - ESTERILIDADE COMERCIAL**

A esterilidade comercial significa ausência de micro-organismos capazes de desenvolver no alimento em condições normais sem refrigeração, pelas quais o produto deve ser manuseado durante a produção, distribuição e estocagem (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). No contexto dos sistemas assépticos, a definição de esterilidade comercial também é empregada para denotar o estado em que equipamentos e embalagem ficam livres de micro-organismos capazes de se desenvolver no alimento nas condições de produção, distribuição e estocagem.

O conceito de esterilidade comercial é empregado na indústria de alimentos perante limitações de natureza composicional dos alimentos, técnica e analítica em se alcançar ou comprovar o estado de esterilidade absoluta; ou seja, a ausência de micro-organismos em uma amostra ou lote de produção. O tratamento necessário para alcançar a esterilização completa de um alimento pode destruir os seus atributos sensoriais e o seu valor nutritivo. A contaminação das matérias-primas é variável e as populações homogêneas geralmente apresentam uma cinética de destruição logarítmica, independentemente da aplicação de tratamentos físicos ou

químicos. Por outro lado, os tratamentos de descontaminação têm intensidades fixas e estão sujeitos às falhas. As análises microbiológicas detectam somente as formas de organismos capazes de desenvolver nas condições teste, de modo que a ausência absoluta de organismos não pode ser comprovada como um todo. Ademais, as análises microbiológicas geralmente são destrutivas, demoradas, onerosas e, mesmo que fossem aplicadas em 100% das amostras de um lote, não comprovariam a esterilidade absoluta (PFLUG, 1987b). Consequentemente, o conceito de esterilidade comercial foi introduzido na indústria de alimentos, inicialmente para produtos enlatados e termicamente processados, denotando uma condição de estabilidade microbiana, por um período indeterminado, nas condições normais de produção, distribuição e estocagem.

Pflug (1987a) propôs uma abordagem quantitativa para a especificação do produto ou processos, que indica o nível de micro-organismos críticos num determinado número de embalagens, em termos da probabilidade de unidades não-estéreis (PUNE). Esse parâmetro é definido como o número de embalagens não-estéreis em relação ao total de embalagens produzidas. Os sistemas assépticos podem apresentar valores de PUNE nos seguintes níveis: 1:100, considerada inaceitável; 1:1.000, realística; 1:10.000, ambiciosa; 1:100.000, dificilmente atingível; 1:1.000.000, impraticável (VON BOCKELMANN, 1991). A PUNE dos sistemas assépticos comerciais pode ser estabelecida em função de vários fatores, incluindo: a natureza do produto; a legislação; a política de qualidade empresarial; a concorrência de mercado e o tipo de consumidor alvo (VON BOCKELMANN, 1998).

O cálculo da PUNE de um sistema composto por vários elementos pode ser determinado pela regra da adição de riscos ou Teorema de Morgan da Álgebra Booleana. A PUNE pode ser expressa como a soma dos riscos de não-esterilidade individual de todos os elementos do sistema, desde que os riscos individuais sejam muito menores que 1. Celf (1981) extraiu desta regra dois fundamentos para os sistemas assépticos: (i) O risco de não-esterilidade está diretamente associado com a operação de esterilização menos eficiente; (ii) Quanto maior o número de

operações de esterilização, maior o risco de não-esterilidade. Essas considerações podem ser exemplificadas supondo-se um sistema com três elementos, com os seguintes riscos: R1 de  $10^{-3}$ ; R2 de  $10^{-5}$ ; R3 de  $10^{-6}$ . O risco total do sistema seria de  $1,011 \times 10^{-3}$ , aproximadamente igual ao R1.

A ocorrência de unidades não-estéreis em sistemas assépticos pode ser atribuída a diferentes causas. Existem relatos que indicam a operação de embalagem asséptica como a mais crítica. Todavia, considerações operacionais do sistema como um todo, bem como a experiência, levaram a Von Bockelmann (1988a; 1988b) a atribuir as falhas a uma ou mais das seguintes causas:

- Construção imprópria dos equipamentos;
- Instalações incorretas das linhas de produção;
- Negligência na manutenção preventiva da planta de produção;
- Operações indevidas;
- Qualidade deficiente da matéria-prima;
- Manuseio e distribuição inadequada do produto final.

#### **4 - EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS**

Os principais requisitos dos equipamentos e acessórios empregados em linhas de processamento e embalagem asséptica são os seguintes:

- Desenho sanitário que possibilite a limpeza em circuito fechado e drenagem do sistema. As partes internas dos equipamentos devem, preferencialmente, possibilitar a visualização para inspeções;
- Construção com materiais aprovados para contato com o alimento, não reativos nas condições de uso e resistentes à corrosão. Os principais materiais são aços inoxidáveis e borrachas com diferentes especificações para resistir às condições de processamento e a reatividade do produto e dos agentes químicos.

- Conter barreiras físicas que assegurem a integridade da área asséptica do sistema. Essas especificações são contempladas pelo Codex Alimentarius (1993a) e serão discutidas a seguir.

Nos sistemas assépticos com fluxo contínuo a taxa de alimentação de matéria-prima deve ser constante, reproduzível e quantificável. Esse controle visa assegurar a manutenção do tempo de retenção estabelecido nas especificações para esterilização do produto. Nesse sentido, deve existir um controle de vazão de alimentação do sistema que previna alterações não autorizadas, através de alarmes ou cadeados ou outro dispositivo.

O tubo de retenção deve ser projetado e instalado de forma que nenhuma porção dessa seção do esterilizador, entre a entrada e saída do fluido, seja aquecida. A inclinação mínima da tubulação deve ser de 2,0 cm/m, assegurando que a seção esteja sempre cheia de produto. As características de aquecimento do produto na seção de retenção, principalmente o fluxo de produto e variações de temperatura, devem ser conhecidas de modo a assegurar o cumprimento das especificações do tratamento térmico de esterilização comercial do produto. Esse conhecimento é fundamental para assegurar o controle ambiental ao redor da seção e obter um controle apropriado da temperatura do produto.

Os equipamentos e acessórios com partes móveis localizados após a entrada da seção de retenção devem conter barreiras físicas que previnam a entrada de micro-organismos na área asséptica do sistema. Selos de vapor ou outras barreiras apropriadas devem ser instalados ao redor do eixo de bombas, válvulas e outras partes móveis. O funcionamento desses dispositivos de proteção deve ser monitorável pelo operador. Isso pode ser realizado pela observação da liberação de descargas de vapor de purgadores apropriadamente localizados e orientados ou através de vazamentos em portas de detecção.

Nos processamentos onde são exigidas condições de esterilização acima da temperatura de ebulição do produto à pressão atmosférica é necessário elevar a pressão na seção de retenção da linha. Isso possibilita a elevação da temperatura

do produto e evita a sua fervura (*flashing*), que pode afetar tanto a temperatura quanto o tempo estipulado para esterilização comercial. As altas pressões constituem também uma barreira à entrada de micro-organismos no sistema, pois em eventuais aberturas, o produto tende a vazar do ambiente interior para o externo. Nas linhas de processamento a contrapressão pode ser mantida por meio de válvulas, placas com orifício ou outros dispositivos que restrinjam a passagem de produto pelo trocador de calor.

A pressão de ar e outros gases esterilizados por calor ou filtração é outra barreira física, sendo aplicada em partes estacionárias do sistema. Nos tanques assépticos é recomendada uma pressão manométrica mínima de 0,07 kgf/cm<sup>2</sup>. O fluxo de ar comercialmente estéril para o tanque deve ser efetuado após o ciclo de esterilização. Isso previne o estabelecimento de pressões negativas durante o resfriamento do tanque ou ao longo da produção e, conseqüente, sucção de micro-organismos.

Os sistemas assépticos têm como princípio de funcionamento a parada do processamento na ocorrência de algum evento que resulte na perda potencial da esterilidade da seção asséptica, devendo ser realizada uma limpeza e esterilização da linha antes da retomada da produção. Entretanto, os sistemas podem ser concebidos de forma que a máquina de embalagem e o tanque asséptico funcionem mesmo na ocorrência de falhas críticas de processamento, como diminuição da temperatura do produto no final da seção de retenção ou a queda da pressão diferencial nas seções de regeneração do trocador de calor, abaixo das especificações. Nesses casos, deve ser estabelecida uma barreira física entre o produto potencialmente não estéril da linha de processamento e o produto comercialmente estéril estocado do tanque asséptico da linha da máquina de embalagem. Isso pode ser realizado através de uma configuração com duas válvulas, localizadas antes do tanque asséptico, que automaticamente convertam a linha de produto para o modo de desvio de fluxo e separem o tanque asséptico e a máquina de embalagem da linha. Entre as válvulas é estabelecida uma barreira de vapor que assegura o isolamento do produto comercialmente estéril. Modificações

nos equipamentos devem ser avaliadas de modo a se determinar a necessidade de conduzir testes desafios (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a).

#### **4.1 - Instrumentação e Controle**

O Codex Alimentarius (1993a) estabeleceu que o esterilizador devesse ser equipado com um número suficiente de termômetros e registradores de tempo e temperatura que sejam acurados, calibrados e confiáveis. Esses dispositivos devem apresentar uma sensibilidade suficiente para responder a mudanças de temperatura, de modo a assegurar o atendimento às especificações de processamento assépticas especificadas.

Os termômetros devem possuir uma divisão da escala que possibilite uma leitura de 0,5 °C, claramente, sendo que nos instrumentos analógicos a escala graduada não pode exceder 4,0 °C/cm. A acuracidade dos termômetros deve ser testada com um termômetro padrão, utilizando-se água ou vapor e numa posição ou aspecto similar a instalada no esterilizador. Esse teste deve ser realizado antes da instalação no esterilizador e com uma frequência que assegure a sua acuracidade, e que seja no mínimo anual. Os termômetros que apresentarem um desvio maior que 0,5 °C, em relação ao padrão, devem ser ajustados ou substituídos.

Os registradores de tempo e temperatura devem apresentar uma carta gráfica com uma escala que não apresente mais de 12 °C/cm numa faixa de 10 °C da temperatura de esterilização. A acuracidade dos registradores deve ser igual, ou melhor, que + 0,5 °C. A temperatura registrada não deve superar a do termômetro durante a esterilização. Os registradores devem ser equipados com algum dispositivo que previna alterações não autorizadas no seu ajuste. O registrador de tempo deve ser acurado e verificado periodicamente, de forma a se manter o seu funcionamento adequado.

O termômetro na saída do tubo de retenção deve ser instalado de modo a não alterar o fluxo de fluido e resultar numa condição de processamento

inadequada. O sensor do termômetro deve ser localizado próximo à sonda, que deve ser posicionada de forma que a condutividade da tubulação não interfira na determinação da temperatura do produto.

As seções de regeneração do trocador devem ser projetadas, construídas, operadas e controladas de modo a prevenir a contaminação do produto estéril com a matéria-prima. A pressão manométrica em qualquer posição no lado das placas com produto estéril deve ser maior do que no lado da matéria-prima em pelo menos

0,07 kgf/cm<sup>2</sup>. O trocador de calor deve ser equipado com dois sensores de pressão, localizados na saída do regenerador com produto estéril e na entrada do regenerador com matéria-prima.

O registrador-controlador de diferença de pressão das seções de regeneração deve ter a sua escala dimensionada de modo que, iniciando-se a escala em 0 kgf/cm<sup>2</sup>, a diferença de pressão especificada corresponda a cerca de dois terços da escala total. A divisão da escala não deve exceder 0,14 kgf/cm<sup>2</sup>, numa escala de trabalho que não seja superior a 1,4 kgf/cm<sup>2</sup>/cm. A acurácia desse dispositivo deve ser testada com um indicador de pressão padrão, antes de sua utilização e com uma frequência que assegure confiabilidade nas mensurações, mas que seja no mínimo anual. Todos os dispositivos de monitoramento, registro e controle e verificação devem ser aprovados pelos órgãos oficiais responsáveis.

## **5 - HIGIENIZAÇÃO DA LINHA DE PROCESSAMENTO E EMBALAGEM**

A limpeza e esterilização da linha de processamento e embalagem constituem partes principais do programa industrial de higienização, que deve ser estabelecido conforme recomendações do Codex Alimentarius (1993a; 2003). Nas linhas assépticas tanto a limpeza quanto a esterilização são consideradas etapas críticas, demandando um programa de higienização específico. Falhas de higienização, tanto no ciclo de limpeza quanto no ciclo de esterilização, resultam em contaminações de natureza física, química e microbiana do produto.

O principal método de higienização de linhas de processamento e embalagem asséptica é por circulação em circuito fechado. As superfícies de contato com o produto na seção asséptica da linha de processamento, localizada desde o tubo de retenção até a máquina de envase, incluindo tubulações, vedações, válvulas, bombas, placas de transferência de calor e tanques, têm de ser levadas à condição de esterilidade comercial, antes do ciclo de produção. Na máquina de envase, além das superfícies que entram em contato direto com o produto, a câmara asséptica também tem de ser esterilizada. A condição de esterilidade comercial tem que ser mantida até o término da produção, quando ocorre a limpeza e preparação do sistema para um novo ciclo. Na ocorrência de algum evento que ocasione a perda da esterilidade da seção asséptica, antes ou durante a produção, um novo ciclo de esterilização ou higienização tem que ser conduzido.

A esterilização da linha de processamento geralmente é efetuada com água a altas temperaturas, sob pressão ou com vapor saturado. O tempo e a temperatura ao longo do ciclo de esterilização têm de ser monitoradas e registradas em pontos críticos do sistema ou, pelo menos, no "ponto frio" da linha, local que demora mais para aquecer. A identificação do ponto frio do sistema deve ser conduzida em testes pré-produção, através do monitoramento da temperatura ao longo da linha.

O tanque asséptico deve ser equipado com instrumentação, adequadamente localizada, para monitoramento e registro das condições de esterilização. O ciclo de esterilização deve ser sucedido pela pressurização com ar ou outro gás comercialmente estéril à pressão manométrica mínima de  $0,07 \text{ kgf/cm}^2$ . Caso o tanque seja esterilizado em separado da linha de processamento, um ciclo específico deve ser estabelecido.

A esterilização da câmara asséptica da máquina de envase geralmente é realizada pelo método combinado de ar quente, vapor saturado ou supersaturado com agentes químicos, como peróxido de hidrogênio ou ácido peracético. No ciclo de esterilização e durante a produção o ar deve ser esterilizado ou filtrado para

manter a integridade da câmara asséptica. Nesses casos, a pressão positiva deve ser monitorada e registrada desde o início do ciclo de esterilização até o final do envase.

O estabelecimento das especificações assépticas para a esterilização da câmara asséptica da máquina de envase deve ser realizado mediante a condução de testes desafio, utilizando-se micro-organismos e métodos apropriados. Esses testes físicos, químicos e microbiológicos, além de avaliar o desempenho do sistema perante a intensidade máxima e mínima dos tratamentos, possibilitam o levantamento dos fatores críticos para atingir a condição de esterilidade comercial. Na esterilização por métodos físicos e químicos, a temperatura, tempo de contato, concentração, quantidade, método de aplicação nas superfícies e outros fatores críticos devem ser monitorados e registrados. O funcionamento adequado de atomizadores, bicos aspersores e outros instrumentos de dispersão de soluções esterilizantes deve ser verificado.

Os produtos de higienização devem ser aprovados para uso pelos órgãos oficiais de jurisdição. Qualquer residual dos produtos de higienização que permaneçam na superfície de contato com o alimento deve ser removido através do enxágue com água antes da utilização dos equipamentos. Precauções adequadas devem ser tomadas para prevenir a contaminação de alimentos, embalagens e outros produtos durante a higienização do ambiente, equipamentos e utensílios com água e soluções detergentes químicas.

O Codex Alimentarius (1993a) também recomenda que cada estabelecimento produtor de alimentos de baixa acidez comercialmente estéreis deverá ter um indivíduo, preferencialmente um membro permanente da equipe de funcionários, cujas atividades sejam independentes da produção, como responsável pelo programa de higiene industrial. Esse indivíduo deverá conhecer a importância das contaminações e os perigos envolvidos, contando com uma equipe adequadamente treinada em técnicas de higienização.

## 6 - ESTERILIZAÇÃO COMERCIAL DO PRODUTO

Na especificação asséptica para esterilização comercial de produtos de baixa acidez, o Codex Alimentarius (1993a) recomenda que o processo térmico para produtos de baixa acidez seja estabelecido de acordo com os seguintes fatores críticos:

- Microbiota, incluindo *Clostridium botulinum* e micro-organismos deteriorantes;
- Composição e formulação do produto;
- Nível e tipo de conservante;
- pH de equilíbrio;
- Atividade de água;
- Provável temperatura de estocagem do produto.

O pH é um dos parâmetros decisivos na seleção do processo térmico aplicado aos alimentos. Os produtos ácidos ou acidificados com pH menor que 4,6 são geralmente submetidos à pasteurização, em temperaturas abaixo de 100 °C, e para os produtos de baixa acidez a esterilização, em temperaturas acima de 100 °C sob pressão. Ambos os tratamentos térmicos podem resultar na condição de esterilidade comercial do produto. O pH 4,6 serviu como valor divisório entre os tratamentos devido à constatação que esporos de *Clostridium botulinum* não germinarão e crescerão em alimentos abaixo do pH 4,8, de modo que o pH 4,6 foi estabelecido como a linha divisória entre os alimentos ácidos e os de baixa acidez (GAVIN; WEDDIG, 1995). Em geral, muitos tipos de esporos não são capazes de germinar, crescer e deteriorar em alimentos com pH menor que 4,6.

O estabelecimento de um processo térmico para esterilização comercial do produto, ou qualquer elemento do sistema asséptico, deve começar pelo delineamento do planejamento dos testes, incluindo os critérios de aceitação a serem usados. Na primeira etapa deve ser determinado o requerimento de conservação do produto, tipicamente expresso em termos do valor  $F_0$ . Na segunda

etapa, as características térmicas e de deslocamento do produto devem ser determinadas para o sistema de aquecimento, retenção e resfriamento específico a ser usado. A terceira, e última etapa, consistem na integração do perfil de aquecimento com os requerimentos microbiológicos, possibilitando a validação da esterilidade comercial do produto (MASSAGUER, 2006; PFLUG; BERRY; DIGNAN, 1990).

### **6.1 - Requisito da matéria-prima**

A especificação asséptica tem como elemento inicial e final o alimento, seja na forma de matéria-prima ou de produto. A cadeia de alimentos, formada por produtores, processadores, distribuidores, vendedores e consumidores, deve ser gerenciada de modo a garantir a segurança e adequação ao consumo dos produtos. O processador, na situação de responsável legal pelos alimentos, deve assegurar condições higiênicas e estabelecer especificações de qualidade da matéria-prima (CODEX ALIMENTARIUS, 2003). Essas especificações dependem de vários fatores, incluindo o tipo de alimento, a legislação pertinente e a política de qualidade do processador.

Os tratamentos de esterilização são estabelecidos a partir da contaminação microbiana provável da matéria-prima, em termos da microbiota, número e resistência. Na esterilização comercial de produtos de baixa acidez três tipos de micro-organismos são considerados (PFLUG, 1987a; 1987b): esporos de *Clostridium botulinum*; esporos de mesófilos não patogênicos e esporos de termófilos não patogênicos (principalmente bactérias do gênero *Bacillus* e *Clostridium*). No leite UHT, Pacheco-Sanchez (2005) também destacou a importância do dimensionamento do processo térmico de acordo com a contaminação da matéria-prima por esporos de bactérias potencialmente patogênicas de *Bacillus cereus*.

O estabelecimento de tratamentos de esterilização comercial de produtos de alta acidez também é conduzido com base na contaminação potencial da matéria-prima por micro-organismos patogênicos e deterioradores. Tradicionalmente, os micro-organismos alvo são bactérias na forma vegetativa (*Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus durans*, *Lactobacillus* e outras bactérias lácticas) e bolores (*Byssoschlamys fulva* e *Xeromyces biporus*). No entanto, esporos bacterianos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* têm comprometido a estabilidade comercial de sucos de maçã e laranja (CERNY; HENNLICH; PORALLA, 1984; EIROA et al., 1999; SILVA; GIBBS, 2004; TAMEGA JR., 2005).

Quando as matérias-primas forem submetidas ao branqueamento pelo calor, essa etapa deve ser seguida por um rápido resfriamento ou um processamento subsequente sem paradas demoradas. O desenvolvimento de micro-organismos termófilos e as contaminações por agentes branqueadores podem ser minimizados por meio de desenho sanitário dos equipamentos, temperaturas de processo apropriadas e limpeza rotineira (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a).

A resistência térmica de células vegetativas e de esporos pode ser caracterizada por dois parâmetros, os valores  $D_T$  e  $z$ , apresentados na Tabela 1. O valor  $D_T$ , ou tempo de redução decimal, corresponde ao tempo, em minutos, a uma determinada temperatura  $T$ , capaz de ocasionar uma redução de 90% no número de micro-organismos. Nos cálculos de processos térmicos a conversão do valor  $D_T$  de um micro-organismo a uma determinada temperatura para outra temperatura é realizada conhecendo-se o coeficiente de temperatura  $z$ , que expressa à influência da temperatura de destruição do micro-organismo. O valor  $z$  corresponde ao intervalo de temperatura que ocasiona uma variação de 10 vezes no valor  $D$ , ou seja, um ciclo logarítmico. A conversão do valor  $D$  a uma temperatura  $T_1$  para outra temperatura  $T_2$  pode ser realizada através da equação (1).

$$D_{T1}/D_{T2} = 10^{(T2 - T1)/z} \quad (1)$$

**Tabela 1** - Valores D e z de esporos e células vegetativas de bactérias, bolores e leveduras.

<b>Micro-organismo</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Valor D (min)</b>	<b>Valor z (°C)</b>
<b>Esporos</b>			
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	121,1	4,0 – 5,0	7,7 – 12,2
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	121,1	3,0 – 4,0	8,8 – 12,2
<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>	121,1	2,0 – 3,0	8,8 – 12,2
<i>Clostridium</i> PA 3679	121,1	0,1 – 1,5	7,7 – 10,0
<i>Clostridium botulinum</i> A e B	121,1	0,1 – 0,2	7,7 – 10,0
<i>C. botulinum</i> E	82,2	0,1 – 3,0	5,0 – 8,8
<i>C. perfringens</i>	100	0,3 – 17,6	6,0 – 17,2
<i>Bacillus cereus</i>	121,1	0,1 – 2,4	7,9 – 9,9
<i>Clostridium pasteurianum</i>	100	0,1 – 0,5	6,6 – 8,8
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	100	0,1 – 0,5	9,4 – 14,7
<b>Células vegetativas de bactérias</b>			
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	65,5	0,5 – 1,0	4,4 – 5,5
<i>Brucella</i> spp	65,5	0,1 – 0,2	4,4 – 5,5
<i>Coxiella burnetii</i>	65,5	0,5 – 0,6	4,4 – 5,5
<i>Salmonella</i> spp	65,5	0,02 – 0,3	4,4 – 5,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	65,5	0,2 – 2,0	4,4 – 6,5
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	65,5	0,2 – 2,0	4,4 – 6,6
<i>Lactobacillus</i> spp	65,5	0,5 – 1,0	4,4 – 5,5
<b>Bolores e leveduras</b>			
Células vegetativas e micélios	65,5	0,5 – 3,0	4,4 – 6,6
Ascósporos de:			
<i>Zygosaccharomyces baillii</i>	60,0	7,0 – 14,2	4,0 – 5,0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	60,0	8,2 – 22,2	4,5 – 5,5

Fonte: Adaptado de Ceviz, Tulek e Con (2009); Leitão e Junqueira (1995); Stumbo (1973) e Tamega Jr. (2005).

Os valores D e z variam de acordo com a espécie e o estado do micro-organismo, na forma vegetativa ou esporulada. Além disso, os valores dos parâmetros podem variar de acordo com o substrato em que o micro-organismo é suspenso e a faixa de temperatura considerada, bem como o método empregado na sua determinação.

## 6.2 - Valor $F_T$

Os processos térmicos para esterilização comercial do produto, ou qualquer elemento do sistema asséptico, podem ser estabelecidos através de vários critérios. Na esterilização comercial de alimentos o critério mais comumente utilizado é o valor  $F_T$ , introduzido por Ball (1923). O valor  $F_T$  significa o tempo de retenção numa temperatura arbitrária na qual o processo como um todo é equivalente. Desse modo, esse critério pode ser empregado para comparar diferentes processos com diferentes temperaturas de retenção, tempos de retenção e taxas de aquecimento (LEWIS; HEPPELL, 2000).

Pflug (1997b) define o valor  $F_T$  como tempo de processo térmico equivalente em minutos a uma determinada temperatura de referência T para alcançar a condição requerida de conservação, ou seja, para reduzir a contaminação microbiana da matéria-prima até um alvo de conservação (*endpoint*). O alvo de conservação deve ser mensurável e especificado através da probabilidade de unidade não estéreis (PUNE). Os três alvos de conservação para produtos de baixa acidez em embalagens hermeticamente fechadas e estocadas à temperatura ambiente, bem como dos outros elementos do sistema asséptico, são os seguintes: o produto deve ser seguro do ponto de vista da saúde pública, em termos de *Clostridium botulinum*, apresentando uma PUNE de  $10^{-9}$ , ou seja, uma probabilidade de um esporo viável em  $10^9$  embalagens; conservado contra a deterioração de esporos de mesófilos numa PUNE de  $10^{-6}$ ; e conservado contra a deterioração de esporos de termófilos, com uma PUNE de  $10^{-3}$ , quando estocado

em temperaturas abaixo de 30 °C, e de  $10^{-6}$ , em temperaturas ambiente mais elevadas (PFLUG, 1987a).

Nas populações microbianas homogêneas, que apresente curvas de destruição semilogarítmica lineares, o valor  $F_T$  pode ser determinado por um modelo matemático simples (PFLUG, 1987b), descrito pelas equações (2), (3) e (4).

$$F_T = (\log N_0 - \log N_F) \cdot D_T, \quad (2)$$

ou

$$F_T = Y_n \cdot D_T, \quad (3)$$

onde,

$$Y_n = \log N_0 - \log N_F. \quad (4)$$

Nessas equações,  $F_T$  é o tempo de processo térmico equivalente em minutos a uma determinada temperatura de referência  $T$ ;  $N_0$  é a população inicial de micro-organismos críticos por unidade;  $N_F$  é o número de micro-organismos que resistem ao processo térmico ou a PUNE;  $D_T$  é o tempo de redução decimal; e  $Y_n$  é o número de reduções decimais do processo  $F_T$ .

No cálculo do  $F_T$  para segurança de um produto em relação à sobrevivência de esporos de *Clostridium botulinum*, considerando-se que a contaminação inicial da matéria-prima seja de  $10^3$  e que o processo seja especificado com um PUNE de  $10^{-9}$ , tem-se:

$$F_T = [\log(10^3) - \log(10^{-9})] \cdot D_T = 12 \cdot D_T$$

Para os valores  $D_{121,1^\circ\text{C}}$  de 0,21 min e  $z$  de 7,7 °C de esporos de *Clostridium botulinum* tipo A, tem-se um  $F_{121,1^\circ\text{C}}$  de 2,52 min. O  $F_{121,1^\circ\text{C}}$  de um processo térmico é expresso como  $F_0$ , ou seja, tempo de processo térmico equivalente em minutos para temperatura de referência de 121,1 °C (250 °F) e valor  $z$  de 10 °C, baseado no coeficiente térmico de *Clostridium botulinum* (LEWIS; HEPPELL, 2000).

O critério de esterilização comercial 12D foi definido por Stumbo (1973) para os processos térmicos de alimentos de baixa acidez em embalagens herméticas. Entretanto, os critérios 12D e o critério da PUNE de  $10^{-9}$  coincidem somente para  $N_0$  de  $10^3$ . O  $N_0$  pode variar entre  $10^4$  por embalagem, para matérias-primas à base de cogumelos, e  $10^1$ , nas matérias-primas para produtos cárneos (GREENBERG et al., 1966; PFLUG, 1987b).

Pflug (1987b) formulou um guia para o estabelecimento de alvos de processos térmicos ou PUNE, bem como valores  $F_T$  requeridos para assegurar proteção à saúde do consumidor e prevenir perdas econômicas pelo processador (Tabela 2). Esses requerimentos foram estabelecidos com base em dados de laboratório e experiências empíricas adquiridas em mais de 100 anos de conservação de alimentos de baixa acidez em embalagens herméticas à temperatura ambiente.

**Tabela 2** - Alvos de conservação e valores  $F_0$  para alimentos de baixa acidez em embalagens herméticas.

<b>Perigo</b>	<b>PUNE<sup>a</sup></b>	<b><math>F_0</math> (min)</b>
Saúde pública	$10^{-9}$	3 <sup>b</sup>
Conservação		
Esporos de mesófilos	$10^{-6}$	5 – 7 <sup>c</sup>
Esporos de termófilos		
Temperaturas de estocagem e distribuição < 30 °C	$10^{-3}$	5 – 7 <sup>c</sup>
Temperaturas de estocagem e distribuição > 30 °C	$10^{-6}$	15 – 21 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Probabilidade de unidades não estéreis.

<sup>b</sup> Baseado nos dados de laboratório de Esty e Meyer (1966).

<sup>c</sup> Baseado em experiências empíricas de Pflug (1987b).

Fonte: Pflug, Berry e Dignan (1990).

O tratamento UHT do leite consiste na aplicação de calor sob fluxo contínuo, por um período apropriado, de tal modo a tornar o produto comercialmente estéril durante o processamento (CODEX ALIMENTARIUS, 2004). A legislação brasileira define leite longa vida como o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130 e 150 °C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32 °C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (BRASIL, 1996).

Considerando os parâmetros estabelecidos na legislação brasileira para esterilização comercial do leite longa vida calculou-se os valores  $F_0$ , apresentados na Tabela 3. Os dados evidenciam que vários binômios tempo-temperatura, contemplados na legislação brasileira, não atendem ao  $F_0$  mínimo de 3 min, para assegurar a proteção do consumidor contra *C. botulinum*, ou destruição de esporos deteriorantes.

A determinação do tempo de residência mínima necessária para um produto atingir a esterilidade comercial numa temperatura pode ser realizada por métodos de injeção de sais ou corantes e, ou, por modelos matemáticos. Os modelos matemáticos incorporam à vazão e as propriedades reológicas do fluido, assim como, as dimensões e o desenho do tubo de retenção. Em situações onde as características de escoamento do fluido são desconhecidas, os cálculos precisam ser validados através de ensaios experimentais biológicos, como pelo teste de inoculações (*inoculated pack test*) (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a).

**Tabela 3** - Valores de  $F_0$  calculados para binômios tempo-temperatura estabelecidos na legislação brasileira para leite longa vida.

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b><math>F_0</math> (min)</b>
130	2	0,3
130	3	0,4
130	4	0,5
132	2	0,4
132	3	0,6
132	4	0,8
134	2	0,7
134	3	1,0
134	4	1,3
136	2	1,1
136	3	1,6
136	4	2,1
138	2	1,7
138	3	2,5
138	4	3,3
140	2	2,6
140	3	4,0
140	4	5,3
145	2	8,4
145	3	12,6
145	4	16,7
150	2	26,5
150	3	39,7
150	4	53,0

## **7 - OPERAÇÃO DE EMBALAGEM ASSÉPTICA**

O principal objetivo da operação de embalagem asséptica é impedir a contaminação microbiana do produto comercialmente estéril. A embalagem e o ambiente de envase devem ter, pelo menos, o mesmo padrão microbiológico do produto. Nesse sentido, a operação de embalagem asséptica é estabelecida através de quatro princípios (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a):

- As superfícies de contato com o produto devem ser levadas ao estado de esterilidade comercial;
- As superfícies e o ar da área de movimentação, envase e fechamento das embalagens devem ser levados ao estado de esterilidade comercial;
- A embalagem e seus dispositivos de fechamento devem ser levados ao estado de esterilidade comercial;
- A embalagem deve ser hermética e resistir às solicitações normais da distribuição e manipulação, uma vez que se apresenta como a única barreira de defesa da esterilidade comercial do produto após a produção.

### **7.1 - Esterilização comercial do ar**

Para manter a esterilidade comercial das embalagens, das superfícies internas e do próprio ar da área asséptica é necessário fechar a máquina de embalagem ou estabelecer uma pressão positiva em seu interior, possibilitando a entrada de embalagem e a saída do produto sem contaminações ambientais. O Codex Alimentarius (1993a) não estabeleceu uma pressão mínima para as câmaras de envase asséptico.

O ar, bem como outros gases empregados em sistemas assépticos, devem ser filtrados para remoção de materiais estranhos, como poeira e óleo, e levados à condição de esterilidade comercial. A esterilização pode ser efetuada através da dupla filtração, por conjunto de filtros ou por dois filtros separados, incineração ou pelos métodos combinados.

A filtração microbiológica do ar pode ser efetuada por sistemas formados de filtros de partículas aéreas de alta eficiência (*high efficacy particle air* – HEPA) com exaustores de baixa pressão ou filtros de vela com ar comprimido. Os filtros HEPA, tipicamente, podem remover 100% das partículas maiores que 0,3  $\mu\text{m}$ , sendo que na faixa entre 0,15 e 0,25  $\mu\text{m}$ , podem alcançar uma remoção entre 95 e 99,9995%, de acordo com o seu grau (RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007). Os filtros de vela podem ter uma capacidade de retenção de até sete reduções decimais, mas sua operação em altas pressões torna o sistema mais oneroso (FLUCKIGER, 1995).

Na indústria farmacêutica, os filtros microbiológicos são amplamente utilizados no controle da contaminação do ar e nas operações de embalagem asséptica. Os ambientes para acondicionamento asséptico devem atender aos requisitos grau A, equivalente a *International Organization for Standardization* classe 5 (WIRTANEN et al., 2002). A Tabela 4 apresenta a classificação de salas limpas e áreas limpas da *International Organization for Standardization*, de acordo com as dimensões de partículas em suspensão no ar para os quais os limites de concentração estão especificados.

**Tabela 4** - Classificação de salas limpas e áreas limpas da *International Organization for Standardization* (ISO).

Classificação	Limites de concentração máxima (partículas/m <sup>3</sup> do ar) para partículas maiores ou iguais ao tamanho considerado					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO classe 1	10	2				
ISO classe 2	100	24	10	4		
ISO classe 3	1.000	237	102	35	8	
ISO classe 4	10.000	2.370	1.020	352	83	
ISO classe 5	100.000	23.700	10.200	3.520	832	29
ISO classe 6	1.000.000	237.000	102.000	35.200	8.320	293
ISO classe 7				352.000	83.200	2.930
ISO classe 8				3.520.000	832.000	29.300
ISO classe 9				35.200.000	8.320.000	293.000

Fonte: International Organization for Standardization (1999).

Nas áreas limpas, o controle da disseminação de partículas e micro-organismos liberados no próprio ambiente é realizado por meios aerodinâmicos, seja em fluxo de ar turbulento ou unidirecional (fluxo laminar). No fluxo unidirecional o ar percorre o ambiente em linhas de fluxo paralelas, com velocidade relativamente uniforme e com um grau de turbulência baixo. Isso permite a eliminação de partículas liberadas no próprio ambiente pelo caminho mais direto. Em áreas limpas com filtros HEPA e operadas em fluxo de ar turbulento consegue-se atender às exigências das ISO classes 8 e 7 e, eventualmente, a ISO classe 6. Para exigências mais elevadas de pureza de ar, ou seja, aquelas da ISO classe 5 e menores, é necessário estabelecer um fluxo de ar unidirecional. O fluxo unidirecional é estabelecido com velocidades de ar na faixa de 0,3 a 0,5 m/s.

O Codex Alimentarius (1993a) estabelece que a instalação, manutenção e troca dos filtros devem ser efetuadas de acordo com as recomendações dos fabricantes. Os filtros devem ter a capacidade de remoção de materiais estranhos e micro-organismos, comprovada nas condições de uso, através de testes com metodologias apropriadas. Além disso, o desempenho dos filtros deve ser verificado periodicamente, mantendo-se os registros. Exames para investigações de danos devem ser efetuados antes da montagem e após a remoção dos filtros.

Os elementos filtrantes devem ser instalados de modo a impedir vazamentos e com cuidado para prevenir quaisquer danos que possibilitem a passagem de micro-organismos. A pressão do ar nos filtros deve ser monitorada de modo a indicar acúmulos excessivos de partículas ou entupimentos, que podem modificar a velocidade especificada para o sistema. Sinais de alarme devem ser emitidos na ocorrência de falhas de filtração (RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007).

A pré-esterilização dos filtros microbiológicos antes das operações assépticas é recomendada por Richardson, Christian e Tucker (2007). Esse tratamento pode ser efetuado por métodos químicos, no caso dos filtros HEPA, ou por vapor, para os filtros de vela (EUROPEAN HYGIENIC ENGINEERING & DESIGN GROUP, 2006; RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007). O fluxo de ar pelos filtros deve ser mantido, mesmo nos períodos em que a máquina de embalagem não se encontra em operação. O Codex Alimentarius (1993a) recomenda que o sistema empregado na condução do ar ou outros gases comercialmente estéreis, até o ponto de uso, deve ter a capacidade de ser esterilizado antes do uso e manter-se nessa condição durante a operação.

Na esterilização do ar por incineração, fatores críticos como temperatura final do ar e fluxo devem ser controlados e registrados (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Temperaturas mínimas na ordem de 300 °C são empregadas na esterilização comercial do ar, que é resfriado antes de ser insuflado na máquina de embalagem (FLUCKIGER, 1995; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). Essa operação pode ser efetuada em resfriadores de água ou trocadores de calor

regenerativos, onde o ar que entra no incinerador é resfriado pelo que sai (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

## 7.2 - Esterilização comercial da embalagem

O primeiro sistema de embalagem asséptica foi desenvolvido a partir de 1927 na *American Can Company*, sob a coordenação de C. Olin Ball. Nesse sistema os recipientes e tampas metálicas eram esterilizados com vapor saturado e introduzidas em câmaras de envase e fechamento também esterilizadas com vapor. Na otimização da esterilização das latas, Martin Dole passou a empregar vapor super aquecido. Testes foram conduzidos através da inoculação de esporos de bactérias termorresistentes em recipientes e tampas, que eram passados em máquinas de injeção de vapor em diferentes velocidades, de modo a controlar o tempo de esterilização. O processo de esterilização das latas foi estabelecido em 220 °C por 40 – 60 s. Na busca por sistemas de embalagem mais eficientes e com a ampla disponibilização de materiais plásticos mais baratos, foi desenvolvida a máquina asséptica da Tetra Pak por Ruben Rausing em 1961. As embalagens eram produzidas com um *design* tetraédrico a partir de bobinas de material laminado, empregando peróxido de hidrogênio como agente esterilizante, o que possibilitou a disseminação da tecnologia para os plásticos termosensíveis (MITCHELL, 1988).

A esterilização comercial das embalagens, assim como de outros elementos do sistema, depende basicamente de quatro pontos (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998):

- Contaminação inicial dos materiais de embalagens, em termos da concentração e tipo de micro-organismos presentes nas superfícies a serem esterilizadas;
- Dimensões das embalagens, especificamente da área de contato com o alimento;
- Estipulação da PUNE desejada para o sistema;

- Seleção do tratamento de esterilização.

O cálculo envolvido na especificação do tratamento de esterilização, em termos do número de reduções de esporos em materiais de embalagem, foi exemplificado por Fluckiger (1995). Nesse exemplo, foram consideradas embalagens de 1 L com área superficial de 800 cm<sup>2</sup> e contagem padrão em placas de 80 UFC/embalagem, dos quais 3% eram esporos. A PUNE foi estipulada em uma embalagem defeituosa em 10.000. Com esses dados, foi estimado que a superfície das 10.000 embalagens tivesse uma concentração total de 800.000 micro-organismos ou 24.000 esporos. Consequentemente, os tratamentos de esterilização dos sistemas de embalagem com esses parâmetros deveriam promover pelo menos quatro reduções decimais de esporos (4D).

A esterilização da embalagem em sistemas modelos não garante a efetividade do sistema asséptico. A maneira pela qual o agente esterilizante é aplicado, bem como a habilidade de controlar os parâmetros críticos do tratamento, pode influenciar a esterilização do material de embalagem (TOLEDO, 1975). O Codex Alimentarius (1993a) recomenda a realização de testes desafio no estabelecimento de especificações assépticas para a esterilização comercial da embalagem.

### **7.3 - Contaminação microbiana dos materiais de embalagem**

Os materiais de embalagem, à exceção dos celulósicos, geralmente apresentam uma contaminação microbiana muito baixa. Vidros, metais e plásticos podem ser levados à condição de esterilidade comercial durante a produção, em parte, devido ao calor aplicado durante a produção, ou seja, derretimento do vidro, cura de vernizes e extrusão/injeção de plásticos. A contaminação após a produção geralmente é limitada, ocorrendo principalmente pelo ar ambiente e, numa menor extensão, pelo contato com máquinas, manipuladores e pragas (CERNY, 1985; MOSTERT et al., 1993; VON BOCKELMANN, 1988). Na contaminação pelo ar a maior parte dos micro-organismos depositados nas

embalagens está aderida às partículas de poeira, sendo que as células depositadas livremente à superfície do material são ligadas por interações relativamente fracas, principalmente forças gravitacionais e eletrostáticas (CERNY, 1985).

Atenção especial deve ser tomada no controle da qualidade do ar do ambiente onde fica a embaladeira, pois os materiais plásticos apresentam cargas elétricas que podem atrair os micro-organismos (VON BOCKELMANN, 1988). Deste modo, a quantidade e o tipo de micro-organismos presentes nos materiais de embalagens dependem essencialmente das condições higiênicas que prevalecem após a produção (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998; MOSTERT et al., 1993).

O Codex Alimentarius (1993a) recomenda que os materiais de embalagem devam ser armazenados e manipulados da forma mais limpa e cuidadosa possível, minimizando contaminações e danos. Os materiais que têm a estrutura física alterada pela umidade devem ser armazenados e manipulados em embalagens adequadas ou ambientes controlados. Sujidades ou danos nos materiais de embalagem podem impedir a esterilização e o fechamento adequados das embalagens ou representar um perigo físico e, até mesmo, químico.

O Codex Alimentarius (1993a) coloca a operação de limpeza dos materiais de embalagem ou recipientes vazios empregados no acondicionamento de produtos assépticos como opcional. Mesmo assim, ressalta-se a importância da inspeção dos recipientes vazios, particularmente das embalagens de vidro que podem conter fragmentos de vidro. Por outro lado, no código de práticas higiênicas para alimentos esterilizados na embalagem, foi estabelecido que os recipientes rígidos devessem ser mecanicamente limpos na posição invertida com jatos de ar ou água. Outra possibilidade contemplada especificamente para as embalagens de vidro é a limpeza por sucção (vácuo) (CODEX ALIMENTARIUS, 1993b).

A contaminação microbiana, em termos da contagem padrão em placas, nas superfícies plásticas de materiais de embalagem varia na faixa de 0 a 10 UFC/100 cm<sup>2</sup> (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). Petrus e outros (2001) e Abreu e Faria (2004) detectaram contagens totais de  $1,9 \times 10^1$  a  $2,1 \times 10^2$  UFC por garrafa de PET de 500 mL. No entanto, existem relatos na literatura de contagens menores que 1 UFC/m<sup>2</sup> de embalagem (SCHOCH, 1984).

O padrão microbiológico da USFDA (2007) para embalagens de produtos lácteos é uma contagem máxima de 50 UFC de bactérias por recipiente em três de quatro unidades amostradas, utilizando-se o teste de enxágue. Para embalagens com capacidade menor que 100 mL, foi estabelecida uma contaminação residual máxima de 10 UFC, empregando-se o teste de enxágue, ou 50 UFC/50cm<sup>2</sup>, quando o teste de zaragatoa (*swab*) for aplicado. A tolerância para papeis e cartões empregados na laminação de embalagens compostas deve ser de 250 UFC/g, analisada através do teste de desintegração. Bactérias do grupo coliformes não devem ser detectadas, independentemente do tipo de embalagem.

A microbiota contaminante em superfícies de polietileno em laminados cartonados logo após a produção do material foi identificada como de leveduras (10,6%), bolores (20,6%) e bactérias (68,8%), sendo diferenciadas em *Micrococci* (44,4%), *Streptococci* (3,7%); *Pseudomonas* (1,2%); esporos de *Bacillus* (3,1%); bastonetes Gram positivos (6,9%) e bastonetes Gram negativos (9,4%) (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

Nas embalagens vítreas, metálicas e plásticas, eventualmente, podem ser verificadas contaminações elevadas, sendo associadas na maioria dos casos às condições impróprias de manipulação, particularmente na sala de embalagem, onde o material é utilizado (HECKER, 1992; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). Entretanto, os planos de amostragem estatísticos nem sempre podem detectar esses pontos fora da curva padrão. Conseqüentemente deve-se trabalhar em cooperação com os produtores e fornecedores dos materiais de embalagem ou das embalagens pré-fabricadas, aplicando-se os princípios da qualidade assegurada, ao invés de programas de monitoramento microbiológicos

caros e laboriosos (HECKER, 1992). Nesse sentido, os programas de Boas Práticas de Fabricação e Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle são amplamente preconizados (BOVEE; 1997; GALEANO, 1999; SJÖBERG et al., 2002).

#### **7.4 - Esterilização comercial das embalagens**

A esterilização dos materiais de embalagens pode ser conduzida por vários métodos físicos (calor, irradiação), químicos (peróxido de hidrogênio, ácido peracético, óxido de etileno, cloro, ozônio e outros) ou combinados. A combinação de métodos físicos e químicos, em geral, é mais eficiente, sendo mais utilizado pela indústria.

A seleção do método de esterilização das embalagens deve levar em consideração diferentes requisitos de aplicação (ANSARI; DATTA, 2003; FLUCKIGER, 1995; REUTER, 1993; TOLEDO, 1975; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998), incluindo:

- Destruição dos micro-organismos relevantes para esterilidade comercial do produto no tempo demandado pelo sistema produtivo;
- Compatibilidade com as superfícies dos materiais de embalagem e da máquina de embalagem;
- Estabilidade e controle nas condições de uso;
- Segurança aos operadores e ao ambiente;
- Facilidade de aplicação e remoção da superfície tratada;
- Inocuidade ao consumidor e a qualidade do produto em concentrações residuais;
- Economia e disponibilização no mercado.

Na esterilização contínua de materiais de embalagem na indústria de alimentos o tratamento de imersão em peróxido de hidrogênio, em combinação com calor tem sido o que melhor atende aos requisitos de aplicação. Esse método

tem um histórico de sucesso industrial desde o primeiro sistema asséptico da Tetra Pak, implantado em 1961 (MITCHELL, 1988). Nos Estados Unidos, o peróxido de hidrogênio é o único composto que atualmente satisfaz as exigências para esterilização química de vários materiais de embalagens plásticos. O peróxido de hidrogênio tipicamente é empregado em concentrações na faixa de 15 a 35%, temperaturas máximas de 80 °C e períodos de até 15 s (ANSARI; DATTA, 2003; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

A remoção ou dissipação do residual do produto é realizada por corrente de ar quente e rolos de pressão. A aprovação do peróxido de hidrogênio ou outro agente esterilizante para contato com material de embalagem e a sua concentração residual limite deve ser imposta pelos órgãos oficiais responsáveis (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). O residual máximo de peróxido de hidrogênio estabelecido pela legislação americana é de 0,5 mg/L de água destilada embalada nas condições de processamento (USFDA, 2009d).

A predileção do tratamento com peróxido de hidrogênio em relação a outros agentes de eficiência similar tem sido atribuída principalmente ao seu menor efeito residual sobre as características dos alimentos (FLUCKIGER, 1995; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). Essa escolha expressa a dificuldade ou impossibilidade de remoção completa de qualquer composto químico das embalagens na velocidade demandada pelo sistema produtivo. Mesmo assim, o uso de peróxido de hidrogênio apresenta limitações, como o efeito esporicida lento em temperaturas baixas, efetividade variável de acordo com o tipo de microrgânicos (células catalase positiva podem degradar o composto), baixa molhabilidade demandando agentes tensoativos que são carregados para o produto, dificuldade de remoção do material de embalagem, oxidação de compostos sensíveis dos alimentos como os pigmentos e a vitamina C, irritação à pele e às mucosas, dentre outros (FLUCKIGER, 1995). Desse modo, métodos alternativos têm sido investigados para substituição e, principalmente, diminuição da concentração e temperatura de aplicação do peróxido de hidrogênio.

A irradiação ultravioleta (UV) é uma das alternativas mais interessantes para esterilização contínua dos materiais de embalagem termossensíveis na indústria de alimentos. Esse tipo de tratamento não deixa resíduos na superfície dos materiais e apresenta custos relativamente baixos. Entretanto, deve-se considerar que a habilidade de termosoldagem dos materiais plásticos pode ser afetada com o tratamento. As lâmpadas UV progressivamente diminuem o desempenho com o tempo de uso, além de irritar a pele e os olhos e gerar ozônio. O efeito microbicida da irradiação UV ocorre principalmente na faixa de comprimento de onda de 200 a 320 nm, particularmente no pico absorção das biomoléculas entre 250 e 260 nm, nas do espectro UV-C (BLATCHLEY; PEEL, 2001). Na esterilização de materiais de embalagem devem ser empregadas lâmpadas de baixa pressão do arco de mercúrio possuir uma alta taxa de energia, entre 80 e 95%, na banda UV-C de ótima efetivada em 253,7 nm (REUTER, 1988). Outras fontes de radiação UV, mais eficientes e caras, são as lâmpadas de média pressão do arco de mercúrio, os sistemas UV-pulsante de xênon e *excimer lamp technology* (BLATCHLEY; PEEL, 2001)

A dose letal de radiação UV-C para bactérias vegetativas está na faixa entre 2 e 6 mW.s/cm<sup>2</sup>; os esporos de bactérias demandam uma dose de 5 a 10 vezes maior; enquanto para os bolores, particularmente as conídeas com as paredes dos esporos coloridas, como *Aspergillus niger*, a dose é aumentada entre 20 e 100 vezes (REUTER, 1988). Desse modo, quando lâmpadas de mercúrio UV-C de alta descarga de energia (intensidade de 0,5 – 1,5 W/cm<sup>2</sup> a uma distância de 10 cm) são usadas, em questão de segundos, são alcançadas entre três e quatro reduções decimais desses micro-organismos (CERNY, 1985). Entretanto, depois de uma cinética de destruição linear a curva de letalidade apresenta um formato de cauda e não se consegue maiores reduções com o decorrer do tempo. Isso é atribuído ao “efeito escudo”, de proteção exercida pelos agregados de células e pelas partículas de poeira, diante da limitada capacidade de penetração da radiação UV (CERNY, 1985). Portanto, a efetividade da radiação UV está associada ao uso de materiais de embalagem limpos e com baixas contaminações

microbianas. Essas condições são passíveis de serem conseguidas através de Boas Práticas de Fabricação desde a produção até o uso do material de embalagem (HECKER, 1992; SCHOCH; 1984; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

A combinação da imersão em peróxido de hidrogênio com a exposição à radiação UV resulta na otimização da esterilização contínua de materiais plásticos termossensíveis por pelo menos três motivos: o peróxido de hidrogênio confere um enxágue mecânico de remoção de partículas da superfície da embalagem, minimizando o efeito escudo contra a radiação ultravioleta; a radiação UV possibilita a diminuição da concentração e da temperatura de aplicação do peróxido de hidrogênio, simplificando a remoção do residual químico; e os tratamentos têm o espectro antimicrobiano ampliado. Outra vantagem é que os efeitos combinados são maiores que a soma dos tratamentos isolados, de modo que existe um sinergismo tanto contra micro-organismos esporulados como células na forma vegetativa (BAYLISS; WAITES, 1979; 1980; MARQUIS; BALDECK, 2007).

## **7.5 - Fechamento Hermético**

Embalagens hermeticamente fechadas significam recipientes que são projetados e destinados a proteger o conteúdo contra a entrada de micro-organismos após o fechamento (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Nesse sentido, recomenda-se atenção especial na operação, manutenção, verificação rotineira e ajuste do equipamento de fechamento das embalagens. Esses equipamentos devem ser adequados e ajustados para cada tipo de embalagem. Assim, as especificações assépticas devem contemplar um protocolo para inspeção da hermeticidade das embalagens.

Para as embalagens de vidro e, principalmente, metálicas, existem recomendações e normas específicas sobre os testes de hermeticidade e avaliação de fechamento. Esse não é o caso das embalagens flexíveis e semi-rígidas, normalmente compostas por um material simples ou multicamadas com diferentes tipos de plásticos, laminados ou não ao papel cartão. Essas embalagens são

construídas com vários tipos de materiais, bem como diferenciações em *designs* e sistemas de fechamento, além de apresentarem evoluções constantes nas tecnologias de fechamento. Desse modo, não é possível elaborar recomendações e normas específicas para todos os tipos de embalagens plásticas e laminadas, o que não dispensa o estabelecimento de protocolos de inspeção da hermeticidade das embalagens. Os processadores de alimentos são encorajados a desenvolver testes de hermeticidade em conjunto com os fabricantes de embalagens e os fabricantes das máquinas de envase e fechamento (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a). Esses agentes são os mais indicados para realizar ajustes iniciais no sistema de fechamento e o treinamento de pessoal.

O principal método de ensaio empregado no ajuste dos equipamentos de fechamento e na avaliação de um fechamento hermético, consistente e confiável das embalagens, é o exame visual. Nesse exame são levantadas informações relacionadas a defeitos externos, vazamentos, estrutura e aspecto visual, bem como odores e sujidades em recipientes vazios ou nos materiais de embalagem. O Codex Alimentarius (1993a) enfatiza que o exame visual seja conduzido por uma pessoa treinada, experiente e competente. O exame deve ser efetuado em intervalos com suficiente frequência, no início e ao longo da produção, bem como em períodos de funcionamento inadequado e após ajustes do equipamento de fechamento.

O *Food Processors Institute* recomenda que as inspeções visuais das embalagens sejam efetuadas com frequência mínima de 30 min (GAVIN; WEDDIG, 1995). As inspeções físicas, aplicando-se testes destrutivos com abertura de pelo menos uma embalagem de cada equipamento de fechamento, são preconizadas numa periodicidade mínima de 4 h, para embalagens rígidas, e 2 h para embalagens semi-rígidas e flexíveis. Os resultados das inspeções e qualquer observação importante sobre a qualidade do fechamento devem ser registrados de forma completa e precisa, assim como ações corretivas nos casos onde forem encontradas irregularidades. Caso seja encontrado algum defeito que comprometa a hermeticidade da embalagem, todos os produtos entre o descobrimento da

irregularidade e a última checagem satisfatória devem ser identificados e analisados (CODEX ALIMENTARIUS, 1993a).

No exame visual das embalagens deve ser efetuada a classificação dos defeitos, de modo a selecionar as embalagens com irregularidades aceitáveis e as que devem ser rejeitadas. A Canadian Food Inspection Agency (2002) estabeleceu um sistema de classificação de cada tipo de defeito com duas classes de severidade: severa ou mínima. O defeito é classificado como severo quando possibilita o desenvolvimento microbiano no conteúdo da embalagem, causa perda ou comprometimento crítico do fechamento da embalagem ou impossibilita a leitura de informações obrigatórias da rotulagem. Por outro lado, o defeito mínimo não incorre nas condições do defeito severo, sendo caracterizado principalmente por irregularidades que não apresentavam potencial de comprometer a hermeticidade da embalagem.

O Codex Alimentarius (1993a) recomenda que embalagens termossoldadas tenham o sistema de fechamento submetido a testes de resistência. A seleção do teste de integridade depende de vários fatores incluindo o tipo de embalagem, construção, *design* e método de fechamento, bem como as exigências dos órgãos oficiais de jurisdição e a política de qualidade da empresa. Os testes de integridade e resistência mecânica recomendados para embalagens flexíveis e semi-rígidas, segundo o USFDA (2001a), são apresentados na Tabela 5. Adicionalmente foram incluídos testes opcionais que são empregados em investigações detalhadas do desempenho e dos vários defeitos de diferentes tipos de embalagens. A FDA também especifica testes de integridade e resistência mecânica para latas (USFDA, 2001c) e embalagens de vidro (USFDA, 2001b).

**Tabela 5** - Testes de integridade e resistência mecânica de embalagens flexíveis e semi-rígidas.

Teste	Tipo de embalagem		
	Laminado cartonado	Bolsa flexível	Recipientes com selos termossoldáveis
Injeção de ar – <i>Air leak testing</i>	O	O	O
Bioteste – <i>Biotesting</i>	O	O	O
Estouro – <i>Burst testing</i>	O	R	R
Delaminação química – <i>Chemical etching</i>	O	O	O
Compressão – <i>Compression, squeeze testing</i>	R	O	O
Simulação de distribuição – <i>Distribution (abuse) test</i>	O	O	O
Penetração de solução colorida – <i>Dye penetration</i>	R	O	R
Eletrolítico – <i>Electrolytic</i>	R	O	R
Detecção de gases – <i>Gas leak detection</i>	O	O	O
Incubação – <i>Incubation</i>	R	R	R
Luz – <i>Light</i>	I	O	O
Varredura eletrônica – <i>Machine vision</i>	O	O	O
<i>Proximity tester</i>	O	O	O
Som – <i>Sound</i>	R	I	R
Resistência a tração – <i>Tensile (peel) testing</i>	I	R	R
Vácuo – <i>Vacuum testing</i>	I	O	R
Inspeção visual – <i>Visual inspection</i>	R	R	R

R: Teste recomendado; O: Outros testes comerciais; I: Teste inapropriado.  
Fonte: USFDA (2007).

## **7.6. - Resistência às solicitações físicas e químicas**

As embalagens são normalmente submetidas a uma diversidade de solicitações de natureza química, térmica e mecânica, ao longo da cadeia produtiva e no uso final pelos consumidores. Conseqüentemente, as embalagens devem ser projetadas e fabricadas de modo a resistir às solicitações de processo, distribuição e manipulação. Por outro lado, condições abusivas podem afetar a integridade estética e estrutural da embalagem, comprometendo tanto a imagem da marca quanto a hermeticidade do sistema. Na esterilização de embalagens flexíveis, por exemplo, as propriedades do material podem ser alteradas devido à oxidação ocasionada por soluções concentradas de peróxido de hidrogênio, levando ao comprometimento da termosoldagem. Nas operações de envase e fechamento, condições excessivas de tempo, temperatura e pressão podem deformar a embalagem ou causar defeitos na região de soldagem.

As características das embalagens e das unidades de expedição de produto como um todo em resistirem às solicitações do ambiente de distribuição pode ser avaliada em laboratório, conforme as normas da American Society for Testing and Materials (2009), por exemplo. Nos testes de distribuição em laboratório as unidades de expedição são submetidas a uma sequência de perigos, usando métodos de ensaio com diferentes níveis de intensidade, representativos das condições reais. O nível de intensidade pelo qual as unidades de expedição são expostos, bem como a sequência de perigos ao longo do ciclo de testes, são baseados em estudos de distribuição com mensurações instrumentais, observações cuidadosas do ambiente, análise dos registros de danos nas embalagens, práticas industriais, regulamentações governamentais e experiência. Os resultados dos ensaios laboratoriais em termos do tipo, quantidade e magnitude dos danos, deve ser comparado com condições reais. Desse modo, os ensaios laboratoriais podem fornecer uma base uniforme para avaliações do desempenho do sistema de embalagem, podendo ser empregados em estudos de desenvolvimento e na determinação da severidade de defeitos.

## 8 - QUALIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE SISTEMA

A qualificação e a validação de sistema (QVS) visam comprovar formalmente que um sistema pode funcionar conforme especificações e apresentar uma capacidade de produzir de forma consistente e confiável o produto final com a qualidade especificada. O conceito da QVS não é novo, a sua aplicação tornou-se consagrado quando a indústria passou a ser inquirida a fornecer evidências documentais da adequação de suas práticas. As indústrias aeronáutica, bélica e farmacêutica foram as precursoras a adotarem a comprovação documental do funcionamento de seus sistemas. Na indústria de alimentos esses procedimentos foram inicialmente empregados no processamento térmico de alimentos enlatados de baixa acidez. Desde então, esta prática vem sendo amplamente recomendada em sistemas de segurança e qualidade de alimentos, particularmente na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

A QVS geralmente não é regulamentada por meio de diplomas legais, mas deve seguir requisitos mínimos, estabelecidos por um órgão oficial. O Brasil não possui uma legislação específica para sistemas assépticos, no entanto, existem vários diplomas legais que contemplam uma diversidade de aspectos a serem atendidos na qualificação e subsequente validação de um sistema asséptico (KUAYE, 2006). O principal documento internacional que pode ser utilizado para a QVS asséptico é o código de práticas higiênicas para alimentos de baixa acidez processados e acondicionados assepticamente, conforme o Codex Alimentarius (1993a).

A QVS deve estabelecer e prover evidências documentais de que as instalações, os equipamentos, os instrumentos, os serviços de suporte e os procedimentos operacionais atendem aos seguintes requisitos: serem projetados conforme as Boas Práticas de Fabricação (BPF), o programa de Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle e as especificações assépticas (qualificação de projeto ou de *design*); construídos e instalados ou implantados, segundo a qualificação de projeto (qualificação de instalação); funcionarem de acordo com a qualificação de projeto (qualificação de operação); consistentemente produzirem

produtos num nível de performance pré-determinado (validação de sistema) (PHARMACEUTICAL INSPECTION CONVENTION; PHARMACEUTICAL INSPECTION CO-OPERATION SCHEME, 2004a). Essa terminologia pode apresentar-se diferente de acordo com a indústria, mas os conceitos básicos são os mesmos.

As validações de sistema, também denominadas qualificações de performance, são procedimentos que necessariamente precedem à qualificação de projeto, de instalação e de operação, ou seja, a revisão de pré-instalação e pós-instalação do sistema. A capacidade da validação depende diretamente da qualificação. As qualificações visam, basicamente, assegurar a adequada concepção do sistema e o cumprimento da legislação pertinente. A qualificação, particularmente a de projeto, deve ser priorizada, pois modificações no funcionamento do sistema ou nas suas características técnicas são tipicamente complexas, demoradas e onerosas. Além disso, a QVS é específica, de modo que alterações consideráveis no sistema, que possam afetar a qualidade do produto, exigem uma requalificação e revalidação.

Na qualificação de projeto de equipamentos e complementos analisa-se a descrição esquemática do desenho e materiais em fluxo, antes, durante e após a produção, e as características da construção. Os materiais em fluxo no sistema consistem na água, vapor, matéria-prima e produto na esterilização e no processamento, no ar e nas soluções ácidas e alcalinas na limpeza. Além disso, são considerados os procedimentos operacionais padronizados e o plano de APPCC do sistema, assim como, a instrumentação e controle. Na qualificação do plano de APPCC são analisados os perigos e identificados os pontos críticos de controle que devem ser monitorados, registrados e controlados.

A instalação dos equipamentos, instrumentos e serviços de suporte requer uma verificação sistemática e formal, em relação às especificações do projeto. Nas qualificações de operação e instalação são realizados estudos orientados dos parâmetros críticos do sistema. Essa revisão, também denominada comissionamento, além de possibilitar a averiguação de falhas de projeto e

funcionamento, pode detectar problemas higiênicos que venham a comprometer a esterilidade do sistema.

Os princípios básicos da qualificação de instalação e de operação são os seguintes: instalação dos equipamentos conforme o projeto; revisão e aprovação dos procedimentos operacionais padronizados (POP) de calibração, manutenção, limpeza e esterilização do sistema, a partir das especificações planejadas no projeto; condução de testes e estabelecimento de requerimentos operacionais para assegurar a adequada operação do sistema, em condições normais e limites das especificações; finalização do treinamento dos operadores e da documentação dos POP, assim como das instruções operacionais (PIC; PICS, 2004a). Essas atividades devem seguir protocolos, que contemplem instrumentação, metodologia e critérios de aceitação para os resultados testes, e serem documentadas para sua correta revisão, verificação e autorização. Para algumas partes de equipamentos complexos ou de maior porte, pode ser requerida uma revisão durante a montagem.

A filosofia básica da validação pressupõe que se o sistema funcione em condições similares ou mais brandas daquelas simuladas, de modo que a sua capacidade seja igual ou superior à estimada inicialmente. Conseqüentemente, um produto pode ser considerado comercialmente estéril, sem ter sido analisado. No entanto, o teste desafio é uma representação pontual no tempo e espaço da capacidade de um sistema (MUNSON, 2004). Logo, não se pode extrapolar, automaticamente, que um produto de uma linha aprovada tenha sempre o mesmo nível de qualidade microbiológica.

A validação deveria ser realizada apenas uma vez, pelo menos em princípio teórico. No entanto, o sistema dificilmente permanece estático. Alterações, intencionalmente ou involuntariamente, podem ser introduzidas nos componentes do produto (matéria-prima e embalagem), nos procedimentos operacionais e nos equipamentos. Além disso, deve-se considerar a inconstância humana dos operadores. Conseqüentemente, um programa de revalidação é essencial para verificar se as alterações afetam adversamente o sistema. Existem duas categorias

básicas de revalidação: periódica, em intervalos definidos, e no caso de alterações intencionais, controladas, no sistema.

A validação de sistema normalmente é realizada antes da produção comercial, validação prospectiva. Quando isso não ocorre, o sistema deve ser qualificado e a validação conduzida durante a produção de rotina, validação concomitante. Os requisitos desse tipo de validação são os mesmos da validação prospectiva. Outra forma de validação, a retrospectiva, baseia-se em dados acumulados de processamentos anteriores. Esse tipo de validação não é tecnicamente recomendado como a única maneira de qualificar a performance dos sistemas assépticos (PIC; PICS, 2004a). No entanto, as informações da validação retrospectiva devem ser utilizadas na revalidação do sistema. A soma dos resultados de todos esses tipos de validações provê evidências de que um produto é comercialmente estéril.

As alterações controladas são um dos elementos fundamentais do sistema de qualidade assegurada. O objetivo desse elemento é analisar ações implantadas ou propostas que assegurem a manutenção do *status* de validação de sistema. As alterações no sistema devem ser formalmente requeridas, investigadas e autorizadas pelos seus especialistas e técnicos. Além de se avaliar o impacto das alterações no produto (análise de risco), determina-se a necessidade de revalidação do sistema.

Os métodos tradicionais de controle de qualidade, retrospectiva ou por inspeção, não podem garantir o nível de qualidade e segurança microbiológica característicos dos produtos comercialmente estéreis. O número de amostras a serem analisadas é economicamente inviável para a indústria de alimentos.

A validação de sistema deve ser concebida e estruturada de modo a contemplar todas as possíveis situações de uma produção de rotina, incluindo as etapas subsequentes. Isso é realizado através de testes desafio, também denominados estudos de simulação (*media fills*). Nos testes desafio o sistema é avaliado em condições limites ou extremas das especificações, como por exemplo,

o processamento com a máxima produtividade de linha, na embalagem de maior tamanho.

Os testes desafio devem ser repetidos em número suficiente para estabelecer a extensão normal das variações e tendências do sistema, assim como, gerar dados para avaliação do mesmo. Geralmente, três bateladas consecutivas realizadas de acordo os parâmetros requeridos no protocolo de validação e que forneçam produtos com a qualidade especificada são consideradas apropriadas para validação do sistema (PIC; PICS, 2004a). O tamanho do lote no teste desafio deve ser, preferencialmente, igual àquele projetado para a escala industrial. Como essa condição nem sempre é praticada, supõe-se que o lote industrial seja equivalente ao lote piloto, de tamanho reduzido. A validade dessa suposição deve ser demonstrada, quando iniciar a produção industrial (PIC; PICS, 2004a; 2004b).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.F.; FARIA, J.A.F. Evaluation of a system for chemical sterilization of packages. **Packaging Technology and Science**, v.17, n., p.37-42, 2004.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **D4169-09: Standard practice for performance testing of shipping containers and systems**. West Conshohocken: ASTM International, 2009. 14p.

ANSARI M.D.I.A.; DATTA A.K. An overview of sterilization methods for packaging materials used in aseptic packaging systems. **Food and Bioproducts Processing**, v.81, n.1, p.57-65, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA. **Sobre o leite longa vida**. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Estatisticas.aspx>>. Acesso em: 11 nov. 2009.

BALL, C.O. **Thermal process time for canned foods**. Bulletin of the National Research Council, v.7, n.37, 1923.

BAYLISS, C.E.; WAITES, W.M. The combined effect of hydrogen peroxide and ultraviolet irradiation on bacterial spores. **Journal of Applied Bacteriology**, v.47, n.2, p.263-269, 1979.

BAYLISS, C.E.; WAITES, W.M. The effects of hydrogen peroxide and ultraviolet irradiation on non-sporing bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**. v.48, n.3, p.417-422. 1980.

BLATCHLEY, E.R.III; PEEL, M.P. Disinfection by ultraviolet irradiation. In: BLOCK, S.S (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. Chap.41, p.823-851.

BOVEE, E.H.G.; DEKRUIJF N.; BARENDZ, A.W. HACCP approach to ensure the safety and quality of food packaging. **Food Additives and Contaminants**, v.14, n.6-7, p.721-735, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 11 mar. 1996. Seção 1, p.3977.

BRODY, A.L. Aseptic and extended-shelf-life packaging. **Food Technology**, v.60, n.2, p.66-68, 2006.

CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY. **Flexible retort pouch defects:** Identification and classification manual. 2002. Disponível em: <<http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/fispoi/man/pousac/pousacalle.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

CELF, O. Aseptic packaging. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n.133, p.93-104, 1981.

CERNY, G. **Basic aspects of sterilization of packaging of food.** In: Symposium on Aseptic Processing and Packaging of Foods, 1985, Tylosand. Sweden: Lund Institute of Technology, 1985. p.166-177.

CERNY, G.; HENNLICH, W.; PORALLA, K. Fruchtsaftverderb durch bacillen: Isolierung und charakterisierung des verderbserregers. **Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, v.179, n.3, p.224-227, 1984.

CEVIZ, G.; TULEK, Y.; CON, A.H. Thermal resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in different heating media. **International Journal of Food Science and Technology**, v.44, n.9, p.1770-1777, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 40-1993: Code of hygienic practice for aseptically processed and packaged low-acid foods.** Rome: FAO/WHO, 1993a. 34p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 23-1979, Rev. 2-1993: Recommended international code of hygienic practice for low and acidified low acid canned foods.** Rome: FAO/WHO, 1993b. 95p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/MISC 3: Inventory of processing aids.** Rome: FAO/WHO, 1999. 39p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 1-1969 Rev. 4-2003: Recommended international code of practice general principles of food hygiene.** Rome: FAO/WHO, 2003. 31p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 57-2004: Code of hygienic practice for milk and milk products.** Rome: FAO/WHO, 2004. 40p.

EIROA, M.N.U.; CHRISTINA, V.; JUNQUEIRA, A.; SCHMIDT, F.L. *Alicyclobacillus* in orange juice: occurrence and heat resistance of spores. **Journal of Food Protection**, v.62, n.8, p.883-886, 1999.

ESTY, J.R.; MEYER, K.F. The heat resistance of the spores of *B. Botulinum* and allied anaerobes. XI. **Journal of Infectious Diseases**, v.31, n.6, p.650-663, 1922.

EUROPEAN HYGIENIC ENGINEERING & DESIGN GROUP. Guidelines on air handling in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v.17, n.6, p.331-336, 2006.

FLUCKIGER, E. Alternative methods to avoid recontamination during aseptic filling and packaging. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n.300, p.52-56, 1995.

GALEANO, S.F.; GARNER, B.A.; RETZKE, J.A.; KERSNICK, C.R. Enhancing food packaging safety procedures - the HACCP opportunity. **Tappi Journal**, v.82, n.1, p.68-73, 1999.

GAVIN, A.; WEDDIG, L.M. **Canned Foods: Principles of Thermal Process Control, Acidification and Container Closure Evaluation**. Washington: The Food Processors Institute, 1995.

GREENBERG, R.A.; TOMPKIN, R.B.; BLADEL, B.O.; KITTAKA, R.S.; ANELLIS, A. Incidence of mesophilic *Clostridium* spores in raw pork, beef, and chicken in processing plants in the United States and Canada. **Applied Microbiology**, v.14, n.5, p.789-793, 1966.

HECKER, W. Determination of the microbial-contamination of primary packaging materials. **Pharmazeutische Industrie**, v.54, n.12, p.1042-1046, 1992.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-1:1999(E): Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness**. Geneva: ISO, 1999. 18p.

KUAYE, A.Y. (Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Brasil) **Notas de aula da disciplina Limpeza e Sanitização**: TP187, 2004.

LEITÃO, M.F.F.; JUNQUEIRA, V.C.A. Microbiologia aplicada à esterilização de alimentos. In: GERMER, S.P.M.; MOURA, S.C.S.R. LEITÃO, M.F.F.; JUNQUEIRA, V.C.A.; NETO, R.O.T.; GONÇALVES, J.R.; JARDIM, D.C.P.; VITALI, A.A. (Coord.). **Princípio de esterilização de alimentos**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1995. Cap.1, 3-22. (Manual técnico, 10)

LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of foods: Pasteurization and UHT sterilization**. Geithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000. 447p.

MARQUIS, R.E.; BALDECK, J.D. Sporicidal interactions of ultraviolet irradiation and hydrogen peroxide related to aseptic technology. **Chemical Engineering and Processing**, v.46, n.6, p.547-553, 2007.

MASSAGUER, P.R. (Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Brasil) **Notas de aula da disciplina Termobacteriologia Aplicada a Alimentos**: TP104, 2006.

MITCHELL, E.L.A. review of aseptic processing. **Advances in Food Research**, v.32, p.1-37, 1988.

MOSTERT, M.A.; BUTEUX, G.; HARVEY, P.C.; HUGELSHOFER, W.; MELLBIN, P.; NASSAUER, J.; REINECKE, G.; WEBER, W.; WILKE, B. Microbiologically safe aseptic packing of food products. **Trends in Food Science and Technology**, v.4, n.1, p.21-25, 1993.

MUNSON, T.E. Basics of an aseptic process simulation program. **Pharmaceutical Technology**, v. 28, n. Supp., p. 35-39, 2004.

PACHECO-SANCHEZ, C.P. **Ocorrência de *Bacillus cereus*, avaliação de sua resistência térmica em sistema contínuo e seu controle em leite UHT**. 2005. 231p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

PETRUS, R. R.; CORRÊA NETO, R.S.; FARIA, J.A.F.; GÂNDARA, A.L.N. Sanificação química de garrafas plásticas. **Higiene Alimentar**, v.15, n.80/81, p.80-90, 2001.

PFLUG, I.J. End-point of a preservation process. **Journal of Food Protection**, v.50, n.4, p.347-351, 1987a.

PFLUG, I.J. Factors important in determining the heat process value,  $F_T$ , for low-acid canned foods. **Journal of Food Protection**, v.50, n.6, p.528-533, 1987b.

PFLUG, I.J.; BERRY, M.R.; DIGNAN, D.M. Establishing the heat-preservation process for aseptically-packaged low-acid food containing large particulates, sterilized in a continuous heat-hold-cool system. **Journal of Food Protection**, v.53, n.4, p.312-321, 1990.

PHARMACEUTICAL INSPECTION CONVENTION; PHARMACEUTICAL INSPECTION CO-OPERATION SCHEME. **Recommendations on validation master plan, installation and operational qualification, non-sterile process validation, cleaning validation**. Geneva: PIC/S, 2004a. 26p. (PI 006-2)

PHARMACEUTICAL INSPECTION CONVENTION; PHARMACEUTICAL INSPECTION CO-OPERATION SCHEME. **Recommendation on the validation of aseptic processes: PI 007-2**. Geneva: PIC/S, 2004b. 16p. (PI 007-2)

REUTER, H. Evaluation criteria for aseptic filling and packaging systems. In: REUTER, H. **Aseptic Packaging of Food**. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., 1988. Chap. 4.1, p.95-108.

REUTER, H. Processes for packaging materials sterilization and system requirements. In: REUTER, H. **Aseptic Processing of Foods**. 1. ed. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., 1993. Chap.5, p.155-165.

RICHARDSON, P.S.; CHRISTIAN, G.; TUCKER, G.S. **Guidelines on the safe production of aseptically processed and packaged foods**. Gloucestershire: Campden & Chorleywood Food Research Association Group, 2007. 88p. (Guideline No. 53)

ROMANO, M.A.; FARIA, J.A.F.; ANJOS, C.A. Sistemas assépticos para alimentos em embalagens plásticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.2, p.180-188, 1998.

SCHOCH, W. Aseptic Packaging. **Tappi Journal**, v.67, n.9, p.56-60, 1984.

SILVA, F.V.M.; GIBBS, P. Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.5, p.353-360, 2004.

SJÖBERG, A.-M.; SILLANPÄÄ, J.; SIPILÄINEN-MALM, T.; WEBER, A.; RAASKA, L. An implementation of the HACCP system in the production of food-packaging material. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.28, n.4, p.213-218, 2002.

STUMBO, C.R. **Thermobacteriology in food processing**. 2. ed. New York: Academic Press, 1973. 329p.

SZEMPLENSKI, T. **Aseptic packaging in the United States: Systems, installations and trends for the food and beverage markets**. 2005. Disponível em: <<http://www.packstrat.com>>. Acesso em: 15 jul. 2006.

TAMEGA JR., W.P. **Programa para determinação de parâmetros cinéticos em sistemas de processamento térmicos contínuos de alimentos**. 2005. 194p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

TOLEDO, R. T. Chemical sterilizants for aseptic packaging. **Food Technology**, v.29, n.5, p.102-112, 1975.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Instructions for Establishment Registration and Processing Filing for Acidified and Low-Acid Canned Foods.** 1997. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/AcidifiedLow-AcidCannedFoods/EstablishmentRegistrationThermalProcessFiling/Instructions/default.htm>> Acesso em: 29 nov. 2009.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual:** Examination of flexible and semirigid food containers for integrity. 2001a. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm072703.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual:** Examination of glass containers for integrity. 2001b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm072694.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual:** Examination of metal containers for integrity. 2001c. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm072663.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Process Filing for Aseptic Packaging Systems** (Form FDA 2541C). 2001d. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/AcidifiedLow-AcidCannedFoods/EstablishmentRegistrationThermalProcessFiling/Instructions/ucm125907.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Pasteurized Milk Ordinance 2007** - Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance (2007 Revision). 2007. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/MilkSafety/NationalConferenceonInterstateMilkShipmentsNCIMSModelDocuments/PasteurizedMilkOrdinance2007/default.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Form FDA 2541a:** Food process filing for all methods except low-acid aseptic. 2008a. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/ReportsManualsForms/Forms/UCM076784.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Form FDA 2541c:** Food process filing for low-acid aseptic systems. 2008b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-forms/documents/form/ucm123687.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations 21CFR108**: Emergency Permit Control. 2009a. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=108>>. Acesso em: 26 nov. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations 21CFR113**: Thermally Processed Low-Acid Foods Packaged in Hermetically Sealed Containers. 2009b. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=113>>. Acesso em: 26 nov. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations 21CFR114**: Acidified Foods. 2009c. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=114>> Acesso em: 26 nov. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations Title 21**. 21CFR178.1005. 2009. Hydrogen peroxide solution. 2009d. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm>>. Acesso em: 26 nov. 2009.

VON BOCKELMANN, B. Aseptic Processing in the food industry – quality control of aseptically packaged products. In: REUTER, H. **Aseptic Packaging of Food**. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc., 1988a. Chap.6.1, p.237-243.

VON BOCKELMANN, B. **Long life products**: Long life from raw materials to finished products. Lund: AB Tetra Pak, 1988b. 68p.

VON BOCKELMANN, B. Aseptic packaging. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4. ed. Philadelphia: Lea Febiger, 1991. Chap.48, p.833-845.

VON BOCKELMANN, B.; VON BOCKELMANN, I. **Long-life products**: Heat-treated, aseptically packed: A guide to quality. Värnamo: Fälth & Hässler, 1998. 246p.

WIRTANEN, G.; MIETTINEN, H.; PAHKALA, S.; ENBOM, S.; VANNE, L. **Clean air solutions in food processing**. Espoo: VTT Publications, 2002. 95p.

## **CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO PARA LEITE LONGA VIDA EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

## **AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO PARA LEITE LONGA VIDA EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

### **RESUMO**

Nesse trabalho foram estudadas duas configurações de um sistema asséptico para a produção de leite *ultra high-temperature* em embalagens flexíveis: uma linha de processamento com envase direto na embalagem tipo bolsa e uma configuração com tanque de produto entre o esterilizador e a máquina de embalagem. Os ensaios foram conduzidos através de 10 produções experimentais, cinco em cada configuração. Pelo menos 200 amostras de cada ensaio foram submetidas ao teste de esterilidade comercial. A taxa de defeitos variou entre 0 e 8%, sendo que as duas configurações da linha apresentaram desempenho similar. As principais causas de defeitos foram associadas a falhas nas soldas das embalagens. Melhorias devem ser implementadas no desenho sanitário do sistema e no método de esterilização. Desse modo, o sistema poderá apresentar o potencial de ser transpostos para escala industrial, constituindo uma opção de custo compatível com laticínios de pequena escala de produção.

## 1 - INTRODUÇÃO

Os produtos alimentícios passaram por mudanças consideráveis nas últimas décadas de modo a atender aos requisitos de mercado, especialmente aos novos hábitos dos consumidores. O desenvolvimento de produtos passou a ser conduzido conforme várias tendências, incluindo estabilidade à temperatura ambiente, vida de prateleira prolongada, qualidade sensorial, nutricional e funcional, preços competitivos ao mercado alvo e embalagens atrativas e ambientalmente corretas. Na indústria de laticínios, uma das principais tecnologias que viabilizou o desenvolvimento dos produtos e que se consolidou de forma definitiva, foi o processamento e envase asséptico. No Brasil, por exemplo, o leite *ultra high-temperature* (UHT) em embalagens laminadas cartonadas foi introduzido em 1972, mas até o início dos anos 90 compreendia, apenas, cerca de 5% do mercado de leite fluido, dominado pelo leite pasteurizado em embalagens flexíveis. Depois de uma década, o leite UHT passou a representar mais de 70% do mercado, estimado atualmente em cinco bilhões de litros de leite fluido ao ano (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA, 2009) ou embalagens laminadas cartonadas. Essa mudança de cenário foi realizada pela Tetra Pak Ltda., direcionada para laticínios de média e grande escala de produção.

Os sistemas assépticos constituem um dos setores mais dinâmicos e promissores da indústria de alimentos (SZEMPLENSKI, 2005). Nos Estados Unidos existem cerca de 30 sistemas assépticos, sendo que na década de 1980 o número era o dobro do atual, e, somente no período entre 1999 e 2005 foram criados 10 novos sistemas (BRODY, 2006). No Brasil, o mercado de bebidas assépticas em embalagens de consumo é dominado por uma única empresa, a pioneira Tetra Pak Ltda., a maior empresa mundial do setor. Outras empresas que vêm atuando no mercado brasileiro de embalagens de consumo são a DuPont S.A. e a Elecster Aseptic Packaging Co. Ltda., ambas empregando embalagens flexíveis, e a Sig Combibloc Ltda., com embalagens laminadas cartonadas. Essas empresas oferecem sistemas assépticos exclusivamente para indústrias de média e grande escala de produção. Desse modo, existe uma demanda por parte dos laticínios de

pequena escala, bem como as indústrias de outras bebidas, como sucos, água de coco e extratos aquosos de soja. Segundo Datta (2009), na Índia existem mais de 77.000 cooperativas agrícolas de pecuaristas de leite, com mais de 10 milhões de membros, que poderiam formar mini-usinas de beneficiamento de leite UHT em embalagens flexíveis com capacidade de 2.000 L/dia, disponibilizando o produto em regiões urbana densamente ocupadas, sem o uso da cadeia de frio.

Os sistemas assépticos, também denominados processamento e acondicionamento asséptico, são definidos como o processamento de um produto comercialmente estéril e acondicionamento numa embalagem esterilizada, seguido de um fechamento estéril e hermético, de maneira a prevenir a recontaminação microbiana do produto (CODEX ALIMENTARIUS, 1993). Esterilidade comercial significa ausência de micro-organismos capazes de desenvolver no alimento em condições normais, sem refrigeração, em que o produto deve ser manuseado durante a produção, distribuição e estocagem (CODEX ALIMENTARIUS, 1999).

Pflug (1987) propôs uma abordagem quantitativa para a especificação do produto ou processamento, que indica o nível de micro-organismos críticos num determinado número de embalagens, em termos da probabilidade de unidades não estéreis (PUNE). Esse parâmetro é definido como a relação entre o número de embalagens não-estéreis e o total de embalagens produzidas, sendo estabelecido em função de diversos fatores, incluindo: a legislação; a natureza do produto; a política de qualidade empresarial; a concorrência de mercado e o tipo de consumidor alvo. Os valores de PUNE para sistemas assépticos podem apresentar-se nos seguintes níveis: 1:100, condição inaceitável; 1:1.000, realística; 1:10.000, ambiciosa; 1:100.000, dificilmente atingível; 1:1.000.000, impraticável (VON BOCKELMANN, 1991).

As vantagens dos produtos estáveis à temperatura ambiente em embalagens plásticas ou laminadas transformaram o mercado de sistemas assépticos em um negócio atrativo. No entanto, existem barreiras consideráveis à entrada e permanência nesse negócio, tais como a complexidade inerente ao sistema, os investimentos demandados em pesquisa e desenvolvimento e a

competitividade empresarial. A concepção de um sistema asséptico inclui aspectos relacionados às matérias-primas, equipamentos, agentes esterilizantes, produtos, embalagens, produtividade, legislação e taxa de não-esterilidade (CODEX ALIMENTARIUS, 1993; BERNARD et al., 1990).

O objetivo deste trabalho foi estudar duas configurações de sistema asséptico industriais (linha de processamento com envase direto na embalagem e com um tanque de produto entre o esterilizador e a máquina de embalagem) para a produção de leite UHT em embalagens flexíveis. Tais configurações foram testadas para atender laticínios de pequena escala de produção (1.000 L/h), numa PUNE de 1:1.000. O sistema piloto foi desenvolvido com equipamentos e acessórios disponíveis no mercado nacional e usados na produção de leite pasteurizado.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação do sistema foi realizada através de 12 produções experimentais de leite UHT: dois processamentos preliminares, cinco ensaios na configuração da linha de processamento com envase direto na embalagem, sem estocagem em tanque, e cinco ensaios com um tanque de produto entre o esterilizador e a máquina de embalagem.

### 2.1 - Matéria-prima

Os experimentos foram conduzidos com dois tipos de leite *in natura*. Em dois ensaios, na configuração da linha de processamento com envase direto na embalagem, foi usado Leite Cru Refrigerado (LCR) de uma usina de beneficiamento (Agropecuária Jaguari Indústria e Comércio Ltda., Jaguariúna - SP. Nos outros ensaios a matéria-prima era de um estábulo leiteiro (Fazenda Atibainha, Itatiba - SP), produtor de Leite Cru Refrigerado tipo B (LCRB).

As matérias-primas foram caracterizadas quanto ao teor de gordura pelo método butirométrico, sólidos não-gordurosos pelo método gravimétrico, acidez titulável, concentração de íon hidrogênio (pHmetro Digimed modelo DM-20, Digicrom Analítica Ltda., Santo Amaro - SP), estabilidade ao etanol (BRASIL, 2006), contagem padrão em placas (SWANSON et al., 2001), esporos de mesófilos aeróbios (FRANK et al., 1992), esporos de termófilos aeróbios (DENNY; PARKINSON, 2001), contagem de células somáticas pelo método de citometria de fluxo (Somacount 300, Bentley Instruments Inc., Chaska - EUA) e presença de antibióticos inibidores de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (SP-NT/SP MINI-NT, DSM food Specialities, Delft - Nova Zelândia).

## 2.2 - Soluções de higienização

A limpeza da linha de processamento foi efetuada a partir de detergente alcalino, marca Avoid BR 55 (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), à base de hidróxido de sódio, agentes quelantes e tensoativos não-iônicos, e detergente ácido, marca Acid 2100 (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), à base de ácido fosfórico e tensoativos não-iônicos, enquanto a esterilização com o desinfetante da marca Vortexx ES (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), contendo ácido peracético, ácido peroctanóico, peróxido de hidrogênio, ácido acético e tensoativos aniônicos, ou o desinfetante da marca Pluron 461 A/1 (Mustang Pluron Química Ltda., Catanduva - SP), contendo ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e estabilizante. A esterilização do material de embalagem foi realizada com o produto da marca Asepticper (Peróxido do Brasil Ltda., Curitiba - PA), contendo peróxido de hidrogênio e estabilizante. A higienização da máquina de embalagem foi conduzida a partir de detergente alcalino em pó, marca Det Limp S32 (Farquil Comércio e Indústria Ltda., Piracicaba - SP), e desinfetante à base de hipoclorito de sódio, marca Super Cândida (Indústria Anhembi S.A., Osasco - SP).

## 2.3 - Material de embalagem

As embalagens foram produzidas com filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD) pigmentados de branco com dióxido de titânio 1,5% (Plastunion Indústria de Plásticos Ltda., Caieiras - SP). O filme de PEBD foi fornecido na forma de bobina de 15 kg, apresentando largura de 300 mm e espessura de 60 µm. Esse material é o tradicionalmente utilizado como embalagem para o acondicionamento de leite pasteurizado.

A caracterização microbiológica do material de embalagem foi efetuada pela análise de micro-organismos mesófilos aeróbios (SWANSON et al., 2001), esporos de mesófilos aeróbios (FRANK et al., 1992) e esporos termófilos aeróbios (DENNY; PARKINSON, 2001). A amostragem foi efetuada pela remoção de corpos-de-prova

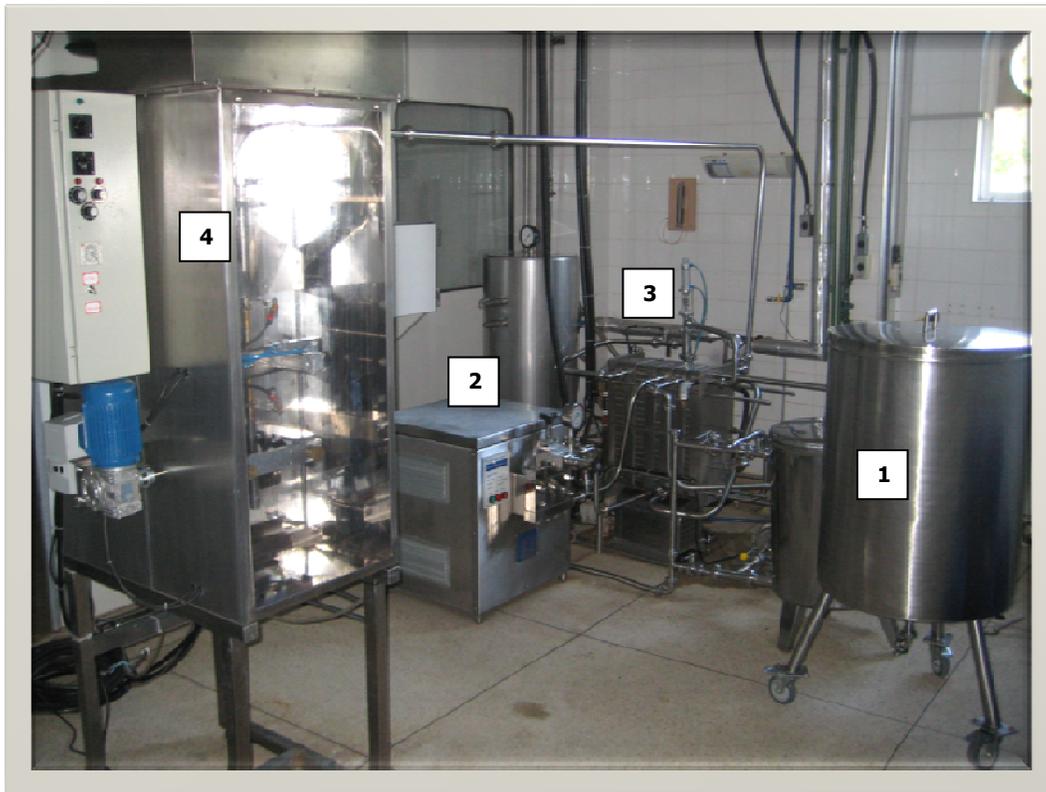
das bobinas montadas na máquina de embalagem, empregando-se técnicas assépticas para prevenir a contaminação do material. Os corpos-de-prova foram transformados em embalagens com auxílio de uma termossoldadora manual, instalada dentro de cabine de segurança biológica classe II tipo "A1" (Veco do Brasil Indústria e Comércio de Equipamentos Sociedade Ltda., Campinas - SP), certificada conforme padrão *International Organization for Standardization* Classe 5 (ISO, 1999). As embalagens foram produzidas de modo a simular a superfície interna de uma bolsa flexível com termossoldagem tipo almofada, onde uma das bordas do material ficava voltada para o interior da embalagem, em contato com o produto.

A avaliação microbiológica foi conduzida através do método de enxágue, com solução salina neutra, conforme recomendações da *American Public Health Association* (EVANCHO et al., 2001). No procedimento de agitação, cada embalagem era colocada sobre uma bancada e recebia 100 compressões manuais alternadas, durante aproximadamente 30 s. Finalmente, as embalagens eram abertas e as soluções de enxágue submetidas às análises microbiológicas.

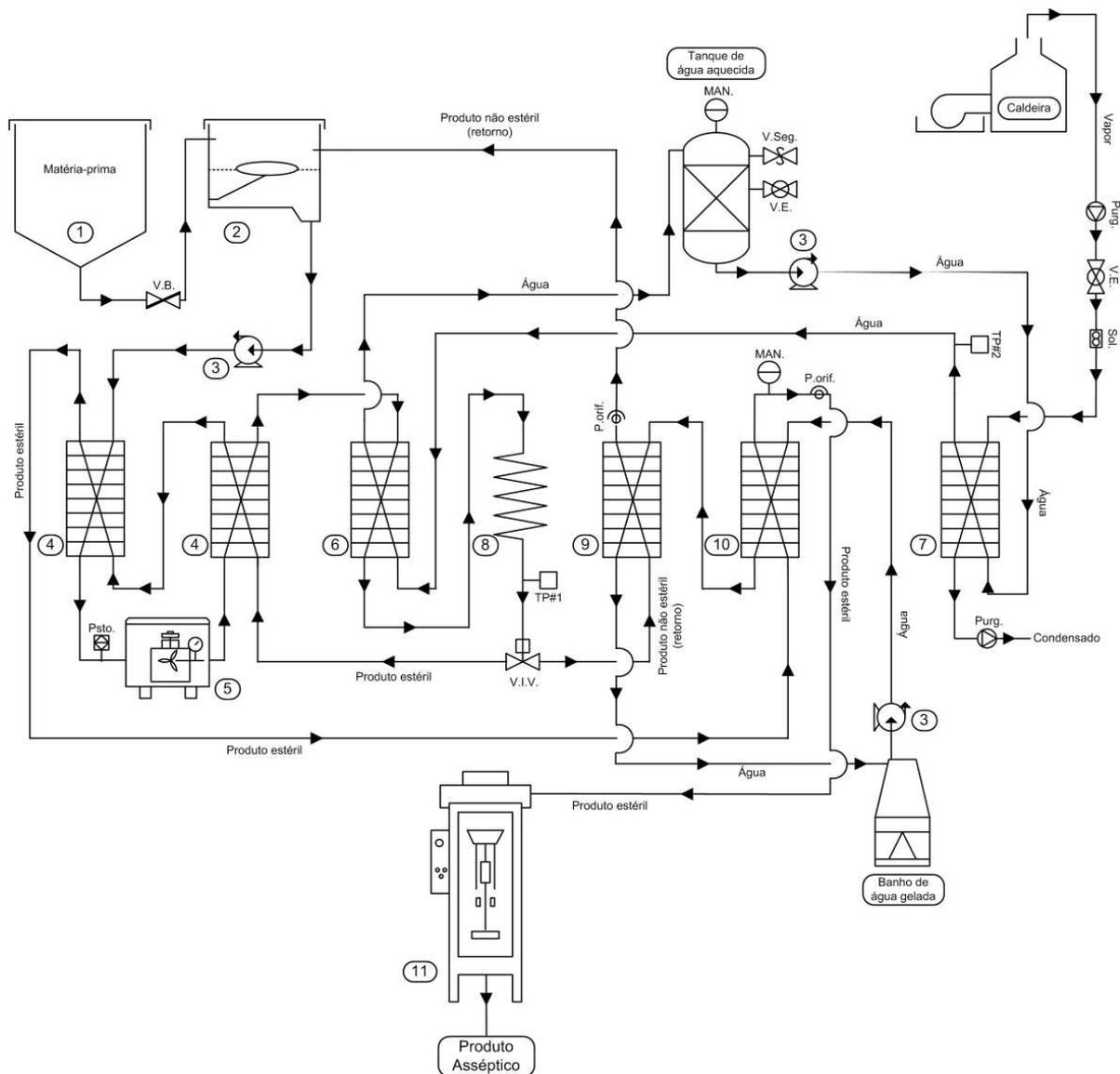
#### **2.4 - Linha de processamento e embalagem**

A linha de processamento e embalagem foi montada com duas configurações: linha com envase direto na embalagem, sem estocagem em tanque, e linha com o tanque de produto. Na primeira configuração o sistema era composto basicamente pelos seguintes elementos: tanques de matéria-prima (Osmecc Industrial Ltda., Campinas - SP); válvulas borboleta; bomba centrífuga (Fabo Bombas e Equipamentos Ltda., Curitiba - PR); homogeneizador de pistão com dois estágios (Alitec Comércio e Indústria Ltda., Pindamonhangaba - SP), trocador de calor a placas (Sumá Indústria e Comércio Ltda., Campinas - SP) com tubo de retenção, sensor de temperatura tipo termoresistência PT100 e válvula êmbolo de desvio de fluxo (para o tanque de matéria-prima ou para a linha asséptica); manômetro; placa com orifício e máquina de embalagem tipo forma,

enche e fecha (Sumá Indústria e Comércio Ltda., Campinas - SP). Essa configuração de linha está apresentada na Figura 1, fotografia, e na Figura 2, na forma de diagrama. A linha de processamento foi empregada anteriormente no processamento de leite UHT, com envase em garrafas plásticas em sala limpa (PETRUS; FARIA, 2007; PETRUS et al., 2009).

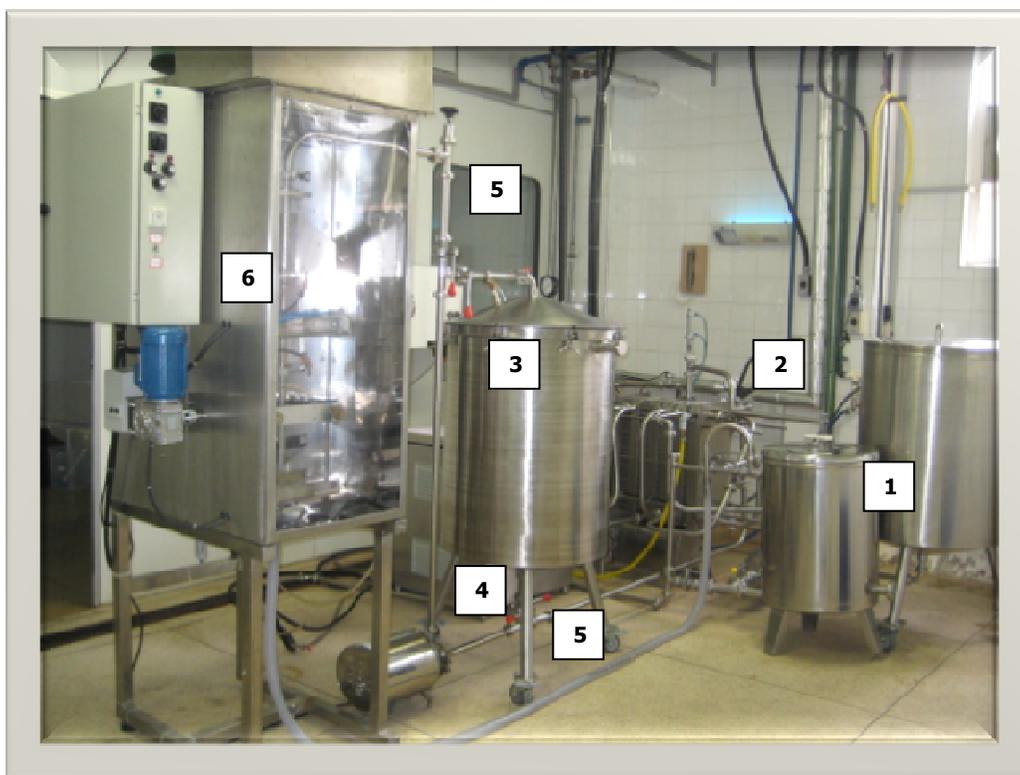


**Figura 1** - Linha de processamento e embalagem com a configuração para envase direto na embalagem (1. tanques de matéria-prima; 2. homogeneizador; 3. trocador de calor; 4. máquina de embalagem).

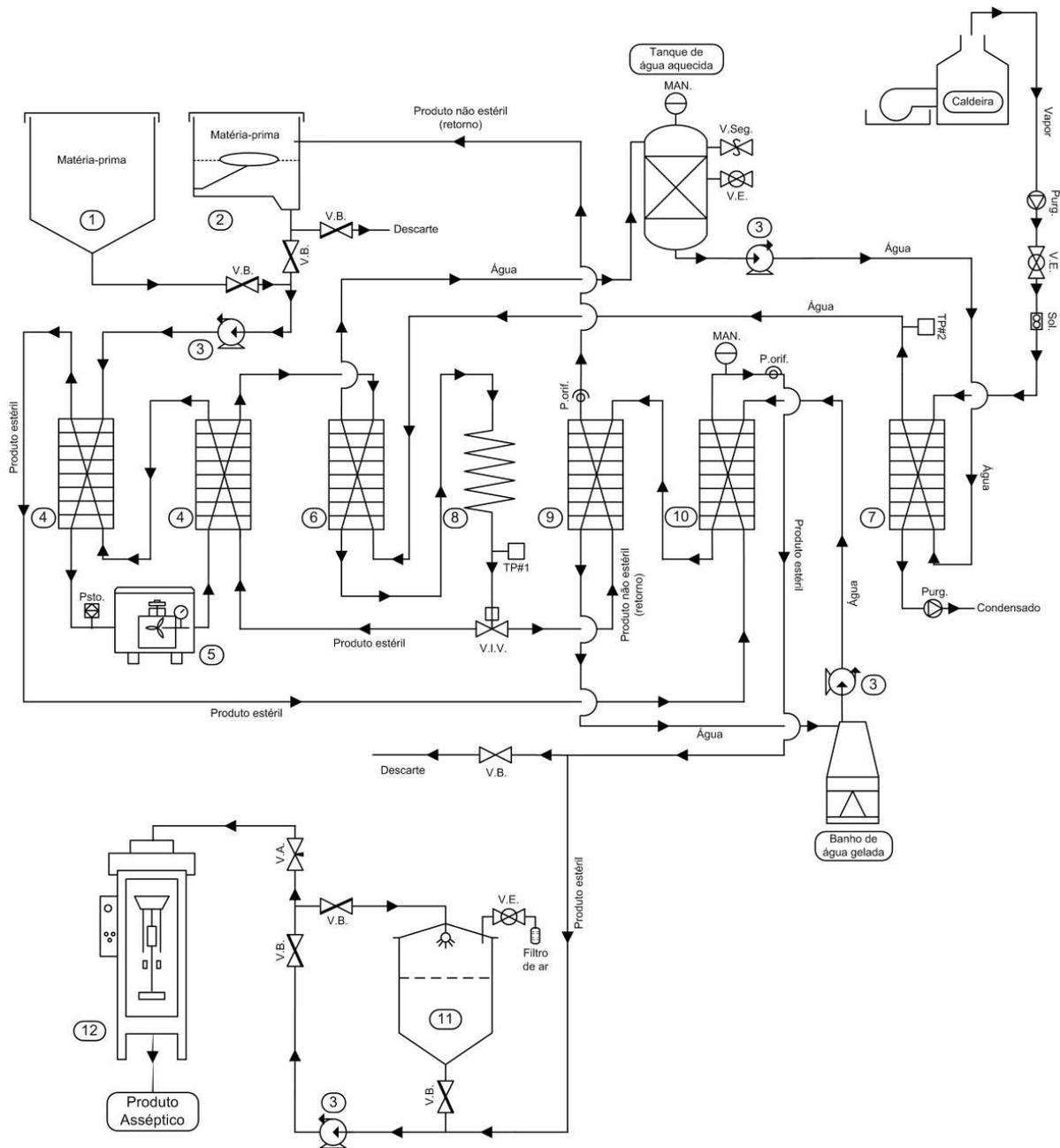


**Figura 2** - Linha de processamento e embalagem com a configuração para envase direto na embalagem (1. Tanque de matéria-prima; V.B. Válvula borboleta; 2. Tanque de equilíbrio; 3. Bomba centrífuga; 4. Seção de regeneração do trocador de calor; Psto. Pressostato; 5. Homogeneizador; 6. Seção de aquecimento de produto; 7. Seção de aquecimento de água; 8. Tubo de retenção; TP#1. Sensor de temperatura do produto; V.I.V. Válvula de inversão de fluxo; 9. Seções de resfriamento de produto não estéril; 10. Seções de resfriamento de produto estéril; MAN. Manômetro; P.orif.: placa com orifício; 11. Máquina de embalagem; Purg. Purgador; V.E. Válvula esfera; Sol. Válvula solenóide; V.Seg. Válvula de segurança; TP#2. Sensor de temperatura da água de aquecimento).

Na segunda configuração da linha de processamento e embalagem foi adicionado um tanque de produto entre o trocador de calor e a máquina de embalagem. Nessa configuração, também foram incorporados uma válvula borboleta no fundo do tanque, uma bomba centrífuga (Fabo Bombas e Equipamentos Ltda., Curitiba - PR) e uma válvula agulha, para controle de fluxo de envase. Adicionalmente, existia uma válvula borboleta antes do tanque de produto, para descarte de água ou leite UHT, bem como duas válvulas borboletas entre a bomba e a válvula agulha, para direcionamento de fluxo das soluções de higienização (recirculação pelo tanque de produto ou via linha de processamento e embalagem). Essa configuração de linha está apresentada nas Figuras 3 e 4.



**Figura 3** - Linha de processamento e embalagem com o tanque de produto e acessórios para o envase (1. tanque de matéria-prima; 2. trocador de calor; 3. tanque de produto; 4. bomba centrífuga; 5. válvulas; máquina de embalagem).



**Figura 4** - Linha de processamento e embalagem com o tanque de produto e acessórios para o envase (1. Tanque de matéria-prima; 2. Tanque de equilíbrio; V.B. Válvula borboleta; 3. Bomba centrífuga; 4. Seção de regeneração do trocador de calor; Psto. Pressostato; 5. Homogeneizador; 7. Seção de aquecimento de produto; 6. Seção de aquecimento de água; 8. Tubo de retenção; TP#1. Sensor de temperatura do produto; V.I.V. Válvula de inversão de fluxo; 9. Seções de resfriamento de produto não estéril; 10. Seções de resfriamento de produto estéril; MAN. Manômetro; P.orif.: placa com orifício; 11. Tanque de produto; V.A. Válvula agulha; 12. Máquina de embalagem; Purg. Purgador; V.E. Válvula esfera; Sol. Válvula solenóide; V.Seg. Válvula de segurança; TP#2. Sensor de temperatura da água de aquecimento).

O tanque de produto com capacidade de 230 L foi construído em aço inoxidável AISI 304, apresentando corpo cilíndrico, tampa e fundo cônico. O fechamento do tanque era efetuado por meio de um anel de silicone pressionado entre os flanges da tampa e do corpo com presilhas de rosca. A tampa tinha duas entradas, uma no centro, onde foi instalado um *spray ball* de 360° para higienização, e outra na lateral, contendo um filtro absoluto com elemento filtrante de polipropileno expandido com poro de 0,22 µm. A alimentação com leite UHT e a sua retirada para a máquina de embalagem era realizada pelo fundo do tanque.

A máquina de embalagem realizava a filtração de ar, a esterilização do filme plástico e a termossoldagem para produção das embalagens. As embalagens tipo bolsa flexível eram produzidas através de três soldas por impulso elétrico com perfil plano, uma vertical e duas transversais ao sentido de produção (Figura 5). A solda vertical era centrada no verso das embalagens, sendo formada por fusão tipo lado interno/lado externo. Essa solda delimitava as abas laterais do filme plástico, uma voltada para o interior e outra para o exterior das embalagens. As soldas horizontais eram fusão do tipo lado interno/lado interno.



**Figura 5** - Pictograma e fotografia da embalagem tipo bolsa flexível com solda tipo almofada.

A esterilização das embalagens foi efetuada por imersão em solução de peróxido de hidrogênio 35% a  $35 \pm 2$  °C por 13 s e exposição à radiação ultravioleta de  $260 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  em 254 nm por pelo menos 1,0 s, emitida por lâmpada TUV 15W T5 (Philips do Brasil Ltda., São Paulo - SP) instalada a 10 mm do filme. Essa operação era realizada na parte traseira da máquina de embalagem, contendo a bobina plástica, o tanque de imersão e os roletes guias do filme.

A filtração do ar foi efetuada através de sistema composto por pré-filtro plano plissado em manta de fibras sintéticas classe G3 (Filtracom Ltda., Valinhos - SP), exaustor centrifugo tipo EC1-AR (Metalúrgica Ventisilva Ltda., São Paulo - SP) com conversor de frequência e filtro absoluto plano em papel de microfibras de vidro classe A3 (Filtracom Ltda., Valinhos - SP), tipo *high efficacy particle air* (HEPA), conforme classificação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (1980). Esse sistema era localizado na parte superior da máquina de embalagem, com sucção de ar da parte traseira e insuflamento na parte dianteira, onde era realizada a formação, o enchimento e o fechamento das embalagens. A filtração do ar era iniciada pelo menos 1 h antes da operação de envase.

## **2.5 - Higienização da linha de processamento e embalagem**

A limpeza em circuito fechado da linha (*Cleaning in place* – CIP) foi realizada de acordo com as seguintes etapas: pré-enxágue à temperatura ambiente até que a água ficasse límpida; lavagem com solução detergente alcalina na concentração de 2% (p/v) a 95 °C (temperatura no final do tubo de retenção) por 40 min (15 min sem o homogeneizador, recirculando pela seção de retorno do trocador de calor, com fluxo turbulento pela tubulação à velocidade média de pelo menos 0,8 m/s e coeficiente de Reynolds (Re) mínimo de 55.554; 15 min sem o homogeneizador, recirculando pela máquina de embalagem a 0,6 m/s e Re de 41.666, e 10 min pela linha completa a 0,3 m/s e Re de 20.833); enxágue intermediário a 55 °C por 10 min; lavagem com solução detergente ácida, na concentração de 2% (p/v) a 55 °C por 40 min, na mesma sequência do ciclo

alcalino, e enxágue final por 20 min a 55 °C. Esse programa foi aplicado na limpeza da linha nas produções experimentais em que o leite foi submetido ao tratamento UHT a 140 °C por 5 s. Nas produções experimentais com tratamento térmico do leite a 145 °C por 10 s existia a necessidade de repetir o programa de limpeza, sem o homogeneizador na linha. A concentração das soluções detergentes foi monitorada por titulometria e medida de condutividade, conforme recomendações dos fabricantes.

A esterilização em circuito fechado (*Sterilization in place* – SIP) foi efetuada pela recirculação da solução Vortexx ES (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), ou Pluron 461 A/1 (Mustang Pluron Química Ltda., Catanduva - SP), nos últimos três ensaios, ambas na concentração de 0,3% (v/v) de ácido peracético a 30 °C por 30 min, com fluxo turbulento a 0,2 m/s e Re de 4.901. No tanque de produto a esterilização foi realizada pela recirculação da solução com auxílio da bomba da máquina de embalagem. O enxágue da solução esterilizante foi conduzido pela recirculação de água à temperatura ambiente pela seção de retorno do trocador de calor por 5 min, seguido pela recirculação pela linha de envase quando a temperatura da água no final do tubo de retenção era maior que 140 °C, por um período de 15 min. A concentração da solução de ácido peracético foi monitorada por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

A máquina de embalagem foi lavada com detergente alcalino 2% (p/v) e escovação manual, seguida de enxágue. A sanitização foi realizada pela aspersão de solução de hipoclorito de sódio, 200 mg/L de cloro ativo, com picetas manuais em intervalos sucessivos de 15 min por um período total de 60 min. Essa sanitização foi efetuada em dois momentos antes do envase, com 1 dia e 1 h, quando a filtração do ar da máquina de embalagem foi iniciada. A concentração da solução clorada foi monitorada por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

## 2.6 - Monitoramento higiênico do sistema

A esterilidade da linha de processamento e embalagem antes das produções experimentais foi avaliada através da análise da água de enxágue (EVANCHO et al., 2001). A água de enxágue após esterilização em circuito fechado foi coletada em frascos estéreis de 2 L contendo 20 mL de solução salina neutra adicionada de tiosulfato de sódio 0,5% e 15.000 unidades de catalase esterilizada, empregando-se técnicas assépticas. Essa amostra foi filtrada por meio de membrana de ester de celulose estéril, com poro de 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore Indústria e Comércio Ltda., São Paulo - SP), em cabine de segurança biológica. A membrana foi transferida assepticamente para um frasco contendo leite UHT, previamente aprovados em testes de esterilidade comercial, sendo incubada a 35 °C por 30 dias. Após a incubação, o leite UHT foi submetido às análises sensoriais (aparência e odor) e físico-químicas (pH) e microbiológicas (micro-organismos ácidotolerantes e bolores e leveduras) (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001).

As superfícies da máquina de envase foram avaliadas antes e após a realização de duas produções experimentais. O monitoramento foi efetuado em nove superfícies da envasadora, cinco que tinham contato com o material de embalagem ou o leite UHT (rolete antes do banho de peróxido de hidrogênio, rolete após o banho, conformador de embalagem, guias do conformador e extremidade do tubo de envase) e quatro sem contato direto (suporte do tubo de envase, parede lateral, tampa frontal e aresta do fundo). A avaliação das superfícies foi realizada empregando-se o método de *swab* (EVANCHO et al., 2001), com solução salina neutra adicionada de tiosulfato de sódio 0,5% e 3.000 unidades de catalase esterilizada. O *swab* e a solução de enxágue foram transferidos para frascos contendo leite UHT, incubados a 35 °C por 30 dias e submetidos a análises sensoriais (aparência e odor) e físico-químicas (pH) (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001). Adicionalmente, três amostras receberam análises microbiológicas (micro-organismos ácidotolerantes e bolores e leveduras) (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001). Amostras com sinal de deterioração passaram pela marcha de detecção de contaminantes (DENNY; PARKINSON, 2001).

O monitoramento da qualidade do ar na área de envase foi conduzido pela contagem de partículas totais e viáveis antes e após a realização de três produções experimentais, em cada configuração da linha. As partículas totais em suspensão no ar foram enumeradas por fotometria, em contador eletrônico de partículas (Biotest Diagnostics Corporation, Denville - EUA). As partículas viáveis, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios e bolores e leveduras, foram monitorados pelo método de sedimentação em Ágar padrão para contagem e em Ágar batata dextrose, ambos suplementado com 5% de piruvato, como neutralizante (OHRESSER et al., 2004), respectivamente. As placas foram expostas ao ar da máquina de embalagem durante 15 min e incubadas a 35 °C por 48 h, para contagem padrão em placas, e a 25 °C por 5 dias, para contagem de bolores e leveduras (EVANCHO et al., 2001). O contador de partículas e quatro placas de petri foram posicionados no fundo da máquina de embalagem.

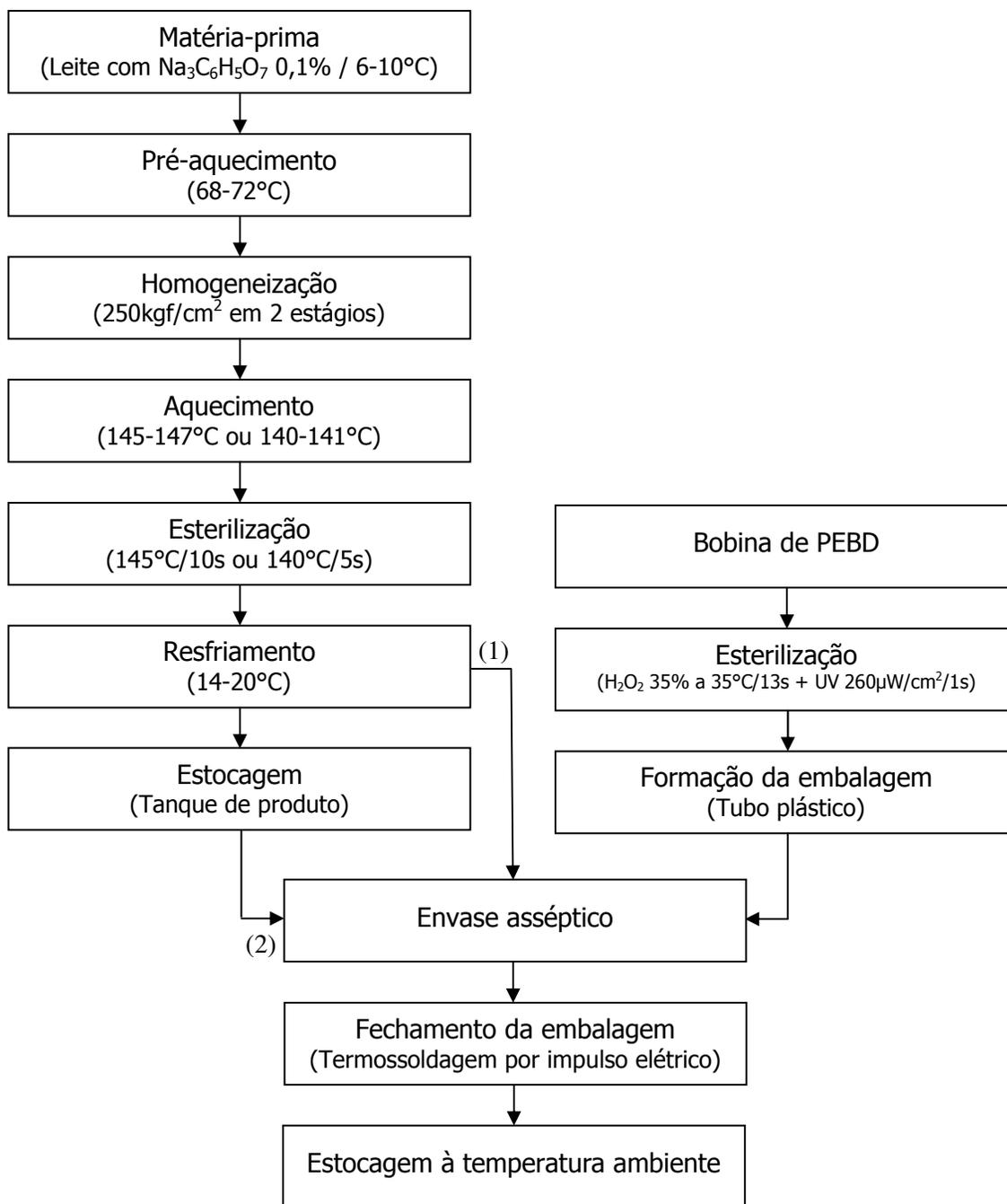
A velocidade média do ar na região de formação de embalagem na câmara asséptica foi medida com anemômetro de fio quente Tri-Sense 37000-00 (Cole Parmer, Niles - EUA). A pressão do ar na câmara asséptica, próxima a saída de produto, foi monitorada com o micromanômetro Alnor EBT729 (TSI Incorporated, Shoreview - EUA). A integridade do filtro HEPA e da máquina de embalagem foi determinada, após a instalação dos filtros, através do teste de penetração de poli-alfa-oleofina (PAO), produzido por gerador de aerosol ATI TDA-4B (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) e detectado por fotômetro ATI 2H (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) (ISO, 2005). A PAO foi gerada na concentração de 32 µg/L, na parte traseira da máquina de embalagem, antes do pré-filtro, e detectada na parte frontal, depois do filtro HEPA.

O residual de peróxido de hidrogênio em embalagens produzidas com água, antes do envase com leite UHT, foi monitorado por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

## 2.7 - Processamento e embalagem de leite UHT

A produção e estocagem de leite longa vida em embalagens de PEBD nas duas configurações de linha foram realizadas conforme o fluxograma da Figura 6. A lista de verificação dos processamentos é apresentada no Anexo IV. Na primeira configuração o processamento foi conduzido em sincronismo com a operação de embalagem. Na segunda configuração, o leite UHT foi estocado no tanque de produto entre 2 e 4 h, sendo que a válvula abaixo do tanque foi aberta por pelo menos três vezes até o momento do envase.

Nas configurações com envase direto na embaladeira e em dois ensaios com o tanque de produto o leite cru foi adicionado de citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) 0,1% (p/v), homogeneizado à temperatura entre 68 e 72 °C e pressão de 250 kgf/cm<sup>2</sup> (210 kgf/cm<sup>2</sup> no primeiro estágio e 40 kgf/cm<sup>2</sup> no segundo estágio), sendo submetido ao tratamento térmico a 145 °C por 10 s, com resfriamento na faixa de 14 a 20 °C. Nos três últimos ensaios o tratamento UHT do leite foi efetuado a 140 °C por 5 s. Em todos os ensaios a vazão da linha de processamento foi de 260 L/h e a produtividade da máquina de embalagem ajustada para 600 embalagens de 434 mL/h (10 embalagens/min). A estocagem foi realizada à temperatura ambiente de 25 ± 4 °C.



**Figura 6** - Fluxograma de produção de leite UHT em embalagens flexíveis nas duas configurações: (1) linha com envase direto na embalagem e (2) linha com o tanque de produto. A esterilização do leite a 145 °C por 10 s foi efetuada na configuração 1 e em dois processamentos da 2, enquanto o tratamento a 140 °C por 5 s nos três últimos processamentos da 2.

## 2.8 - Testes de integridade das embalagens

A inspeção visual e o teste de compressão manual das embalagens foram realizados durante o envase em intervalos de pelo menos 5 min (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001). Para completar a investigação da hermeticidade das embalagens foram realizados testes eletroquímicos e de penetração de solução colorida (USFDA, 2001). A preparação das amostras foi conduzida através de um corte lateral da estrutura, em forma de "v", que possibilitou a avaliação das três regiões de solda. Previamente ao teste, as embalagens foram lavadas por imersão em solução detergente alcalina 2% (p/p) com tensoativos por 48 h, marca DET LIMP S32 (Farquil Comércio e Indústria Ltda., Piracicaba - SP).

## 2.9 - Testes de esterilidade comercial

A esterilidade comercial do produto em condições normais de estocagem, não refrigeradas, foi avaliada através da incubação a 35 °C por 30 dias e estocagem por pelo menos 4 meses à temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C de mínimo 200 amostras de cada ensaio. O leite foi avaliado quanto características sensoriais (aparência e odor), conforme estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1996; 2006), e quanto ao pH, de acordo com padrões recomendados pela APHA (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001). Pelo menos 10 amostras foram submetidas às análises microbiológicas (contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis, com exceção de *Bacillus sporothermodurans*) (BRASIL, 1996; 2003) e físico-químicas (acidez titulável, estabilidade ao etanol 68% (v/v)), conforme os padrões legais (BRASIL, 1996; 2006). Adicionalmente, foram efetuadas análises do potencial de oxirredução (Eletrodo ORP, Thermo Scientific Orion, Beverly - EUA), oxigênio dissolvido (Eletrodo Orion 97-08 O<sub>2</sub>, Thermo Scientific Orion, Beverly - EUA) e dióxido de carbono dissolvido (Eletrodos Orion 95-02 CO<sub>2</sub>, Thermo Scientific Orion, Beverly - EUA) no leite, bem como oxigênio e dióxido de carbono dissolvido no espaço livre da embalagem (MOCON PAC CHECK modelo 650, Mocon Inc., Minneapolis - EUA).

Os resultados dos testes de esterilidade comercial foram expressos como amostra “alterada” ou “sem alteração”. As amostras eram consideradas sem alteração quando: a embalagem não apresentava modificações na estrutura, tipo estufamento; a aparência e o odor não diferiam sensivelmente de um leite UHT original, sem incubação; não existia qualquer tipo de impurezas ou elementos estranhos (BRASIL, 1996; DEIBEL; JANTSCHKE, 2001); o pH não sofria uma variação maior que 0,2 unidades em relação ao inicial (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001); a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, com exclusão de *B. sporothermodurans* era menor ou igual a 100 UFC/mL; a acidez ultrapassava 0,02 g de ácido láctico/100 mL em relação ao original; a estabilidade ao etanol mantinha-se em pelo menos 68% (v/v) (BRASIL, 1996) e o potencial de oxirredução, oxigênio e dióxido de carbono dissolvido no leite e no espaço livre da embalagem não diferiam consideravelmente das amostras não incubadas. Apesar da avaliação desses últimos parâmetros serem recomendados para os testes de esterilidade dos produtos comercialmente estéreis acondicionados em embalagens permeáveis ao oxigênio (VON BOCKELMANN, 1988), em pesquisa bibliográfica não foram encontrados padrões de especificação.

A contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis, com exceção de *B. sporothermodurans*, foi determinada pelo plaqueamento em profundidade de 1 mL da amostra e das diluições sucessivas em ágar nutriente isento de extrato de levedura e ágar infusão cérebro-coração com incubação a  $30 \pm 1$  °C por 72 h. A presença de *B. sporothermodurans* nas amostras resulta num abundante crescimento de colônias lisas, de forma regular, com coloração entre branco e bege, com diâmetro máximo de 3 mm em ágar infusão cérebro-coração. As colônias presuntivas de *B. sporothermodurans* no ágar infusão cérebro-coração foram identificadas por meio de testes morfológicos e bioquímicos. No ágar nutriente isento de extrato de levedura, *B. sporothermodurans*, comumente, não formam colônias visíveis, porém poderão desenvolver colônias puntiformes, de coloração entre branco e bege (BRASIL, 2003).

## **2.10 - Marcha de detecção de contaminantes**

O diagnóstico de causas de deterioração de amostras alteradas, durante a incubação no teste de esterilidade comercial, foi efetuado de acordo com as recomendações da APHA (DENNY; PARKINSON, 2001). A diferenciação dos grupos de micro-organismos deterioradores foi efetuada através de exames de cultura aeróbios em Ágar dextrose triptose, Ágar infusão cérebro coração e Ágar nutriente com sulfato de manganês. Esse procedimento de cultura foi fundamentado nas condições aeróbias prevalentes no produto e no espaço livre da embalagem durante a estocagem, estabelecidas pelas características do processamento e pela permeabilidade ao oxigênio dos materiais de embalagem. Características específicas do produto, da embalagem e dos micro-organismos recuperados foram analisadas. As placas foram incubações a 35 °C e a 55 °C por até 4 dias ou 10 dias, conforme a seqüência na marcha de detecção de contaminantes. A diferenciação morfologia de culturas vegetativas e formadoras de esporos foi conduzida através de exames microscópicos de coloração de Gram e coloração de esporos com verde de malaquita. As amostras alteradas também tiveram as embalagens analisadas através dos testes de eletrolíticos e de solução colorida, descritos no Item 2.8.

## **2.11 - Peso e volume das embalagens com o produto**

O peso das embalagens com o produto antes, durante e após a incubação foi avaliada através da análise gravimétrica de cinco amostras. A pesagem foi efetuada em balança eletrônica QUIMIS Q-520-2000 (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema - SP).

O volume das embalagens foi avaliado através de medidas gravimétricas do volume equivalente de água, ocupado pela embalagem submersa em um Becker de 2 L completamente cheio de água. Esse volume foi determinado pela diferença de peso da água do recipiente sem a embalagem e com a embalagem.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Caracterização da matéria-prima

A caracterização dos lotes de leite cru empregados nas 12 produções experimentais está apresentada na Tabela 1. Os lotes estavam de acordo com os requisitos mínimos de qualidade fixados para identidade de leite cru refrigerado, sendo que apenas dois lotes não atendiam aos padrões de classificação do leite cru refrigerado tipo B, um devido à contagem padrão em placas e outro pela contagem de células somáticas, no terceiro e quinto processamento, respectivamente (BRASIL, 2002). Os lotes de leite cru apresentavam acidez na faixa de 0,14 e 0,16 g de ácido láctico/100 mL e estabilidade ao etanol 72% (v/v), de modo a minimizar deposições de proteína no trocador de calor. Desse modo, as características físico-químicas do leite cru eram adequadas aos tratamentos térmicos pelo processo UHT.

**Tabela 1** - Valores máximos e mínimos dos lotes de leite cru empregados nas 12 produções experimentais.

<b>Parâmetro</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Gordura (g/100 g)	3,5	4,0
Sólidos não-gordurosos (g/100 g)	8,4	8,6
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	0,14	0,16
pH	6,70	6,83
Estabilidade ao etanol 72% (v/v)	+	+
Contagem padrão em placas (UFC/mL)	$1,1 \times 10^4$	$6,5 \times 10^5$
Esporos de mesófilos aeróbios (UFC/mL)	$1,8 \times 10^1$	$9,9 \times 10^2$
Esporos de termófilos aeróbios (UFC/mL)	$4,0 \times 10^0$	$1,9 \times 10^2$
Contagem de células somáticas (CS/mL)	$6,5 \times 10^4$	$1,2 \times 10^6$
Presença de antibióticos	-	-

A contagem de esporos estava em conformidade com as duas especificações de processo térmico. O tratamento com  $F_{145^{\circ}\text{C}}$  de 10 s foi projetado para atingir nove reduções decimais de esporos de *Bacillus cereus* ou uma probabilidade de unidades não estéreis de 1:1.000, considerando-se a produção de leite UHT em embalagens de 1.000 mL a partir de uma matéria-prima com contagem de esporos de  $10^3$  UFC/mL e resistência térmica com valor  $z = 22,1$  °C e  $D_{145^{\circ}\text{C}} = 1,1$  s (PACHECO-SANCHEZ, 2005). O tratamento térmico convencional com  $F_{140^{\circ}\text{C}} = 5$  s, para nove reduções decimais de esporos de mesófilos e termófilos, foi delineado conforme o valor  $z = 10,4$  e  $10,3$  °C e  $D_{140^{\circ}\text{C}} = 0,16$  e  $0,36$  s, respectivamente (KESLLER, 1981).

### 3.2 - Caracterização do material de embalagem

Na caracterização microbiológica das embalagens, foram analisadas um total de 48 corpos-de-prova de polietileno de baixa densidade (PEBD), sendo 16 enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, 16 de esporos de mesófilos aeróbios e 16 esporos de termófilos aeróbios. Micro-organismos mesófilos aeróbios e esporos de termófilos aeróbios não foram detectados nos corpos-de-prova. Em apenas uma das 16 embalagens foi encontrado 1 UFC de esporo de mesófilo aeróbio. Esses resultados são indicativos da conformidade microbiana dos materiais de embalagem para o sistema asséptico, bem como adequação dos procedimentos de manipulação das bobinas desde sua produção até a utilização final na linha de processamento do leite UHT.

A contagem de esporos no material de embalagem estava de acordo com a especificação de processo de esterilização, imersão em banho de  $\text{H}_2\text{O}_2$  35% a 35 °C por 13 s combinado à exposição à radiação ultravioleta de  $260 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  em 254 nm por pelo menos 1,0 s. Esse tratamento foi projetado para atingir duas reduções decimais de esporos de *Bacillus subtilis* ou uma probabilidade de unidades não estéreis de 1:1.000, considerando-se uma contagem de esporos de 100 UFC/1.000 embalagens (CARDOSO, 2007).

### 3.3 - Monitoramento higiênico do sistema

Nas análises da água de enxágue, após a esterilização em circuito fechado (SIP) da linha de produção e embalagem, não foram verificados sinais de atividade microbiana ou detectada a presença de micro-organismos, a exceção do segundo processamento preliminar. Nesse processamento as amostras apresentaram sinais de alteração sensorial e de pH em relação ao controle, bem como presença de micro-organismos mesófilos aeróbios e esporos de mesófilos aeróbios. Diante a investigação das causas dessa falha de higienização e a solução do problema, apresentadas no Item 3.4, que trata das considerações sobre os ensaios preliminares, os resultados dos processamento subsequentes são indicativos da adequação do programa de higienização e da esterilidade da linha asséptica, antes das produções experimentais.

A Tabela 2 apresenta as avaliações das condições higiênicas das superfícies da máquina de embalagem antes e após as produções experimentais. Nas seis avaliações efetuadas antes do envase seis superfícies encontravam-se em condições adequadas. No entanto, o conformador de embalagem, o suporte do tubo de envase e a tampa frontal da máquina de embalagem estavam contaminados ou ocorreu alguma contaminação durante os procedimentos de amostragem e análise. A contaminação do conformador de embalagem consiste em falha crítica, uma vez que a superfície entrava em contato direto com o material de embalagem esterilizado. A descontaminação do conformador de embalagem no início ou ao longo do envase pode ser atribuída ao efeito do residual de peróxido de hidrogênio do material de embalagem. Apesar do suporte do tubo de envase não entrar em contato direto com o material de embalagem ou com o leite UHT, o fluxo de ar de cima para baixo poderia ser um veículo de contaminação. A movimentação da tampa da máquina de embalagem para as amostragens pode ter levado a contaminação da superfície com o ar do ambiente externo.

Após a produção, a principal superfície contaminada foi a do rolete antes do banho de peróxido, devido ao contato com o material de embalagem não estéril. Essa contaminação não foi considerada crítica, pois a higienização da superfície nas produções subsequentes foi eficiente e o material de embalagem recebia o tratamento de esterilização ao passar pelo banho de peróxido de hidrogênio e as lâmpadas UV. Na tampa frontal e nas arestas do fundo da máquina de embalagem, os ajustes manuais de termossoldagem do material de embalagem e os vazamentos de produto por desalinhamentos do tubo de embalagem podem ter propiciado a contaminação das superfícies.

**Tabela 2** - Condições higiênicas das superfícies da máquina de embalagem.

Superfície	Sinal de alteração em 6 amostras <sup>a</sup>			
	Antes da produção		Após a produção	
	+ <sup>b</sup>	- <sup>c</sup>	+	-
Rolete antes do banho de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>d</sup>	0	6	5	1
Rolete após o banho de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>d</sup>	0	6	0	6
Conformador de embalagem <sup>d</sup>	1	5	0	6
Guias do conformador <sup>d</sup>	0	6	0	6
Extremidade do tubo de envase <sup>d</sup>	0	6	0	6
Suporte do tubo de envase <sup>e</sup>	1	5	1	5
Parede lateral <sup>e</sup>	0	6	0	6
Tampa frontal <sup>e</sup>	1	5	4	2
Aresta do fundo <sup>e</sup>	0	6	3	3

<sup>a</sup> Alteração de pH e, ou, sensorial (aparência e odor).

<sup>b</sup> Amostra alterada.

<sup>c</sup> Amostra sem alteração.

<sup>d</sup> Superfície em contato direto com material de embalagem ou o leite UHT.

<sup>e</sup> Superfície sem contato direto com material de embalagem ou o leite UHT.

Na investigação do tipo de contaminação das superfícies foi encontrada uma microbiota mista de mesófilos aeróbios com morfologia de bastonetes, cocos, bolores e leveduras. Esses micro-organismos podem ser destruídos pela

esterilização com solução clorada, indicando que as contaminações ocorreram principalmente durante o envase.

A máquina de embalagem foi ajustada para operar com uma velocidade média do ar na região de formação de embalagem de  $0,44 \pm 0,02$  m/s, estabelecendo um regime de fluxo unidirecional. A pressão mínima na câmara de embalagem era de 0,3402 Pa (0,0345 mmH<sub>2</sub>O).

No teste de integridade do sistema de filtração, realizado após a instalação dos filtros, a leitura da concentração de PAO depois do filtro HEPA foi de 0,0025%. A aceitação internacional para esse teste é uma penetração máxima de 0,01% (ISO, 2005). Desse modo, o sistema de vedação e o papel do filtro absoluto, bem como a montagem do filtro na máquina de embalagem estavam em perfeitas condições de operação.

As concentrações de partículas após a instalação dos filtros, no estado ocupacional de repouso da máquina de embalagem, e no início das operações de embalagem são apresentadas na Tabela 3. As contagens de partículas totais nas duas configurações da linha de processamento e embalagem, bem como antes e após os ensaios não diferiram significativamente entre si. Considerando os valores máximos de concentrações de partículas no ar, a área de embalagem foi classificada de acordo com os padrões da International Organization for Standardization (1999) como ISO classe 5, concentrações máximas de partículas com tamanho maior ou iguais a 0,3  $\mu\text{m}$  de 10.200 unidades/ $\text{m}^3$ , a 0,5  $\mu\text{m}$  de 3.520 unidades/ $\text{m}^3$  e 5  $\mu\text{m}$  de 29 unidades/ $\text{m}^3$ . As concentrações de partículas obtidas estavam próximas aos padrões ISO classe 4: concentrações máximas de partículas com tamanho  $\geq 0,3$   $\mu\text{m}$  de 1.020 unidades/ $\text{m}^3$ ;  $\geq 0,5$   $\mu\text{m}$  de 352 unidades/ $\text{m}^3$  e  $\geq 5$   $\mu\text{m}$  de 0 unidade/ $\text{m}^3$ . Além disso, os testes microbiológicos não detectaram a presença de bactérias, bolores e leveduras no ar da câmara de embalagem.

Na indústria farmacêutica, os filtros microbiológicos são amplamente utilizados no controle da contaminação do ar e nas operações de embalagem asséptica. Os ambientes para acondicionamento asséptico devem atender aos requisitos grau A, equivalente a ISO classe 5 (WIRTANEN et al., 2002). Assim, o ar da câmara de embalagem estava adequado a embalagem asséptica das bebidas.

**Tabela 3** - Concentrações de partículas da área de envase.

Estado ocupacional	Tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Concentração de partículas (unidades/ $\text{m}^3$ )			
		Máxima	Mínima	Média	Desvio padrão
Repouso	0,3	1.635	177	640	736
	0,5	462	71	168	204
Operação	0,5	285	41	162	17
	5	0	2	0,1	0,4

O residual de  $\text{H}_2\text{O}_2$  imediatamente após a produção das embalagens com água ou com leite UHT ficou na faixa de 8,7 e 12,5 mg/L. Esse residual foi decomposto em algumas horas, não sendo detectado após 1 dia de estocagem. A legislação brasileira (BRASIL, 1996) não especifica padrões legais para os teores residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nas embalagens. O USFDA (2009) estabeleceu um limite máximo de 0,5 mg/L para esterilização de embalagens.

O comitê da FAO/OMS para aditivos alimentícios estabeleceu a ingestão diária admissível de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como aceitável, considerando-se que pequenos resíduos de peróxido de hidrogênio em alimentos (os quais foram tratados com soluções de lavagem antimicrobianas), prontos para consumo, não apresentam preocupação quanto à segurança (JOINT FAO/WHO COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 2004). Perante essa avaliação e os relatos do emprego de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como coadjuvante de tecnologia para conservação de leite cru, em concentrações na faixa de 300 a 800 mg/L, o Ministério da Saúde em Informe Técnico, não considerou essa aditivização um risco à saúde (BRASIL, 2007). Desse modo, os residuais de  $\text{H}_2\text{O}_2$

verificados foram considerados aceitáveis ao envase de leite UHT. Entretanto, melhorias devem ser implementadas no sistema de remoção de  $H_2O_2$ , particularmente para o envase de sucos e bebidas à base de frutas, pois o residual no material de embalagem pode promover a degradação de vitaminas, particularmente o ácido ascórbico (JOHNSON; TOLEDO, 1975; ÖZKAN; KIRCA; CEMEROGLU, 2004), bem como pigmentos, com a consequente clarificação do produto (ÖZKAN; YEMENICIOGLU; CEMEROGLU, 2005).

### 3.4 - Considerações sobre os processamentos preliminares

Os ensaios preliminares foram fundamentais para a aquisição de conhecimentos sobre a operação sistêmica da linha de processamento e embalagem, apesar de experiências prévias (ABREU; FARIA, 2007; AIRES et al., 2009; PETRUS; FARIA, 2007; PETRUS et al., 2009). Os principais problemas foram relacionados ao fechamento das embalagens, paradas eventuais do homogeneizador e a limpeza inadequada da linha de processamento. No primeiro processamento ocorreu uma grande dificuldade para ajustar o fechamento das embalagens e muitas embalagens apresentavam problemas de canais nas soldas e microfuros. O problema foi associado à utilização de uma bobina nova onde o filme plástico havia sido submetido ao tratamento Corona<sup>1</sup> para um fechamento das embalagens tipo soldas de três lados<sup>2</sup>, sendo que o sistema operava com solda tipo almofada<sup>3</sup>. O tratamento Corona excessivo em regiões de termossoldagem dos filmes plásticos pode comprometer o fechamento das embalagens (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Nesse mesmo ensaio ocorreram paradas do homogeneizador que levaram ao superaquecimento do leite no trocador de calor e,

---

<sup>1</sup> Tratamento contínuo de descarga elétrica aplicado à superfície de filmes plásticos para limpar, oxidar e aumentar a sua tensão superficial, de modo a propiciar a aderência de outros substratos, tintas, revestimentos e adesivos (BRODY; MARSH, 1997).

<sup>2</sup> As bolsas flexíveis com fechamento tipo três soldas são formadas por três termossoldagens laterais, pela fusão de material do lado interno com o do lado interno do filme (BRODY; MARSH, 1997).

<sup>3</sup> As bolsas flexíveis com fechamento tipo almofada são formadas por três termossoldagens, duas horizontais, uma de topo e outra de fundo, pela fusão lado interno com lado interno, e uma vertical, centrada no verso da embalagem, pela fusão lado interno com lado externo (BRODY; MARSH, 1997).

consequente, deposição de leite queimado e bloqueio parcial das placas. No ensaio subsequente, o programa padrão de higienização em circuito fechado (CIP) não foi suficiente para limpar o trocador de calor e o problema intensificou-se. No Anexo V são apresentadas fotografias das placas do trocador de calor com deposições de leite queimado e no Anexo VI da câmara incubadora com amostras de leite UHT em embalagens estufadas e amostras normais.

As principais medidas corretivas incluíram a reprogramação do controlador do homogeneizador e a abertura do trocador de calor para limpeza manual das placas. As condições de limpeza da linha passaram a ser avaliadas através do exame visual do interior do "T" reto para conexão do sensor de temperatura tipo termoresistência PT100, localizado no final do tubo de retenção do trocador de calor, e da água de enxágue que recirculava pelo sistema, coletada em tanque. A esterilidade da linha antes dos processamentos também foi avaliada pela coleta de amostras da água de enxágue e condução das análises microbiológicas, conforme descrito no item do Material e Métodos. Nos dois ensaios preliminares a taxa de embalagens defeituosas foi maior que 90%.

### **3.5 - Esterilidade comercial do leite UHT nas duas configurações da linha de produção**

Os resultados dos testes de esterilidade comercial nas duas configurações da linha de produção são apresentados na Tabela 4. A taxa de defeitos nos dois primeiros ensaios com configuração da linha para envase direto foram as mais elevadas nos 10 ensaios experimentais. Nos três ensaios subsequentes, a taxa de defeitos foi similar à configuração com tanque de produto na linha.

No terceiro e quinto ensaio na configuração de linha de processamento com envase direto foram empregados o Leite Cru Refrigerado, enquanto nos outros ensaios Leite Cru Refrigerado tipo B. Os resultados indicam que a qualidade da matéria-prima não influenciou a taxa de defeitos do sistema nas condições estudadas.

**Tabela 4** - Taxa de defeitos dos 10 ensaios realizados nas duas configurações da linha de produção.

Parâmetro	Ensaio									
	Linha com envase direto					Linha com o tanque de produto				
	1 <sup>d,f</sup>	2 <sup>d,f</sup>	3 <sup>e,f</sup>	4 <sup>d,f</sup>	5 <sup>e,f</sup>	1 <sup>d,f</sup>	2 <sup>d,f</sup>	3 <sup>d,g</sup>	4 <sup>d,g</sup>	5 <sup>d,g</sup>
Tamanho do lote	500	900	300	500	900	500	900	850	850	850
Amostras incubadas <sup>a</sup>	222	210	225	200	200	222	210	200	200	200
Amostras incubadas com alteração <sup>b</sup>	17	9	4	2	1	2	3	0	2	5
Taxa de defeito <sup>c</sup> (%)	7,7	4,3	1,8	1,0	0,5	0,9	1,4	0,0	1,0	2,5

<sup>a</sup> Estocadas à temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C por pelo menos 4 meses e incubadas a 35 °C por 30 dias.

<sup>b</sup> Embalagem estufada, leite com alteração sensorial (odor e aparência) e, ou, variação de pH maior que 0,2 unidades.

<sup>c</sup> Relação entre amostras defeituosas pelas amostras incubadas.

<sup>d</sup> Matéria-prima Leite Cru Refrigerado tipo B.

<sup>e</sup> Matéria-prima Leite Cru Refrigerado.

<sup>f</sup> Tratamento térmico a 145 °C/10 s.

<sup>g</sup> Tratamento térmico a 140 °C/5 s.

Os três ensaios em que o tratamento UHT foi efetuado a 140 °C por 5 s, os três últimos na configuração de linha com tanque de produto, apresentaram uma taxa de defeitos similar aos ensaios a 145 °C por 10 s. Esses resultados são indicativos da adequação do tratamento térmico a 140 °C por 5 s, para laticínios que processam leite com as características microbianas do empregado nesse trabalho.

A operação da linha de processamento em temperaturas mais elevadas implica no aumento dos custos do trocador de calor, no aumento do consumo de energia, na redução do tempo de operação, bem como em programas de higienização mais complexos. A limpeza em circuito fechado (CIP) dos processamentos realizados a 140 °C demandou a metade de água, detergentes, energia e tempo de operação. Entretanto, existem relatos da ocorrência de *B. cereus* em leite UHT (REZENDE-LAGO, 2005; REZENDE-LAGO et al., 2007;

VIDAL-MARTINS; ROSSI JR.), demando a aplicação de tratamentos térmicos mais severos, como recomendado por Pacheco-Sanchez (2005).

A Tabela 5 apresenta os resultados das análises das amostras de leite UHT sem alteração e alteradas após a incubação a 35 °C por 30 dias. O leite UHT sem alteração e alterado apresentou características similares nas duas configurações da linha de produção. Nas 10 amostras de cada ensaio submetidas a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis e de *B. sporothermodurans* não foram detectadas colônias microbianas. Na marcha de detecção de contaminantes das amostras com alterações sensoriais e físico-químicas foi verificada uma microbiota mista de células vegetativas em todas as unidades. Esses resultados são indicativos de deteriorações por contaminações microbianas pós-processamento.

**Tabela 5** - Caracterização das amostras de leite UHT dos 10 lotes nos testes de esterilidade comercial.

Parâmetro	Amostra	
	Sem alteração	Alterada
Embalagem	Normal	Estufada ou colapsada
Aparência	Líquido branco	Laranja, rosa, marrom ou preta
Odor	Leite	Azedo, queijos, fermentado ou podre
pH	6,52 <sup>a</sup> – 6,96 <sup>b</sup>	4,83 – 7,58
Acidez (%)	0,14 – 0,17	0,23 – 2,44
Estabilidade ao etanol 68%	Positiva	Negativa
Potencial de oxirredução (mV)	162 – 206	- 487 – 170
O <sub>2</sub> dissolvido (mg/L)	1,18 – 7,36	0,00 – 6,73
CO <sub>2</sub> dissolvido (mg/L)	3,25 – 13,1	4,90 – 4.670
O <sub>2</sub> no espaço livre (%)	14,9 – 20,5	0,0 – 20,5
CO <sub>2</sub> no espaço livre (%)	0,0 – 0,1	0,0 – 42,4

<sup>a</sup> Valor mínimo.

<sup>b</sup> Valor máximo.

O teste eletrolítico das amostras alteradas indicou que as falhas de solda foram as principais causas de deterioração do produto. Nos dois ensaios iniciais, mais de 80% das amostras alteradas apresentaram falhas de integridade. Investigações subsequentes, conduzidas através do teste de penetração de solução colorida, demonstraram que a maioria das amostras alteradas apresentava falhas de integridade na mesma posição da solda horizontal. Outros pontos que apresentaram falhas de integridade foram na interseção da solda vertical com a horizontal, na interseção das abas laterais com a solda horizontal, no encontro das soldas verticais e em outras posições da solda horizontal. Desse modo, foi conduzida inspeção da prensa de termossoldagem horizontal e identificada uma irregularidade na superfície da resistência de solda. A substituição da resistência de solda horizontal reduziu, consideravelmente, a taxa de defeitos nos ensaios subsequentes.

Apesar das melhorias decorrentes da intervenção na resistência de solda horizontal, nos outros ensaios foram detectadas falhas de integridade em cerca de 20% das amostras alteradas. A especificação adequada do material de embalagem e o controle das condições de termossoldagem são as melhores intervenções para assegurar um fechamento hermético e prevenir a recontaminação do produto.

Algumas condições que podem ter contribuído com a contaminação das superfícies externas das embalagens, e, conseqüente, entrada de micro-organismos nas mesmas, foram a condução de enxágues após a produção, para remoção do residual de peróxido de hidrogênio externo, e a ocorrência de vazamentos de leite em algumas embalagens.

Durante a condução das pesquisas foi observado que algumas embalagens com vazamento de leite apresentavam-se completamente estufadas após alguns dias de estocagem à temperatura ambiente. Esse estufamento foi atribuído à acidificação do leite em decorrência da atividade microbiana, e, conseqüente, coagulação das proteínas do leite, levando a obstrução do vazamento. Desse modo, as embalagens tornavam-se hermeticamente fechadas e, a atividade microbiana subsequente, ocasionava a produção de gases e o estufamento. Isso

foi descoberto ao acaso, quando as embalagens com vazamentos eram separadas dos lotes, evidenciando a dificuldade de detecção dos microfuros, cuja ocorrência apresenta natureza esporádica (HARPER et al., 1995). Esse fenômeno demanda estudos futuros, uma vez que pode estar associado à obstrução de microfuros, impossibilitando a investigação precisa das causas de deteriorações de amostras alteradas. Caso a lavagem das embalagens das unidades alteradas, realizada antes do teste eletrolítico de integridade, não tenha sido suficiente para desobstruir potenciais coágulos de proteínas do leite em microfuros, a quantidade de unidades alteradas devido às falhas de integridade pode ter sido maior.

Outro fator que pode ter contribuído para as altas taxas de defeitos foram os ajustes realizados na máquina de embalagem durante o envase. O desalinhamento do tubo de material de embalagem impedia a adequada termosoldagem vertical nas suas bordas ou causava vazamentos de produto na máquina de embalagem. Esse desalinhamento era ocasionado pelo travamento dos roletes guia e do rolete de freio, em decorrência de corrosões pelo peróxido de hidrogênio no ambiente. Conseqüentemente, a bobina tinha de ser re-alinhada, os roletes de tração do tubo de embalagem re-ajustados e o fundo da máquina de embalagem limpo com água clorada. Conseqüentemente, o material de embalagem não-esterilizado e a câmara asséptica podiam ser contaminados. Estudos futuros devem ser conduzidos na melhoria do avanço do material de embalagem empregando-se um número maior de roletes guias, construídos com materiais resistentes ao peróxido de hidrogênio, e uma distância menor entre os mesmos, como sugerido por Anjos (2010).

Nos produtos incubados a 55 °C por 7 dias não foram observadas alterações características de deterioração sensorial (aparência, consistência ou odor da bebida), nem variações de pH maior que 0,2. O pH, bem como outros parâmetros físico-químicos (potencial de oxirredução, oxigênio dissolvido e dióxido de carbono dissolvido) sofreram pequenas variações (Tabela 6), ocasionadas pela aceleração das reações de oxidação do produto em temperaturas mais elevadas (FOX; MCSWEENEY, 2003). A principal alteração foi o estufamento de todas as

embalagens de todos os lotes de produção. Esse estufamento era esperado, uma vez que a embalagem era flexível e apresentava espaço livre. Desse modo, com a elevação da temperatura de estocagem ocorria a expansão dos gases e, conseqüente, deformação da embalagem. Entretanto, o estufamento foi acentuado e com a diminuição da temperatura de estocagem as embalagens não retomavam ao seu volume original (Figura 7). Ocorria uma pequena diminuição do volume das embalagens, mas o estufamento persistia. Assim, os produtos foram submetidos à marcha de detecção de contaminantes, não sendo detectados micro-organismos que pudessem causar o estufamento. Adicionalmente, a composição gasosa no espaço livre das embalagens foi analisada em termos da concentração de oxigênio e dióxido de carbono antes, durante e após a incubação das amostras, que não indicou alteração.

**Tabela 6** - Caracterização das amostras de leite UHT antes e após incubação a 55 °C por 7 dias.

Parâmetro	Leite UHT	
	Antes	Depois
Aparência, consistência e odor	normal	normal
pH	6,72 ± 0,01	6,60 ± 0,01
Acidez (%)	0,17 ± 0,08	0,18 ± 0,05
Estabilidade ao etanol 68%	+	+
Potencial de oxirredução (mV)	31,1 ± 1,6	41,8 ± 3,6
O <sub>2</sub> dissolvido (mg/L)	1,9 ± 0,4	1,0 ± 0,1
CO <sub>2</sub> dissolvido (mg/L)	10,7 ± 1,9	6,7 ± 2,0
O <sub>2</sub> no espaço livre (%)	21,2 ± 0,8	21,4 ± 0,8
CO <sub>2</sub> no espaço livre (%)	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1
Volume, produto + embalagem (mL)	492 ± 13	570 ± 12
Peso, produto + embalagem (g)	445,2 ± 4,6	438,4 ± 4,8

Além da variação de volume, o principal parâmetro afetado pela incubação a 55 °C por 7 dias foi o peso do produto. Essa perda de peso foi atribuída à perda de água do produto devido à diferença entre a sua pressão de vapor de água e a pressão de vapor de água do ambiente, numa embalagem cuja permeabilidade aumentava com a elevação da temperatura.



**Figura 7** - Fotografia das embalagens antes e após a incubação a 55 °C por 7 dias.

Considerando o fenômeno de pressão de vapor de água de equilíbrio e a permeabilidade do material de embalagem com o aumento da temperatura, foi desenvolvido um novo experimento onde as amostras foram colocadas num dessecador de vidro com água, de modo a estabelecer um ambiente com 100% de umidade relativa, e incubadas a 55 °C por 7 dias. Após a retirada das amostras das condições de incubação, as embalagens retomaram o seu volume inicial. Além disso, em estudo posterior com embalagens laminadas flexíveis com propriedades

de barreira aos gases e ao vapor de água, como apresentado no Capítulo 3, não foram observados perda de peso e estufamento. Desse modo, testes de esterilidade comercial com embalagens permeáveis ao vapor de água devem ser realizados em ambiente saturado ou com umidade relativa em equilíbrio com a atividade de água do produto, de modo que o estufamento físico não seja confundido com o estufamento de origem microbiana.

#### **4 - CONCLUSÕES**

O sistema apresentou um desempenho inferior a PUNE estipulada de 1:1.000. A configuração de linha com envase direto na embalagem foi capaz de atender aos requisitos estabelecidos pelo Codex Alimentarius (1993). O tanque de produto, apesar de não ser pressurizado, apresentou um desempenho compatível com sistemas convencionais. A montagem da linha utilizando-se equipamentos convencionais para indústria de laticínios, incluindo bombas e válvulas sanitárias convencionais, não implicou no aumento da taxa de defeitos. Entretanto, melhorias devem ser implementadas no desenho sanitário da linha, no método de esterilização da linha e, principalmente, na máquina de embalagem de modo a diminuir o residual de peróxido de hidrogênio nas embalagens e as falhas nas soldas de fechamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.F.; FARIA, J.A.F. Temperature and ascorbic acid effects in physico-chemical stability and enzymatic activity of coconut water (*Cocos nucifera* L.) aseptic filled. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.226-232, 2007.

AIRES, G.S.B.; WALTER, E.H.M; JUNQUEIRA, V.C.A.; ROIG, S.M.; FARIA, J.A.F. *Bacillus cereus* in refrigerated milk submitted to different heat treatments. **Journal of Food Protection**, v.72, n.6, p.1301-1305, 2009.

ANJOS, C.A.R. (Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Brasil) **Comunicação pessoal**, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LEITE LONGA VIDA. **Sobre o leite longa vida**. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/Estatisticas.aspx>>. Acesso em: 11 nov. 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6401: Instalações centrais de ar-condicionado para conforto** - Parâmetros básicos de projeto. 1980. 17p.

BERNARD, D.T.; GAVIN III., A.; SCOTT, V.N.; SHAFER, B.D.; STEVENSON, K.E.; UNVERFERTH, J.A.; CHANDARANA, D.I. Validation of aseptic processing and packaging. **Food Technology**, v.44, n.12, p.119-122, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 11 mar. 1996. Seção 1, p.3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de dezembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, 20 ago. 2002. Seção 1, p.13.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, 18 ago. 2003. Seção 1, p.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 10 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Informe Técnico** - nº 34 de 31 de outubro de 2007. Uma análise dos achados laboratoriais sobre ocorrências de fraudes em Leite UHT (UAT) – Polícia Federal, Operação “Ouro Branco”. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/informes/34\\_311007.htm](http://www.anvisa.gov.br/ALIMENTOS/informes/34_311007.htm)> Acesso em: 20/03/2008.

BRODY, A.L. Aseptic and extended-shelf-life packaging. **Food Technology**, v.60, n.2, p.66-68, 2006.

BRODY, A.L.; MARSH, K.S. **The Wiley Encyclopedia of packaging technology**. 2. ed. Ney York: John Wiley & Sons, Inc., 1997. 1023p.

CARDOSO, F.C. **Avaliação da esterilização de filme de polietileno com peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta**. 2007. 111p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 40-1993: Code of hygienic practice for aseptically processed and packaged low-acid foods**. Rome: FAO/WHO, 1993. 34p.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/MISC 3: Inventory of processing aids**. Rome: FAO/WHO, 1999. 39p.

DATTA, A.K. Milk sterilization and aseptic packaging under rural context. **Indian Dairyman**, v.61, n.3, p.114-119, 2009.

DEIBEL, K.E.; JANTSCHKE, M. Canned foods – Tests for commercial sterility. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.61, p.577-582.

DENNY, C.B.; PARKINSON, N.G. Canned foods – Tests for cause of spoilage. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.62, p.583-600.

EVANCHO, G.M.; SVEUM, W.H.; MOBERG, L.J.; FRANK, J.F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap. 3, p.25-35.

FRANK, J.F.; CHRISTEN, G.L.; BULLERMAN, L.B.; RICHARDSON, G.H. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R.T. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. Chap.8, p.271-286.

FOX P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced dairy chemistry**: Volume 1 – Proteins. 3. ed. London: Blackie, 2003. 1349p.

HARPER, C.L.; BLAKISTONE, B.A.; LITCHFIELD, J.B.; MORRIS, S.A. Developments in food packaging integrity testing. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.10, p.336-340, 1995.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-1:1999(E). Cleanrooms and associated controlled environments** - Part 1: Classification of air cleanliness. Geneva: ISO, 1999. 18p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-3:2005(E): Cleanrooms and associated controlled environments** - Part 3: Test methods. Geneva: ISO, 2005. 65p.

JOINT FAO/WHO COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Hydrogen peroxide**. Latest evaluation: 2004. Disponível em:

<<http://jecfa.ilsa.org/evaluation.cfm?chemical=HYDROGEN%20PEROXIDE&keyword=HYDROGEN%20PEROXIDE>>. Acesso em: 15 jul. 2009.

JOHNSON, R.L.; TOLEDO, R.T. Storage stability of 55degrees brix orange juice concentrate aseptically packaged in plastic and glass containers. **Journal of Food Science**, v.40, n.2, p.433-434, 1975.

KESLLER, H. G. Pasteurization - sterilization - heating methods. In: **Food engineering and dairy technology**. Freising: Verlag A. Kessler, 1981. Chap.6, p.139-207.

OHRESSER, S.; GRIVEAU, S.; SCHANN, C. Validation of microbial recovery from hydrogen peroxide-sterilized air. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v.58, n.2, p.75-80, 2004.

ÖZKAN, M.; KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p.591-597, 2004.

ÖZKAN, M.; YEMENICIOGLU, A.; CEMEROGLU, B. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. **Food Research International**, v.38, n.8-9, p.1015-1021, 2005.

PACHECO-SANCHEZ, C.P. **Ocorrência de *Bacillus cereus*, avaliação de sua resistência térmica em sistema contínuo e seu controle em leite UHT**. 2005. 231p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Testing a small scale aseptic system for milk in plastic bottles. **Food Science and Biotechnology**, v.16, n.1, p.18-22, 2007.

PETRUS, R.R.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; ABREU, L.F. Sensory stability of ultra high-temperature milk in polyethylene bottles. **Journal of Food Science**, v.74, n.1, p.53-56, 2009.

PFLUG, I.J. Endpoint of a preservation process. **Journal of Food Protection**, v.50, n.4, p.347-351, 1987.

REZENDE-LAGO, N.C.M.; ROSSI JR., O.D.; VIDAL-MARTINS, A.M.C.; AMARAL, L.A. Occurrence of *Bacillus cereus* in whole milk and enterotoxigenic potential of the isolated strains. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.6, p.1563-1569, 2007.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267p.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.6, p.53-62.

SZEMPLENSKI, T. **Aseptic packaging in the United States: Systems, installations and trends for the food and beverage markets**. 2005. Disponível em: <<http://www.packstrat.com>>. Acesso em: 15 jul. 2006.

WIRTANEN, G.; MIETTINEN, H.; PAHKALA, S.; ENBOM, S.; VANNE, L. **Clean air solutions in food processing**. Espoo: VTT Publications, 2002. 95p.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual: Examination of flexible and semirigid food containers for integrity**. 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>>. Acesso em: 20 set. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations Title 21**. 21CFR178.1005. 2009. Hydrogen peroxide solution.

Disponível em:

<<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm>>.

Acesso em: 26 nov. 2009.

VIDAL-MARTINS, A.M.C.; ROSSI JR., O.D.; REZENDE-LAGO, N.C.M. Micro-organismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo de *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.396-400, 2005.

VON BOCKELMANN, B. Aseptic packaging. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4. ed. Philadelphia: Lea Febiger, 1991. Chap.48, p.833-845.

VON BOCKELMANN, B. **Long life products**: Long life from raw materials to finished products. Lund: AB Tetra Pak, 1988. 68p.

**CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DE EMBALAGENS FLEXÍVEIS  
PARA O ACONDICIONAMENTO ASSÉPTICO DE LEITE  
LONGA VIDA**

## **AVALIAÇÃO DE EMBALAGENS FLEXÍVEIS PARA O ACONDICIONAMENTO ASSÉPTICO DE LEITE LONGA VIDA**

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de dois materiais de embalagens flexíveis no acondicionamento asséptico de leite longa vida de um sistema asséptico para laticínios de pequena escala de produção, com capacidade de 1.000 L/h. Os materiais estudados foram polietileno de baixa densidade (PEBD) pigmentado de branco com dióxido de titânio, tradicionalmente utilizado para leite pasteurizado, e laminado multicamada (LMC), desenvolvido especialmente para leite UHT. O desempenho das embalagens foi avaliado através de ensaios de caracterização dos materiais, integridade do sistema, bem como estudos de estabilidade microbiana e testes de aceitação sensorial do produto. O leite longa vida foi produzido com dois tipos de matéria-prima, Leite Cru Refrigerado (LCR) e Leite Cru Refrigerado tipo B (LCRB), estocado à temperatura ambiente em duas condições, no escuro e sob exposição à luz com intensidade de  $2.000 \pm 100$  lux. A vida de prateleira do leite longa vida nas embalagens de PEBD estocadas no escuro foi estimada em 4 semanas para o produto provenientes de LCR e 7 semanas para o LCRB. No tratamento em embalagens de PEBD e exposição à luz, a estabilidade sensorial do produto foi menor que 1 semana, após as 2 semanas iniciais de estocagem no escuro, independentemente da qualidade da matéria-prima. Na embalagem LMC o leite longa vida produzido com LCR teve uma vida de prateleira de 12 semanas e 24 semanas no tratamento com LCRB, tanto no escuro quanto na luz. Os resultados evidenciaram a influência da qualidade da matéria-prima na vida de prateleira do produto. A diferença de estabilidade dos produtos nas embalagens estudadas foi associada às propriedades de barreira à luz e ao oxigênio.

## 1 - INTRODUÇÃO

O principal tipo de embalagem empregado no acondicionamento de leite longa vida são os laminados cartonados. Essa situação é praticamente a mesma para outras bebidas assépticas, comercialmente estáveis à temperatura ambiente e sem adição de conservantes químicos, como sucos, néctares e extratos aquosos de soja. No atual mercado de sistemas assépticos em embalagens de consumo, o material de embalagem é tipicamente comercializado em conjunto com a máquina de envase, de modo que a tecnologia é detida por poucas empresas. Nesse cenário, as embalagens plásticas apresentam-se como opção potencial ao sistema tradicional, viabilizando a abertura do mercado de novas embalagens, bem como a diversificação da tecnologia de processamento e envase asséptico.

As embalagens plásticas flexíveis apresentam-se como uma das alternativas mais vantajosas de acondicionamento de alimentos. Esse tipo de embalagem racionaliza a quantidade de material utilizado, atribuindo-se características de economia e minimizando impactos ambientais do sistema. As embalagens podem ser produzidas na própria indústria de alimentos, existindo uma disponibilidade substancialmente maior de fornecedores. As propriedades mecânicas e de barreira dessas embalagens são ajustáveis à qualidade e a vida útil especificada para o produto. O sistema de fechamento poderá atender aos requisitos técnicos de hermeticidade, segurança e funcionalidade. A produção das embalagens plásticas flexíveis, tipo forma enche e fecha, é relativamente simples e apresenta flexibilidade quanto ao tamanho da embalagem.

As principais limitações das embalagens flexíveis estão associadas à conveniência ao manuseio e na praticidade de abertura e fechamento. Essas embalagens exigem objetos cortantes para abertura, além de não apresentar dispositivos de re-fechamento, e precisam ser colocadas num suporte para serem manuseadas. No entanto, essas deficiências podem ser sanadas empregando-se a tecnologia de embalagens auto-sustentáveis e as tampas de abertura e refechamento (ELECSTER, 2009). No caso específico do leite longa vida, deve-se considerar as propriedades de barreira ao oxigênio e, principalmente, a

transmissão de luz pela embalagem, uma vez que a fotooxidação é o fator mais crítico que afeta a estabilidade do produto (BOSSET; SIEBER; GALLMANN, 1995).

Na concepção e no desenvolvimento dos sistemas assépticos a embalagem constitui elemento fundamental para se obter a esterilidade comercial e vida útil dos produtos. Entretanto, os conhecimentos sobre o acondicionamento de produtos assépticos em embalagens flexíveis continuam limitados, embora a experiência obtida com outros sistemas mais tradicionais tenha sido imprescindível para o atual estágio de desenvolvimento. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de bolsas flexíveis de polietileno de baixa densidade (PEBD) pigmentados de branco e um laminado multicamada (LMC) para o acondicionamento asséptico de leite longa vida. O desempenho das embalagens foi avaliado através de ensaios de caracterização dos materiais, integridade do sistema, bem como estudos de estabilidade microbiana e testes de aceitação sensorial do produto. As embalagens de PEBD são as usualmente empregadas no envase de leite pasteurizado e o LMC foi desenvolvido de modo a propiciar uma estrutura barreira ao oxigênio e à luz, bem como resistência mecânica ao sistema.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 - Caracterização dos materiais de embalagem**

#### 2.1.1 - Materiais de embalagem

Os materiais de embalagem estudados foram filmes de polietileno de baixa densidade pigmentados de branco com dióxido de titânio 1,5% (PEBD), fornecido pela Plastunion Indústria de Plásticos Ltda. (Caieiras - SP), e um laminado multicamada (LMC), desenvolvido pela Dixie Toga S.A. (São Paulo - SP). Esse laminado flexível era constituído por poliolefinas para termossoldagem da embalagem, copolímero barreira ao oxigênio e uma camada interna pigmentada de preto como elemento para proteção contra luz e radiação ultravioleta. Desse modo, os materiais foram especificados quanto aos critérios de constituição e propriedades de barreira, sem tratamento Corona nas bordas. Nos experimentos foram empregadas duas bobinas de PEBD e duas de LMC com peso nominal de 15 kg.

A espessura dos filmes foi determinada com micrômetro Mitutoyo Absolute ID-C112B, código 543-250B (Mitutoyo Corp., Utsunomiya-shi - Japão), com sonda tipo formato de esfera com 3 mm de diâmetro e força de medição menor que 1,5 N, conforme as recomendações da American Society for Testing and Materials (2008).

#### 2.1.2 - Permeabilidade ao oxigênio

A permeabilidade ao oxigênio dos filmes plásticos foi determinada pelo método coulométrico no equipamento MOCON OX-TRAN 2/20 (Modern Controls, Inc., Minneapolis - EUA). Os ensaios foram realizados em duplicata, operando com oxigênio analítico (99,99%) como gás permeante (fluxo de 20 cm<sup>3</sup>/min) e mistura de nitrogênio com hidrogênio (2,0 : 98,0%) como gás de arraste (fluxo de 10 cm<sup>3</sup>/min), conforme metodologia da ASTM (2005b). Os corpos-de-prova foram obtidos das duas bobinas de cada material, sendo condicionados à temperatura

23 ± 2 °C e umidade relativa (UR) de 100% (ambiente saturado com vapor d'água) por um período de 72 h (ASTM, 2007b; 2007c).

### 2.1.3 - Transmissão de radiação ultravioleta e luz

A transmitância especular dos materiais de embalagem à radiação ultravioleta (UV) e à luz foi determinada em espectrofotômetro Agilent 8453 (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn - Alemanha), com conjunto de fotodiodos integrado a sistema computadorizado. A faixa de comprimento de onda avaliada no módulo transmitância foi de 200 a 800 nm, a uma velocidade de varredura de 120 nm/min (ASTM, 2007a; 2009; SARANTÓPOULOS et al., 2002). O equipamento foi calibrado ao ar, sem corpo-de-prova, para definir a leitura de transmitância de 100% ao longo do espectro UV-visível.

A amostragem foi composta por cinco corpos-de-prova obtidos, de diferentes posições das bobinas de PEBD e do LMC. Adicionalmente, foi efetuada a determinação da transmitância de embalagens comerciais de leite longa vida tipo caixas laminadas cartonadas, garrafas plásticas e bolsas plásticas.

### 2.1.4 - Caracterização microbiológica das embalagens

Os materiais de embalagem foram avaliados quanto à concentração inicial de micro-organismos mesófilos aeróbios, esporos de mesófilos aeróbios e esporos de termófilos aeróbios. Os corpos-de-prova foram amostrados antes e após o envase do leite UHT, empregando-se técnicas assépticas para prevenir a contaminação do material. Pelo menos 24 corpos-de-prova com cerca de 20 x 30 cm de cada bobina foram amostrados. Previamente às coletas, as bobinas tinham as laterais sanitizadas por aspersão com solução de hipoclorito de sódio contendo 200 mg/L de cloro ativo. As bobinas eram montadas manualmente na máquina de envase asséptico (MEA). Pelo menos cinco voltas de filme plástico

eram descartadas antes das coletas. Os corpos-de-prova eram dobrados com a face interna voltada para dentro e colocados em sacos estéreis com lacre.

Antes das análises, os corpos-de-prova foram transformados em embalagens de modo a enumerar exclusivamente a sua microbiota interna. As embalagens foram produzidas com auxílio de uma termossoldadora manual, instalada dentro de cabine de segurança biológica classe II tipo "A1" (Veco do Brasil Indústria e Comércio de Equipamentos Sociedade Ltda., Campinas - SP), certificada semestralmente conforme padrão *International Organization for Standardization* classe 5 (ISO, 1999). Cada corpo-de-prova foi dobrado ao meio e submetido a uma solda de fundo e outra lateral para a formação de uma bolsa plástica. Antes do fechamento da bolsa plástica, procedeu-se a remoção de uma faixa de material da região de borda, com cerca de 1 x 30 cm. Essa faixa de material da borda juntamente com 20 mL de solução tampão estéril foram colocados dentro do saco plástico, fechado em seguida por termossoldagem. Esse procedimento teve o objetivo de simular a superfície interna da embalagem produzida pela MAE, onde uma das bordas do material ficava voltada para o interior da embalagem, em contato com o produto.

A avaliação microbiológica das superfícies internas das bolsas plásticas foi conduzida através do método de enxágue, com 20 mL de solução salina neutra, conforme recomendações da *American Public Health Association* – APHA (EVANCHO et al., 2001). No procedimento de agitação, cada embalagem era colocada sobre uma bancada e recebia 100 compressões manuais alternadas, durante aproximadamente 30 s. Finalmente, as embalagens eram abertas e as soluções de enxágue submetidas a uma análise microbiológica específica.

A Contagem Padrão em Placas foi realizada pelo plaqueamento em profundidade da solução de enxágue de cada embalagem em Ágar padrão para contagem com dupla concentração. A incubação foi realizada a 30 °C por 48 h (SWANSON et al., 2001).

A contagem de esporos mesófilos aeróbios foi conduzida através do choque térmico da solução de enxágue a 80 °C por 12 min com resfriamento em banho de gelo. As amostras foram plaqueadas em profundidade em Ágar padrão para contagem adicionado de 0,1% de amido com dupla concentração e incubadas a 30 °C por 48 h (FRANK et al., 1992).

Na contagem de esporos termófilos aeróbios, o choque térmico foi efetuado a 100 °C por 10 min com resfriamento em banho de gelo (DENNY; PARKINSON, 2001). As amostras foram plaqueadas em profundidade em Ágar padrão para contagem adicionado de 0,1% de amido com dupla concentração e incubadas a 55 °C por 48 h (FRANK et al., 1992).

## **2.2 - Ensaios de produção de leite UHT**

### **2.2.1 - Captação, recepção, armazenamento e caracterização do leite cru**

As produções experimentais de leite UHT foram realizadas em dois ensaios, utilizando dois tipos de leite cru. A matéria-prima do primeiro ensaio foi Leite Cru Refrigerado (LCR), adquirida da Agropecuária Jaguari Indústria e Comércio Ltda, Jaguariúna - SP, e no segundo ensaio Leite Cru Refrigerado tipo B (LCRB), da Fazenda Atibainha, Itatiba - SP. A utilização de lotes de leite cru com padrões de identidade e qualidade distintos teve o intuito de avaliar a sua influência na qualidade e vida de prateleira do leite UHT acondicionado nas embalagens de PEBD e LMC. O uso de matérias-primas diferenciadas teve o intuito de representar parte da diversidade do leite existente no Brasil, um país com dimensões continentais e que apresenta realidades sociais, econômicas e tecnológicas distintas.

A Tabela 1 apresenta a caracterização dos lotes de leite cru analisados quanto ao teor de gordura pelo método butirométrico, sólidos não-gordurosos pelo método gravimétrico, acidez titulável, concentração de íon hidrogênio (pHmetro Digimed modelo DM-20, Digicrom Analítica Ltda., Santo Amaro - SP), estabilidade ao etanol (BRASIL, 2006), contagem padrão em placas (SWANSON et al., 2001),

esporos de mesófilos aeróbios (FRANK et al., 1992), esporos de termófilos aeróbios (DENNY; PARKINSON, 2001), contagem de células somáticas pelo método de citometria de fluxo (Somacount 300, Bentley Instruments Inc., Chaska - EUA) e presença de antibióticos inibidores de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* (Devoltest SP-NT/SP MINI-NT, DSM food Specialities, Delft - Nova Zelândia).

**Tabela 1** - Caracterização da matéria-prima.

Parâmetro	Matéria-prima	
	LCR <sup>a</sup>	LCRB <sup>b</sup>
Gordura (g/100 g)	3,5	3,7
Sólidos não-gordurosos (g/100 g)	8,6	8,4
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	0,16	0,15
pH	6,70	6,83
Estabilidade ao etanol 74% (v/v)	+	+
Contagem padrão em placas (UFC/mL)	$6,5 \times 10^5$	$5,4 \times 10^4$
Esporos de mesófilos aeróbios (UFC/mL)	$9,9 \times 10^2$	$2,0 \times 10^1$
Esporos de termófilos aeróbios (UFC/mL)	$1,6 \times 10^2$	$1,8 \times 10^1$
Contagem de células somáticas (CS/mL)	$7,9 \times 10^4$	$6,5 \times 10^4$
Presença de antibióticos	-	-

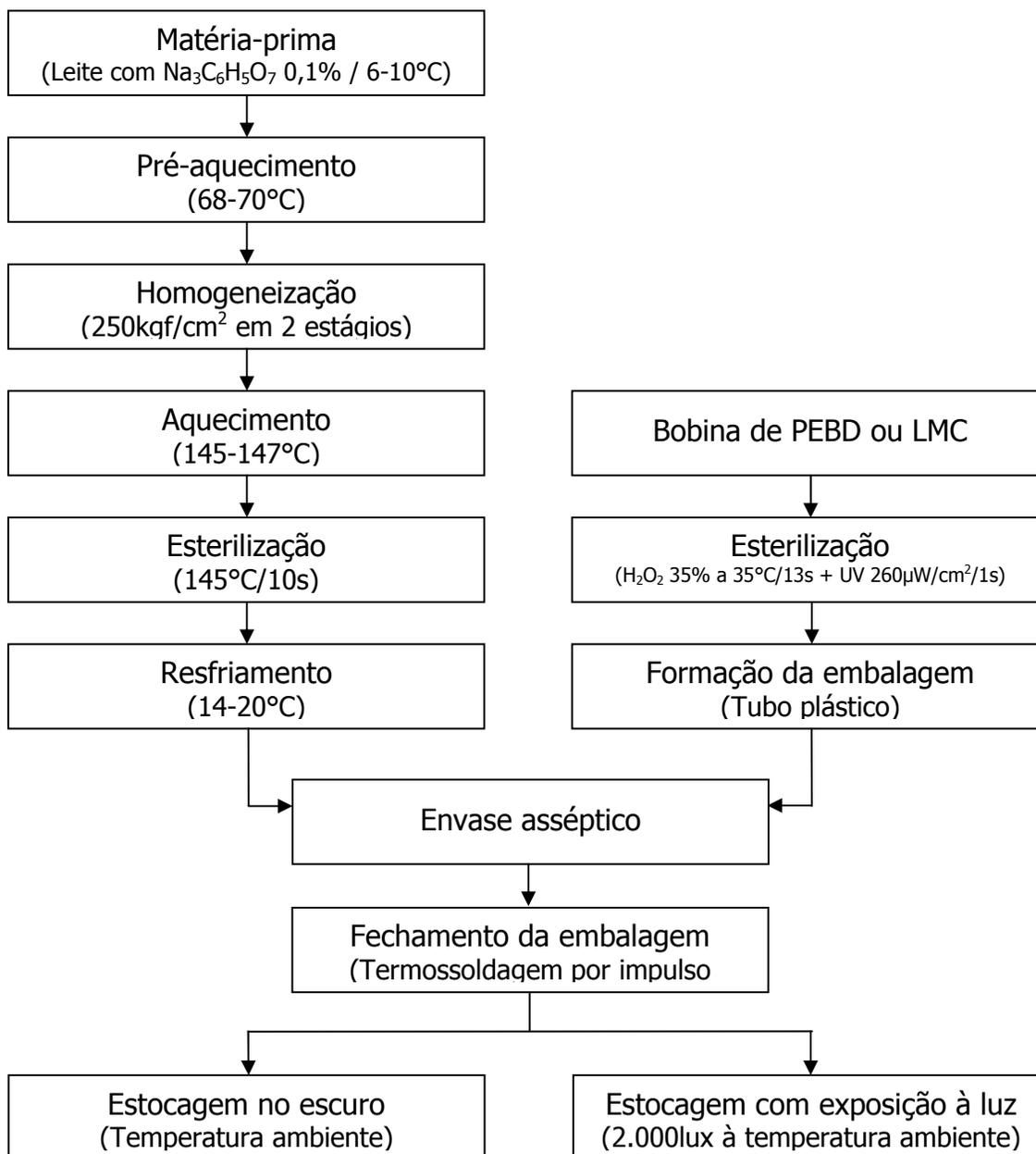
<sup>a</sup> Leite Cru Refrigerado tipo B empregado no primeiro ensaio.

<sup>b</sup> Leite Cru Refrigerado empregado no segundo ensaio.

### 2.2.2 - Processamento e embalagem de leite UHT

A produção e estocagem de leite longa vida em embalagens de PEBD e do LMC foram realizadas conforme o fluxograma da Figura 1. O leite foi adicionado de citrato de sódio 0,1% ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), homogeneizado à temperatura entre 68 e 70 °C e pressão de 250 kgf/cm<sup>2</sup> (210 kgf/cm<sup>2</sup> no primeiro estágio e 40 kgf/cm<sup>2</sup> no segundo estágio) e submetido ao tratamento térmico a 145 °C por

10 s, com resfriamento na faixa de 14 e 20 °C. O processamento foi conduzido em sincronismo com a operação de embalagem. A vazão da linha de processamento foi de 260 L/h e a produtividade da MEA ajustada para 600 embalagens de 434 mL/h (10 embalagens/min). O envase foi realizado inicialmente nas embalagens de PEBD e em seguida nas embalagens do LMC.



**Figura 1** - Fluxograma de produção e estocagem do leite longa vida nas embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) e do laminado multicamada (LMC).

A linha de processamento com envase direto do produto nas embalagens foi descrita no Capítulo 2. A máquina de envase asséptico (MEA) realizava a filtração de ar, a esterilização do filme plástico e a produção das embalagens. A descrição do sistema de filtração de ar também está no segundo capítulo da tese. Na parte traseira da MEA o filme plástico era desbobinado, passando por roletes guia para receber o tratamento de esterilização. Esse tratamento foi efetuado por imersão em solução de peróxido de hidrogênio 35% a  $35 \pm 2$  °C por 13 s e exposição à radiação ultravioleta de  $260 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  em 254 nm por pelo menos 1,0 s, emitida por lâmpada TUV15WT5 (Philips do Brasil Ltda, São Paulo - SP) instalada a 10 mm do filme. Essas condições de esterilização foram determinadas por Cardoso (2007).

As embalagens tipo bolsa flexível eram produzidas através de três soldas com perfil com perfil plano, uma vertical e duas horizontais ao sentido de produção (Figura 2). A solda vertical era centrada no verso das embalagens sendo formada por fusão tipo lado externo/lado interno do material. Esta solda delimitava as abas laterais do filme plástico, uma voltada para o interior e outra para o exterior das embalagens. As soldas horizontais, uma de topo e outra de fundo, eram formadas pela fusão do tipo lado interno/lado interno do material.



**Figura 2** - Embalagens de polietileno de baixa densidade pigmentado com dióxido de titânio (PEBD) e do laminado multicamada (LMC).

Na parte dianteira da MEA, o filme plástico passava por conformador, com o tubo de envase de produto ao centro, e adquiria o formato de tubo plástico pela superposição de suas laterais. Essas laterais foram prensadas pneumáticamente contra uma tira de borracha de apoio posicionado no tubo de envase de produto, fundidas por impulso elétrico e resfriadas hidraulicamente por meio de prensa vertical. A resistência elétrica da prensa de solda apresentava perfil plano, sendo recoberta com fita de teflon. Em seguida, o tubo plástico seguia pela extremidade do tubo de envase e alcançava a prensa horizontal. Esta prensa simultaneamente efetuava a termossoldagem de topo da embalagem que se encontrava abaixo de sua posição e a de fundo da embalagem que era formada acima, promovendo adicionalmente a separação das mesmas.

A movimentação do filme plástico e, conseqüentemente, o comprimento das embalagens era efetuado por dois roletes acionados por moto redutor temporizado, responsáveis pelo tracionamento lateral do tubo plástico. O envase do produto foi realizado de forma contínua, enquanto o tubo plástico movimentava-se de forma intermitente e recebia as termossoldagens. À medida que as embalagens eram produzidas efetuava-se a identificação com etiquetas adesivas numeradas.

### **2.3 - Estocagem do produto**

A estocagem das amostras foi realizada em duas condições: no escuro, em câmara incubadora opaca à temperatura ambiente, e à exposição da luz à temperatura ambiente. A exposição à luz foi efetuada duas semanas após a produção do leite UHT, período necessário para condução dos testes de esterilidade comercial e início das análises sensoriais.

As amostras foram expostas à luz com intensidade de  $1.920 \pm 100$  lux por um período diário de 13 h. Essas condições foram estabelecidas em estudos preliminares, representando a média de exposição à luz verificada em cinco supermercados de Campinas, estado de São Paulo. A intensidade de luz foi medida

com luxímetro Extech modelo LX-102 (Extech Instruments Corporation, Waltham - EUA). A intensidade de luz empregada nos estudos coincidiu com a sumarizada na revisão de literatura de Bosset, Sieber e Gallmann (1995).

As câmaras de luz apresentavam superfícies internas brancas com dimensões de 50 x 90 x 80 cm e eram iluminadas por duas lâmpadas fluorescentes tubulares (Tipo "Luz do dia plus" com bulbo T8, potência 30 W, eficiência luminosa 67 lm/W, temperatura de cor 5.200 K e índice de reprodução de cores 72, Havells Sylvania Brasil Iluminação Ltda., Santo Amaro - SP) (Figura 3). A posição das embalagens no interior da câmara era modificada semanalmente, de modo a homogeneizar a exposição à luz.



**Figura 3** - Câmaras de luz com amostras de leite longa vida e o luxímetro digital.

## **2.4 - Caracterização das embalagens**

### 2.4.1 - Testes de integridade e resistência mecânica

#### 2.4.1.1 - Exames visuais e de compressão manual

Os exames visuais e de compressão manual das embalagens foram realizados durante a produção experimental em intervalos de pelo menos 5 min e

em todas as amostras submetidas ao teste de esterilidade comercial, conforme recomendações do United States Food and Drug Administration (2001). As embalagens eram comprimidas ao longo do seu corpo de modo a forçar o produto contra as regiões de solda. Durante a compressão, essas regiões eram examinadas visualmente para detecção de vazamentos, alterações na estrutura da solda e outros defeitos mecânicos eventuais. Os defeitos foram marcados com auxílio de uma caneta e as embalagens submetidas ao teste eletrolítico. O interior de pelo menos 10 embalagens também foi submetido aos exames visuais.

#### 2.4.1.2 - Teste eletrolítico

O teste foi efetuado em 10 amostras de cada tratamento de acordo com as recomendações da USFDA (2001). O material utilizado foi composto por cuba plástica contendo solução de cloreto de sódio 1% (p/p) e dois eletrodos com ponta de carbono conectados a uma fonte de corrente contínua, ajustada para 9 V e um amperímetro. A preparação das amostras foi conduzida através de um corte lateral da estrutura, formando uma abertura com cerca de 4 cm de diâmetro, que possibilitou a avaliação das três regiões de solda. Previamente ao teste, as embalagens foram lavadas por imersão em solução detergente alcalina 2% (p/p) com tensoativos por 48 h, marca DET LIMP S32 (Farquil Comércio e Indústria Ltda., Piracicaba - SP).

#### 2.4.1.3 - Teste de compressão mecânica dinâmica

O teste foi realizado em máquina universal de ensaios modelo D-1804-C, série OT 85175 da Cannerns Machinery Ltda. (Simcoe - Canadá) com uma sonda de compressão plana de 130 x 220 mm. A embalagem foi posicionada verticalmente entre a sonda de compressão e uma chapa paralela plana, de modo que as regiões de solda permanecessem livres durante o teste. A força aplicada à embalagem foi continuamente aumentada à velocidade de 10 mm/min, até a ocorrência de rompimentos da estrutura. Em seguida, foi efetuado o exame visual das partes

externas e internas da embalagem para avaliação das falhas e pontos de estresse, bem como a mensuração da largura de solda. O teste foi conduzido com seis amostras condicionadas à temperatura de  $23 \pm 2$  °C e umidade relativa de 100% por 72 h (ASTM, 2007b; 2007c).

#### 2.4.2 - Perda de peso durante a estocagem

A variação de peso de produto ao longo da estocagem foi avaliada através da análise gravimétrica de cinco amostras de cada tipo de embalagem do primeiro processamento. A pesagem foi efetuada em balança eletrônica QUIMIS Q-520-2000 (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema - SP). As embalagens de PEBD foram estocadas em condições de ambiente monitorado de  $24 \pm 4$  °C e de  $83 \pm 10\%$  por 10 semanas, enquanto a estocagem das embalagens de LMC ocorreu a  $25 \pm 4$  °C e  $86 \pm 10\%$  de umidade relativa ambiente por 30 semanas.

## 2.5 - Estudos de estabilidade do produto

### 2.5.1 - Testes de esterilidade comercial dos lotes de produção

A esterilidade comercial do produto em condições de estocagens normais, não refrigeradas, foi avaliada conforme os padrões legais (BRASIL, 1996). Pelo menos 10 amostras foram incubadas a 35 °C por 30 dias e submetidas a análises sensoriais (aparência e odor), físico-químicas (pH, acidez titulável, estabilidade ao etanol 68% (v/v)) e microbiológicas (contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis, com exceção de *Bacillus sporothermodurans*).

A contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios viáveis, com exceção de *B. sporothermodurans* foi determinada pelo plaqueamento em profundidade de 1 mL da amostra e das diluições sucessivas em ágar nutriente isento de extrato de levedura e ágar infusão cérebro-coração com incubação a  $30 \pm 1$  °C por 72 h. Quando *B. sporothermodurans* estão presentes nas amostras ocorre um abundante crescimento de colônias lisas, de forma regular, com coloração entre

branco e bege, com diâmetro máximo de 3 mm em ágar infusão cérebro-coração. As colônias presuntivas de *B. sporothermodurans* no ágar infusão cérebro-coração são identificadas por meio de testes morfológicos e bioquímicos. No ágar nutriente isento de extrato de levedura, *B. sporothermodurans* comumente não formam colônias visíveis, porém poderão desenvolver colônias puntiformes, de coloração entre branco e bege. Essa diferenciação é necessária porque as colônias de *B. sporothermodurans* não devem ser contabilizadas no cálculo de mesófilos aeróbios viáveis capazes de causar alteração no produto (BRASIL, 2003).

### 2.5.2 - Análise sensorial

A análise sensorial foi conduzida com o leite longa vida acondicionado nas embalagens de PEBD e LMC do quarto (matéria-prima Leite Cru Refrigerado) e quinto (matéria-prima Leite Cru Refrigerado tipo B) lote de produção. A estocagem das amostras foi realizada no escuro e com exposição à luz, duas semanas após a produção experimental. A vida de prateleira dos produtos foi estimada através de testes de aceitação e intenção de consumo, conforme recomendações da ASTM (2005a). A aceitação global das amostras foi avaliada utilizando-se uma escala hedônica estruturada mista de 9 pontos (1 = desgostei extremamente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei extremamente). A intenção de consumo dos provadores foi avaliada através do seguinte questionamento: "Você normalmente consumiria este produto?"; com duas alternativas para resposta: sim ou não. A ficha para as análises sensoriais é apresentada no Anexo VI. Os estudos sensoriais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, conforme parecer número 153/2009.

A relação percentual entre o número de provadores com intenção de consumo pelo número total de provadores foi denominada índice de consumo potencial, variando entre 0 e 100%. O critério estipulado para o final da vida de prateleira das amostras foi uma média das notas no teste de aceitação inferior a 6, correspondente ao termo hedônico "gostei ligeiramente", e um índice de consumo

potencial inferior a 60% (PETRUS et al., 2009). As primeiras sessões sensoriais foram realizadas duas semanas após as produções experimentais, período necessário para realização dos testes de esterilidade comercial. Nessas sessões foram avaliadas apenas as embalagens mantidas no escuro.

A equipe de provadores foi constituída por 50 pessoas, 38% homens e 62% mulheres com faixa etária entre 18 e 30 anos. A frequência de consumo de leite era diária para 65% dos provadores, pelo menos uma vez a cada três dias para 21% e semanal para 14%. O leite era consumido puro por 12% dos consumidores, misturado com outros produtos por 67% e nas duas formas por 21%. Com relação à escolha do produto pelo tipo de tratamento térmico, 79% dos provadores consumiam leite UHT, 13% leite pasteurizado e 8% ambos os produtos. Quanto ao teor de gordura, 58% dos provadores consumiam leite integral, 12% leite desnatado e 30% os dois tipos de produto.

As condições dos testes foram estabelecidas conforme as recomendações de Stone e Sidel (1993). As sessões foram conduzidas entre 9:00 e 11:00 ou 15:00 e 17:00, sendo realizadas em cabines individuais com ar condicionado a  $23 \pm 2$  °C e iluminadas com lâmpadas fluorescentes “branca fria”. As amostras foram servidas à temperatura de  $23 \pm 2$  °C em copos plásticos de cor branca de 50 mL, codificados com três números aleatórios. Em cada sessão sensorial, foram apresentadas no máximo cinco amostras em blocos completos balanceados em sequência monádica. Os provadores foram orientados a consumir biscoitos tipo água e sal e água mineral entre as degustações, de modo a prevenir o efeito da fadiga sensorial.

Na análise sensorial do quinto lote experimental, foram introduzidas três amostras de marcas comerciais distintas de leite longa vida. Os produtos tinham data de produção da mesma semana do lote experimental ou da semana subsequente. Este procedimento teve como objetivo comparar a aceitabilidade da amostra experimental e comercial, apesar das diferenças inerentes à matéria-prima e ao processamento. Uma das amostras comerciais que não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) das amostras experimentais quanto à aceitação

média, bem como um índice de consumo potencial similar, foi selecionada como amostra controle para ser empregada nos testes subsequentes (ASTM, 2005a; PETRUS et al., 2009).

Os dados dos testes de aceitação foram tratados estatisticamente, através da análise de variância, para verificar diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras na mesma sessão de análise e em períodos distintos de estocagem. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa Assistat, versão 7.5 beta (SILVA, 2008), para comparação entre os tratamentos em cada período de análise.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Caracterização dos materiais de embalagem

A espessura e a taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO<sub>2</sub>) dos filmes de PEBD e LMC são apresentadas na Tabela 2. A especificação adequada e controle da espessura dos materiais de embalagem são considerados importantes ao ajuste do filme plástico nas máquinas de envase, as características da termossoldagem, a resistência mecânica e a propriedades de barreira da embalagem. A estrutura do LMC ofereceu uma barreira ao oxigênio 10.000 vezes maior que o PEBD. A permeabilidade ao oxigênio e a transmissão à radiação UV e à luz dos materiais de embalagem influenciaram a qualidade e vida de prateleira do leite UHT, como verificado no item sobre estabilidade sensorial do produto nas duas embalagens.

**Tabela 2** - Caracterização dos filmes plásticos.

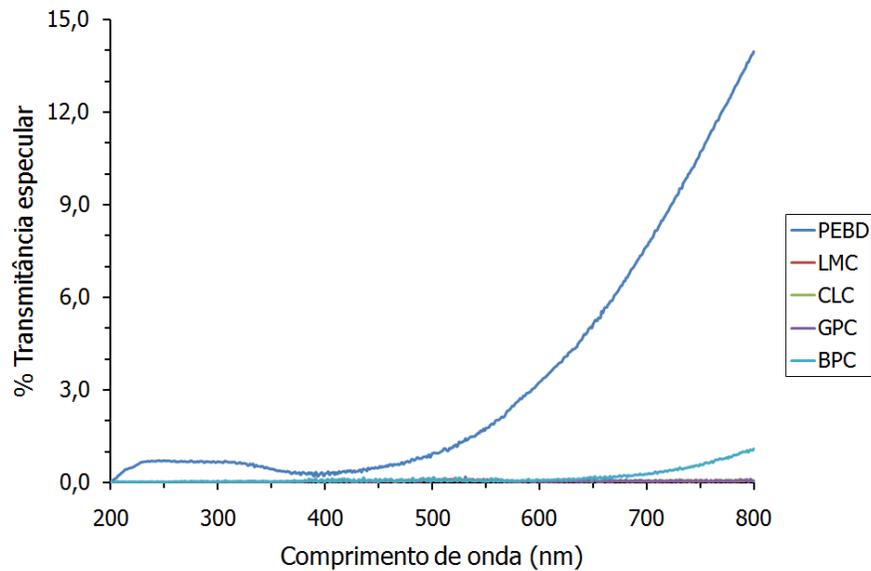
<b>Filme</b>	<b>Espessura<sup>a</sup></b> ( $\mu\text{m}$ )	<b>TPO<sub>2</sub><sup>b</sup></b> ( $\text{cm}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ ) 1 atm, 23 °C/100% UR
PEBD	58 $\pm$ 4	16.000
LMC	85 $\pm$ 2	1,6

<sup>a</sup>n = 10. <sup>b</sup>n = 2.

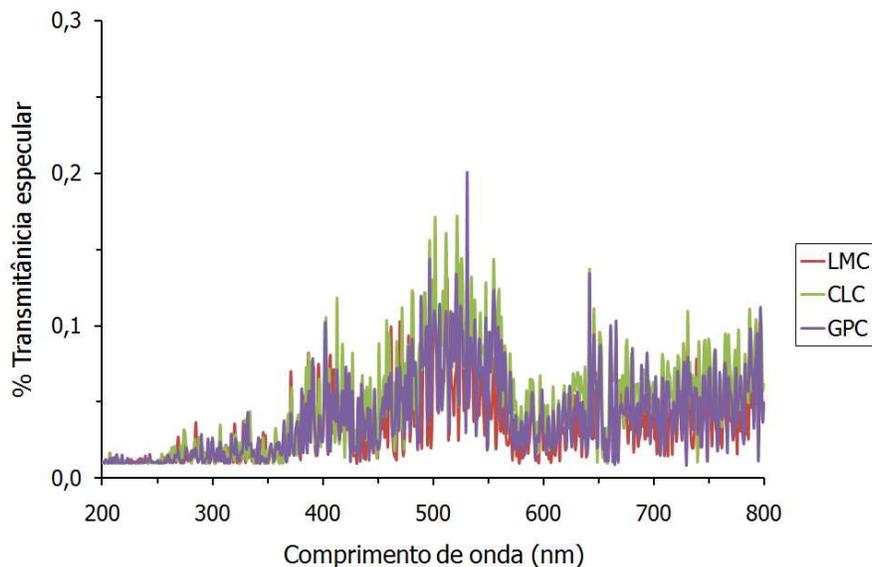
A transmitância especular dos filmes de PEBD e LMC, bem como de embalagens de leite longa vida comerciais, tipo caixas laminadas cartonadas (CLC), garrafas plásticas comerciais (GPC) e bolsas plásticas comerciais (BPC) são apresentadas na Figura 4. A análise estatística dos dados de transmitância especular indicou que PEBD diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) de todos os materiais de embalagem ao longo do espectro UV-visível. A transmitância das BPC diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) das outras embalagens numa faixa de comprimento de onda maior que 520 nm, fora do espectro principal de absorção da riboflavina (200 – 520 nm) (BOSSET; SIEBER; GALLMANN, 1995).

As alterações induzidas pela luz em produtos lácteos são principalmente de natureza oxidativa, sendo catalisadas pela riboflavina. Esse composto fotossensor está presente no leite em concentrações médias de 1,75 mg/L (DIMICK, 1982), e devido ao seu sistema de duplas ligações conjugadas, prontamente absorve e transfere a energia luminosa visível, com formação de peróxidos e radicais livres. A decomposição dos peróxidos e as reações subseqüente dos radicais livres com componentes dos alimentos, além de ocasionar alterações sensoriais e perdas de valor nutritivo, podem levar a formação de substâncias potencialmente tóxicas (ARAÚJO, 2004; BRADLEY; MIN, 1992; SKIBSTED, 2000). Como esse processo é iniciado pelas radiações absorvidas, a comparação do espectro em que o produto é exposto com o espectro de absorção dos fotossensores é fundamental na predição das alterações ao longo da estocagem (SATTAR; DEMAN, 1975; SKIBSTED, 2000), possibilitando estabelecer e avaliar os requisitos de proteção dos sistemas de embalagens.

O LMC, a CLC e a GPC não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si, sendo consideradas estruturas opacas. A Figura 5 apresenta os espectros de transmitância especular desses materiais, em escala decimal, possibilitando visualizar a similaridade entre os mesmos. O principal elemento de barreira à radiação UV e à luz do LMC e da GPC é um pigmento de coloração preta incorporado a uma das camadas das estruturas desses materiais. No caso da CLC, a proteção do alimento contra a fotooxidação é exercida por uma folha de alumínio, bem como pelo papel cartão e a tinta de impressão. A menor transmitância especular da BPC, em relação ao PEBD, pode ser atribuída à maior espessura do material de embalagem, bem como ao maior conteúdo de dióxido de titânio incorporado ao polímero plástico.



**Figura 4** - Espectro de transmitância especular das embalagens usadas para leite: Polietileno de baixa densidade pigmentado com dióxido de titânio (PEBD), laminado multicamada (LMC), caixas laminadas cartonadas (CLC), garrafas plásticas comerciais (GPC) e bolsas plásticas comerciais (BPC).



**Figura 5** - Espectro de transmitância especular das embalagens opacas: Laminado multicamada (LMC), caixas laminadas cartonadas (CLC) e garrafas plásticas comerciais (GPC).

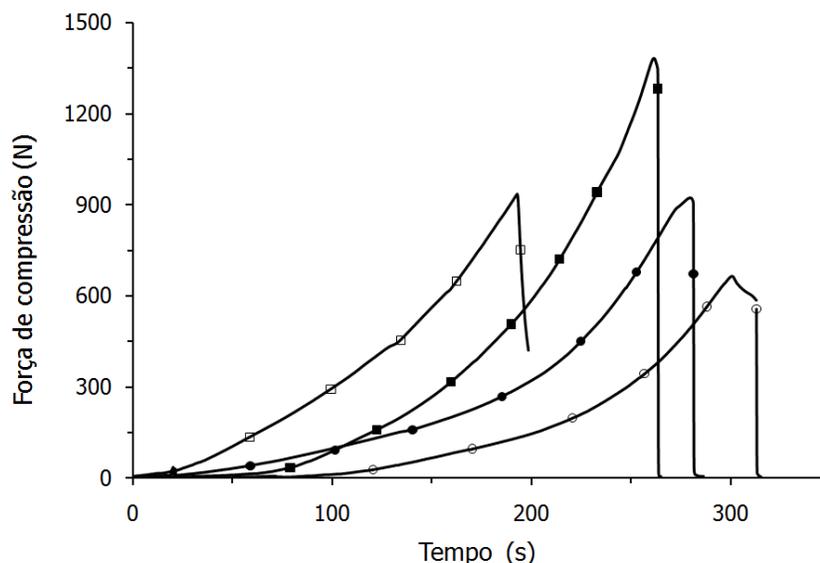
Na caracterização microbiológica das embalagens de PEBD e do LMC foram analisadas um total de 48 amostras de cada material, divididas entre a enumeração de micro-organismos mesófilos aeróbios, esporos de mesófilos aeróbios e esporos de termófilos aeróbios. Foram encontrados esporos de mesófilos aeróbios em apenas uma das 16 embalagens analisadas de PEBD, na concentração de 1 UFC/5.824 cm<sup>2</sup>. Este tipo de micro-organismo não foi detectado nas embalagens de LMC. Micro-organismos mesófilos aeróbios e esporos de termófilos aeróbios não foram detectados nos dois tipos de materiais. Esses resultados são indicativos da conformidade microbiana dos materiais de embalagem para o sistema asséptico, bem como adequação dos procedimentos de manipulação das bobinas desde sua produção até a utilização final na linha de processamento do leite UHT.

### **3.2 - Caracterização das embalagens**

Os testes de integridade de pelo menos 10 embalagens de cada tratamento, exames visuais, de compressão manual e eletrolítico, não indicaram falhas no fechamento. Esses resultados são indicativos do fechamento hermético das embalagens, impedindo a recontaminação do produto.

As embalagens de PEBD apresentaram resistência à compressão de  $781 \pm 102$  N, enquanto as embalagens do LMC de  $1.083 \pm 156$  N. Essa diferença de resistência está associada à espessura e à composição dos materiais.

As dimensões das soldas das embalagens não sofreram modificações em decorrência da compressão. Na maioria das embalagens a ruptura ocorreu fora da região de solda, indicativo da fusão completa do material na termosoldagem e que o material adjacente não foi fragilizado pela pressão e temperatura da prensa de solda, nem pela tensão exercida pelos roletes de debobinamento. As embalagens que sofreram ruptura na região da solda (principalmente na área entre a solda horizontal e vertical) resistiram a uma força de compressão intermediária entre as amostras com resistência máxima e mínima (Figura 6).

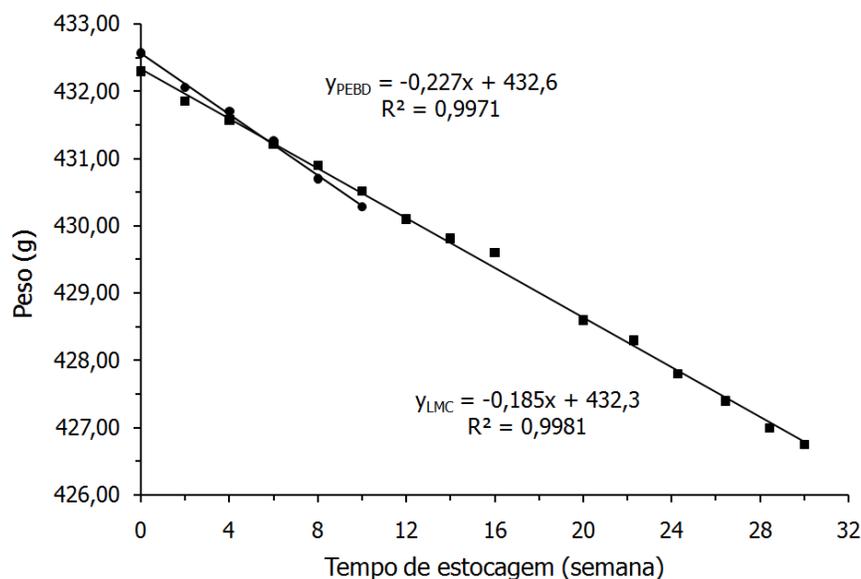


**Figura 6** - Resistência a compressão máxima (●) e mínima (○) das embalagens de polietileno de baixa densidade e máxima (■) e mínima (□) do laminado multicamada.

A perda de peso das embalagens ao longo da estocagem é apresentada na Figura 7. A perda de peso das duas embalagens mostrou uma relação linear com a variação do tempo de estocagem. A regressão linear do peso, em gramas, pelo tempo de estocagem, em semanas, foi expressa através das equações apresentadas na Figura 7. Nas condições ambientais estudadas, a embalagem de PEBD sofreu uma perda de peso de 0,23 g por semana (temperatura de  $24 \pm 4$  °C e UR de  $83 \pm 10\%$ ) e a de LMC de 0,19 g por semana (temperatura de  $25 \pm 4$  °C e UR de  $86 \pm 10\%$ ).

A legislação metrológica do Brasil estabelece dois critérios de aprovação para produtos pré-medidos: critério individual e critério para a média de todas as unidades amostradas. No caso de produtos com conteúdo nominal de 500 a 1.000 g ou 500 a 1.000 mL, a tolerância individual das amostras é de 15 g ou 15 mL. O critério para a média de todas as amostras depende do tamanho do lote nas fábricas, depósitos e pontos de venda. No critério para a média é estabelecido que a média de todas as unidades amostradas deve ser maior ou igual à diferença

entre o conteúdo nominal do produto com uma parcela de 0,295 do desvio padrão das amostras, no critério mais restritivo, enquanto no menos restritivo, considera-se uma parcela de 2,059 (BRASIL, 1995; 2000). Na adequação do sistema de embalagem aos requisitos metroológicos, aspectos relacionados ao controle de volume do produto, características climáticas dos ambientes de estocagem e distribuição, dimensões e propriedades de barreira da embalagem, bem como vida de prateleira, devem ser considerados.



**Figura 7** - Perda de peso das embalagens de polietileno de baixa densidade (●) estocadas a  $24 \pm 4$  °C e UR de  $83 \pm 10\%$  e do laminado multicamada (■) a  $25 \pm 4$  °C e UR de  $86 \pm 10\%$ .

Durante a estocagem do leite nas embalagens de PEBD, verificou-se que o material foi apresentando uma textura progressivamente gordurosa. Esse fenômeno pode ser atribuído a adsorção de gordura e outros compostos apolares do leite pelo material de embalagem, podendo diminuir a resistência da estrutura, torná-la mais permeável ao oxigênio e manchar a impressão (JANSSON et al., 2002; NIELSEN; JÄGERSTAD, 1994; SAJILATA et al., 2007). As embalagens de LMC não apresentaram modificações externas perceptíveis ao longo da estocagem.

### 3.3 - Estudos de estabilidade do produto

Nos testes de esterilidade comercial as embalagens não apresentaram modificações na estrutura, tipo estufamento; a aparência e o odor não diferiam sensivelmente do leite UHT original, sem incubação; não existia qualquer tipo de impurezas ou elementos estranhos nas amostras; o pH não sofreu uma variação maior que 0,2 unidades em relação ao inicial; a acidez não variou mais que 0,02 g de ácido láctico/100 mL; a estabilidade ao etanol mantinha-se em pelo menos 68% (v/v).e na contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios e de *B. sporothermodurans* não foram detectadas colônias microbianas. Desse modo, os lotes de leite UHT de todos os tratamentos atenderam aos requisitos legais (BRASIL, 1996).

As análises sensoriais dos lotes de leite UHT produzidos a partir do Leite Cru Refrigerado (LCR) e do Leite Cru Refrigerado tipo B (LCRB) ao longo da estocagem no escuro e sob exposição à luz são apresentadas nas Tabelas 3 e 4. Os resultados foram expressos em termos da aceitação média e do índice de consumo potencial.

Na primeira sessão sensorial, realizada duas semanas após a produção experimental, a aceitação média do leite UHT mantido no escuro nas embalagens de PEBD e LMC não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si e as amostras apresentaram índices de consumo potencial similares, independentemente da qualidade da matéria-prima. Todas as amostras apresentaram uma aceitação média entre as notas 7 e 8, situada entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”, com um índice de consumo potencial superior a 80%.

Na terceira semana de estocagem no escuro, o leite UHT produzido com LCR e acondicionado na embalagem de PEBD diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) das amostras em LMC (Tabela 3). O leite UHT produzido com LCRB e mantido no escuro nas embalagens de PEBD diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) das amostras em LMC na quarta semana de estocagem (Tabela 4). Estes resultados indicam que o leite UHT acondicionado ao abrigo da luz na embalagem de PEBD pode

apresentar uma aceitação similar ao produto no LMC por um período entre duas e quatro semanas, de acordo com a qualidade da matéria-prima.

O leite UHT produzido com LCR, acondicionado no escuro na embalagem de PEBD, apresentou uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) de aceitação após duas semanas de estocagem e a vida de prateleira foi estimada em quatro semanas. Quando LCRB foi empregado como matéria-prima, a aceitação do produto manteve-se nos mesmos patamares da segunda semana de estocagem, por um período de seis semanas e a vida de prateleira foi prolongada para sete semanas.

Os lotes de leite UHT que foram acondicionados nas embalados PEBD e expostos à luz por uma semana, após duas semanas de estocagem no escuro, apresentaram uma aceitação média entre as notas 4 e 3, situada entre os termos hedônicos “desgostei ligeiramente” e “desgostei moderadamente”, e um índice de consumo potencial menor que 25%. Esse produto diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do mantido no escuro na embalagem de PEBD, bem como dos outros tratamentos. No leite UHT acondicionado na embalagem de LMC não ocorreu diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos com e sem exposição à luz durante todo o período de estocagem, independentemente da qualidade da matéria-prima. Deste modo, a luz não afetou a estabilidade do leite UHT na embalagem de LMC, mas em poucos dias ocasionou a deterioração do produto na embalagem de PEBD. Essa diferença de estabilidade do produto está associada às propriedades de barreira a luz e ao oxigênio das embalagens.

O leite UHT produzido com LCR e acondicionado na embalagem de LMC apresentou uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) de aceitação após 12 semanas de estocagem, período estimado para a vida de prateleira do produto. O produto proveniente de LCRB teve a mesma aceitação média durante 24 semanas de estocagem e a vida de prateleira foi estimada em 28 semanas. O leite controle manteve a mesma aceitação que o produto na embalagem de LMC por um período de 14 semanas de estocagem e sua vida de prateleira foi estimada em 18 semanas, apesar de diferenças inerentes à matéria-prima e às condições de processamento e embalagem.

**Tabela 3** - Avaliação sensorial do leite UHT produzido com Leite Cru Refrigerado em termos da <sup>(1)</sup>aceitação média/<sup>(2)</sup>índice de consumo potencial (%).

Leite	Tempo de estocagem (semana)							
	2	3	4	6	8	10	12	14
<sup>(3)</sup> PEBD luz	<sup>(4)</sup> nd	3,4 <sup>CC</sup> /15	<sup>(5)</sup> fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp
PEBD escuro	<sup>(1)</sup> 7,2 <sup>aA</sup> / <sup>(2)</sup> 81	6,0 <sup>bBC</sup> /67	6,9 <sup>bB</sup> /81	5,3 <sup>bC</sup> /46	fvp	fvp	fvp	fvp
<sup>(3)</sup> LMC luz	nd	7,2 <sup>aA</sup> /90	7,3 <sup>aA</sup> /92	7,0 <sup>aA</sup> /86	6,7 <sup>aA</sup> /84	6,5 <sup>aAB</sup> /73	6,6 <sup>aA</sup> /79	4,8 <sup>aB</sup> /65
LMC escuro	7,5 <sup>aA</sup> 85	7,2 <sup>aA</sup> /83	7,6 <sup>aA</sup> /96	7,0 <sup>aA</sup> /86	6,9 <sup>aA</sup> /86	6,6 <sup>aAB</sup> /77	6,8 <sup>aA</sup> /82	5,2 <sup>aB</sup> /49

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e maiúscula na linha (comparação entre tempos de estocagem) não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de médias de Tukey.

<sup>(3)</sup>As amostras foram expostas à luz após duas semanas de estocagem. A comparação entre a segunda e terceira semana de estocagem das amostras expostas à luz foi efetuada em relação às amostras mantidas no escuro nas respectivas embalagens.

<sup>(4)</sup>Não determinado.

<sup>(5)</sup>Final da vida de prateleira: média de aceitação < 6,0 e índice de consumo potencial < 60%.

**Tabela 4** - Avaliação sensorial do leite UHT produzido com Leite Cru Refrigerado tipo B em termos da <sup>(1)</sup>aceitação média/<sup>(2)</sup>índice de consumo potencial (%).

Leite	Tempo de estocagem (semana)															
	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	18	20	24	28	32
<sup>(3)</sup> PEBD luz	<sup>(4)</sup> nd	3,8 <sup>CB</sup> /23	<sup>(5)</sup> fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp
PEBD escuro	7,2 <sup>aA</sup> /88	7,0 <sup>abAB</sup> /78	6,7 <sup>AB</sup> /68	6,9 <sup>AB</sup> /72	6,5 <sup>bABC</sup> /72	6,1 <sup>BC</sup> /64	5,5 <sup>bC</sup> /50	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp	fvp
<sup>(3)</sup> LMC luz	nd	7,4 <sup>aA</sup> /88	nd	nd	7,0 <sup>aA</sup> /82	nd	7,5 <sup>aA</sup> /92	6,7 <sup>aAB</sup> /80	6,6 <sup>aAB</sup> /78	6,5 <sup>aAB</sup> /76	6,3 <sup>abAB</sup> /82	6,4 <sup>aAB</sup> /74	6,3 <sup>aAB</sup> /79	6,0 <sup>aAB</sup> /73	5,8 <sup>ab</sup> /66	4,8 <sup>aC</sup> /53
LMC escuro	7,2 <sup>aA</sup> /89	7,2 <sup>aA</sup> /91	nd	nd	7,2 <sup>aA</sup> /85	nd	7,3 <sup>aA</sup> /86	6,7 <sup>aAB</sup> /84	6,6 <sup>aAB</sup> /76	6,6 <sup>aAB</sup> /80	6,9 <sup>aA</sup> /96	6,4 <sup>aAB</sup> /70	6,5 <sup>aAB</sup> /79	6,4 <sup>aAB</sup> /77	5,9 <sup>ab</sup> /68	5,2 <sup>aC</sup> /57
<sup>(6)</sup> Controle	7,0 <sup>aA</sup> /90	7,0 <sup>aA</sup> /89	nd	nd	7,1 <sup>aA</sup> /85	nd	7,2 <sup>aA</sup> /85	6,9 <sup>aAB</sup> /90	5,9 <sup>aBCD</sup> /70	6,4 <sup>aABC</sup> /78	5,8 <sup>bBCD</sup> /74	6,1 <sup>aCD</sup> /67	5,2 <sup>bD</sup> /56	fvp	fvp	fvp

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e maiúscula na linha (comparação entre tempos de estocagem) não diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de médias de Tukey.

<sup>(3)</sup>As amostras foram expostas à luz após duas semanas de estocagem. A comparação entre a segunda e terceira semana de estocagem das amostras expostas à luz foi efetuada em relação às amostras mantidas no escuro nas respectivas embalagens.

<sup>(4)</sup>Não determinado.

<sup>(5)</sup>Final da vida de prateleira: média de aceitação < 6,0 e índice de consumo potencial < 60%.

<sup>(6)</sup>Amostra comercial de leite UHT com aceitação média e índice de consumo potencial similar às amostras experimentais na segunda semana de estocagem. A amostra comercial foi produzida na mesma semana das amostras experimentais, mas com matéria-prima e condições de produção diferentes.

#### **4 - CONCLUSÕES**

Os dois tipos de embalagens estudadas ofereceram propriedades físicas e mecânicas compatíveis ao acondicionamento de leite UHT e com aceitação sensorial inicial similar ao produto comercial, apesar de diferenças inerentes à matéria-prima e às condições de processamento. A vida de prateleira do produto nas embalagens de PEBD acondicionadas ao abrigo da luz, entre um e dois meses, será um atrativo para laticínios de pequena escala de produção, com áreas de distribuição restritas. Entretanto, o produto nas embalagens de PEBD deve ser protegido contra a exposição à luz, o que pode ser viabilizado empregando-se embalagens secundárias de papelão. Outras possibilidades a serem exploradas em estudos futuros são o aumento da espessura do filme plástico e da pigmentação branca com dióxido de titânio. As propriedades de barreira à luz e ao oxigênio do LMC possibilitam uma vida de prateleira similar ou superior à embalagem cartonada, de modo que o principal fator que afetou a estabilidade do produto foi a qualidade da matéria-prima. Esse trabalho contribui para a viabilização técnica do sistema asséptico, uma opção em potencial para laticínios de pequena escala de produção, integrando a linha de pesquisa do Laboratório de Embalagens da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E2454-05: Standard guide for sensory evaluation methods to determine the sensory shelf life of consumer products.** West Conshohocken: ASTM International, 2005a. 9p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D3985-05: Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor.** West Conshohocken: ASTM International, 2005b. 7p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D1003-07: Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics.** West Conshohocken: ASTM International, 2007a. 7p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E104-02(2007): Standard practice for maintaining constant relative humidity by means of aqueous solutions.** West Conshohocken: ASTM International, 2007b. 5p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E171-94(2007): Standard specification for standard atmospheres for conditioning and testing flexible barrier materials.** West Conshohocken: ASTM International, 2007c. 1p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM F2251-03(2008): Standard test method for thickness measurement of flexible packaging material.** West Conshohocken: ASTM International, 2008. 4p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E1164-09: Standard practice for obtaining spectrometric data for object-color evaluation.** West Conshohocken: ASTM International, 2009. 8p.

ARAÚJO, J.M.A. Oxidação de lipídeos em alimentos. ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática.** 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. Cap.1, p.1-67.

BOSSET, J.O.; SIEBER, R.; GALLMANN, P.U. Light transmittance: Influence on the shelf life of milk and milk products. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n.300, p.19-39, 1995.

BRADLEY, D.G.; MIN, D.B. Singlet oxygen oxidation of foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.31, n.3, p.211-236, 1992.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Portaria INMETRO nº 74, de 25 de maio de 1995. **Diário Oficial da União**, 21 jul. 1995. Seção 1, p.10825.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, 18 ago. 2003. Seção 1, p.14.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Portaria nº 96, de 07 de abril de 2000. **Diário Oficial da União**, 12 abr. 2000. Seção 1, p.34.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 10 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.

CARDOSO, F.C. **Avaliação da esterilização de filme de polietileno com peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta**. 2007. 111p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

DENNY, C.B.; PARKINSON, N.G. Canned foods – Tests for cause of spoilage. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.62, p.583-600.

DIMICK, P.S. Photochemical effects on flavor and nutrients of fluid milk. **Canadian Institute of Food Science and Technology**, v.15, n.4, p.247-256, 1982.

ELECSTER. **Products**. Disponível em: <<http://www.elecster.fi/products.html>>. Acesso em: 01 fev. 2009.

EVANCHO, G.M.; SVEUM, W.H.; MOBERG, L.J.; FRANK, J.F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Cap.3, p.25-35.

FRANK, J.F.; CHRISTEN, G.L.; BULLERMAN, L.B.; RICHARDSON, G.H. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R.T. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. Chap.8, p.271-286.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-1:1999(E). Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness**. Geneva: ISO, 1999. 18p.

JANSSON, S.E.A.; GALLET, G.; HEFTI, T.; KARLSSON, S.; GEDDE, U.W.; HEDENQVIST, M.S. Packaging materials for fermented milk, part 2: solute-induced changes and effects of material polarity and thickness on food quality. **Packaging Technology and Science**, v.15, n.6, p.287-300, 2002.

NIELSEN, T.; JÄGERSTAD, M. Flavor scalping by food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v.5, n.11, p. 353-356, 1994.

PETRUS, R.R.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; ABREU, L.F. Sensory stability of ultra-high-temperature milk in polyethylene bottle. **Journal of Food Science**, v.74, n.1, p.S53-S57, 2009.

SAJILATA, M.G.; SAVITHA, K., SINGHAL, R.S., KANETKAR, V.R. Scalping of flavors in packaged foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.6, n.1, p.17-35, 2007.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267p.

SATTAR, A.; DEMAN, E.A. Photooxidation of milk and milk products: A review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.7, n.1, p.13-37, 1975.

SILVA, F.A.S. **Assistat - Statistical Assistance**. Disponível em: <<http://www.assistat.com/>>. Acesso em: 18 out. 2008.

SKIBSTED, L.H. Light-induced changes in dairy products. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 346, p.4-9, 2000.

STONE, H; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press, 1993. 338 p.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.6, p.53-62.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**: Examination of flexible and semirigid food containers for integrity. 2001. Disponível em:  
<<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>> Acesso em: 20 set. 2009.

**CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO  
PARA BEBIDAS DE ALTA ACIDEZ EM EMBALAGENS  
FLEXÍVEIS**

## **AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA ASSÉPTICO PARA BEBIDAS DE ALTA ACIDEZ EM EMBALAGENS FLEXÍVEIS**

### **RESUMO**

O objetivo desse trabalho foi avaliar duas configurações de sistema para o processamento e envase asséptico de bebidas de alta acidez em embalagens flexíveis. Os sistemas foram desenvolvidos sem controles onerosos e sofisticados, de modo a atender aos requisitos econômicos e operacionais de indústrias com escala de produção de 1.000 L/h. Bebidas de frutas e chás foram pasteurizadas e submetidas ao envase direto nas embalagens, sem estocagem em tanque, ou passaram por um tanque de produto à pressão atmosférica com filtro microbiológico, operado com uma bomba centrífuga e válvulas sem selo de vapor, antes da operação de embalagem. O sistema foi avaliado através de testes de esterilidade comercial em três produções experimentais. O desempenho das duas configurações do sistema foi similar, apresentando uma taxa global de defeitos de 0,4% (7 unidades defeituosas em 1.970). Assim, os sistemas mostraram-se adequadas à produção asséptica de bebidas de alta acidez. Esse trabalho serve como estímulo a geração de outras pesquisas e desenvolvimentos em sistemas assépticos simplificados para as indústrias de pequena escala de produção.

## 1 - INTRODUÇÃO

O princípio das tecnologias de conservação de sucos, chás e outras bebidas de origem vegetal é a manutenção dos atributos de qualidade através da estabilização microbiana e, ou, enzimática. Genericamente, quanto maior o frescor do produto maior a qualidade, de modo que o padrão de excelência é o produto fresco, não processado. Entretanto, os produtos frescos são de natureza transitória, com uma vida útil de algumas horas ou dias, mesmo nas melhores condições de conservação. Desse modo, o processamento permite a disponibilização dos produtos aos consumidores de forma convenientemente, fora da estação ou local de produção (BATES; MORRIS, 2001; RASO; BARBOSA-CANOVAS, 2003; SILVA; GIBBS, 2004; SIZER; BALASUBRAMANIAN, 1999).

A tecnologia asséptica, assim como outros métodos de conservação, são amplamente empregados na conservação de bebidas ácidas ou acidificadas ( $\text{pH} \leq 4,6$ ) à temperatura ambiente, dispensando a cadeia de frio para estocagem e distribuição. Na pasteurização convencional ou apertização, as bebidas são envasadas a quente ( $70 - 80 \text{ }^\circ\text{C}$ ) em embalagens metálicas ou de vidro, que são fechadas e submetidas aos tratamentos em autoclaves na faixa de  $100$  a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  por até  $10$  min, sendo então resfriadas (BATES; MORRIS, 2001). Uma variação da apertização é o enchimento a quente (*hot fill*), onde a bebida é rapidamente aquecida em trocadores de calor, sendo envasada em recipientes de vidro ou de plásticos termorresistentes, que são fechados, invertidos e mantidos à temperatura de  $91 \text{ }^\circ\text{C}$  por  $4,6$  min ou tempo equivalente na faixa de  $80$  a  $97 \text{ }^\circ\text{C}$  (SILVA; MARTINS; SILVA, 2003). Além disso, existem outros métodos térmicos e não térmicos alternativos aos tratamentos convencionais, incluindo a pressão hiperbárica, campo elétrico pulsante de alta intensidade, campo magnético oscilantes, radiação de luz pulsante de alta intensidade e irradiação (MERMELSTEIN, 2001; MORRIS; BRODY; WICKER, 2007; RASO; BARBOSA-CANOVAS, 2003). A última opção para estabilização de bebidas de alta acidez prontas para consumo é a aditivação química, onde são empregados conservantes como ácidos e seus derivados (benzóico, propiônico, sórbico e ésteres do ácido p-

hidroxibenzóico), sulfitos e dimetil dicarbonato (BRUL; COOTE, 1999; FOEGEDING; BUSTA, 1991).

Os sistemas assépticos são definidos como o processamento de um produto comercialmente estéril e envase numa embalagem esterilizada, com um fechamento estéril e hermético de maneira a prevenir as recontaminações microbianas do produto (CODEX ALIMENTARIUS, 1993). Essa tecnologia possibilita a esterilização da bebida e da embalagem em separado, uma vez que o acondicionamento é realizado numa área asséptica. Isso assegura a estabilidade do produto à temperatura ambiente sem o uso de conservantes químicos. Outro aspecto interessante é o processamento em fluxo contínuo com rápido aquecimento e resfriamento do produto antes do envase. Com isso, o produto é submetido ao tratamento térmico mais brando que em outros métodos de conservação pelo calor e pode ser acondicionado em embalagens plásticas termossensíveis (RICHARDSON; CHRISTIAN; TUCKER, 2007; ROMANO; FARIA; ANJOS, 1998; VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998).

A evolução das tecnologias convencionais de conservação de sucos para o sistema asséptico possibilitou melhoria considerável na qualidade sensorial e nutricional dos produtos, mas ao seu custo. Os sistemas assépticos custam mais de US\$ 1.000.000 e são disponibilizados principalmente para indústrias de grande escala de produção (BATES; MORRIS, 2001; PITONDO, 2007). O objetivo desse trabalho foi avaliar duas configurações de sistemas, sem controles onerosos e sofisticados, para o processamento e envase asséptico de bebidas de alta acidez em embalagens flexíveis. Bebidas de frutas e chás foram pasteurizadas e submetidas ao envase direto nas embalagens, sem estocagem em tanque, ou passaram por tanque de produto, operado com uma bomba centrífuga e válvulas sem selo de vapor. Os testes foram conduzidos no sistema composto por equipamentos comerciais (tanques, bombas, válvulas, tubulações e trocador de calor) e em desenvolvimento (tanque de produto e máquina de embalagem tipo forma, enche e fecha), todos destinados a indústrias de pequena escala de produção.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 - Matéria-prima

Os experimentos foram conduzidos com quatro bebidas mistas de frutas aromatizadas e duas de chás aromatizados. As formulações base das bebidas mistas eram compostas por água (88,0% no aroma de pera e 88,35% nos outros), açúcar refinado (9,50%), suco concentrado de maçã 70 °Brix (1,19%), ácido cítrico (0,20%), ácido ascórbico (0,05%), goma xantana (0,04%), citrato de sódio (0,03%). Essa formulação foi adicionada de suco concentrado de pera 32 °Brix (0,69%) e emulsão de pera (0,30%) para formar a bebida mista de maçã e pera com aroma de pera; suco concentrado de pêsego 70 °Brix (0,34%) e emulsão de pêsego (0,30%) para a bebida mista de maçã e pêsego com aroma de pêsego; suco concentrado de pêsego 70 °Brix (0,34%) e emulsão de maçã (0,30%) para a bebida mista de maçã e pêsego com aroma de maçã. A bebida mista de frutas com aromas combinados foi uma mistura das formulações. A formulação dos dois chás pretos era composta por água (91,32%), xarope de açúcar invertido 76 °Brix (8,0%), ácido cítrico (0,20%), extrato de chá preto (0,20%), citrato de sódio (0,03%), bem como o aroma de fruta (0,25%), pêsego ou limão, diferenciando cada bebida.

As matérias-primas, 100 L de cada formulação por processamento, foram caracterizadas quanto ao pH, conteúdo de sólidos solúveis, contagem de bactérias lácticas (HALL; LEDENBACH; FLOWERS, 2001), bolores e leveduras (BEUCHAT; COUSIN, 2001), esporos de *Alliocylocillus* (EVANCHO; WALLS, 2001) e esporos de mesófilos aeróbios (STEVENSON; SEGMER, 2001).

### 2.2 - Material de embalagem

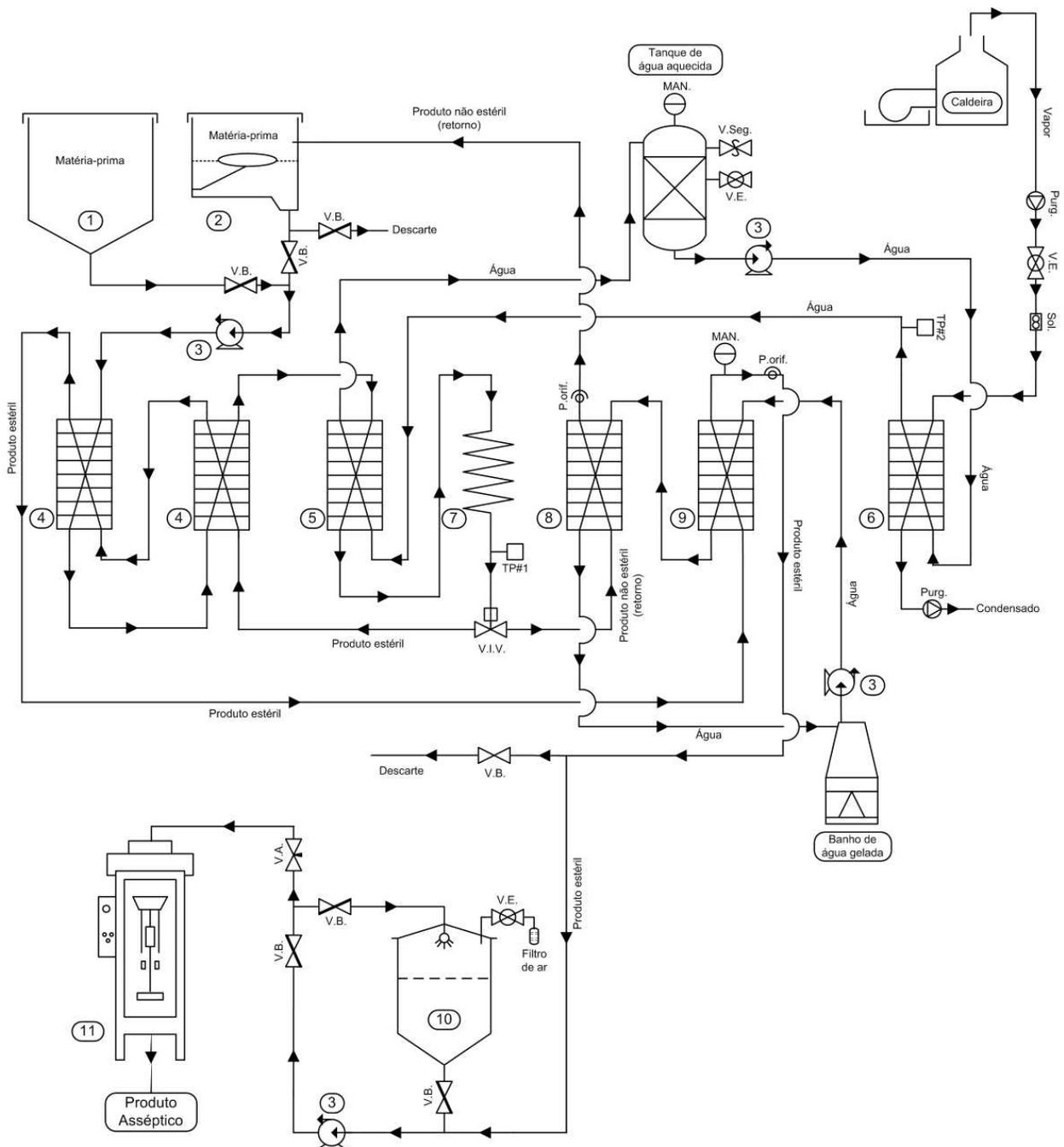
As embalagens foram produzidas com filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD) pigmentados de branco com dióxido de titânio 3,0% (Brilho Indústria e Comércio de Embalagens Ltda., Indaiatuba - SP). O filme de PEBD foi

fornecido na forma de bobina de 15 kg, apresentando largura de 300 mm e espessura de 75  $\mu\text{m}$ .

A caracterização microbiológica do material de embalagem foi efetuada pela análise de micro-organismos mesófilos aeróbios (SWANSON et al., 2001), bolores e leveduras (BEUCHAT; COUSIN, 2001) e esporos de mesófilos aeróbios (STEVENSON; SEGNER, 2001). A amostragem foi efetuada pela remoção de corpos-de-prova das bobinas montadas na máquina de embalagem, empregando-se técnicas assépticas para prevenir a contaminação do material. Esses corpos-de-prova foram transformados em embalagens com auxílio de uma termossoldadora manual, instalada dentro de cabine de segurança biológica classe II tipo "A1" (Veco do Brasil Indústria e Comércio de Equipamentos Sociedade Ltda., Campinas - SP), certificada conforme padrão *International Organization for Standardization* classe 5 (ISO, 1999). As embalagens foram produzidas de modo a simular a superfície interna de uma bolsa flexível com solda tipo almofada, onde uma das bordas do material ficava voltada para o interior da embalagem, em contato com o produto. A avaliação microbiológica foi conduzida através do método de enxágue, com solução salina neutra (EVANCHO et al., 2001). No procedimento de agitação, cada embalagem foi colocada sobre uma bancada e recebia 100 compressões manuais alternadas, durante aproximadamente 30 s. Finalmente, as embalagens eram abertas e as soluções de enxágue submetidas às análises microbiológicas.

### **2.3 - Linha de processamento e embalagem**

A linha de processamento e embalagem foi composta basicamente pelos seguintes elementos: tanques de matéria-prima; trocador de calor a placas, tanque de produto; e máquina de embalagem tipo forma, enche e fecha (Sumá Indústria e Comércio Ltda., Campinas - SP). Cada componente da linha é apresentado no diagrama na Figura 1.



**Figura 1** - Linha de processamento e embalagem (1. Tanque de matéria-prima; 2. Tanque de equilíbrio; V.B. Válvula borboleta; 3. Bomba centrífuga; 4. Seção de regeneração do trocador de calor; 5. Seção de aquecimento de produto; 6. Seção de aquecimento de água; 7. Tubo de retenção; TP#1. Sensor de temperatura do produto; V.I.V. Válvula de inversão de fluxo; 8. Seções de resfriamento de produto não estéril; 9. Seções de resfriamento de produto estéril; MAN. Manômetro; P.orif.: placa com orifício; Tanque de produto; V.A. Válvula agulha; 10. Máquina de embalagem; Purg. Purgador; V.E. Válvula esfera; Sol. Válvula solenóide; V.Seg. Válvula de segurança; TP#2. Sensor de temperatura da água de aquecimento).

O tanque de produto com capacidade de 230 L foi construído em aço inoxidável AISI 304, apresentando corpo cilíndrico, tampa e fundo cônico. O fechamento do tanque era efetuado por meio de um anel de silicone pressionado entre os flanges da tampa e do corpo com presilhas de rosca. A tampa tinha duas entradas, uma no centro, onde foi instalado um *spray ball* de 360° para higienização, e outra na lateral, contendo um filtro absoluto com elemento filtrante de polipropileno expandido com poro de 0,22 µm.

A máquina de embalagem realizava a filtração de ar, a esterilização do filme plástico e a termossoldagem para produção das embalagens. As embalagens tipo bolsa flexível eram produzidas através de três soldas por impulso elétrico com perfil plano, uma vertical e duas horizontais. A solda vertical era centrada no verso das embalagens, sendo formada por fusão tipo lado externo/lado interno. Essa solda delimitava as abas laterais do filme plástico, uma voltada para o interior e outra para o exterior das embalagens. As soldas horizontais eram fusão do tipo lado interno/lado interno, uma de topo e outra de fundo da bolsa flexível.

A esterilização das embalagens foi efetuada por imersão em solução de peróxido de hidrogênio 35% a  $35 \pm 2$  °C por 13 s e exposição à radiação ultravioleta (UV) de 260 µW/cm<sup>2</sup> em 254 nm por pelo menos 1,0 s, emitida por lâmpada TUV 15W T5 (Philips do Brasil Ltda., São Paulo - SP) instalada a 10 mm do filme. Essa operação era realizada na parte traseira da máquina de embalagem, contendo a bobina plástica, o tanque de imersão, a lâmpada UV e os roletes guias do filme.

A filtração do ar foi efetuada através de sistema composto por pré-filtro plano plissado em manta de fibras sintéticas Classe G3 (Filtracom Ltda., Valinhos - SP), exaustor centrifugo tipo EC1-AR (Metalúrgica Ventisilva Ltda., São Paulo - SP) com conversor de frequência e filtro absoluto plano em papel de microfibras de vidro Classe A3 (Filtracom Ltda., Valinhos - SP), conforme classificação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (1980). Esse sistema era localizado na parte superior da máquina de embalagem, com sucção de ar da parte traseira e insuflamento na parte dianteira, onde era realizada a formação, o enchimento e o

fechamento das embalagens. A filtração do ar era iniciada pelo menos 1 h antes da operação de envase.

## 2.4 - Higienização da linha de processamento e embalagem

A limpeza em circuito fechado da linha (*Cleaning in place* – CIP) foi realizada de acordo com as seguintes etapas: pré-enxágue à temperatura ambiente; lavagem com solução detergente alcalina Avoid BR 55 (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), na concentração de 1% (p/v) a 95 °C (temperatura no final do tubo de retenção) por 20 min (10 min de recirculação pela seção de retorno do trocador de calor, com fluxo turbulento pela tubulação à velocidade média de pelo menos 0,8 m/s e coeficiente de Reynolds (Re) mínimo de 55.554; 10 min de recirculação pela máquina de embalagem a 0,6 m/s e Re de 41.666); enxágue intermediário a 55 °C por 10 min; lavagem com solução detergente ácida Acid 2100 (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), na concentração de 1% (p/v) a 55 °C por 20 min, na mesma sequência do ciclo alcalino, e enxágue final por 10 min a 55 °C. A concentração das soluções detergentes foi monitorada por titulometria e medida de condutividade, conforme recomendações dos fabricantes.

A esterilização em circuito fechado (*Sterilization in place* – SIP) foi efetuada pela recirculação da solução Vortexx ES (Ecolab Química Ltda., Rio de Janeiro - RJ), na concentração de 0,3% (v/v) de ácido peracético a 30 °C por 30 min, com fluxo turbulento a 0,2 m/s e Re de 4.901. No tanque de produto a esterilização foi realizada pela recirculação da solução com auxílio da bomba da máquina de embalagem. O enxágue da solução esterilizante foi conduzido pela recirculação de água à temperatura ambiente pela seção de retorno do trocador de calor por 5 min, seguido pela recirculação pela linha de envase quando a temperatura da água no final do tubo de retenção era maior que 120 °C, por um período de 15 min. A concentração da solução de ácido peracético foi monitorada por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

A máquina de embalagem foi lavada com detergente alcalino 2% (p/v) e escovação manual, seguida de enxágue. A sanitização foi realizada pela aspersão de solução de hipoclorito de sódio, 200 mg/L de cloro ativo, com picetas manuais em intervalos sucessivos de 15 min por um período total de 60 min. Essa sanitização foi efetuada em dois momentos antes do envase, com 1 dia e 1 h, quando a filtração do ar da máquina de embalagem foi iniciada. A concentração da solução clorada foi monitorada por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

## 2.5 - Monitoramento higiênico do sistema

A esterilidade da linha de processamento e embalagem antes das produções experimentais foi avaliada através da análise da água de enxágue (EVANCHO et al., 2001). A água de enxágue após esterilização em circuito fechado foi coletada em frascos estéreis de 2 L contendo 20 mL de solução salina neutra adicionada de tiosulfato de sódio 0,5% e 15.000 unidades de catalase esterilizada, empregando-se técnicas assépticas. Essa amostra foi filtrada por meio de membrana de ester de celulose estéril, com poro de 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore Indústria e Comércio Ltda., São Paulo - SP), em cabine de segurança biológica. A membrana foi transferida assepticamente para um frasco contendo bebida de maçã e pêsego, previamente aprovados em testes de esterilidade comercial, sendo incubada a 30 °C por 30 dias. Após a incubação a bebida foi submetida às análises sensoriais (aparência e odor), físico-química (pH) e microbiológicas (micro-organismos ácidotolerantes e bolores e leveduras) (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001).

As superfícies da máquina de envase foram avaliadas antes e após uma produção experimental. O monitoramento foi efetuado em oito superfícies da envasadora, quatro que tinham contato com o material de embalagem ou as bebidas (rolete após o banho, conformador de embalagem, guias do conformador e extremidade do tubo de envase) e quatro sem contato direto (suporte do tubo de envase, parede lateral, tampa frontal e aresta do fundo). A avaliação das superfícies foi realizada empregando-se o método de *swab* (EVANCHO et al.,

2001), com solução salina neutra adicionada de tiosulfato de sódio 0,5% e 3.000 unidades de catalase esterilizada. O *swab* e a solução de enxágue foram transferidos para frascos contendo bebida de maçã e pêssego, previamente aprovada no teste de esterilidade comercial. Todas as amostras foram incubadas a 30 °C por 30 dias e submetidas a análises sensoriais (aparência e odor) e físico-química (pH). Adicionalmente, três amostras receberam análises microbiológicas (micro-organismos ácidotolerantes e bolores e leveduras) (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001).

O monitoramento da qualidade do ar na área de envase foi efetuado pela contagem de partículas totais e viáveis antes e após as produções experimentais. As partículas totais em suspensão no ar foram enumeradas por fotometria, em contador eletrônico de partículas (Biotest Diagnostics Corporation, Denville - EUA). As partículas viáveis, em termos de micro-organismos mesófilos aeróbios e bolores e leveduras, foram monitorados pelo método de sedimentação em Ágar padrão para contagem e Ágar batata dextrose, ambos suplementado com 5% de piruvato, como neutralizante (OHRESSER et al., 2004), respectivamente. As placas foram expostas ao ar da máquina de embalagem durante 15 min e incubadas a 30 °C por 48 h, para contagem padrão em placas, e a 25 °C por 5 dias, para contagem de bolores e leveduras (EVANCHO et al., 2001). O contador de partículas e quatro placas de petri foram posicionados no interior da máquina de embalagem.

A velocidade média do ar na região de formação de embalagem na câmara asséptica foi medida com anemômetro de fio quente Tri-Sense 37000-00 (Cole Parmer, Niles - EUA). A pressão do ar na câmara asséptica, próxima a saída de produto, foi monitorada com o micromanômetro Alnor EBT729 (TSI Incorporated, Shoreview - EUA). A integridade do filtro HEPA e da máquina de embalagem foi determinada, após a instalação dos filtros, através do teste de penetração de poli-alfa-oleofina (PAO), produzido por gerador de aerosol ATI TDA-4B (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) e detectado por fotômetro ATI 2H (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) (ISO, 2005). A PAO foi gerada na

concentração de 32 µg/L, na parte traseira da máquina de embalagem, antes do pré-filtro, e detectada na parte frontal, depois do filtro HEPA.

## **2.6 - Testes preliminares do sistema**

Testes preliminares do sistema foram conduzidos através do processamento e envase de suco pasteurizado de maçã e pêsego em dois tipos de embalagens: polietileno de baixa densidade (PEBD) e um laminado multicamada barreira à luz e ao oxigênio. A seleção do material de embalagem para avaliação da esterilidade comercial do sistema foi determinada por critérios associados com a hermeticidade da embalagem. As embalagens foram submetidas à inspeção visual, teste de compressão, teste eletroquímico e teste de penetração de solução colorida, conforme descrito no Item 2.7. O material de embalagem selecionado para os testes do sistema foi PEBD. As considerações realizadas nessa seleção são apresentadas na seção de Resultados e Discussão.

Outro teste preliminar foi conduzido para determinar o residual de peróxido de hidrogênio em embalagens produzidas com água, antes do envase das bebidas. Essa análise foi efetuada por reflectometria (RQflex plus, Merck KGaA, Darmstadt - Alemanha).

## **2.7 - Testes de integridade das embalagens**

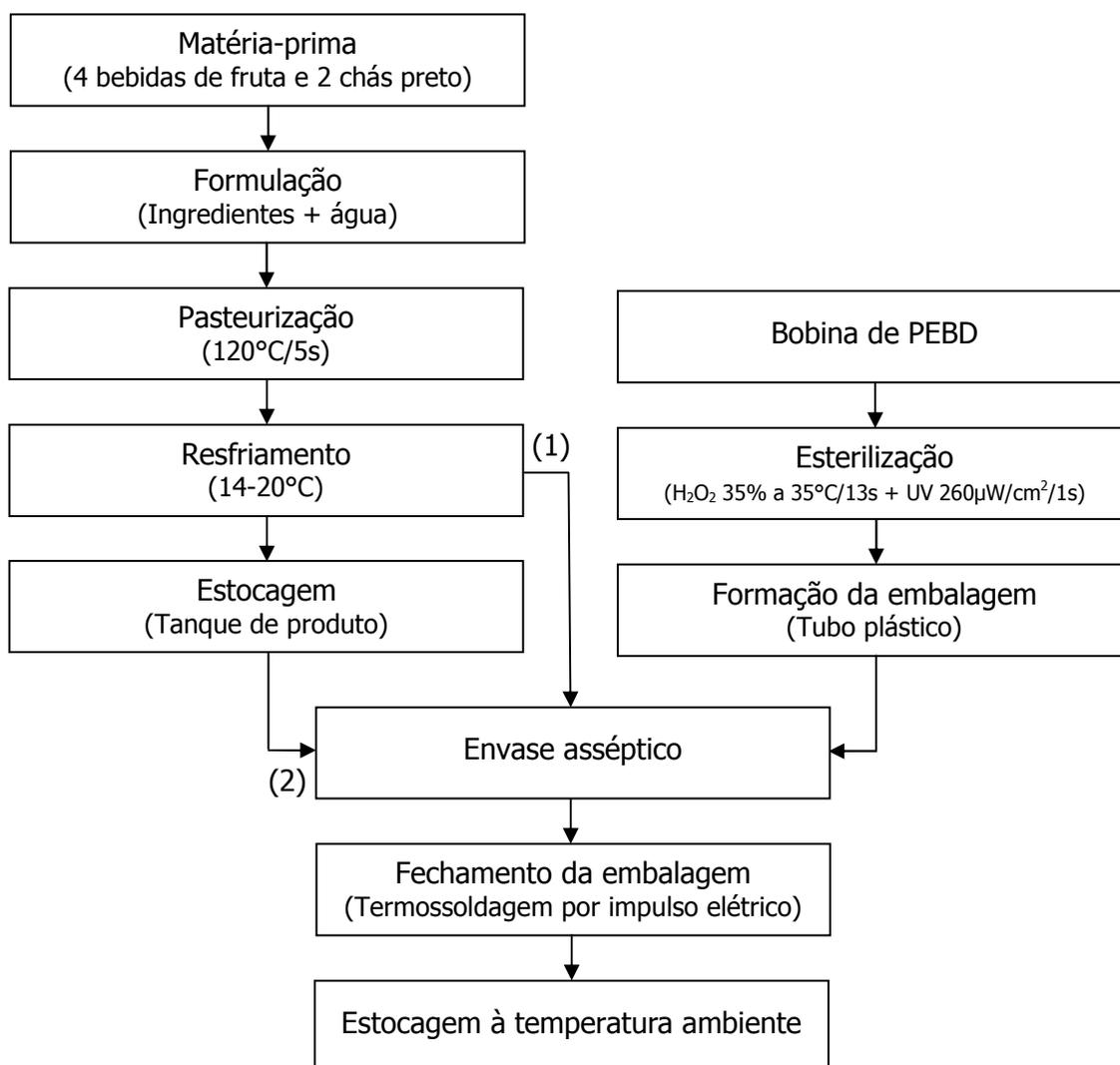
A inspeção visual e o teste de compressão manual das embalagens foram realizados durante o envase em intervalos de pelo menos 5 min (UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001). Para completar a investigação da hermeticidade das embalagens foram realizados testes eletroquímicos e de penetração de solução colorida (USFDA, 2001). A preparação das amostras foi conduzida através de um corte lateral da estrutura, em forma de "v", que possibilitou a avaliação das três regiões de solda. Previamente ao teste, as embalagens foram lavadas por imersão em solução detergente alcalina 2% (p/p)

com tensoativos por 48 h, marca DET LIMP S32 (Farquill Comércio e Indústria Ltda., Piracicaba - SP).

## **2.8 - Processamento e embalagem das bebidas**

Nas três produções experimentais as bebidas foram processadas e embaladas conforme o fluxograma da Figura 2. Após a higienização da linha de processamento e da máquina de embalagem as bebidas foram formuladas e submetidas à pasteurização a 120 °C por 10 s, com resfriamento na faixa de 14 a 20 °C. A vazão da linha de processamento era de 260 L/h e a produtividade da máquina de embalagem ajustada para 600 embalagens de 434 mL/h (10 embalagens/min).

As bebidas processadas poderiam ser direcionadas para três destinos: descarte, estocagem no tanque ou envase na máquina de embalagem (Figura 1). O direcionamento das bebidas dependia basicamente da operação de duas válvulas borboletas, uma localizada após a seção de resfriamento do trocador de calor e outra abaixo do tanque de produto. O fechamento da válvula de descarte e a abertura da válvula do tanque de produto direcionavam a bebida para o interior do tanque. Quando a válvula do tanque de produto era fechada a bebida seguia diretamente para a máquina de embalagem, mediante a manutenção das válvulas borboleta e agulha da linha de envase abertas. Desse modo, o volume de bebida envasada dependia da vazão da linha de processamento. O envase da bebida estocada no tanque de produto era conduzido pela abertura de sua válvula de saída e acionamento da bomba centrífuga. Nesse caso, o controle do volume de bebida envasado era efetuado pelo ajuste da válvula agulha.



**Figura 2** - Fluxograma de produção das bebidas de fruta e chás preto em duas configurações: (1) linha com envase direto na embalagem, sem estocagem em tanque (Três bebidas mistas de duas frutas e dois chás preto) e (2) linha com o tanque de produto (bebida mista de maçã, pêsego e pera).

As três bebidas mistas de duas frutas (maçã e pêsego com aroma de maçã, maçã e pêsego com aroma de pêsego e maçã e pera com aroma de pera) e os dois chás preto (aroma de pêsego e aroma de limão) foram envasados diretamente na máquina de envase, sem estocagem em tanque, conforme mostrado na configuração 1 da Figura 2. A bebida mista das três frutas com aromas combinados foi estocada no tanque de produto e envasada após a

pasteurização, de acordo com a configuração 2 da Figura 2. Entre os processamentos das bebidas de duas frutas, onde existia uma mistura de produtos diferentes na linha, o fluxo era direcionado para o tanque de produto, desse modo não ocorriam perdas. No período de transição entre a água e a primeira bebida a ser processada, bem como entre a bebida de três frutas e o chá preto com aroma de pêssego e do mesmo para o chá preto com aroma de pêssego foi realizado o descarte dos produtos misturados.

Os ensaios experimentais foram realizados em triplicata, sendo produzidas em cada repetição pelo menos 120 embalagens de cada bebida de fruta e 160 embalagens de cada chá preto. As embalagens foram identificadas de acordo com o lote e a ordem de produção com etiquetas adesivas numeradas. A estocagem foi realizada à temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C.

## **2.9 - Testes de esterilidade comercial**

Os testes de esterilidade comercial foram conduzidos com a estocagem das bebidas à temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C por quatro meses (DEIBEL; JANTSCHKE, 2001), a 35 °C por 10 dias e a 55 °C por 5 dias (BRASIL, 2001). A amostragem das bebidas estocadas a temperatura ambiente e incubadas a 35 °C foi composta por pelo menos 100 amostras de cada uma das seis bebidas do primeiro e segundo lote e 30 unidades do terceiro, enquanto nas condições abusivas de estocagem por 30 amostras dos três lotes de cada bebida. As amostras foram avaliadas quanto às características sensoriais (aparência, consistência e odor) e pH, conforme estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2001). Análises microbiológicas complementares de micro-organismos ácidotolerantes (estria em ágar termoacidurans pH 5,0 e incubação a 30 °C por 5 dias) e bolores e leveduras (estria em ágar batata dextrose acidificado a pH 3,5 e incubação a 25 °C por 10 dias) foram realizadas em cinco amostras de cada bebida estocada a temperatura ambiente e duas das amostras estocadas a 55 °C. Adicionalmente, três amostras da bebida mista de três frutas estocadas à

temperatura ambiente foram submetidas à análise presuntiva de *Alicyclobacillus* (EVANCHO; WALLS, 2001). O diagnóstico de causas de deterioração em amostras alteradas foi efetuado de acordo com a marcha de detecção de contaminantes (DENNY; PARKINSON, 2001).

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Caracterização da matéria-prima

A caracterização físico-química e microbiológica das matérias-primas é apresentada na Tabela 1. Os parâmetros físico-químicos de cada matéria-prima não diferiram significativamente entre si ( $p < 0,05$ ) nos três processamentos, indicando a padronização dos procedimentos de pesagem e diluição dos componentes das formulações. Outro fator que contribuiu para essa homogeneidade foi a formulação das bebidas com componentes do mesmo lote de produção, à exceção da água. As variações nas contagens de esporos entre as bebidas de fruta verificadas no primeiro processamento expressam diferenças na ativação e germinação microbiana. Desse modo, cada tipo de bebida mista, nas suas variações de aromas, possuía características físico-químicas e microbiológicas similares. As formulações atendiam aos padrões de identidade e qualidade da legislação brasileira para bebida de fruta (refresco) e chá pronto para consumo (BRASIL, 1998; 2009).

**Tabela 1** - Caracterização físico-química e microbiológica das matérias-primas.

Parâmetro	Bebida mista <sup>a</sup>				Chá preto <sup>b</sup>	
	MaPo [Ma]	MaPo [Po]	MaPa [Pa]	MaPoPa [Frutas]	[Po]	[L]
pH	3,12	3,14	3,13	3,13	3,51	3,53
Sólidos solúveis (°Brix)	11,0	11,4	11,2	11,4	8,4	8,4
Bactérias lácticas (UFC/mL)	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Bolores e leveduras (UFC/mL)	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Esporos de <i>Allicyclobacillus</i> (UFC/mL)	<1	4	98	22	<1	<1
Esporos de mesófilos aeróbios (UFC/mL)	23	1	30	5	<1	<1

<sup>a</sup> Bebida mista de maçã (Ma), pêsego (Po) e pera (Pa) [com aroma de uma ou todas as frutas].

<sup>b</sup> Chá preto [com aroma de pêsego (Po) e limão (L)].

As contagens de esporos estavam de acordo com o delineamento de processo térmico de pasteurização para os produtos. O valor  $F_{120^{\circ}\text{C}}$  de 6 s foi planejado para atingir oito reduções decimais de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* ou uma probabilidade de unidades não estéreis de 1 embalagem defeituosa em 1.000. Os cálculos foram baseados na produção de embalagens de 1.000 mL a partir de uma matéria-prima com uma contagem de esporos de  $10^2$  UFC/mL e uma resistência térmica com valor  $D_{98^{\circ}\text{C}}$  de 24,6 s e valor  $z$  de  $14,7^{\circ}\text{C}$  (TAMEGA JR., 2005), considerando uma população microbiana homogênea com curva de destruição semilogarítmica lineares (PFLUG, 1987).

O tratamento térmico foi estabelecido de modo que a contaminação da matéria-prima não comprometesse a esterilidade comercial do sistema como um todo. Tratamentos térmicos mais brandos devem ser almejados pela indústria de bebidas, minimizando alterações sensoriais e perdas no valor nutricional dos produtos, perante um programa de qualidade das matérias-primas. Contaminações menores de esporos, particularmente de bacilos acidófilos, pertencentes aos gêneros *Alicyclobacillus* e *Sulfobacillus*, que podem desenvolver em bebidas com pH até 3,0, devem ser alcançados (HATCHER et al., 2001). As contagens de esporos verificadas nas formulações das bebidas de fruta refletem deficiências nas práticas de produção agrícola, uso de frutas em estado de deterioração ou inadequações nas operações de lavagem das frutas e equipamentos no processamento dos sucos concentrados.

*Alicyclobacillus acidoterrestris* é uma bactéria formadora de esporos, termoacidófila e não-patogênica que pode sobreviver aos tratamentos convencionais de pasteurização de sucos de alta acidez (SPLITTSTOESSER; CHUREY; LEE, 1994). Esse micro-organismo vem ocasionando alterações no sabor em vários sucos assepticamente processados e embalados, como os de laranja e maçã estocados em temperaturas na faixa entre  $25$  e  $44^{\circ}\text{C}$  (CERNY; HENNLICH; PORALLA, 1984; JENSEN, 2000; PETTIPHER; OSMUNDSON; MURPHY, 1997). Conseqüentemente, *Alicyclobacillus acidoterrestris* tem sido sugerido como micro-

organismo alvo da pasteurização de bebidas de fruta de alta acidez (CEVIZ; TULEK; CON, 2009; EIROA et al., 1999; SILVA; GIBBS, 2004; TAMEGA JR., 2005).

### 3.2 - Caracterização do material de embalagem

A caracterização microbiológica do filme de PEBD amostrado das bobinas antes das operações de embalagem englobou micro-organismos mesófilos aeróbios, bolores e leveduras, esporos de mesófilos aeróbios e esporos de termófilos aeróbios. Nos 12 corpos-de-prova analisados para esporos de mesófilos aeróbios apenas 1 célula foi detectada, resultando numa concentração estimada de 1 UFC/4.368 cm<sup>2</sup>. Nos outros corpos-de-prova não foi detectada a presença dos demais grupos de micro-organismos analisados. Esses resultados são indicativos da conformidade microbiana dos materiais de embalagem para o sistema asséptico, bem como adequação dos procedimentos de manipulação das bobinas desde sua produção até a utilização final.

A microbiota contaminante em superfícies de polietileno em laminados cartonados logo após a produção do material foi identificada como de leveduras (10,6%), bolores (20,6%) e bactérias (68,8%), sendo diferenciadas em *Micrococci* (44,4%), *Streptococci* (3,7%); *Pseudomonas* (1,2%); esporos de *Bacillus* (3,1%); bastonetes Gram positivos (6,9%) e bastonetes Gram negativos (9,4%) (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). A contaminação microbiana, em termos da contagem padrão em placas, nesses materiais de embalagem pode variar entre 0 e 10 UFC/100cm<sup>2</sup> (VON BOCKELMANN; VON BOCKELMANN, 1998). No entanto, Schoch (1984) relatou contagens menores que 1 UFC/m<sup>2</sup> de embalagem.

### 3.3 - Caracterização da filtração do ar na máquina de embalagem

A velocidade média do ar na região de formação de embalagem na câmara asséptica foi medida com anemômetro de fio quente Tri-Sense 37000-00 (Cole Parmer, Niles - EUA). A pressão do ar na câmara asséptica, próxima a saída de produto, foi monitorada com o micromanômetro Alnor EBT729 (TSI Incorporated, Shoreview - EUA). A integridade do filtro HEPA e da máquina de embalagem foi determinada, após a instalação dos filtros, através do teste de penetração de poli-alfa-oleofina (PAO), produzido por gerador de aerosol ATI TDA-4B (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) e detectado por fotômetro ATI 2H (Air Techniques International, Owings Mills - EUA) (ISO, 2005). A PAO foi gerada na concentração de 32 µg/L, na parte traseira da máquina de embalagem, antes do pré-filtro, e detectada na parte frontal, depois do filtro HEPA.

A máquina de embalagem foi ajustada para operar com uma velocidade média do ar na região de formação de embalagem de  $0,44 \pm 0,02$  m/s, estabelecendo um regime de fluxo unidirecional. A pressão mínima na câmara de embalagem era de 0,3402 Pa (0,0345 mmH<sub>2</sub>O).

No teste de integridade do sistema de filtração, realizado após a instalação dos filtros, a leitura da concentração de PAO depois do filtro HEPA foi de 0,0025%. A aceitação internacional para esse teste é uma penetração máxima de 0,01% (ISO, 2005). Desse modo, o sistema de vedação e o papel do filtro absoluto, bem como a montagem do filtro na máquina de embalagem estavam em perfeitas condições de operação.

As concentrações de partículas após a instalação dos filtros, no estado ocupacional de repouso da máquina de embalagem, e no início da operação de embalagem são apresentadas na Tabela 2. Considerando os valores máximos de concentrações de partículas no ar, a área de embalagem foi classificada de acordo com os padrões da International Organization for Standardization (1999) como ISO classe 5, concentrações máximas de partículas com tamanho maior ou iguais a 0,3 µm de 10.200 unidades/m<sup>3</sup>, a 0,5 µm de 3.520 unidades/m<sup>3</sup> e 5 µm de

29 unidades/m<sup>3</sup>. As concentrações de partículas obtidas estavam próximas aos padrões ISO classe 4: concentrações máximas de partículas com tamanho  $\geq 0,3 \mu\text{m}$  de 1.020 unidades/m<sup>3</sup>;  $\geq 0,5 \mu\text{m}$  de 352 unidades/m<sup>3</sup> e  $\geq 5 \mu\text{m}$  de 0 unidade/m<sup>3</sup>. Além disso, os testes microbiológicos não detectaram a presença de bactérias, bolores e leveduras no ar da câmara de embalagem.

Na indústria farmacêutica, os filtros microbiológicos são amplamente utilizados no controle da contaminação do ar e nas operações de embalagem asséptica. Os ambientes para acondicionamento asséptico devem atender aos requisitos grau A, equivalente a ISO classe 5 (WIRTANEN et al., 2002). Assim, o ar da câmara de embalagem estava adequado a embalagem asséptica das bebidas.

**Tabela 2** - Concentrações de partículas da área de envase.

Estado ocupacional	Tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ )	Concentração de partículas (unidades/m <sup>3</sup> )			
		Máxima	Mínima	Média	Desvio padrão
Repouso	0,3	1.635	177	640	736
	0,5	462	71	168	204
Operação	0,5	285	41	176	47
	5	0	2	0,1	0,4

### 3.4 - Caracterização das superfícies da máquina de embalagem

A avaliação das superfícies da máquina de embalagem antes e após a operação de embalagem não indicou a presença de micro-organismos deteriorantes. As superfícies que entravam em contato direto com o material de embalagem esterilizado e o produto pasteurizado, bem como outras superfícies da câmara de embalagem não eram fontes de recontaminação do sistema. Isso indica a adequação dos procedimentos de higienização da máquina de embalagem.

### **3.5 - Caracterização das superfícies da linha de processamento e embalagem**

Na análise da água de enxágue da linha de processamento e embalagem não foi detectada a presença ou atividade de micro-organismos capazes de recontaminar o produto após a pasteurização e comprometer a sua esterilidade comercial. Isso mostrou a adequação dos procedimentos de higienização, preparando a linha para a operação de embalagem asséptica.

### **3.6 - Teste preliminar para seleção do material de embalagem**

No teste preliminar do sistema, o suco pasteurizado de maçã e pêsego foi acondicionado em embalagens de polietileno de baixa densidade (PEBD) e no laminado multicamada (LMC). A inspeção visual e o teste de compressão realizadas ao longo do processamento indicaram a ocorrência de vazamentos no ponto de interseção longitudinal das soldas verticais em algumas embalagens do LMC, enquanto as embalagens de PEBD foram aprovadas.

As embalagens que não apresentaram sinais visíveis de vazamento foram analisadas pelo teste eletrolítico, que indicou a ocorrência de falha de integridade em todas as embalagens do LMC. Investigações subsequentes, conduzidas através do teste de penetração de solução colorida, demonstraram que a falha de termossoldagem continuava a ocorrer no ponto de interseção das soldas verticais. Depois de algumas semanas de estocagem do produto à temperatura ambiente foram verificados vazamentos, odores fermentados e estufamentos das embalagens.

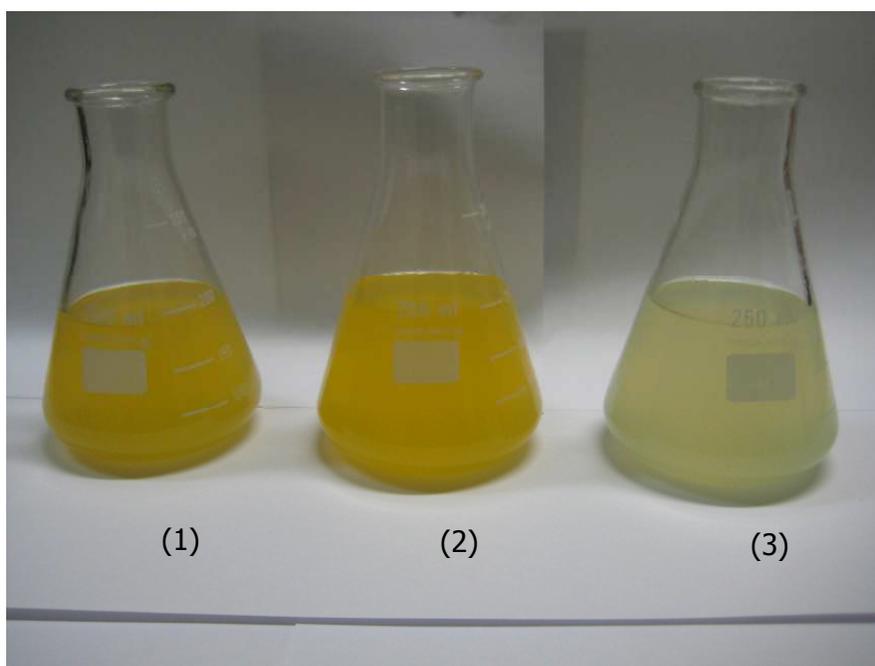
A falha de integridade foi associada à utilização de uma bobina do LMC com tratamento Corona, nas regiões de termossoldagem vertical. O tratamento Corona tinha sido aplicado considerando o fechamento de embalagens tipo soldas de três lados, sendo que o sistema operava com solda tipo almofada. O tratamento Corona excessivo em regiões de termossoldagem dos filmes plásticos pode comprometer o fechamento das embalagens (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Na

impossibilidade de produção de novas bobinas do LMC dentro dos prazos do projeto de pesquisa e como o objetivo principal era avaliar a esterilidade comercial do sistema asséptico, os experimentos foram conduzidos exclusivamente com embalagens de PEBD.

### **3.7 - Residual de peróxido de hidrogênio nas embalagens**

O residual de peróxido de hidrogênio imediatamente após a produção das embalagens com água foi de 12,5 mg/L. A legislação brasileira (BRASIL, 1998; 2009) não especifica padrões legais para os teores residuais de peróxido de hidrogênio nas embalagens. O USFDA (2009) estabeleceu um limite máximo de peróxido de hidrogênio de 0,5 mg/L para esterilização de embalagens.

Nas bebidas de fruta e nos chás, o residual de peróxido de hidrogênio era decomposto em algumas horas, não sendo detectado após 1 dia de estocagem. Ademais, foi observada uma descoloração considerável das bebidas de fruta, principalmente as que continham suco de pêsego. Depois de dois dias de estocagem todas as bebidas de fruta apresentavam a mesma aparência. A Figura 3 apresenta uma fotografia da bebida mista de três frutas com aroma combinado antes do processamento, do produto coletado da linha fora da embalagem de PEBD esterilizada com peróxido de hidrogênio e após o processamento e embalagem. Além de degradar o pigmento das antocianinas em bebidas de frutas (ÖZKAN; YEMENICIOGLU; CEMEROGLU, 2005), o residual de peróxido de hidrogênio nas embalagens assépticas ocasiona a degradação de ácido ascórbico (JOHNSON; TOLEDO, 1975; ÖZKAN; KIRCA; CEMEROGLU, 2004).



**Figura 3** - Bebida mista de maçã, pêsego e pera antes do processamento (1), após o processamento (2) e após o processamento e embalagem (3).

### **3.8 - Desempenho do sistema**

A legislação brasileira estabelece que em alimentos com alta acidez ( $\text{pH} \leq 4,5$ ) processados em embalagens herméticas, estáveis a temperatura ambiente, após 10 dias de incubação a 35 – 37 °C e após 5 dias de incubação a 55 °C não devem existir sinais de alteração das embalagens, nem quaisquer modificações físicas, químicas ou organolépticas do produto, que evidenciem deterioração e não podem revelar variação de pH maior que 0,2.

Nos produtos incubados 55 °C por 7 dias não foram observadas alterações características de deterioração sensorial (aparência, consistência ou odor da bebida), nem variações de pH maior que 0,2. Entretanto, todas as embalagens dos três lotes de produção, devido ao fenômeno de pressão de vapor de água de equilíbrio e a permeabilidade do material de embalagem com o aumento da temperatura, como descrito no capítulo 2.

Os resultados dos testes de esterilidade comercial das seis bebidas estocadas a temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C por quatro meses e incubadas a 35 °C por 10 dias, bem como nas duas configurações da linha de envase são apresentadas na Tabela 2. Na configuração de linha com envase direto na embalagem, a taxa total de defeitos da bebida mista maçã e pera com aroma de maçã (0,4%) foi o dobro das outras bebidas de duas frutas (0,2%). Considerando que o pH e a composição dessas bebidas eram similares, essa diferença pode ser associada à ordem de processamento e envase, uma vez que a bebida mista de maçã e pera com aroma de maçã foi a primeira a passar pela linha. A comparação das taxas de defeito das bebidas mistas de duas frutas (0,3%) com os chás preto (0,8%) indicam que o pH do produto (bebidas mistas pH 3,1 e chás preto pH 3,5) ou o momento do envase pode ter influenciado no desempenho do sistema.

**Tabela 2** - Taxa de defeitos das embalagens estocadas a temperatura ambiente de  $25 \pm 4$  °C por quatro meses e incubadas a 35 °C por 10 dias.

Lote	Bebida mista <sup>a</sup>				Chá preto <sup>b</sup>		Total
	MaPo [Ma] <sup>c</sup>	MaPo [Po] <sup>c</sup>	MaPa [Pa] <sup>c</sup>	MaPoPa [Frutas] <sup>d</sup>	[Po] <sup>c</sup>	[L] <sup>c</sup>	
1	1:100 <sup>e</sup>	0:115	0:115	1:140	3:160	0:160	5:790
2	0:100	0:115	1:115	0:140	0:160	1:160	2:790
3	0:30	0:30	0:30	0:140	0:80	0:80	1:390
<b>Total</b>	1:230	0:260	1:260	1:420	3:400	1:400	7:1970

<sup>a</sup> Bebida mista de maçã (Ma), pêsego (Po) e pera (Pa) [com aroma de uma ou todas as frutas].

<sup>b</sup> Chá preto [com aroma de pêsego (Po) e limão (L)].

<sup>c</sup> Configuração de linha com envase direto na embalagem.

<sup>d</sup> Configuração de linha com estocagem no tanque de produto.

<sup>e</sup> Relação entre amostras alteradas (variação de pH  $\geq 0,2$  ou modificação na aparência, consistência ou odor) e o total de unidades analisadas.

Na configuração de linha onde as bebidas foram misturadas e estocadas no tanque de produto, formando a bebida mista de três frutas com aromas combinados, a taxa de defeitos (0,2%) foi similar ou menor que a das bebidas de duas frutas com envase direto nas embalagens (0,2%). Esses resultados reforçam a hipótese que o pH dos produtos foi um dos fatores preponderantes sobre o desempenho do sistema. A taxa global de defeitos do sistema foi da ordem de 0,4%.

#### **4 - CONCLUSÕES**

As duas configurações de sistema avaliadas mostraram-se adequadas para produção asséptica de bebidas de alta acidez. A configuração mais simples da linha de processamento e embalagem possibilita alcançar taxas de esterilidade compatíveis com as demandas de mercado. O tanque de produto com filtro microbiológico mostrou-se uma alternativa simples e confiável para a estocagem asséptica do produto até o momento do envase. O uso da bomba e válvulas sem selo de vapor não comprometeu o desempenho do sistema. Assim, esse trabalho servirá como estímulo a geração de outras pesquisas e desenvolvimentos em sistemas assépticos simplificados para as indústrias de pequena escala de produção. Além disso, a versatilidade dos sistemas mostrou-se apropriada ao desenvolvimento de novos produtos, possibilitando testes em menor escala.

Estudos futuros devem ser conduzidos com outros equipamentos e configurações de linha de processamento e envase. A remoção do peróxido de hidrogênio do material de embalagem deve ser aperfeiçoada ou, no mesmo sentido, alternativas de agentes esterilizantes investigadas. A vida de prateleira e qualidade sensorial e nutricional das bebidas produzidas em diferentes configurações de sistema e acondicionadas em embalagens de PEBD, bem como materiais laminados barreira ao oxigênio e à luz, devem ser avaliadas. Desse modo, a tecnologia asséptica poderá ser explorada pelas indústrias de pequena escala de produção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6401: Instalações centrais de ar-condicionado para conforto** - Parâmetros básicos de projeto. 1980. 17p.

BATES, R.P.; MORRIS, J.R. **Principles and practices of small - and medium - scale fruit juice processing**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2001. 226p. (FAO Agricultural Services Bulletin 146)

BEUCHAT, L.R.; COUSIN, M.A. Yeast and molds. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.20, p.209-215.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 544, de 16 de Novembro de 1998. Aprova os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p.90, 17 nov., 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6871, de 04 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p.20, 5 jun., 2009.

BRUL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods - Mode of action and microbial resistance mechanisms **International Journal of Food Microbiology**, v.50, n.1-2, p.1-17, 1999.

CERNY, G.; HENNLICH, W.; PORALLA, K. Fruchtsaftverderb durch bacillen: Isolierung und charakterisierung des verderbserregers. **Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und Forschung**, v.179, n.3, p.224-227, 1984.

CEVIZ, G.; TULEK, Y.; CON, A.H. Thermal resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in different heating media. **International Journal of Food Science and Technology**, v.44, n.9, p.1770-1777, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. **CAC/RCP 40-1993: Code of hygienic practice for aseptically processed and packaged low-acid foods.** Rome: FAO/WHO, 1993. 34p.

DEIBEL, K.E.; JANTSCHKE, M. Canned foods – Tests for commercial sterility. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.61, p.577-582.

DENNY, C.B.; PARKINSON, N.G. Canned foods – Tests for cause of spoilage. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.62, p.583-600.

EIROA, M.N.U.; CHRISTINA, V.; JUNQUEIRA, A.; SCHMIDT, F.L. *Alicyclobacillus* in orange juice: occurrence and heat resistance of spores. **Journal of Food Protection**, v.62, n.8, p.883-886, 1999.

EVANCHO, G.M.; SVEUM, W.H.; MOBERG, L.J.; FRANK, J.F. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Cap.3, p.25-35.

EVANCHO, G.E.; WALLS, I. Aciduric flat sour sporeformers. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.24, p.239-244.

HALL, P.A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R.S. Acid-producing microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.19, p.201-207.

HATCHER, W.S.Jr.; PARISH, M.E.; WEIHE, J.L.; SPLITTSTOESSER, D.F.; WOODWARD, B.B. Fruit beverages. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.58, p.565-568.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-1:1999(E): Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness.** Geneva: ISO, 1999. 18p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 14644-3:2005(E): Cleanrooms and associated controlled environments** - Part 3: Test methods. Geneva: ISO, 2005. 65p.

FOEGEDING, P.M; BUSTA, F.F. Chemical food preservatives. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4. ed. Philadelphia: Lea Febiger, 1991. Chap.47, p.802-832.

JENSEN, N. *Alicyclobacillus* in Australia. **Food Australia**, v.52, n.7, p.282-285, 2000.

JOHNSON, R.L.; TOLEDO, R.T. Storage stability of 55degrees brix orange juice concentrate aseptically packaged in plastic and glass containers. **Journal of Food Science**, v.40, n.2, p.433-434, 1975.

MERMELSTEIN, N.H. High-temperature, short-time processing. **Food Technology**, v.55, n.6, p.65, 66, 68, 70, 78, 2001.

MORRIS, C.; BRODY, A.L.; WICKER, L. Non-thermal food processing/preservation technologies: A review with packaging implications. **Packaging Technology and Science**, v.20, n.4, p.275-286, 2007.

OHRESSER, S.; GRIVEAU, S.; SCHANN, C. Validation of microbial recovery from hydrogen peroxide-sterilized air. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v.58, n.2, p.75-80, 2004.

ÖZKAN, M.; KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p.591-597, 2004.

ÖZKAN, M.; YEMENICIOGLU, A.; CEMEROGLU, B. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. **Food Research International**, v.38, n.8-9, p.1015-1021, 2005.

PETTIPHER, G.L.; OSMUNDSON, M.E.; MURPHY, J.M. Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. **Letters in Applied Microbiology**, v.24, n.3, p.185-189, 1997.

PFLUG, I.J. End-point of a preservation process. **Journal of Food Protection**, v.50, n.4, p.347-351, 1987.

PITONDO, P. B. Longa vida para os cartonados. **Engarrafador Moderno**, v. 19, n.168, p.18-22, 2007.

RASO, J.; BARBOSA-CANOVAS, G.V. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.43, n.3, p.265-285, 2003.

RICHARDSON, P.S.; CHRISTIAN, G.; TUCKER, G.S. **Guidelines on the safe production of aseptically processed and packaged foods**. Gloucestershire: Campden & Chorleywood Food Research Association Group, 2007. 88p. (Guideline No. 53)

ROMANO, M.A.; FARIA, J.A.F.; ANJOS, C.A. Sistemas assépticos para alimentos em embalagens plásticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.2, p.180-188, 1998.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267p.

SCHOCH, W. Aseptic Packaging. **Tappi Journal**, v.67, n.9, p.56-60, 1984.

SILVA, F.V.M.; GIBBS, P. Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.5, p.353-360, 2004.

SILVA, F.V.M.; MARTINS, R.C.; SILVA, C.L.M. Design and optimization of hot-filling pasteurization conditions: Cupuacu (*Theobroma grandiflorum*) fruit pulp case study. **Biotechnology Progress**, v.19, n.4, p.1261-1268, 2003.

SIZER, C.E.; BALASUBRAMANIAN, V.M. New intervention processes for minimally processed juices. **Food Technology**, v.53, n.10, p.64-67, 1999.

SPLITTSTOESSER, D.F.; CHUREY, J.J.; LEE, C.Y. Growth characteristics of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. **Journal of Food Protection**, v.57, n.12, p. 1080-1083, 1994.

STEVENSON, K.E.; SEGNER, W.P. Mesophilic aerobic sporeformers. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.22, p.223-227.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001. Chap.6, p.53-62.

TAMEGA JR., W.P. **Programa para determinação de parâmetros cinéticos em sistemas de processamento térmicos contínuos de alimentos.** 2005. 194p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual:** Examination of flexible and semirigid food containers for integrity. 2001. Disponível em:  
<<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>> Acesso em: 20 set. 2009.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations Title 21.** 21CFR178.1005. 2009. Hydrogen peroxide solution. 2009. Disponível em:  
<<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm>>. Acesso em: 26 nov. 2009.

VON BOCKELMANN, B.; VON BOCKELMANN, I. **Long-life products:** Heat-treated, aseptically packed: A guide to quality. Värnamo: Fälth & Hässler, 1998. 246p.

WIRTANEN, G.; MIETTINEN, H.; PAHKALA, S.; ENBOM, S.; VANNE, L. **Clean air solutions in food processing.** Espoo: VTT Publications, 2002. 95p.

## CONCLUSÕES GERAIS

O sistema estudado apresentou a probabilidade de unidades não estéreis próxima à estabelecida para bebidas de alta acidez, mas inferior à instituída para leite longa vida. A configuração da linha com envase direto na embalagem, sem tanque de estocagem, foi capaz de atender aos requisitos estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*. O tanque de produto, apesar de não ser pressurizado, apresentou um desempenho compatível com sistemas convencionais. A montagem da linha, utilizando-se equipamentos normalmente empregados nas indústrias de laticínios, incluindo bombas e válvulas sanitárias convencionais não implicou no aumento da taxa de defeitos. Na melhoria contínua do sistema, intervenções deverão ser implementadas no desenho sanitário da linha, no seu método de esterilização e, principalmente, na máquina de embalagem, de modo a diminuir o residual de peróxido de hidrogênio e as falhas de termosoldagem das embalagens.

Os dois tipos de embalagens estudadas, de polietileno monocamada e do laminado flexível, ofereceram propriedades compatíveis ao acondicionamento de leite longa vida. As propriedades de barreira à luz e ao oxigênio do laminado flexível foram capazes de oferecer uma vida de prateleira similar à obtida através das embalagens cartonadas, tendo na qualidade da matéria-prima o principal fator a influenciar a estabilidade do produto. O leite longa vida na embalagem de polietileno monocamada apresentou potencial de atender às demandas de mercado, quanto à aceitação sensorial por períodos de conservação superiores a um mês, quando protegido contra a exposição à luz.

Apesar de o sistema asséptico demandar melhorias, os resultados obtidos nesta pesquisa são indicativos do potencial de desenvolvimento de uma linha de processamento e envase voltada especificamente para indústrias de pequena escala de produção. As adequações técnicas e avaliações vieram a contribuir para uma quebra de paradigma, de que os sistemas assépticos são sempre complexos, sofisticados e onerosos.

## **ANEXOS**

**Anexo I - Documento de registro de sistemas assépticos para produtos de baixa acidez na FDA**

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES ■ Food and Drug Administration						NOTE: No commercial processor shall engage in the processing of low-acid foods unless completed Forms FDA 2541 and FDA 2541c have been filed with the Food and Drug Administration, 21 CFR 108.35 (c)(1) and (2).		FORM APPROVED: OMB No. 0910-0037 EXPIRATION DATE: 6/31/2011											
FOOD PROCESS FILING FOR LOW-ACID ASEPTIC SYSTEMS						FDA USE ONLY													
(USE FDA BOOKLET TITLED "ASEPTIC PACKAGING SYSTEM SUPPLEMENT")						DATE RECEIVED BY FDA													
(TYPE OR PRINT ALL INFORMATION REQUESTED, IF AN ITEM DOES NOT APPLY ENTER "NA". FILE ACIDIFIED ASEPTIC (pH 4.6 or BELOW) ON FORM 2541a)																			
1. FCE -----					7. PRODUCT NAME, FORM OR STYLE, AND PACKING MEDIUM														
2. ESTABLISHMENT NAME					8. NAMES OF STERILIZING SYSTEMS														
ADDRESS (No. and Street)					a. Product <sup>1</sup>														
CITY					b. Packaging														
STATE					9. PROCESS ORIGIN														
ZIP (OR OTHER POSTAL CODE)					No. Source for 8.a. and 8.b.														
COUNTRY					Date (mm/yyyy)														
3. SID 2 0 / Y Y Y Y M M D D S S S					a.														
4. <input type="checkbox"/> NEW <input type="checkbox"/> CANCELS <input type="checkbox"/> REPLACES Y Y Y Y M M D D S S S					b.														
5. <input type="checkbox"/> SCHEDULED <input type="checkbox"/> ALTERNATE FOR Y Y Y Y M M D D S S S					10. CONTAINER TYPE (Check one)														
6. SUP SID 2 0 / Y Y Y Y M M D D S S S					a. <input type="checkbox"/> Tinplate or Steel Can														
					b. <input type="checkbox"/> Aluminum Can														
					c. <input type="checkbox"/> Glass														
					d. <input type="checkbox"/> Other (Specify below and in item 22 if necessary)														
11. MAXIMUM WATER ACTIVITY <sup>2</sup>		12. pH		13. MAXIMUM CONSISTENCY OR VISCOSITY IN CENTIPOISES OR APPROPRIATE UNITS				14. SPECIFIC GRAVITY AT 77 ± 2°F	15. INSIDE DIAMETER OF HOLDING TUBE (Inches)	16. HOLDING TUBE LENGTH (Inches)									
Normal		Max. <sup>3</sup>		Value at 77±2°F		Value at Other Temp		Other Temp (°F)		Units	Method Name								
0.																			
17. OTHER CRITICAL CONTROL FACTORS (Check all that apply)			18. CONTAINER DIMENSIONS (Inches and Sixteenths)			19. SCHEDULED PROCESS			20. MAXIMUM FOOD FLOW RATE (gal / min)	21. THRUPUT (containers / minute)	FOOTNOTES								
61 <input type="checkbox"/> Percent Solids			No.			Minimum Initial <sup>4</sup> Temp (°F)			Time (sec)	Temp (°F)	Least Sterilizing Value (F <sub>0</sub> ) <sup>5</sup>	Flow Correction Factor	FOOD FLOW RATE (gal / min)	THRUPUT (containers / minute)	1 For steam injection, enter volume increase and thermal expansion factors in 22.				
62 <input type="checkbox"/> Ratio of Solids to Liquids			Diameter or Length			Height or Width			Height							2 If reduced water activity is used as an adjunct to the process, specify the maximum water activity.			
63 <input type="checkbox"/> Syrup Strength			1													3 Where acidification is followed for normally low-acid fruits, vegetables or vegetable products for the purpose of thermal processing, specify the maximum finished product equilibrium pH.			
68 <input type="checkbox"/> Method of Preparation			2													4 If a critical factor is in the process.			
70 <input type="checkbox"/> Formulation			3													5 Or equivalent scientific basis of process adequacy.			
71 <input type="checkbox"/> Rehydration (specify method in 22)			4																
72 <input type="checkbox"/> Particulates (specify maximum size in 22)			5																
73 <input type="checkbox"/> Other (specify in 22)			6																
22. COMMENTS					AUTHORIZED COMPANY REPRESENTATIVE														
					NAME (Type or Print)					TITLE									
					SIGNATURE					DATE		PHONE NO.							

FORM FDA 2541c (10/08)

PREVIOUS EDITION IS OBSOLETE.

PSC Graphics: (301) 443-1090 EF

Fonte: USFDA (2008b).





**Anexo III** - Especificações assépticas para os equipamentos dos sistemas  
assépticos

PRODUCT STERILIZER SPECIFICATIONS	
1.	Sterilizing medium
2.	Minimum sterilizing temperature
3.	Minimum time
4.	Minimum back pressure

START UP SPECIFICATIONS TO ACHIEVE COMMERCIAL STERILITY IN SPECIFIED EQUIPMENT AREAS							
		(a) Filling Chamber	(b) Filing Equipment	(c) Sterilizing Chamber for Containers	(d) Sterilizing Chamber for Lids	(e) Container Closing Area	(f) Container Closing Equipment
5.	Sterilizing Medium used						
6.	Minimum Temperature of Sterilizing Medium (°F)						
7.	Minimum flow rate (gal/min)						
OR							
8.	Minimum pressure of sterilizing medium (psi)						
9.	Minimum time for circulating (exposure to) the sterilizing medium (min)						

*Continua...*

<u>SPECIFICATIONS TO ACHIEVE AND/OR MAINTAIN (AS INDICATED) COMMERCIAL STERILITY OF SPECIFIED EQUIPMENT AND/OR AREAS</u>					
		(a)	(b)	(c)	(d)
		<u>Achieve and Maintain</u>		Filing Area	Closing Area
		<u>Containers</u>	<u>Lids</u>	<u>Maintain</u>	<u>Maintain</u>
10.	Sterilizing Medium used				
11.	Minimum temperature of sterilizing medium				
12.	Minimum concentration of sterilizing medium (if chemical)				
13.	Minimum exposure time				
OR					
14.	Maximum Conveyor Speed				
15.	FOR STERILIZING GASES ONLY Minimum Gas flow rate through chamber				
OR					
16.	Minimum gas pressure required in chamber				

<u>SPECIFICATIONS TO FILTERS FOR THE FILLING AND CLOSING AREAS</u>		
17.	(a)	Maximum operating time interval
	(b)	Sterilization cycles permitted between filter changes

Fonte: USFDA (2001d).

## **Anexo IV** - Lista de verificação dos processamentos

### LISTA DE MATERIAIS E PROVIDÊNCIAS PARA OS PROCESSAMENTOS ASSÉPTICOS

Atualização: 27/05/2009

Materiais permanentes da planta piloto

- Bobina de plástico da embaladeira
- Elementos filtrantes de água
- Extensão elétrica (2)
- Ebulidor
- Balança
- Calculadora
  
- Anéis de vedação
- Placa de orifício
- Graxa de silicone
- Borracha de silicone
- Isqueiro
- Estilete
- Jogo de chaves Alien
- Cronômetro
- Tesoura
- Colher grande, média e pequena
- Canetas esferográficas (2)
- Canetas marcadoras (2)
- Caneta do registrador de temperatura
- Régua
- Trena
- Bloco de notas com caneta
  
- Jogo de chaves (fenda, rosca, grifo e tubulação de 1" e 1 1/2")
- Alicate
- Martelo
- Faca
- Caixa de ferramentas do homogeneizador

*Continua...*

- Luvas de proteção (4)
- Luvas de algodão (2)
- Luvas descartáveis
- Toca
- Jalecos
- Papel toalha
- Folha de alumínio
- Pano para limpeza
- Sacos de lixo (10)
- Sacolas plásticas descartáveis (3)
- Óculos de proteção (2)
- Bata (3)
  
- Fita adesiva
- Fita crepe
- Fita isolante
- Fita de vedação Teflon (PTFE)
- Fita antiaderente de PTFE
- Fita indicadora de pH
- Etiquetas adesivas
- Braçadeiras de plástico
- Fitolhos
- Barbante
- Arame
  
- Balde
- Vassouras de Nylon (2)
- Vassouras de pelo (2)
- Rodos (2)
- Rodo manual
- Escova sanitária
- Escovas de pelo com cabo (2)
- Escovas para lavagem de vidraria (2)
- Escovas de Nylon (2)
- Escovas manuais pequenas (2)
- Buchas (3)
  
- Proveta 2 L
- Becker 2 L (3)
- Becker 1 L (2)
- Becker 600 mL (2)
- Jarra de plástico (3)

*Continua...*

- Latões de 50 L (4)
- Peneira
- Funil
- Colheres de tanque (2)
- Baldes de 20 L (2)
- Baldes de 10 L (2)
- Piceta de álcool (2)
- Piceta de cloro (2)
- Piceta para detergente anticéptico
  
- Detergentes ácido (*vide* volume)
- Detergente alcalino (*vide* volume)
- Ácido peracético (*vide* volume e validade)
- Peróxido de hidrogênio (*vide* volume e validade)
- Solução de álcool 70%
- Detergente neutro em pó
- Detergente neutro líquido (3 frascos)
- Detergente neutro para higienização das mãos
- Hipoclorito de sódio
  
- Óleo do homogeneizador
  
- Água mineral

*Continua...*

## **Materiais dos laboratórios**

- Prancheta
- Papel
- Etiquetas
  
- Máscaras respiratórias para vapores orgânicos (2)
- Elementos filtrantes
  
- Caixas plásticas
- Caixas de isopor
  
- Latões de leite
- Filtro de leite
- Carrinho de latões
- Agitador de leite
  
- Reflectoquant RQflex
- Fita indicadora de  $H_2O_2$
- Fita indicadora de  $Cl_2$
- Contador de partículas
- Placas de Petri com meio de cultura
- Termômetro digital
- pHmetro

*Continua...*

## **Providências para o processamento**

### **1 semana antes**

- Agendar planta
- Agendar caldeira
- Organizar a planta com os itens da lista de verificação
- Verificar o nível de óleo no homogeneizador
- Testar o funcionamento da planta com água
  
- Comprar leite
- Agendar transporte
  
- Verificar o tempo de uso dos filtros químicos
  
- Imprimir etiquetas numeradas
  
- Preparar lista de análises do processamento
- Providenciar material para as análises do leite e do sistema asséptico
  
- Determinar concentração de solução de ácido peracético
- Determinar concentração de solução peróxido de hidrogênio

### **3 dias antes**

- Dar o alerta de higiene pessoal (cortar unhas, barbear e manter botas e uniforme limpos)
- Conduzir limpeza da planta, incluindo a pia de higienização das mãos
- Higienizar latões de leite
  
- Ligar banho d'água gelada
- Verificar o nível e posicionamento do termômetro no banho d'água gelada

### **2 dias antes**

- Pesar citrato de sódio
- Carregar o contador de partículas
- Ligar estufas e ajustar a temperatura para 35 e 55 °C
  
- Comprar água mineral

*Continua...*

- Providenciar dinheiro para o leite
- Providenciar dinheiro para refeições

## **Dia D**

- Buscar leite (Levar latões, filtro, dinheiro e receber nota fiscal)
- Pegar a chave da câmara fria
- Pegar o carrinho de latão
- Buscar refeições
  
- Verificar lista de análises do processamento
  
- Análises da água de processo
  - Cloro residual total
  
- Análises da matéria-prima
  - Acidez, estabilidade ao etanol e outras
  
- Análises da linha de processamento
  - Esterilidade da água de enxágue
  
- Análises da embalagem
  - Inspeção visual, teste de compressão manual e outros
  - Residual de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e outros
  
- Análises do produto
  - Residual de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e outros
  
- Análises da embaladeira
  - Contagem de micro-organismos
  - Contagem de partículas
  - Temperatura da solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  
- Mensurar temperatura no tanque
- Mensurar temperatura do produto
  
- Análises soluções CIP

*Continua...*

## **Dia seguinte**

- Desligar banho de água gelada
- Fechar válvulas de ar comprimido
- Desligar embaladeira
- Desligar painel de controle
  
- Higienizar máscaras de respiração de vapores orgânicos
- Guardar elementos filtrantes
- Devolução de materiais

**Anexo V** - Placas do trocador de calor com deposições de leite queimado



**Anexo V** - Câmaras incubadoras com amostras de leite UHT em embalagens estufadas, dos testes preliminares, e com amostras normais



## Anexo VI - Ficha para as análises sensoriais

### ANÁLISE SENSORIAL DE LEITE UHT INTEGRAL

Nome: \_\_\_\_\_

Por favor, prove as amostras de leite UHT integral e responda as duas perguntas\*:

**\*Favor realizar uma pequena pausa entre as degustações, com um enxágue da boca ou comendo um pedaço de biscoito água-e-sal, para minimizar o efeito da fadiga sensorial.**

1) Você normalmente consumiria este produto?

**Favor anotar o número da amostra e indicar a intenção de consumo.**

Amostra	Sim	Não
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )

2) Quanto você gostou ou desgostou de cada amostra?

	Amostra	Nota
9 - Gostei extremamente (Adorei)		
8 - Gostei muito	_____	_____
7 - Gostei moderadamente	_____	_____
6 - Gostei ligeiramente	_____	_____
5 - Nem gostei/Nem desgostei	_____	_____
4 - Desgostei ligeiramente	_____	_____
3 - Desgostei moderadamente	_____	_____
2 - Desgostei muito	_____	_____
1 - Desgostei extremamente (Detestei)		

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_