

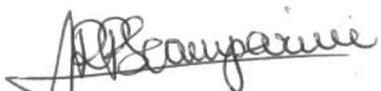
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

APLICAÇÃO DE HIDROCOLÓIDES NA ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES SIMULADAS DO LEITE DE COCO

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Marcia Paisano Soler, aprovada pela Comissão Julgadora em 18 de dezembro de 2000.

Campinas, 18 de dezembro de 2000



Prof. Dra. Adilma Regina P. Scamparini
Presidente da Banca

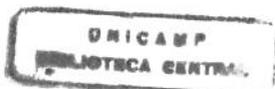
*Marcia Paisano Soler, M. Sc.
Engenheira de Alimentos*

*Prof. Dra. Adilma Regina P. Scamparini
Orientadora*

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP para obtenção do Título de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas – SP – 2000

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



200101563

UNIDADE B 2
N.º CHAMADA: T/ UNICAMP
So43a
V. _____ Ex. _____
TOMBO BC/ 43545
PROC. 16-392/02
C D
PREC. R\$ 11,00
DATA 01/02/02
N.º CPD _____



CM-00154284-0

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

So43a Soler, Marcia Paisano
Aplicação de hidrocolóides na estabilização de emulsões
simuladas de leite de coco / Marcia Paisano Soler. – Campinas,
SP: [s.n.], 2000.

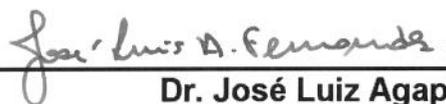
Orientador: Adilma Regina Pippa Scamparini
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Coco – Produtos. 2.Leite. 3.Proteína. 4.Superfície de
resposta (Métodos). I.Scamparini, Adilma Regina Pippa.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III.Título.

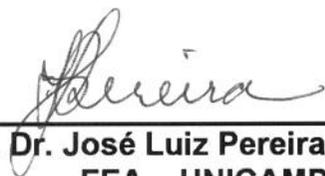
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Adilma Regina P. Scamparini (Orientadora)
FEA - UNICAMP

 FERNANDES

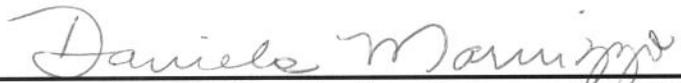
Dr. José Luiz Agapito Fernandez (Membro)
Corn Products Brasil



Prof. Dr. José Luiz Pereira (Membro)
FEA – UNICAMP



Prof. Dr. José Tadeu Jorge (Membro)
FEAGRI - UNICAMP



Dra. Daniela Martins Mariuzzo (Membro)
FEA - UNICAMP

Profa. Dra. Maria Isabel Rodrigues (Membro)
FEA – UNICAMP

Profa. Dra. Marisa Nazaré H. Jackix (Membro)
FEA - UNICAMP

Dedico esta trabalho à

Carolina, Bruno e Nathalie, meus filhos, pela paciência, incentivo e compreensão nos momentos difíceis desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

À Dra Adilma R.P. Scamparini, pela orientação , paciência e amizade que me dedicou no decorrer destes trabalhos

Ao Dr. Alfredo de Almeida Vitali pelas sugestões e críticas a este trabalho

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos que me deu a oportunidade de lutar por mais uma etapa da minha carreira profissional

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA , pelos recursos concedidos

Às empresas Ducoco, Cia Industrial do Coco, Oxiteno SA, FMC do Brasil Ind. e Com. Ltda. , Santista Alimentos – Divisão Sanbra, pela doação de material e instruções técnicas

Aos meus companheiros de trabalho Valéria A Junqueira, Katumi Yotsuyanagi, Marise Bonifácio Queiróz, Cristina Saad Ribeiro, pela contribuição profissional

Aos meus filhos, Carol , Bruno e Nata, que deixaram de ter algumas coisas em suas vidas pela opção de permanecerem ao meu lado

Aos meus pais que com sua pouca instrução tiveram a sabedoria de me deixar uma grande herança, a escola

A Autora

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE QUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
Capítulo 1. Revisão bibliográfica	
1. Histórico	1
2. Hidrocolóides aplicados na esterilização de leite de coco	3
2.1. Goma xantana.....	3
2.2. Carragenas	7
2.3. Carboximetilcelulose – CMC.....	10
2.4. Proteínas.....	16
3. Deslocamento de partículas em meio líquido.....	21
4. Referências Bibliográficas.....	26
Capítulo 2. Aplicação de hidrocolóides na estabilização de emulsões simuladas do leite de coco	29
Summary	30
Resumo.....	30
1. Introdução.....	31
2. Material e métodos.....	35
2.1 Simulação do leite de coco para estudo da influência dos seus componentes na estabilidade da emulsão.....	35
2.1.1. Formulação água-óleo	37
2.1.2. Formulação água/óleo acrescentando-se proteína	37
Proteína isolada de coco obtida por Ultrafiltração	37
2.1.3. Formulação água/óleo/proteína acrescida de fibras	40
2.2. Medida de viscosidade e propriedades reológicas	41
Resultados e discussão	41
3.1. Simulação do leite de coco para estudo de estabilizantes	41
3.1.1. Formulação água/óleo	41
3.1.2. Formulação água/óleo/proteína	44
3.1.3. Formulação água/óleo/proteína/fibras	46
4. Conclusões	50
5. Referências Bibliográficas.....	54

Capítulo 3. Aplicação do método de superfície de resposta para avaliação...	56
da proteína de coco na estabilidade do leite de coco tipo comercial.	
Summary	57
Resumo	57
1. Introdução	58
2. Material e métodos	62
2.1. Matéria –prima	62
2.2. Obtenção das amostras de leite de coco.....	62
2.3. Proteína isolada de coco obtida por Ultrafiltração	64
2.4. Aplicação do método de superfície de resposta – MRS	66
2.5. Medida de separação de fases.....	67
2.6. Medidas de viscosidade	67
3. Resultados e discussão	67
3.1 Aplicação do método de superfície de resposta – MRS	67
3.2. Medidas de viscosidade.....	72
3.3. Medidas da separação de fases	73
4. Conclusões	75
5. Referências bibliográficas.....	76
 Sugestões para trabalhos futuros	 78
 Apêndice	 80
Avaliação da eficiência de diferentes tratamentos térmicos na estabilidade microbiológica do leite de coco.	

Índice de figuras

Capítulo 2

	Página
Figura 1. Fluxograma de processamento da emulsão simulada de água em óleo	39
Figura 2. Medidas de separação (mm) para as formulações..... água/óleo	43
Figura 3. Medidas de separação (mm) para as formulações..... água/óleo/proteína	44
Figura 4. Medidas de separação (mm) para as formulações..... água/óleo/proteína/fibras	47
Figura 5. Reograma do leite de coco comercial e da formulação 1 a 30 ⁰ C	51
Figura 6. Reograma das formulações 2 e 3 a 30 ⁰ C	52
Figura 7. Reograma da formulação 4 a 30 ⁰ C	53

Capítulo 3

Figura 1. Fluxograma de processamento das formulações com leite de coco	63
Figura 2. Fluxograma de obtenção da proteína de coco	65
Figura 3. Superfície de resposta da separação de fases (cm)..... do leite de coco em função da concentração de proteína e CMC para a 2 ^a semana de armazenamento	69
Figura 4. Superfície de resposta da separação de fases (cm)..... do leite de coco em função da concentração de proteína e CMC para a 7 ^a semana de armazenamento	70
Figura 5. Superfície de resposta da separação de fases (cm)..... do leite de coco em função da concentração de proteína e CMC para a 13 ^a semana de armazenamento	71
Figura 6. Medidas de separação de fases (cm) para o leite de coco..... para as treze semanas de ensaio	73

Índice de quadros

Capítulo 1

	Página
Quadro 1. Viscosidade da solução aquosa de CMC (cP) em função do pH e da concentração de proteína	13

Capítulo 2

Quadro 1. Formulação das emulsões óleo de coco/água contendo diferentes estabilizantes	36
Quadro 2. Formulações água /óleo/proteína contendo diferentes estabilizantes	40
Quadro 3. Formulações água /óleo/proteína acrescida de fibras contendo diferentes estabilizantes	41
Quadro 4. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água e óleo com as velocidades de spindle 20 e 50 rpm a 30 ^o C	43
Quadro 5. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água, óleo e proteína, com as velocidades de spindle 20 e 50 rpm a 30 ^o C	46
Quadro 6. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água, óleo, fibras e proteína com as velocidades de spindle 20 e 50 rpm a 30 ^o C	49
Quadro 7. Parâmetros da lei potência para o leite de coco comercial e as formulações das amostras simuladas.	50

Capítulo 3

Quadro 1. Combinação de valores da concentração de CMC e proteína de coco estabelecidos no delineamento estatístico	66
Quadro 2. Formulações e medida de viscosidade (cP) do leite de coco, para as velocidades de spindle de 20 e 50 rpm a 30 ^o C	72

1. Histórico

O Brasil é o maior produtor mundial de leite de coco industrializado, produzindo aproximadamente 15.000 t/ano, que são empregados no preparo de bebidas, doces, sobremesas, produtos de confeitaria e padaria, sorvetes e ainda na preparação de pratos típicos da culinária nacional (VITAL, M., 1999).

O leite de coco é um produto de grande importância no mercado brasileiro, uma vez que é amplamente empregado na culinária. É uma emulsão óleo em água contendo, proteínas, açúcares, sais minerais e água, sendo esta o componente que predomina.

Esse produto apresenta alguns problemas de estabilidade física, ou seja, separação das fases oleosa e aquosa e também problemas de caráter físico-químico, como é o caso da coagulação da fração protéica do leite, devido ao tratamento térmico a temperaturas elevadas (DE MARTIN et al, 1980).

Em pesquisas desenvolvidas por DE MARTIN et al (1980), ficou demonstrada a viabilidade do emprego de uma combinação de 0,30% de Tween 80 (polisorbato 80) e 0,4% de carboximetilcelulose de sódio, CMC de alta viscosidade, porém o produto obtido apresentou uma viscosidade superior à do produto comercial.

A esterilização comercial do leite de coco em embalagem de vidro foi estudada em função de diferentes coadjuvantes de processo, porcentagem de gordura e combinações de tempo e temperatura por TEIXEIRA NETO et al (1985 a), sendo que optou-se nesse trabalho pelo uso de CMC (alta viscosidade) como estabilizante, conteúdo de lipídeos de 30% e por fixar-se a temperatura de

esterilização de 121°C com o tempo variando de acordo com a capacidade da embalagem empregada.

SOLER et al (1990), aprimoraram os estudos de esterilização do leite de coco utilizando o sistema de autoclave rotativa Stock , Mod. Pilot- Rotor 900. As taxas de transferência de calor melhoraram muito, reduzindo o tempo de tratamento térmico de 60 para 15 minutos.

Utilizando o método estatístico de superfície de resposta, SOLER et al 1991, fizeram um estudo da determinação do balanço hidrofílico / lipofílico, HLB e da composição de estabilizantes e emulsificantes para melhorar a estabilidade física do leite de coco. Nesse trabalho estabeleceu-se que 0,15% de emulsificantes (polisorbato e monoestearato 60) combinados para se obter HLB 10 e 0,30% de CMC de alta viscosidade (1/5000) da Oxiteno, deram bom resultado, diminuindo o nível de separação do produto e evitando a solidificação da gordura na parte superior da embalagem.

Paralelamente a este trabalho de tese, foi feita a avaliação da eficiência de diferentes tratamentos térmicos na estabilidade microbiológica do leite de coco por SOLER et al 1996. Os resultados demonstraram que existe a possibilidade do desenvolvimento de clostrídios anaeróbios putrefativos , quando não se utiliza o método de esterilização em autoclaves com temperaturas superiores a 121^o C, portanto o tratamento à pressão atmosférica apresenta um risco potencial à saúde pública.

Pelos trabalhos descritos anteriormente pode-se observar que o ITAL tem tradição de trabalhar com o leite de coco, tanto em trabalhos científicos no

estabelecimento de tecnologia como de assessoria de implantação das tecnologias desenvolvidas nas empresas, sendo reconhecido internacionalmente por esses trabalhos, prestando também assistência a outros países que industrializam essa matéria-prima. Um dos trabalhos executados foi a assessoria a países do Caribe, via Agência Brasileira de Cooperação, ABC, com elaboração de relatórios indicativos de soluções aos problemas locais identificados.

O ITAL continua prestando serviços às empresas e ao setor como é o caso da participação na definição dos Padrões de Identidade e Qualidade do Coco, PIQs do coco na tentativa de se estabelecer uma legislação que atenda às indústrias e garanta a qualidade do produto do ponto de vista de saúde pública, além de garantir a qualidade físico-química para usos em produtos alimentícios.

2. Hidrocolóides aplicados na estabilização de leite de coco

Para a estabilidade de produtos líquidos, alguns hidrocolóides se destacam devido às propriedades físico-químicas particulares, que permitem obter produtos estáveis, porém fluidos. No caso do leite de coco particularmente, baseados em trabalhos anteriores alguns são considerados mais efetivos, como é o caso das carragenas, proteínas, goma xantana e a carboximetilcelulose, isoladamente ou combinados entre si.

2.1. Goma xantana

A goma xantana é um polissacarídeo obtido da fermentação de açúcares pela

bactéria *Xanthomona campestris*. Dissolve-se rapidamente tanto em água quente como fria por agitação mecânica, dando soluções de alta viscosidade a baixas concentrações, sendo este um comportamento bem pouco usual para hidrocolóides.

As soluções de goma xantana são altamente pseudoplásticas, sendo que sua viscosidade decresce rapidamente com o aumento da taxa de cisalhamento. Esse processo é instantâneo e reversível, sua viscosidade se reduz rapidamente com o aumento da agitação e recupera instantaneamente a viscosidade inicial uma vez que a força seja suspensa. Em solução aquosa sua viscosidade é praticamente independente da temperatura, numa faixa de 10 a 70^oC uma solução com 1000cP não deverá mudar mais que 100cP. Sua viscosidade em solução aquosa é praticamente independente do pH na faixa de 6 a 9 e mostra apenas alguma alteração entre pH 1 e 11 (GRAHAM, 1977).

É uma goma compatível com a concentração de muitos sais e pode ser dissolvida diretamente em soluções de 5% de ácido acético, 25% de ácido fosfórico, 5% de hidróxido de sódio, e soluções de sódio e cálcio acima de 15% (CARNIE, 1964 in apud GRAHAM, 1977) . Suas soluções são altamente resistentes à degradação por calor, sendo essa resistência ainda aumentada pela presença de sais. Uma das suas principais aplicações é como agente sustentador de partículas, dando uma certa turbidez em bebidas cítricas devido à sustentação da polpa e à estabilização de óleos essenciais responsáveis pelo aroma nesses casos.

Existe uma interação sinérgica entre as soluções de goma xantana e as galactomananas , como a goma guar e a LBG. Essa interação pode resultar tanto

em acréscimo de viscosidade como em formação de gel. A aplicação dessas combinações são indicadas onde se deseja elevada viscosidade ou a formação de um gel (LUYTEN et al, 1993).

As galactomananas são hidrocolóides cuja cadeia de manose pode ter substituições parciais de unidades simples de galactose na cadeia lateral. A substituição não segue um modelo regular, e algumas regiões da cadeia de manose não possui substituições. As galactomananas com muito poucas cadeias laterais de galactose e mais regiões sem substituições, reagem muito mais fortemente com a goma xantana, portanto a LBG que tem uma proporção de manose para galactose por volta de 3,5 : 1, reage mais fortemente com a xantana que a goma guar, que tem uma relação de 2 : 1 (LUYTEN et al 1993). Também verificaram que no sistema as duas gomas (xantana e LBG) são importantes no comportamento de sedimentação de partículas inertes.

MUSCHIOLIK et al (1985), estudou a influência da goma xantana em emulsões estabilizadas com proteína. Normalmente num sistema água/óleo na prática são usados polissacarídeos não amiláceos (goma guar, LBG, goma xantana, e alginato) para se obter um comportamento de escoamento desejado. As altas concentrações desses componentes dão ao produto uma consistência diferente, não muito popular aos consumidores, mas não é possível eliminá-los totalmente da formulação como espessantes, devido à sua habilidade de ligação com a água e sua influência positiva na estabilidade de suas propriedades do congelamento e descongelamento desses produtos. A adição de uma proteína junto com um polissacarídeo pode ter efeito positivo nas propriedades reológicas , sendo que

combinados oferecem maiores possibilidades de acerto das propriedades de escoamento dessas emulsões. O autor conclui nesse trabalho que a combinação de uma proteína com superfície ativa com a goma xantana abre a possibilidade de produzir emulsões acidificadas com boa estabilidade de separação de gordura ou de soro e com propriedades de fluidez específicas.

Para alimentos do tipo bebidas com partículas em suspensão a goma xantana é muito eficiente porém muitas vezes, para se manter a estabilidade das partículas é necessário uma concentração alta da goma. Por outro lado, soluções com altas concentrações da goma resultam em uma viscosidade aparente muito alta e as mais baixas muitas vezes não são suficientes para manter as partículas em suspensão, uma das soluções normalmente utilizada é associá-la a uma galactomanana (MUSCHIOLIK et al, 1985).

O perfil de dependência com o tempo de separação da gordura de uma emulsão contendo 18 % em volume de óleo mineral e 2 % em peso de Tween 20 contendo goma xantana foi estudado por DICKINSON et al (1994). Um biopolímero pode ter uma influência positiva ou negativa em uma emulsão óleo em água, dependendo de um número de fatores interrelacionados com sua concentração, como sua reologia no meio aquoso, e da natureza da interação deste com as gotículas da emulsão. No caso da goma xantana a separação da gordura da emulsão é fortemente inibida pela sua alta concentração devido a imobilização de partículas dispersas num gel fraco. Quando se trabalha com concentrações de xantana abaixo do limite máximo a taxa de cremosidade é extremamente melhorada comparando-se a uma solução análoga sem polissacarídeo. Os autores estudaram a fronteira de

separação de gordura, medindo a altura da camada de emulsão formada e a de separação do soro, em função da concentração de goma xantana adicionada. Os resultados de estabilidade da emulsão foram feitos através da medida da altura das fases em relação à concentração da goma xantana em peso, variando de 0,035 a 0,173 %. Neste caso a separação de fase foi melhorando com o aumento da concentração quando comparado com a amostra padrão sem goma. Foi observado também que a adição de 50 mol/cm³ de NaCl na solução padrão não alterou o resultado porém, já nas soluções contendo a goma houve uma melhora considerável da estabilidade da emulsão.

2.2. Carragenas

GRAHAM, (1977), discute a interação iônica entre polissacarídeos sulfatados e proteínas, sendo as carragenas os mais importantes. Esses polissacarídeos contém éster de sulfato na cadeia portanto são carregados negativamente numa grande faixa de pH, sendo capazes de formar complexos com um substrato carregado positivamente, como é o caso de moléculas de proteína. A maior aplicação das carragenas são em produtos lácteos, onde interagem com a caseína, no pH normal do leite.

Além das carragenas terem habilidade de estabilizar as α -caseínas, podem também estabilizar as β -caseínas, para - caseínas, proteína de soja, proteína de amendoim, de semente de algodão, e de coco contra uma precipitação com cálcio. O mecanismo que envolve a estabilização dessas proteínas é supostamente o mesmo que o do sistema das α - caseína.

DROHAN et al (1997), estudaram os principais fatores que governam a gelificação

da mistura de leite e κ -carragena. Usando técnicas dinâmicas de reologia, foi estudado o efeito relativo da concentração de carragena, pH, forças iônicas, caseínas e proteínas de soro de leite nas propriedades dinâmicas do gel. Foi concluído que a importância da proteína de leite na formação do gel varia com a concentração de carragena: em altos níveis de concentração de κ -carragena (p. ex. 0,10% em peso) a gelificação é um resultado predominante da associação das hélices de κ -carragena produzindo um gel sustentado por ela própria. As proteínas do leite parecem ter muito pouca influência na formação do gel com altas concentrações de carragena. A baixas concentrações de carragena (0,018% em peso) as proteínas podem até impedir a formação do gel, porém a conclusão final sugere que em presença de proteína de leite a formação do gel envolve principalmente ligações cruzadas de carragena – carragena e não de carragena – caseína ou caseína – caseína. Entretanto a forte interação entre a carragena e a caseína deve ser satisfeita primeiramente, porém se não houver suficiente carragena para a formação da rede esta não terá capacidade para ser formada. O mecanismo da gelificação e as propriedades mecânicas do gel são portanto influenciados principalmente pela concentração da carragena, do meio iônico e pelo pH.

Para uma dada força iônica e determinada concentração de carragena, pode haver a interferência da proteína na formação do gel.

DAS & KINSELLA (1993), estudaram a influência de macromoléculas no tamanho das gotículas em emulsão óleo/água, utilizando goma xantana e CMC, e também que o tamanho médio das partículas independe da composição da fase dispersa.

Concluíram que o uso de proteína de soro de leite pode ajudar na obtenção de uma emulsão de "butter oil" ou de gordura vegetal. A homogeneização, a adição de Tween e a presença de componentes que aumentem a viscosidade podem reduzir o tamanho das partículas, o tamanho das gotículas decresce e fica independente da composição da fase dispersa. A adição de 0,20% de goma xantana ou de CMC aumentaram bastante a viscosidade do meio e esse grande aumento pode ser prejudicial para a estabilidade da emulsão, podendo causar floculação, reduzindo a estabilidade da coalescência.

MC MACREDIE & GEITHMAN (1997), trabalhando com formulações para "salad dressing" afirmam que devido a tecnologia moderna dos equipamentos de medida de viscosidade, esse passou a ser um fator determinante nesse tipo de formulação, embora esse não seja sozinho o fator determinante da qualidade. É certamente um fator crítico de aceitabilidade em termos de textura e percepção como corpo e sensação na boca. Neste caso é importante a realização de análises adequadas, para entender e correlacionar a viscosidade com outras variáveis importantes para a formulação de um produto de qualidade.

A viscosidade desse produto varia proporcionalmente com o conteúdo de óleo (fase dispersa), isto é, quando o conteúdo de óleo aumenta a viscosidade também aumenta. Tem também influência na viscosidade o conteúdo de hidrocolóides sendo ainda reforçado por proteínas e amidos. Quando um hidrocolóide é acrescido a uma emulsão óleo em água, a água (fase contínua), fica mais espessa, e a viscosidade da emulsão aumenta. Uma extensão lógica desse conceito é que se a concentração de óleo for reduzida, pode ser obtida uma

emulsão de viscosidade comparável aumentando-se a concentração do hidrocolóide.

Segundo MC MACREDIE & GEITHMAN (1997) a γ -carragena é usada em molhos imitação maionese e na redução de gordura de molhos de colher para salada (molhos cremosos), normalmente interagem com o amido, reduzindo seu nível de aplicação, enquanto mantém a viscosidade alta porém realçando o sabor. A λ -carragena é solúvel em sistemas frios e interagem com proteínas do leite conferindo textura e viscosidade, já a γ - carragena também pode ser usada a frio para evitar separação de gorduras e suspensão de partículas.

2.3. Carboximetilcelulose - CMC

A carboximetilcelulose é um éter de celulose solúvel em água, obtido através da reação do monocloroacetato de sódio com celulose alcalina. Sua habilidade de suspender sólidos, controlar a viscosidade de soluções aquosas, e formar filmes resistentes é responsável pelo rápido crescimento de suas aplicações industriais desde 1947. Foi facilmente introduzida para substituir gomas naturais e um novo mercado se desenvolveu baseado nas suas propriedades particulares. Um grande volume dessa celulose é aplicada na indústria de papel e têxtil, detergentes e fluido de perfuração de poços de petróleo (HIRATA et al, 1991).

A CMC é utilizada em todas as aplicações onde são indicados os colóides hidrofílicos. Suas propriedades básicas que reforçam seu valor comercial são sua habilidade de espessar a água, suspender sólidos em meio aquoso, estabilizar emulsões, absorver umidade da atmosfera, e formar filmes. Essas propriedades podem e tem sido usadas nas mais diferentes aplicações (HIRATA et al, 1991).

Estudos para aplicação em alimentos mostram que a CMC é fisiologicamente inerte quanto à toxicidade crônica ou aguda. Como ligante ou espessante é usada para controlar a consistência em geléias, recheios de tortas, queijos para untar, e em rações para animais. Sua ação de formar pontes com água, retarda o crescimento de cristais em sorvetes e produtos de açúcar, recobrimento ("glazy"), cristalização, preparo de xaropes e coberturas para sobremesas. Também é usada para aumentar o volume e melhorar o frescor de bolos e outros produtos de panificação, é excelente agente de textura e tem um efeito colóide protetor em aromas e molhos para saladas (BATDORF & ROSSMAN, 1973).

A CMC segundo HIRATA et al (1991) tem um tipo de comportamento de fluido denominado pseudoplástico, uma forma de fluido não Newtoniano. Esse comportamento é devido à tendência das longas cadeias de se orientarem na direção do fluxo; se a força aplicada aumenta, a resistência ao fluxo (viscosidade), conseqüentemente diminui. Usando a menor força numa mesma solução, a viscosidade aparente é a mais alta possível devido a orientação ao acaso das moléculas presentes no meio que aumentam a resistência do fluxo.

As soluções de CMC de baixo peso molecular possuem viscosidade baixa e são menos pseudoplásticas do que as de alto peso molecular. No entanto, a muito baixas taxas de cisalhamento, todas as CMC se aproximam do comportamento Newtoniano.

A viscosidade da solução de CMC diminui com o aumento da temperatura. Em condições normais, o efeito da temperatura é reversível, portanto o aumento ou a diminuição da temperatura da solução não causa um efeito característico

permanente na solução , porém longos períodos de aquecimento a altas temperaturas podem despolimerizar a CMC e reduzir sua viscosidade. Em geral as soluções de CMC costumam ter sua viscosidade máxima e melhor estabilidade a pH 7 a 9 , porém matém sua viscosidade numa faixa ampla de pH. A pH abaixo de 3 pode ocorrer precipitação de ácido livre liberado pelo polímero e acima de 10 é observado um pequeno decréscimo de viscosidade.

Como regra geral, cátions monovalentes formam sais solúveis de CMC, cátions divalentes formam soluções turvas de baixa viscosidade e os trivalentes formam sais insolúveis. A formação de gel da carboximetilcelulose de sódio pode ser controlada para a produção de géis industriais de graduação alimentícia, variando em consistência desde gel fraco a fluido e muito firme. Íons de metais trivalentes de alguns compostos como sulfato de alumínio hidratado, acetato básico de alumínio e fosfato férrico são os que podem ser usados para a produção de gel. Formando um quelato dos íons de metais trivalentes com certos ânions, como citrato e malato, e ajustando o pH e a temperatura, fornece um total controle na taxa da formação do gel e na consistência do gel resultante, HIRATA et al (1991).

Uma solução 0,5% de CMC, DS 0,7, alta viscosidade, pode promover a solubilização da mesma quantidade de proteína de soja na faixa do seu ponto isoelétrico, evidenciado por um grande aumento de viscosidade aparente. Essa interação entre a proteína de soja e a CMC é dependente do grau de substituição e do grau de polimerização da goma. Uma solução 0,5% de CMC, DS 0,4 , alta viscosidade, irá solubilizar 0,5% de proteína de soja, enquanto que se for usada uma CMC de viscosidade média e DS 1,2 , serão necessários 1,5% para

solubilizar 0,5% de proteína de soja. Uma CMC de baixa viscosidade com DS 0,7 não solubiliza a proteína e também não dissocia irreversivelmente o complexo.

A reação entre caseína e CMC inibe a precipitação da caseína próximo ao ponto isoelétrico e um aumento anormal da viscosidade é obtido. A caseína é aparentemente solubilizada mais rapidamente pela CMC que a proteína de soja. Para a proteína de soja em altas concentrações é evidenciado para a goma ou para o complexo goma/proteína uma ação de suspensão. O aumento da viscosidade é mais pronunciado com caseinato de cálcio quando o pH decresce.

Quadro 1. Viscosidade da solução aquosa de CMC (cP) em função do pH e da concentração de proteína

Concentração	Viscosidade da solução aquosa (cP)		
	0,5% de proteína	0,5% de CMC	0,5% de proteína + 0,5% de CMC
pH			
6,9	3	180	160
6,5	3	160	160
5,9	3	160	170
5,6	precipitada	125	330
4,7	precipitada	96	990
4,2	precipitada	82	920
4,2	precipitada	62	600

Nos sistemas alimentícios com amido a CMC é usada como fator econômico para aumento da viscosidade e da mesma forma para controlar a perda de água

por efeito de sineresis, acrescenta viscosidade ao amido antes da sua gelatinização (BATDORF & ROSMAN, 1973).

Em vários trabalhos realizados com leite de coco a CMC tem se mostrado como o hidrocoloide mais adequado à estabilidade da emulsão, tanto em tratamentos térmicos rápidos como nos mais prolongados dando um excelente resultado na proteção da proteína, evitando totalmente sua floculação.

DE MARTIN et al (1980) mostraram que associando o uso de CMC a um tratamento térmico de 90^o C seguido de um processo de homogeneização à pressão de 300 kg/cm² o leite de coco mantém sua consistência fluida, evitando-se a coagulação da proteína durante o aquecimento a altas temperaturas na esterilização.

A carboximetilcelulose de sódio foi amplamente testada por TEIXEIRA NETO et al (1985a) sendo que as CMC de alta viscosidade apresentaram os melhores resultados frente a outros espessantes. O mesmo foi confirmado por SOLER et al (1986 e 1990), quando foi comparada sua aplicação com alginato, carragenas e goma guar usando-se altas temperaturas em processo de esterilização em autoclave rotativa.

SHIN & YOON (1996) estudaram a influência da CMC no mecanismo de formação dos cristais de gelo em sorvetes. A velocidade de formação dos cristais sofre grande influência da presença de CMC porém o tamanho não, ou seja a cristalização é mais lenta, embora a presença do hidrocolóide seja bastante importante no armazenamento do sorvete reduzindo muito a velocidade de recristalização do gelo formando cristais grandes.

Algumas características funcionais da associação entre a proteína de soro de leite, WPC e carboximetilcelulose, CMC, foram estudadas por MANN & MALIC (1996) que concluíram que a associação WPC – CMC forma gel mais fraco que a WPC sozinha, porém o gel formado sem CMC é muito forte e muito elástico. A estabilidade de emulsões e espumas do complexo é muito maior que a de soluções contendo somente WPC.

PILIZOTA et al 1996 estudaram as propriedades reológicas de dispersões de CMC a baixas temperaturas, variando de 20^o C a -6^oC , usando três tipos de CMC, de ultra alta, alta e baixa viscosidade, variando também as concentrações (0,2 ; 0,5 ; 1,0 ; 1,5 e 2,0%). As propriedades reológicas das dispersões de CMC foram adequadamente descritas pelos modelos de Ostwald e Reiner como também pelo modelo de Arrhenius. Foi encontrado que o tipo de CMC, a temperatura e particularmente a concentração, influenciaram significativamente o comportamento reológico.

RODRIGUEZ et al (1996) trabalharam com formulação para sorvete substituindo-se o leite por leite de soja, utilizando CMC nessa formulação. O produto formulado teve boa aceitação organoléptica mesmo substituindo-se integralmente o leite por leite de soja e com uma concentração de 0,25 % de CMC.

A CMC foi também utilizada por LAXMINARAYANA et al (1996) na formulação de milk shake de banana instantâneo. Neste trabalho, a polpa de banana foi agregada ao leite evaporado e adicionada de 0,015% de CMC, o produto foi desidratado por spray para se obter um pó . Neste caso a CMC foi utilizada para dar corpo `a bebida ao ser reidratada.

O efeito de vários hidrocolóides com função estabilizante foram testados em yogurte congelado. Quatro formulações contendo 0,25% de CMC, propileno glicol, PGA, pectina de baixo teor de metoxil, as LMP, ou a combinação de LBG com goma guar foram utilizadas e foi verificado a influência da temperatura nas mudanças de viscosidade e fluidez do produto. Após 40 min. de congelamento o "overrun" (incorporação de ar) aumentou 53% na formulação com CMC, 50% com o PGA, 54% naquela com LMP e 35% na formulação com LBG e guar. As amostras com LMP foram as mais duras, congeladas e arenosas, a com PGA não se apresentou dura mas por outro lado ficou pegajosa e de textura muito macia (SHIN & YOON 1996).

2.4. Proteínas

Uma grande quantidade de amendoim, semente de algodão, coco e gergelim, é produzida em países deficientes em proteínas, visando sua aplicação como fontes suplementares para a alimentação humana. Cada tipo de matéria-prima tem suas características de extração e utilização. Essas proteínas concentradas tem apelo essencialmente gastronômico quando são apresentadas em forma de farinhas. A transformação desses pós em produtos alimentícios atrativos requer um processamento em meio aquoso onde a proteína é transformada numa dispersão coloidal. Pode-se então definir as propriedades funcionais de uma proteína como as propriedades físicas, químicas e organolépticas de uma proteína coloidalmente suspensa, o que afeta a estrutura, textura, aroma e cor do produto alimentício formulado, (JOHSON apud GRAHAM, 1977).

O número de propriedades funcionais desejáveis, associadas ao comportamento

da proteína em um sistema coloidal aquoso, em presença de carboidratos, gorduras, minerais e outros ingredientes alimentícios é extremamente grande, entretanto muitas dessas propriedades são difíceis de medir ou tem uma significância limitada num sistema alimentício. JOHSON (apud GRAHAM, 1977) resumiu as características desejadas das propriedades funcionais das proteínas como: fácil molhabilidade, boa dispersibilidade em água, dispersões claras numa faixa de pH ampla, características desejáveis de viscosidade, formação de gel, taxas de absorção de água controláveis, emulsificação, estabilização, espessamento, formação de massa, elasticidade , formação de filme, propriedades de aeração e pouco aroma ou aroma compatível. Outras características importantes e práticas são: ligação com gorduras, texturização, formação de fibras, pigmentação ou controle de cor.

Uma das propriedades de maior utilidade das proteínas vegetais hidratadas e em suspensão coloidal é a sua habilidade de proporcionar textura e estrutura para massas, alimentos viscosos ou gelificados. A propriedade da molécula de entumecer na fase aquosa do sistema alimentar, envolve interação entre a água, as proteínas , os carboidratos e os lipídeos. Como resultado de uma possibilidade de umidificação limitada, a absorção de água e o entumescimento da proteína normalmente aumenta, tendendo a um nível de equilíbrio segundo um determinado conteúdo de umidade e volume molecular, sendo que a viscosidade pode permanecer relativamente constante.

As proteínas , tanto de origem animal como vegetal, são usadas como emulsificantes em diversos produtos alimentícios. Em emulsões onde duas fases

imiscíveis são agitadas, forças coesivas resultam na formação de pequenas gotas em ambas as fases. As proteínas solúveis são superfícies ativas e migram para a interface óleo/água para reduzir a tensão superficial e reforçar a formação das gotículas. O desenvolvimento de uma emulsão óleo em água é reforçado pela presença de um agente emulsificante como uma proteína solúvel na fase aquosa. Além da formação da emulsão, as proteínas solúveis têm a função de estabilizar as gotículas de gordura emulsionadas. As moléculas de proteína solúveis ficam agregadas na superfície das gotículas com as cadeias de hidrocarboneto apolares orientadas em direção ao centro das gotículas de óleo e os grupos polares ionizados posicionados em direção à água. Como resultado da orientação do grupo carboxila, as gotículas adquirem uma carga superficial negativa, que é balanceada pelos íons de sódio na água circundante. Cada gotícula possui a mesma carga negativa, e as forças de repulsão servem para estabilizar a emulsão e previnem a coalescência das gotículas de óleo.

A capacidade de emulsificação de uma proteína solúvel é baseada no balanço hidrofílico / lipofílico da molécula que determina sua afinidade por óleo ou água. A composição em aminoácidos e a configuração da proteína em solução mais os efeitos do pH e as forças iônicas da fase aquosa irão definir as características de emulsão de uma proteína. Essas propriedades são difíceis de medir num sistema modelo e as interações que ocorrem num sistema complexo de emulsão não podem ser definidas, (JOHNSON, apud GRAHAN, 1977)

No trabalho desenvolvido por CAO et al (1991), foi feito o estudo da influência de polissacarídeos na separação de gordura de emulsões estabilizadas por caseína.

Foi observado que a viscosidade interfacial do filme adsorvido pela mistura proteína / polissacarídeo é muito maior do que para o filme de proteína pura. Um aumento similar da viscosidade interfacial foi encontrado para 0,025% em peso de caseinato mais 0,075% de CMC de média viscosidade. Com a xantana e a succinoglicana não ocorreu esse aumento na viscosidade de cisalhamento da superfície da proteína em presença do polissacarídeo.

A grande viscosidade de superfície do caseinato mais o CMC quando comparado ao caseinato puro mostrou a evidência da formação de um complexo entre o polissacarídeo e a proteína na interface óleo/água, em pH neutro. Já para o complexo caseinato/xantana não há evidência dessa interação interfacial proteína/ polissacarídeo.

ANTONOV et al (1994), estudaram a compatibilidade termodinâmica da proteína de leite desnatado com polissacarídeos de origem microbiana. Os diagramas de fase para os sistemas foram assimétricos, o que corresponde à concentração de proteína de leite em uma das fases. O rendimento em separação da proteína foi de 82 – 85% para uma concentração de polissacarídeo igual ou menor que 0,3%. Na fase dos polissacarídeos predominantemente foi observado o componente com menor massa molecular: α - lactoalbumina. A diferença entre a afinidade termodinâmica com relação ao solvente do polissacarídeo tem um papel determinante tanto na incompatibilidade termodinâmica como na redistribuição das moléculas de água entre as soluções dos polímeros miscíveis. O objetivo desse trabalho foi o estudo da possibilidade do uso de polissacarídeos de origem microbiana de várias estruturas para concentração de proteína de leite desnatado.

Foram utilizados três tipos de goma xantana, obtidas de formas diferentes no seu processamento, alginato e simusan (sintetizada pela bactéria *Acinetobacter* sp). A quantidade de proteína separada por unidade de massa de polissacarídeo é de 2 a 5 vezes maior que o parâmetro correspondente para CMC e pectina, parâmetros que haviam sido estudados pelo autor em trabalhos anteriores.

A adição de um polissacarídeo espessante, como a goma guar, ao leite, (TUINIER et al, 2000) pode induzir a separação de fases. A separação de fases é devida a interação entre a proteína e o polissacarídeo, resultando numa efetiva interação entre as moléculas por um mecanismo de depleção. No sentido de entender o comportamento de fases das misturas goma guar – leite, foi usado um modelo contendo micelas de caseína de um permeado de leite desnatado e a goma guar. Foi estudado o efeito da despolimerização da goma guar na estabilidade desse sistema modelo. Vários graus de goma guar degradada foram preparadas pelo aquecimento de uma solução aquosa da goma guar nativa a pH 1,5 e tempo variando de 10 – 240 min. A distribuição da massa molecular e o raio de “giro” da molécula foi determinada por cromatografia de varredura de exclusão o que indicou que a estrutura da goma é espiral de forma aleatória. Foi observado uma separação de fases quando as micelas de caseína do permeado de leite desnatado foram misturadas. Os comportamentos das fases foram observados e comparados a um modelo matemático (modelo de Vrij para interação deplectiva). Quando as amostras de guar com cadeia curta foram empregadas no modelo, a concentração do polímero na fronteira de fase aumentou. A teoria de Vrij prediz a mudança das características da fronteira de fase com a massa molecular da guar.

Foi observado também que a máxima viscosidade obtida pela solução de guar, antes da separação de fase ocorrer, se deu com o decréscimo do comprimento da cadeia, implicando que a goma guar degradada pode ser mais útil do que a goma nativa no espessamento do sistema do leite.

A taxa de agregação de uma emulsão óleo em água estabilizada de proteína de soro de leite e óleo de soja, foi avaliada por EUSTON et al (2000) em função da concentração de proteína por dispersão de laser. A agregação é maior e mais rápida a concentrações altas de proteína. A instabilidade induzida por calor aparentemente ocorre por agregação da proteína adsorvida nas superfícies das gotículas da emulsão; foi observado que a proteína desnaturada por calor não adsorvida ocorre livremente na fase aquosa contínua. A estrutura do agregado foi definida como sendo um aglomerado de gotas de óleo mantidas juntas por uma espécie de cola de proteína desnaturada. O mecanismo de agregação segue uma ordem cinética de 1,5 (a mesma encontrada pela agregação induzida por calor da beta-lactoglobulina).

3. Deslocamento de partículas em meio líquido

O termo deslocamento de macromoléculas dissolvidas e partículas coloidais dispersas, a ser considerado, irá abranger esse deslocamento sob influências de forças de campos gravitacionais e centrífugos. O termo deslocamento se manifesta em escala microscópica na forma de deslocamento Browniano e na escala macroscópica na forma de difusão ou osmose. Gravidade (ou um campo de força centrífuga) é a força motriz de uma sedimentação.

À parte das técnicas para determinar tamanho ou a superfície de partículas ou

moléculas, existe as que envolvem a medida dessa simples propriedade que é sedimentação. Quando se faz esse estudo é interessante discutir as leis que governam o deslocamento das partículas em um meio líquido (SHAW, D.J., 1994).

Taxa de sedimentação

Considerando-se a sedimentação de uma partícula descarregada de massa m e um volume específico v num líquido de densidade p . A força motriz sobre a partícula que é independente da superfície da partícula ou de sua solvatação é: $m = (1 - v p) g$ onde g é aceleração devido à gravidade local (ou mesmo um campo centrífugo). O fator $(1 - v p)$ é dado pela flutuação do líquido, o meio líquido oferece uma resistência ao deslocamento da partícula que aumenta com o aumento da velocidade. Certificado que o aumento dessa velocidade não seja muito grande, o que normalmente é o caso das partículas coloidais (partículas grandes), a resistência do líquido é, a uma primeira aproximação, proporcional à velocidade de sedimentação da partícula. Num tempo muito curto, a velocidade terminal, dx/dt é atingida quando a força motriz e a resistência são iguais:

$$f = m (1 - v p) g$$

onde f é o coeficiente de fricção da partícula naquele determinado meio.

Para partícula esféricas, o coeficiente de fricção é dado pela lei de Stokes:

$$f = 6 \pi \eta a$$

onde η é a viscosidade do meio e a é o raio da partícula. Entretanto se p_2 é a densidade da partícula esférica (no estado dissolvido ou disperso, por

exemplo $p_2 = \frac{1}{v}$), então :

$$\frac{4}{5} a^3 (p_2 - p) g = 6\pi \eta a \frac{dx}{dt}$$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{2 a^2 (p_2 - p) g}{9\eta}$$

Os desvios da Lei de Stokes assume que:

- O deslocamento de uma partícula esférica é muito lento
- Existe uma distância infinita para a partícula no meio líquido, por exemplo, a solução ou suspensão é extremamente diluída
- O meio líquido é considerado contínuo quando comparado com as dimensões da partícula. Essa adoção é válida para o deslocamento de partículas coloidais, mas não para moléculas pequenas ou íons que são comparáveis em tamanho com as moléculas constituintes do meio líquido.

Como a estabilidade física de um produto líquido consiste em estabelecer um equilíbrio de forças, a manutenção de uma suspensão é facilitada reduzindo-se ao máximo o tamanho das partículas existentes no meio por homogeneização, como é o caso do leite de coco e granulometria fina no caso do chocolate em pó para achocolatados.

A redução de tamanho de partícula, seja no caso de homogeneização ou moagem, tem como objetivo produzir partículas de tamanho uniforme, criadas pela

redução de seu tamanho, obtendo-se o máximo de partículas de tamanho reduzido (SHAW, 1994).

Como discutido anteriormente, o movimento de uma partícula em um líquido ou sua sedimentação, requer uma diferença de densidade entre a partícula e o fluido. Também é necessário uma força externa para provocar o deslocamento da partícula em relação ao fluido. Para um produto em repouso, essa força externa é a força da gravidade. Uma vez reduzido o tamanho das partículas, deve-se criar uma situação tal, de forma que evite o seu deslocamento. Se a densidade da partícula e do meio forem iguais à força de sustentação da partícula no meio, isso irá contrabalançar a força externa e a partícula não se moverá através do fluido. Quanto maior a diferença de densidade mais efetivo é o processo de separação.

Segundo a lei de Stoks, como descrito anteriormente, pode-se observar que para um mesmo tamanho de partícula, a resistência ou a força contrária à força de deslocamento das partículas no meio é proporcional à sua viscosidade. Será então suficiente aumentar a viscosidade da fase contínua para que essa resistência seja importante o suficiente para compensar as forças com tendência a deslocar as partículas. Isso pode ser obtido usando-se espessantes em dose normais (SHAW, 1994).

Por outro lado, pode-se também criar uma rede tridimensional de gel usando-se gelificantes em baixas dosagens, que formarão uma rede, permitindo o aprisionamento das partículas. Neste caso o aumento da viscosidade é pequeno. Essa rede poderá ser facilmente quebrada com um esforço mínimo, podendo porém ser recriada em seguida. Um exemplo onde se aplica esse processo é o

dos leites achocolatados.

DICKINSON et al (1991), compararam a estabilidade da emulsão óleo em água de n-tetradecano com um emulsificante lipofílico, Span 80 e um hidrofílico, caseinato de sódio, utilizando dois tipos de homogeneizadores, um de jatos (partículas de 1 μm em 40 – 60% da emulsão) e um misturador de alta velocidade (partículas de 10 μm em 95 – 98% da emulsão). A solução com partículas menores apresentou maior estabilidade e conseqüentemente menor separação.

SCHAAP, J.E. (1994), também testou a estabilidade da emulsão de gordura de leite de acordo com o tamanho de partículas usando como emulsificante proteína de soro de queijo. As variações foram feitas na concentração e desnaturação da proteína, no conteúdo de gordura e no pH da emulsão. A relação volume/diâmetro da superfície dos glóbulos de gordura foram função da pressão de homogeneização. Nesse trabalho ficou evidenciado que o tamanho de partícula tem grande influência a baixa relação proteína/gordura, à medida que essa relação aumenta essas diferenças desaparecem. O tamanho de partícula aumenta à medida que a concentração de gordura é aumentada, sendo neste caso que a viscosidade assume um papel de extrema importância. Abaixando-se o pH para 5,6 o tamanho de partícula aumenta. Entre pH 5,6 e 3,9 uma emulsão com 10% de gordura e uma relação de concentração de proteína/gordura de 0,04 não é estável.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTONOV, Y.A.; SOSHINNSKII, A.A.; GLOTOVA, Y.K.. Thermodynamic compatibility of skim milk proteins with microbial polisaccharides in aqueous media. *Applied Biochemistry and microbiology* . v. 30, n. 6, p. 760-765, 1994.
2. BATDORF, J.B. & ROSSMAN, J.M. Sodium Carboxymethylcellulose. In WHISTTLER, R.L. & BeMILLER, J.N. *Industrial Gums*. Academic Press, New York and London, p. 695-729, 1973.
4. CAO, Y.; DICKINSON, E.; WEDLOCK, D.J. Influence of polysaccharides on the creaming of casein stabilized emulsion. *Food Hydrocolloids*. v. 5, n. 5, p. 443-454, 1991.
5. DAS, K.P. & KINSELLA, J.E.. Droplet size and coalescence stability of Whey Protein stabilized Milkfat Peanut oil emulsions. *Journal of Food Science*. v.58, n. 2, p. 439-444, 1993.
6. DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L. C. dos; SILVA, M.T.C & MEDINA, J.C. Coco. Série Frutas Tropicais , Campinas, ITAL. v. 5, p. 153 - 252, 1980.
7. DICKINSON, E.; MA, J.; POVEY, M.J.W. Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids*. v. 8, n. 5, p. 481-497, 1994.
8. _____ ; EVISON, J.; OWUSU, R.K.. Preparation of fine protein-stabilized water-in-oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. v. 5, n. 5, p. 481-485, 1991.
9. DROHAN, D.D.; TZIBUOLA, A.; McNULTY, D.; HORNE, D.S.. Milk protein – carrageenan interactions. *Food Hydrocolloids*. 11 (1): 101-107, 1997.
10. EUSTON, S.R.; FINNIGAN, S.R.; HIRST, R.L.. Aggregation kinetics of heated whey protein- stabilized emulsions. *Food Hydrocolloids*. v.14, n. 2, p. 155 – 161, 2000.
11. GRAHAM, H.D. *Food Coloids*. Westport, AVI, 1977, 586p.
12. HIRATA, R., SOUZA, W.V. & PESSOAL, L. Carboximetilcelulose na indústria alimentícia, uma abordagem técnica. In SOLER, M.P. *Anais do Simpósio sobre hidrocolóides*. p.51-58, abril, 1991.

13. LAXMINARAYANA, G.S.; GHOSH, B.C.; KULKARNI, S. Technology of ready-to-use banana milk shake powder. *Journal of Food Science and Technology*, India, v. 34, n. 1, p. 41-45, 1996.
14. LUYTEN, H.; KLOEK, W.; VLIET, V. Sedimentation of a single particle in systems of xanthan with locust bean gum in relation to the rheological behaviour. *Food Hydrocolloids*, v. 7, n. 4, p. 285-298, 1993.
15. MANN, B. & MALICK, R.C. Studies of some functional characteristics of whey protein – polysaccharide complex. *Journal of Food Science and Technology*, India, v. 33, n. 3, p. 202-206, 1996.
16. MCMACREDIE, J.; GEITHMAN, L. Application of Avicel® Cellulose Gel and Marine Colloids Carrageenan in Salad Dressing. *Food Ingredients Division, FMC, Bouletin*, 1997.
17. MUSCHIOLIK, G.; SCHIMIDT, G.; ANDERSSON, O. O. Field bean protein isolated as stabilizers for food emulsions. In *Gums and Stabilisers for the Food Industry*, v.3. PHILLIPS, G. O.; WEDLOCK, D.J.; WILLIAMS, P.A. Conference Proceedings, 1985, 675p
18. PILIZOTA, V.; SUBARIC, D.; LOVRIC, T. Rheological properties of CMC dispersions at low temperatures. *Food Technology and Biotechnology*, v. 34, n. 2/3, p. 87-90, 1996.
19. RODRIGUEZ, T.; CAMEJO, J.; GARCIA, A. Utilization of soymilk in ice cream. *Alimentaria*, n. 273, p. 65-67, 1996.
20. SCHAAP, J.E.. Emulsifying effect of whey protein. *Voedingsmiddelentchnologie*, v. 27, n. 25, p. 11-13, 1994.
21. SHAW, D.J.. Colloid and Surface Chemistry. Redwood Books, Trobridge, Wiltshire, Great Britain. 4 ed., 1994, 306 p.
22. SHIN, W.S. & YOON, S. Effects of stabilizers on the texture of frozen yogurt. *Journal of Korean Society of Food Science*. 12 (1) 20 – 26, 1996.
23. SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; JUNQUEIR, V.C.A.; FADINI, A.L.. Avaliação da eficiência de diferentes tratamentos térmicos na estabilidade microbiológica do leite de coco. *Coletânea do ITAL*, Campinas, n. 26, v.2, p. 127-132, 1996.
24. SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; MATARAZZO, A.A.W.; BARUFATI, C.S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera*, L) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. *Coletânea ITAL*, Campinas, v. 21, n. 1, p. 285-96, 1991.

25. _____; VITALI, A.A.; BARUFATI, C.R.S.; FERREIRA, V.L.P.; SILVA, M.T.C.; UBOLDI EIROA, M.N. Étude de stabilité du lait du coco stérilisé en autoclave rotative. *Symposium de la Federation Internationale des Producteurs de Jus de Fruits*, 20. Paris, França, Commission Cientifique et Technique, 1990. p.421-9.
26. SOLER, M.P.; SANTANA, L.R.R. de; DE MARTIN, Z.J. Estudio de la estabilidad física de la leche de coco comercial. Avancos en Tecnologia de Alimentos. In: *Congreso Mundial de Tecnologia de Alimentos*, 2, Barcelona, Espanha, 1987. Anales... v.2. p.1061-70.
27. SOLER, M.P.; SANTANA, L.R.R.; DE MARTIN, Z.J. Estudo da estabilidade de leite de coco do tipo comercial. *Boletim do ITAL*, Campinas, 23(4): 391-107, 1986.
28. TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; GONÇALVES, J.R. and DELAZARI, I. Esterilização do leite de coco em recipiente de vidro. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p. 471-435, 1985a.
29. TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; DELAZARI, I, UBOLDI EIROA, M.N. and FERREIRA, V.L.P. Esterilização do leite de coco em escala industrial. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p. 437-446, 1985.
30. TUINIER, R.; GROTENHUIS-ETEN; DE KRUIF, C.G.. The effect of depolymerised guar gum on the stability of skim milk. *Food Hydrocolloids*, v. 14, n. 1, p. 1 – 7, 2000.
31. VITAL, M.. Entrevista concedida pelo Diretor Industrial da Cia. Industrial do Coco, DUCOCO, Fortaleza, out. 1999.

TÍTULO:

Aplicação de hidrocolóides na estabilização de emulsões simuladas do leite de coco

EQUIPE:

Marcia P. SOLER; Adilma R.P. SCAMPARINI

Marcia Paisano Soler : Pesquisador Científico do ITAL, CIAL

Av. Brasil 2880

CEP: 13071-001

Campinas- SP

e mail: soler@ital.org.br

Adilma Regina P. Scamparini: Profa. Dra. do Departamento de Ciência de Alimentos da FEA, Faculdade de Eng. de Alimentos da UNICAMP

SUMMARY

A simulated product made of coconut oil, coconut fibers and protein, and water, was used in preliminary tests, to evaluate the influence of stabilizers and the coconut protein concentration added to the product. Several types and additive combinations were tested, such as: a high viscosity carboxyl-methyl-celulose, xanthan gum, guar gum, carageenan and Tween and Span 60, mixed in a way to obtain predetermined HLBs. The samples were kept on a shelf and phase variation were measured in milimeters. Samples were also submitted to viscosity measurement. The samples were evaluated during a period of 11 weeks and the most favorable stability was obtained for the following formulation: 0,15% emulsifier (Tween and Span 60) mixed to obtaine a HLB of 10, plus 0,30% of high viscosity CMC.

RESUMO

Foi feita a simulação de emulsões imitando a formulação do produto leite de coco, com água, óleo de coco, fibras e proteína de coco para avaliar a influência da adição de estabilizantes e da concentração de proteína adicionada, na estabilidade física do produto. Foram utilizados carboximetilcelulose de alta viscosidade (CMC Aline 1/5000), goma xantana, goma guar, carragenas e ainda polisorbato e monoestearato 60 combinados com proteína de coco. As garrafas foram mantidas estáticas, armazenadas em câmara à 35⁰ C, e a separação de fases em milímetros e a viscosidade das amostras foram determinadas. Após um período de 11 semanas de avaliação da estabilidade física, a melhor

estabilidade obtida foi a do produto formulado com 0,30% de CMC e 0,15% de emulsificantes.

1.INTRODUÇÃO

O leite de coco é uma emulsão óleo em água contendo proteínas, açúcares, sais minerais e água, sendo que a água é o componente que predomina. É um produto de grande importância no mercado brasileiro, uma vez que é amplamente empregado na culinária.

O Brasil é o maior produtor mundial de leite de coco industrializado, produzindo 15.000 t/ano, que são empregados no preparo de bebidas, doces, sobremesas, produtos de confeitaria e padaria, sorvetes e ainda na preparação de pratos típicos da culinária nacional (VITAL,1999).

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

A separação das fases confere ao produto um aspecto muito desagradável, porém, pode-se minimizar esse problema com a aplicação de agentes emulsionantes. Em alguns casos pode-se utilizar uma combinação adequada de emulsificantes e espessantes de forma a se obter um efeito conjugado (SOLER, 1990).

Devido às suas características, o leite de coco é um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, dentre os quais, um dos mais preocupantes

do ponto de vista da saúde pública é o *Clostridium botulinum*, bactéria esporogênica, termorresistente e altamente patogênica. A capacidade de formar esporos permite que esta bactéria sobreviva em uma variada gama de condições desfavoráveis, tais como elevadas temperaturas. Seus esporos do tipo A e B são capazes de sobreviver de 5 a 10 horas em água à ebulição, e em presença de substâncias químicas (Alimentos Enlatados, 1983).

Segundo recomendações do FDA (Alimentos Enlatados, 1983), o leite de coco embalado em garrafas deve ser esterilizado, pois é um produto que por suas características (pH 6,0 e atividade de água 0,90) se enquadra na classificação de produto de baixa acidez, oferecendo risco de crescimento de microrganismos patogênicos. DE MARTIN et al (1980), sugeriram, como tratamento térmico, um tempo de 45 minutos a temperatura de 115°C para garrafas de vidro de 280 ml em autoclave estática.

A esterilização comercial do leite de coco em embalagem de vidro foi também estudada em função de diferentes coadjuvantes de processo, porcentagem de gordura e combinações de tempo e temperatura por TEIXEIRA NETO et al (1985a), sendo que optou-se nesse trabalho pelo uso de CMC como estabilizante, conteúdo de lipídeos de 30% e por fixar a temperatura de esterilização de 121°C com o tempo variando de acordo com a capacidade da embalagem empregada.

Trabalhando ainda em autoclave estática, SOLER et al (1987), chegaram a um bom resultado de estabilidade utilizando 0,06% da combinação de carragenato e goma guar, com 0,20% da CMC, além da homogeneização do produto em

homogeneizador " Creamery Package Stainless Steel" , Multi- Flo, Mod. 3 DDL a 60^o C em dois estágios à pressões de 150 e 50 kg/cm².

SOLER et al (1990), aprimoraram os estudos de esterilização do leite de coco utilizando o sistema de autoclave rotativa Stock , Mod. Pilot- Rotor 900. Nesse caso, as taxas de transferência de calor melhoraram muito devido à agitação, reduzindo o tempo de tratamento térmico de 60 para 15 minutos.

Utilizando o método estatístico de superfície de resposta, SOLER et al (1991), fizeram um estudo da determinação do valor do balanço hidrofílico lipofílico, HLB e da composição de estabilizantes e emulsificantes para melhorar a estabilidade física do leite de coco. Nesse trabalho, estabeleceu-se que 0,15% de emulsificantes (polisorbato e monoestearato 60) combinados para se obter HLB 10 e 0,30% de CMC de alta viscosidade (Aline CM 1/5000) da Oxiteno, deram bom resultado, diminuindo o nível de separação do produto e evitando a solidificação da gordura na parte superior da embalagem.

MUSCHIOLIK et al (1985), estudaram a influência da goma xantana em emulsões estabilizadas com proteína. Normalmente num sistema água/óleo na prática são usados polissacarídeos não amiláceos (goma guar, LBG – goma locusta, goma xantana, e alginato) para se obter um comportamento de escoamento desejado. A adição de uma proteína junto com um polissacarídeo pode ter efeito positivo nas propriedades reológicas , sendo que combinados oferecem maiores possibilidades de acerto das propriedades de escoamento dessas emulsões.

LUYTEN et al (1993) verificaram que a associação de duas gomas no sistema é importante no comportamento de sedimentação de partículas, como no caso da

combinação de xantana com galactomanana (LBG), dando o mesmo efeito na sustentação de partícula com redução da viscosidade em relação à xantana sozinha.

O perfil de dependência com o tempo de separação da gordura de uma emulsão contendo 18 % em volume de óleo mineral e 2 % em peso de Tween 20 contendo goma xantana foi estudado por DICKINSON et al (1994). Neste caso a separação de fase foi decrescendo com o aumento da concentração do hidrocolóide.

No trabalho desenvolvido por CAO et al (1991), foi feito o estudo da influência de polissacarídeos na separação de gordura de emulsões estabilizadas por caseína. A grande viscosidade da superfície de contato entre o caseinato e CMC quando comparado ao caseinato puro mostrou a evidência da formação de um complexo entre o polissacarídeo e a proteína na interface óleo/água a pH neutro.

ANTONOV et al (1994), estudaram a compatibilidade termodinâmica da proteína de leite desnatado, com polissacarídeo de origem microbiana. A quantidade de proteína separada por unidade de massa de polissacarídeo é de 2 a 5 vezes maior para a goma xantana que o parâmetro correspondente para CMC e pectina.

DROHAN et al (1997), estudaram os principais fatores que governam a gelificação da mistura de leite e κ -carragena. O mecanismo da gelificação e as propriedades mecânicas do gel foram influenciados principalmente pela concentração da carragena, pelo meio iônico e pelo pH. Para uma dada força iônica e determinada concentração de carragena, pode haver a interferência da proteína na formação do gel.

DAS & KINSELA (1993), estudaram a influência de macromoléculas no tamanho das gotículas em emulsão óleo/água, utilizando goma xantana e CMC. Concluíram que o uso de proteína de soro de leite pode ajudar na obtenção de uma emulsão de óleo de manteiga (butter oil) ou de gordura vegetal.

MCMACREDIE & GEITHMAN (1997), trabalhando com formulações para molhos de salada afirmam que devido a tecnologia moderna dos equipamentos de determinação de viscosidade, esta passou a ser um fator determinante nesse tipo de formulação, embora esse não seja sozinho o fator determinante da qualidade.

Segundo MACCREDIE & GEITHMAN, (1997) a λ -carragena é solúvel em sistemas frios e interage com proteínas do leite dando textura e viscosidade, já a γ - carragena também pode ser usada a frio para evitar separação de gorduras e suspensão de partículas.

Objetivo

Trabalhar com a simulação do leite de coco para estudar a influência dos seus principais componentes, na estabilidade física da emulsão, frente aos estabilizantes e emulsificantes testados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Simulação do Leite de Coco para estudo da influência dos seus componentes na estabilidade da emulsão.

Foram feitas formulações com os componentes mais importantes do leite de coco para efeito da estabilidade física, acertando-se sempre a composição para a do produto comercial, que contém 25% de gordura, 3,0% de proteína e 4,5% de

fibras (DE MARTIN et al ,1980). Partindo-se dos resultados obtidos por SOLER et al (1991), utilizou-se como referência uma formulação padrão contendo 0,30% de Aline CM 1/5000 SF (carboximetilcelulose de sódio) e 0,15% da mistura de Aline 600 K (polisorbato 60) e Aline ES 600 (monoestearato de sorbitana) nas proporções de 0,45% e 0,55% respectivamente, de fabricação da Oxiteno.

2.1.1. Formulação água-óleo

Foi feita uma mistura contendo 25% (em peso) de óleo de coco refinado comercial da DUCOCO, Cia Industrial do Coco e água, de forma a ajustar o teor de gordura para o padrão do leite de coco comercial. Essa mistura foi formulada com emulsificantes e estabilizantes de acordo com o **Item 2.1** (formulação padrão), acrescentando-se os estabilizantes de acordo com o apresentado no

Quadro 1.

Quadro 1. Formulação das emulsões óleo de coco / água contendo diferentes estabilizantes.

Formulações	1	2	3	4	5	6
Componentes (% em peso)						
Água	74,5 5	74,50	74,50	74,55	74,55	74,55
Óleo	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Xantana	--	0,05	0,03	--	--	--
Guar	--	--	0,02	--	--	--
Carragena (Viscarin GP-109)*	--	--	--	0,005	--	--
Carragena (Gelcarin FF-961-L)*	--	--	--	--	0,005	--
Carragena (Gelcarin DG-932-B)*	--	--	--	--	--	0,005

* Denominações do fornecedor de Carragena (FMC do Brasil)

A emulsão óleo em água foi aquecida em tacho aberto com camisa de vapor, sob agitação à 60° C, para facilitar a dispersão dos emulsificantes e estabilizantes. Uma parte da mistura foi retirada dessa dispersão, acrescentando-se os produtos sob forte agitação em um liquidificador industrial, com capacidade para 15 litros, e readicionada ao restante da mistura sob agitação, para ser efetuada a dispersão. As formulações foram então homogeneizadas em um homogeneizador marca GAULLIN a uma pressão de 150 kg/cm², embaladas a frio em garrafas padrão de leite de coco, com capacidade de 200 ml, tampadas e esterilizadas em autoclave rotativa STOCK, modelo PILOT-ROTOR 900 com F₀ de 5 min, velocidade de rotação de 24 rpm (SOLER et al, 1990). As curvas de penetração de calor foram todas registradas através de termopares colocados em garrafas em alguns pontos estratégicos da autoclave, para confirmação das temperaturas de trabalho e do F₀. O processamento está descrito no Fluxograma da **Figura1**.

2.1.2. Formulação água/óleo acrescentada de proteína

Mantendo-se o teor de gordura em 25%, utilizou-se 1,5% de proteína de coco obtida conforme descrito a seguir.

Proteína isolada de coco obtida por ultrafiltração

O coco foi quebrado, descascado, e desintegrado. Fez-se a extração do leite de coco por prensagem em peneiras vibratórias (mesh 120) para remoção dos resíduos. O pH do leite foi ajustado para 7,0 com adição de NaOH.

Centrifugou-se esse leite em Centrífuga (Westfalia Separator) Mod. WA 205-1 e o creme foi coletado (emulsão contendo 63-66% de óleo) . Esta emulsão foi

refrigerada (5 - 7° C) por 2 horas, novamente aquecida a 80° C e agitada com uma bomba de alta velocidade para quebrar a emulsão, separando-se o óleo na centrífuga. A fase aquosa passou por um processo de ultrafiltração para separação da proteína concentrada. Na ultrafiltração foram usadas as seguintes membranas ROMICON Alfa-Laval: Tipo DDS- 40-3-GR 6 com área de 4,0 m² e tipo DDS-30-GR 6 com área de 4,5 m². O concentrado protéico foi submetido a liofilização para obtenção da proteína em pó.

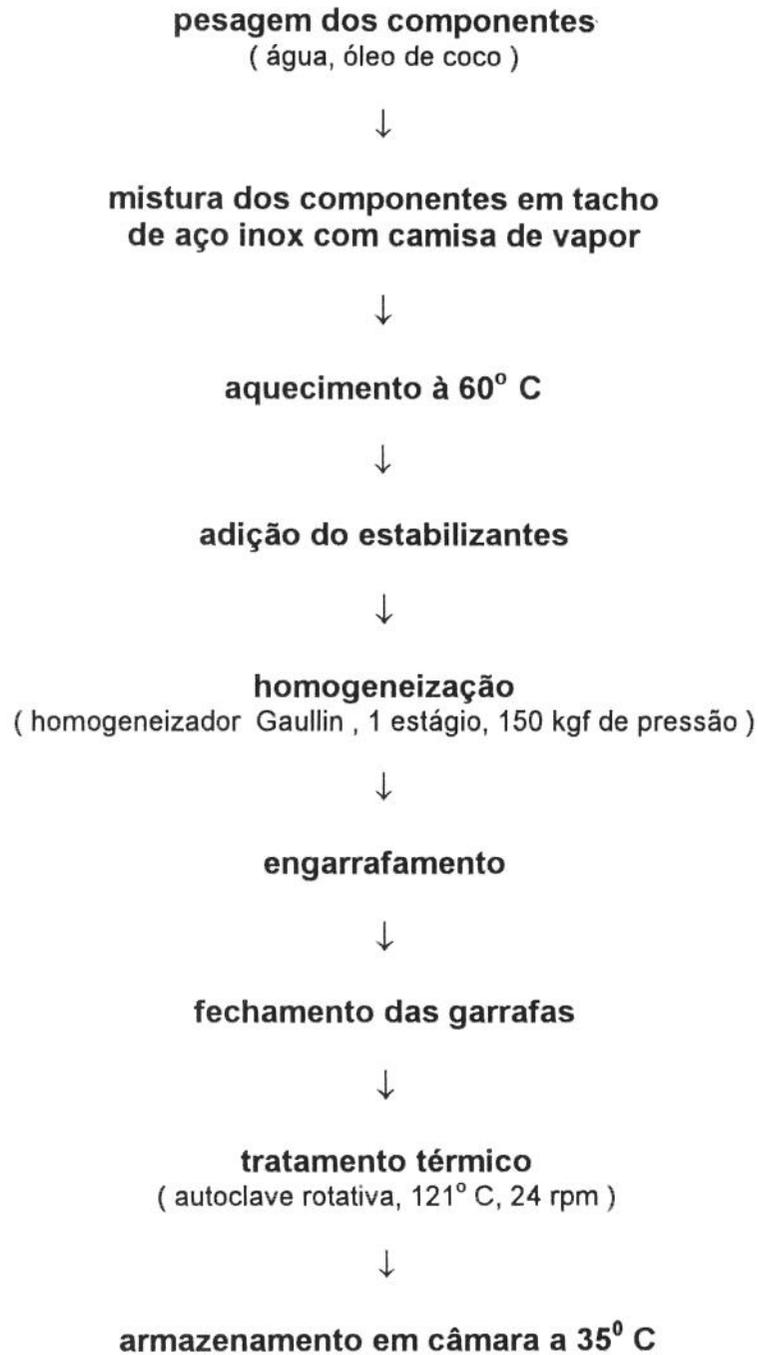


Figura 1. Fluxograma de processamento para a obtenção da emulsão simulada de água em óleo

A proteína isolada (1,5% p/p) foi incorporada à mistura acrescida dos estabilizantes e dos componentes da formulação padrão, citados anteriormente no item 2.1, conforme apresentado no **Quadro 2**.

Quadro 2. Formulações água-óleo-proteína com diferentes estabilizantes

Formulações	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Componentes (% p/p)										
Água	73,05	73,00	73,00	73,00	73,00	73,05	73,03	73,03	73,04	73,04
Óleo	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Xantana	---	0,05	0,03	---	---	---	0,07	0,042	---	---
Guar	---	---	0,02	---	---	---	---	0,028	---	---
Carragena (Viscarin GP-109)*	---	---	---	0,005	---	---	---	---	0,01	---
Carragena (Gelcarin #F-991-L)*	---	---	---	---	0,005	---	---	---	---	0,01
Proteína de coco	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

*Denominação do fornecedor de Carragena (FMC do Brasil)

Obs. Formulações 1 e 6 são formulações padrão acrescidas de proteína

2.1.3. Formulação água/óleo/ proteína acrescida de fibras.

Seguiu-se o mesmo processo do item anterior, acrescentando-se então 4,5% de fibra de coco integral (aproximadamente 3,0% de fibra desengordurada), que é a porcentagem normal no leite de coco (item 2.1). A fibra foi obtida por peneiramento do coco ralado seco integral (Cia Industrial Ducoco), utilizando-se as partículas que passaram pela peneira de mesh 14 e abertura 1190 µm. As formulações com água, óleo, fibras e proteína encontram-se descritas no **Quadro 3**.

Quadro 3. Formulações água/óleo/proteína acrescida de fibras contendo diferentes estabilizantes.

Formulações	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Componentes (% p/p)										
Água	68,55	68,50	68,50	68,55	68,55	68,55	68,53	68,53	68,54	68,54
Óleo	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Xantana	---	0,05	0,03	---	---	---	0,07	0,042	---	---
Guar	---	---	0,02	---	---	---	---	0,028	---	---
Carragena Viscarin GP - 109	---	---	---	0,005	---	---	---	---	0,01	---
Carragena Gelcarin FP - 96	---	---	---	---	0,005	---	---	---	---	0,01
Proteína de coco	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Fibra	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5

* Denominação do fornecedor de Carragena (FMC do Brasil)

Obs. As formulações 1 e 6 são as formulações padrão acrescidas de proteínas e fibras

2.2. Medida da viscosidade e parâmetros reológicos

A viscosidade das emulsões modelo dos **itens 2.1.1, 2.1.2 e 2.1.3** foi determinada em viscosímetro BROOKFIELD modelo RVT, utilizando os *spindles* 1 e 2, dependendo da faixa de viscosidade, e velocidades de 20 e 50 rpm a 30^o C.

Os parâmetros reológicos foram determinados em um reômetro HAAKE.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Simulação do Leite de Coco para Estudo dos Estabilizantes

3.1.1. Formulação água-óleo

A **Figura 2** apresenta os resultados da separação em centímetros para a simulação feita com água e óleo, medidas semanalmente. Segundo o observado, a partir da 6^a semana a separação permaneceu estável, sendo que os melhores resultados foram apresentados pela formulação **1 (Quadro 1)**, com 0,3% de CMC e 0,15% de estabilizantes (45% de SP60 + 55% de TW60) que é a

formulação padrão, e a **5**, que é a formulação padrão acrescida de 0,005% de carragena gelcarin FF-961-L. Essas duas formulações apresentaram resultados praticamente iguais.

Observa-se pelo **Quadro 4** que houve um aumento da viscosidade maior na formulação **2**, com goma xantana, em relação à formulação **1** (padrão), esse hidrocolóide apresenta altas viscosidades mesmo a baixas concentrações. Já o acréscimo de viscosidade foi menor na formulação **3** (xantana + guar), resultado também observado no trabalho de LUYTEN et al (1993).

Observou-se uma redução da viscosidade nas formulações **4, 5 e 6**, com carragena.

Comparando-se essas três formulações (**4, 5 e 6**), a formulação **6** (carragena Gelcarin DG 932) foi a que apresentou maior redução de viscosidade e também a que apresentou maior separação de fases. A carragena Gelcarin DG 932 já contém em sua composição citrato de potássio. Embora as carragenas necessitem de íons de potássio para sua melhor atuação (DROHAN et al, 1997), a performance dessa goma quando comparada com uma contendo fosfato de dipotássio (carragena Gelcarin FF-961, formulação **5**), dá resultados piores tanto quanto à viscosidade como em relação à estabilidade da emulsão. Esses resultados são confirmados pela empresa fornecedora da goma, FMC, embora não haja ainda uma explicação comprovada para esse comportamento. Devido aos resultados negativos obtidos com a formulação **6** (carragena Gelcarin DG 932), essa goma não foi usada nos ensaios posteriores.

Todas as formulações tiveram viscosidade menor a 50 rpm do que a 30, devido ao comportamento pseudoplástico dos hidrocolóides.

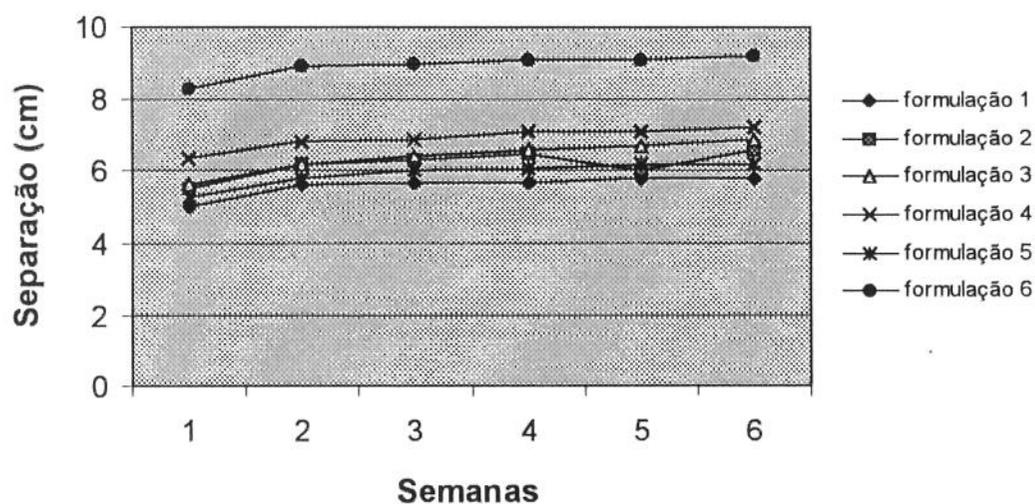


Figura 2. Medidas de separação (mm) para as formulações água/óleo

Quadro 4. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água e óleo, com velocidades de spindle 20 e 50 rpm a 30°C.

Componente	CMC %	Emulsificante %	Guar %	Xantana %	Carragena GP 109 %	Carragena FP981 %	Carragena a DG 932 %	Viscosidade cP	
								20 rpm	50 rpm
Formulação									
1	0,30	0,15	---	---	---	---	---	975,0	705,0
2	0,30	0,15	---	0,05	---	---	---	1161,25	915,0
3	0,30	0,15	0,02	0,03	---	---	---	993,75	755,0
4	0,30	0,15	---	---	0,005	---	---	750,75	610,5
5	0,30	0,15	---	---	---	0,005	---	893,0	687,5
6	0,30	0,15	---	---	---	---	0,005	710,5	596,5

3.1.2. Formulação Água/Óleo/Proteína

As medidas de separação das formulações água, óleo e proteína encontram-se na **Figura 3**, sendo determinadas até a 11ª semana, quando o produto ficou estável. As formulações **1, 2, 6, 7 e 8** (**Quadro 2**) ou seja, a formulação padrão e essa mesma combinada com goma xantana ou ainda associada à goma guar, apresentaram melhores resultados quando comparadas às outras. A presença dessas gomas mostrou uma pequena melhora nas medidas da separação.

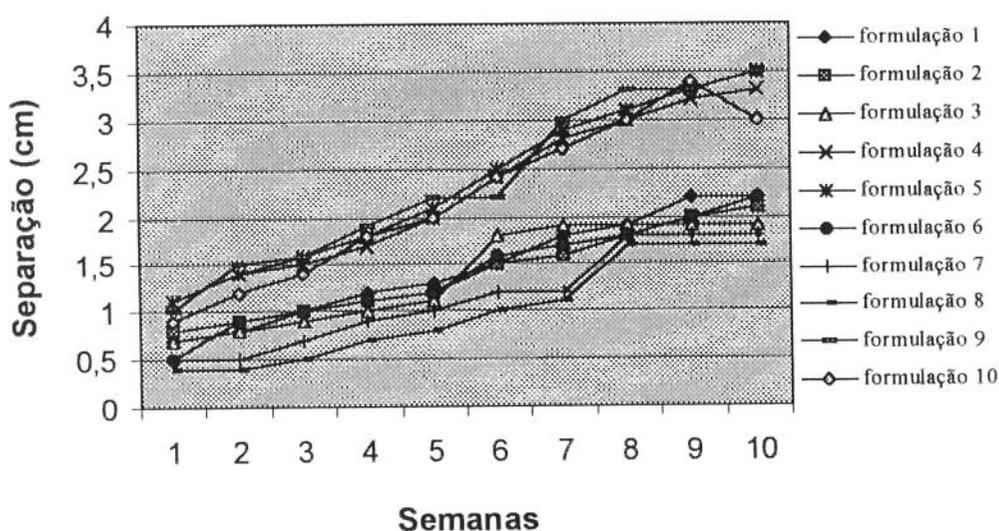


Figura 3. Medida de separação (cm) para as formulações água, óleo, proteína

Com o acréscimo da proteína às formulações, foi observado na **Figura 3**, uma grande redução na separação, e no **Quadro 5**, uma redução também na viscosidade de todas as formulações que continham as mesmas concentrações de gomas que as formulações anteriores, com água e óleo somente.

Esses resultados são compatíveis aos obtidos por MUSCHIOLIK, et al, 1985, que comprovou que a associação de goma xantana com proteína produz emulsões com boa estabilidade com relação à separação de gordura. Segundo esse mesmo autor, altas concentrações de goma dão viscosidade muito alta e a associação com guar pode reduzir um pouco esse efeito, como pode ser observado nos resultados do **Quadro 5** para as formulações **2, 3, 7 e 8**. A formulação **2** (0,5% xantana) teve viscosidade maior que a **3** (0,03% xantana + 0,02% guar), já a formulação **7** (0,07% xantana) obteve o maior valor de viscosidade de todas as formulações seguida da **8** (0,042% xantana + 0,028% guar) a 20 rpm. A formulação **9** com carragena Viscarin, apresentou um valor de viscosidade muito elevado.

Embora os resultados quanto à separação fossem bons para essas formulações, os valores de viscosidade, quando comparados à formulação padrão (**1 e 6**), foram muito altos, descaracterizando o produto.

Segundo DROHAN et al (1997), as carragenas apresentam um comportamento muito bom quanto à formação de gel quando associadas à caseína, já o resultado não foi o mesmo no caso da proteína de coco, pois a separação das emulsões foi acentuada neste caso, como pode ser observado nas formulações **4, 5, 9 e 10 (Figura 3)**. De um modo geral a adição de proteína de coco à mistura de água e óleo reduziu a separação em todas as formulações, obtendo-se resultados de estabilidade bem melhores que os anteriores (**Figura 3**) com a proteína atuando neste caso como emulsificante. A separação foi mais lenta, levando 11 semanas para atingir um resultado estável, contra 6 semanas das outras, comprovando o

trabalho realizado por CAO et al (1991), no qual ficou demonstrada a eficiência do uso de proteína como emulsificante em estabilização de emulsões do tipo óleo / água.

Quadro 5. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água, óleo, e proteína, com as velocidades de spindle 20 e 50 rpm a 30° C.

Componentes	CMC %	Emulsifican te %	Xantana %	Guar %	Carragena GP %	Carragena FF %	Viscosidade (cP)	
							20 rpm	50 rpm
Formulações								
1	0,30	0,15	-----	-----	-----	-----	544,75	490,0
2	0,30	0,15	0,05	-----	-----	-----	1158,75	807,0
3	0,30	0,15	0,03	0,02	-----	-----	950,0	690,0
4	0,30	0,15	-----	-----	0,005	-----	681,25	547,5
5	0,30	0,15	-----	-----	-----	0,005	825,0	833,5
6	0,30	0,15	-----	-----	-----	-----	544,75	490,0
7	0,30	0,15	0,07	-----	-----	-----	1425,75	980,0
8	0,30	0,15	0,042	0,028	-----	-----	1343,75	782,5
9	0,30	0,15	-----	-----	0,01	-----	1025,0	818,5
10	0,30	0,15	-----	-----	-----	0,01	1112,5	850,0

3.1.3. Formulação Água/Óleo/Proteína/Fibras

O acréscimo da fibra nas formulações simuladas alterou bastante o nível de separação, mostrando que elas têm papel importante no produto. Houve uma redução em média de 50% da separação de fases do produto, porém o resultado quanto à formulação de estabilizantes e emulsificantes foi o mesmo que o do item anterior (3.1.2.). De acordo com a **Figura 4** observa-se que a presença da goma xantana (form. **2, 3, 7 e 8**) melhora a estabilidade quando comparadas às outras

formulações, porém a diferença não é muito significativa com relação àquela com apenas CMC (formulação padrão).

As formulações com a combinação de estabilizantes e emulsificantes estão apresentadas no **Quadro 3**.

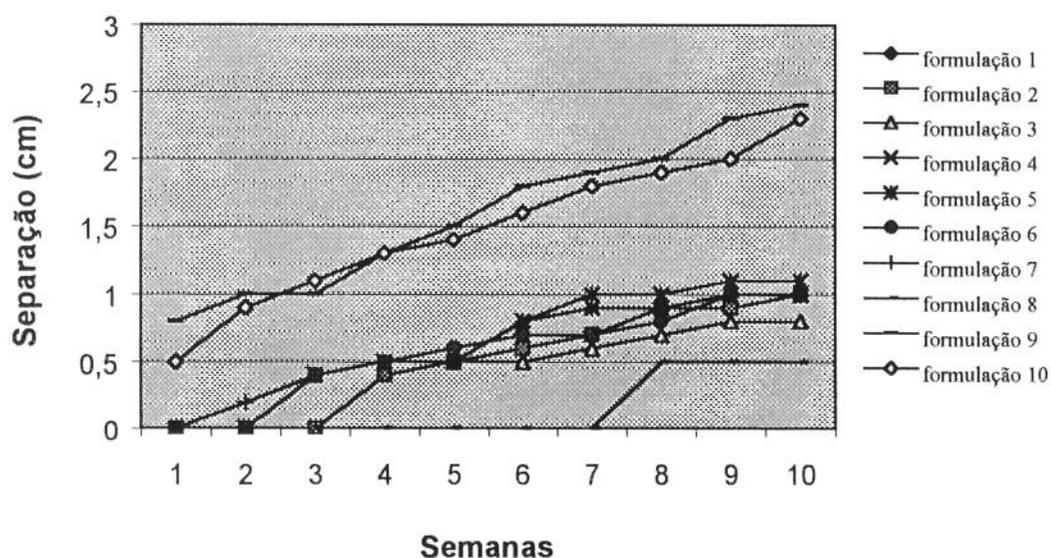


Figura 4. Medidas de separação (cm) das formulações água/óleo/proteína/fibra

As fibras de coco são partículas leves de celulose que acrescidas ao meio, junto com o processo de homogeneização, se dispersam uniformemente e acabam formando microsistemas de emulsão, reduzindo a velocidade e o nível de separação (CECA, catálogo, in SOLER et al, 1990).

Observa-se pelo **Quadro 6** que a adição de fibras reduziu ainda mais de um modo geral os valores de viscosidade para todas as formulações. Embora a adição de goma xantana, principalmente associada à goma guar, tivesse dado os melhores resultados quanto a estabilidade da emulsão (**Figura 4**), observa-se no **Quadro 6** que há um grande aumento de viscosidade das emulsões quando comparadas à formulação padrão (formulação **1** e **6**). Segundo MUSCHIOLIK et al (1985), a goma xantana é muito eficiente para bebidas com partículas em suspensão, porém, muitas vezes para manter a estabilidade das partículas é necessário uma alta concentração da goma. Também neste caso a separação foi ligeiramente menor nas formulações com xantana embora tenha ocorrido grande aumento de viscosidade, descaracterizando o produto.

Conclui-se que nenhuma formulação testada apresentou resultados melhores do que a formulação padrão já estabelecida em trabalhos anteriores (0,30% de CMC e 0,15% de emulsificantes). Embora esta formulação não dê total estabilidade ao produto, seu comportamento é muito bom com relação ao processo de esterilização e solidificação da gordura na parte superior da garrafa, além de melhorar muito a aparência geral do produto.

Quadro 6. Formulações e medidas de viscosidade (cP) para as emulsões modelo de água, óleo, fibras e proteína, com velocidade de spindle 20 e 50 rpm a 30°C.

Componentes	CMC %	Emulsificante %	Xantana %	Guar %	Carragena GP %	Carragena PF %	Viscosidade	
							20 rpm	50 rpm
Formulações								
1	0,30	0,15	—	—	—	—	452,5	385,0
2	0,30	0,15	0,05	—	—	—	1056,25	712,5
3	0,30	0,15	0,03	0,02	—	—	850,0	605,0
4	0,30	0,15	—	—	0,005	—	618,75	477,5
5	0,30	0,15	—	—	—	0,005	715,25	590,0
6	0,30	0,15	—	—	—	—	452,5	385,0
7	0,30	0,15	0,07	—	—	—	1337,5	860,0
8	0,30	0,15	0,042	0,028	—	—	987,5	685,0
9	0,30	0,15	—	—	0,01	—	975,0	700,0
10	0,30	0,15	—	—	—	0,01	1090,0	815,0

Complementando os testes reológicos foi utilizado o reômetro HAAKE. As **figuras 5, 6 e 7**, apresentam os resultados dos reogramas do leite de coco comercial e das amostras **1, 2, 3 e 4**.

Os resultados do **Quadro 7** mostram que os diferentes produtos seguem a lei de potência ($\tau = k \dot{\gamma}^N$). Observa-se que todas as amostras apresentaram $N < 1$. Quanto menor o valor de **N** (índice de comportamento de fluido) maior é a variação da viscosidade com a rotação do Brookfield, pois a taxa de deformação é função da velocidade de rotação. No caso do parâmetro **K** (índice de consistência) quanto maior for o seu valor, mais viscoso é o produto.

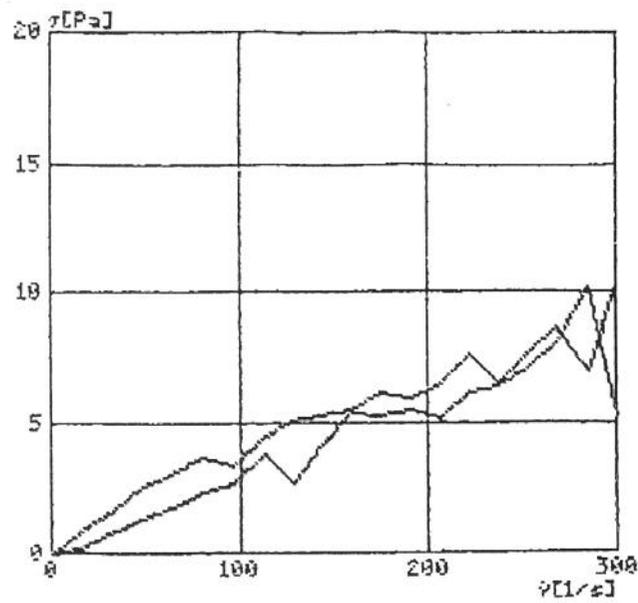
Quadro 7- Parâmetros da lei de potência para o leite de coco comercial e as formulações das amostras simuladas.

Produto	K (Pa.s ⁿ)	N (-)	%			
			CMC	xantana	guar	Carragena GP
Leite de coco	0,059	0,88	—	—	—	—
Amostra 1	2,415	0,49	0,3	—	—	—
Amostra 2	4,605	0,38	0,3	0,05	—	—
Amostra 3	2,406	0,49	0,3	0,03	0,02	—
Amostra 4	2,348	0,49	0,3	—	—	0,005

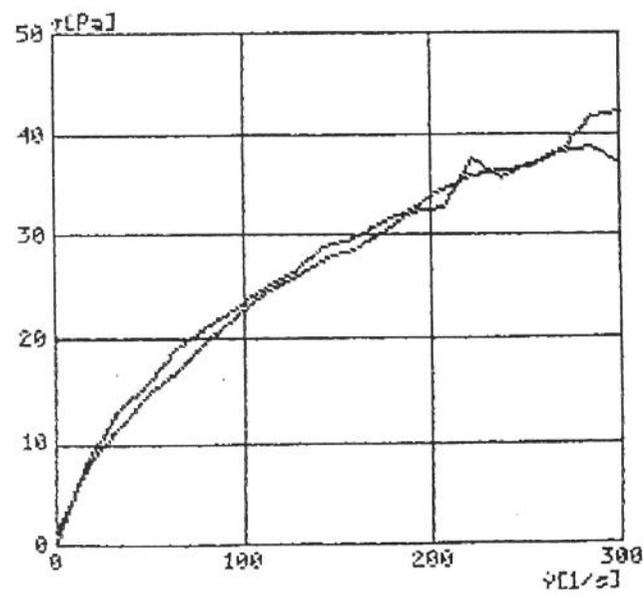
Podemos observar então que a amostra 2 é a que apresenta menor N (**Quadro 7**), sendo que pelos resultados do **Quadro 6** podemos verificar que foi a amostra que teve maior redução da viscosidade com a velocidade de rotação e da mesma maneira teve o maior resultado de K (**Quadro 7**), podendo-se observar também que é a amostra que apresenta maior valor de viscosidade (**Quadro 6**).

4.CONCLUSÕES

- A simulação do leite de coco mostrou que as fibras e a proteína são importantes para estabilidade da emulsão.
- Nenhuma das formulações testadas apresentou resultados melhores do que a formulação padrão (0,30% de CMC e 0,15% de emulsificantes).
- A separação de fases foi ligeiramente menor nas formulações contendo goma xantana, porém o aumento de viscosidade neste caso foi muito grande, descaracterizando o produto.
- As diferentes formulações seguiram a lei de potência ($\tau = k \dot{\gamma}^N$).



Leite de coco comercial



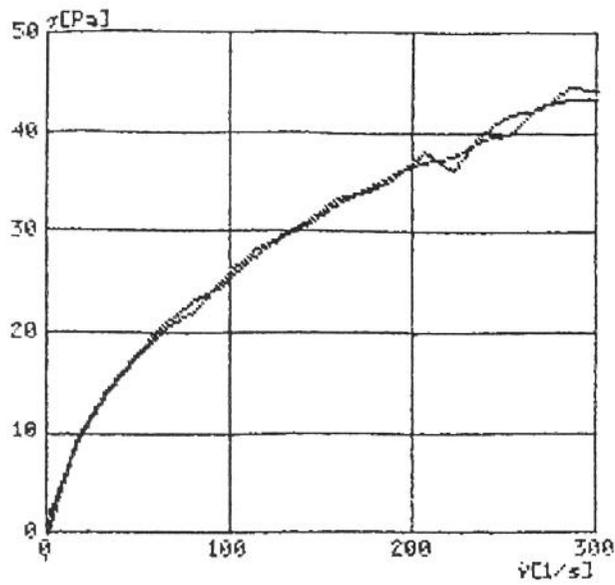
Formulação 1

Test of:
03-12-1998

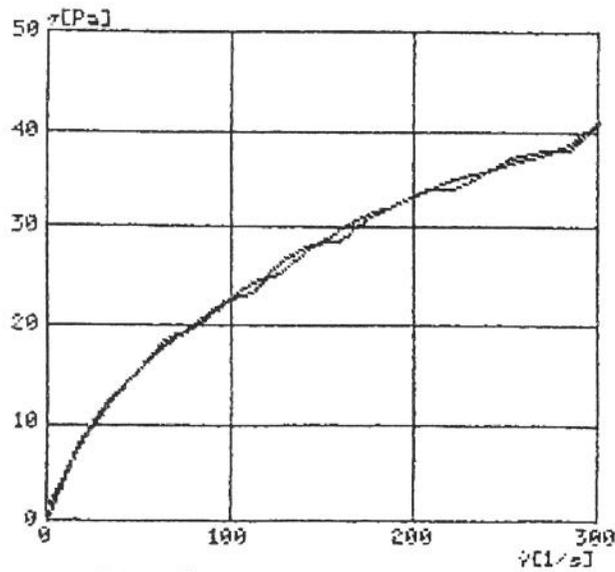
System:
CV20C/PQ45

Temperature:
30.0°C

Figura 5. Reograma do leite de coco comercial e da formulação 1 a 30°C



Formulação 2



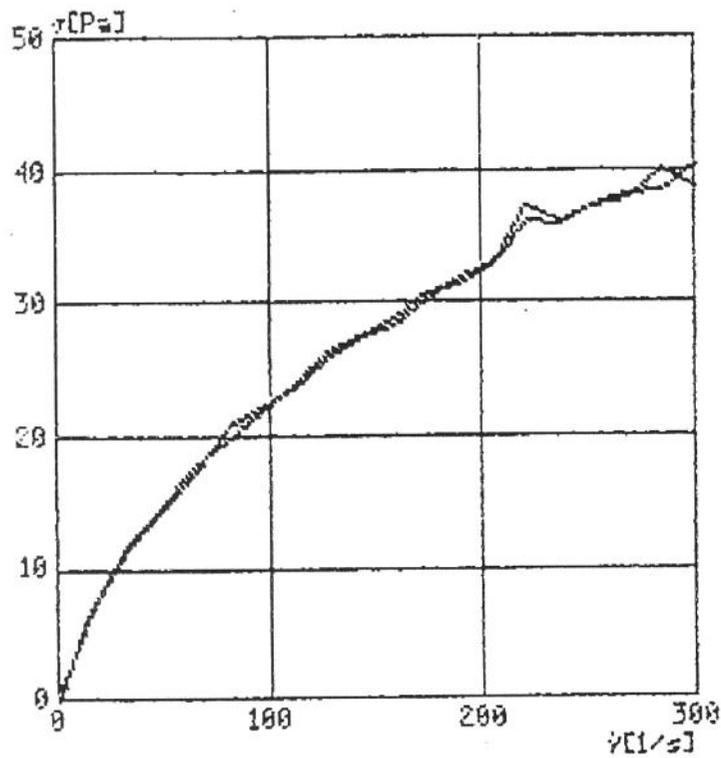
Formulação 3

Test of:
03-12-1998

System:
CV20C/PQ45

Temperature:
30.0°C

Figura 6 - Reograma da s formulações 2 e 3 à 30⁰ C



Test of:
03-12-1998
System:
CV20C/PQ45
Temperature:
30.0°C

Formulação 4

Figura 7- Reograma da formulação 4 à 30°C

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alimentos enlatados. Princípios de controle de processamento térmico, acidificação e avaliação do fechamento de recipientes. Campinas: ITAL, 1983, p. 3, 6, 7.
2. ANTONOV, Y.A.; SOSHINNSKII, A.A.; GLOTOVA, Y.K.. Thermodynamic compatibility of skim milk proteins with microbial polisacharides in aqueous media. *Applied Biochemistry and Microbiology* . v.30, n. 6, p. 760 -765, 1994.
3. CAO, Y.; DICKINSON, E.; WEDLOCK, D.J. Influence of polysaccharides on the creaming of casein stabilized emulsion. *Food Hydrocolloids*. v.5, n.5, p. 443-454, 1991.
4. DAS, K.P. & KINSELLA, J.E.. Droplet size and coalescence stability of Whey Protein stabilized Milkfat Peanut oil emulsions. *Journal of Food Science*. v.58, n.2, p. 439-444, 1993.
5. DE MARTIN, Z.J.; KATO,K.; TERUO,P.; TURATTI,J.M.; SANTOS, L. C. dos; SILVA,M.T.C & MEDINA, J.C. *Coco. Série Frutas Tropicais* , Campinas, ITAL. v.5, 1980, 153 - 252.
6. DICKINSON, E.; MA, J.; POVEY, M.J.W. Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids*. v.8, n. 5, p. 481-497, 1994.
7. DROHAN,D.D.; TZIBUOLA,A.; McNULTY,D.; HORNE, D.S.. Milk protein – carrageenan interactions. *Food Hydrocolloids*. v.11, n. 1, p. 101-107,1997.
8. GRAHAM, H.D. *Food Coloids*. Westport, AVI, 1977, 586p.
9. LUYTEN, H.; KLOEK, W.; VLIET, V.. Sedimentation of a single particle in systems of xanthan with locust bean gum in relation to the rheological behaviour. *Food Hydrocolloids*. v. 7, n. 4, p. 285-298, 1993.
10. MUSCHIOLIK,G.; SCHIMIDT,G.; ANDERSSON,O. O. Field bean protein isolated as stabilizers for food emulsions. In, *Gums and Stabilisers for the Food Industry 3*. PHILLIPS,G. O.; WEDLOCK,D.J.; WILLIAMS,P.A . Conference Proceedings, 1985, 675p
11. MCMACREDIE, J.; GEITHMAN, L.. Application of Avicel® Cellulose Gel and Marine Colloids Carrageenan in Salad Dressing. Food Ingredients Division, *FMC, Bouletin*, 1997.
12. SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; MATARAZZO, A.A.W.; BARUFATI, C.S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera*, L) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. *Coletânea ITAL*, Campinas, v.21, n. 1, p. 285-96, 1991.

13. _____; VITALI, A.A.; BARUFATI, C.R.S.; FERREIRA, V.L.P.; SILVA, M.T.C.; UBOLDI EIROA, M.N. Étude de stabilité du lait du coco stérilisé en autoclave rotative. *Symposium de la Fédération Internationale des Producteurs des Jus de Fruits*, 20. Paris, França, Commission Scientifique et Technique, 1990. p.421-9.
14. TEIXEIRA NETO (a), R.O.; VITALI, A.A.; GONÇALVES, J.R. and DELAZARI, I. Esterilização do leite de coco em recipiente de vidro. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p.435-471, 1985.
15. TEIXEIRA NETO (b), R.O.; VITALI, A.A.; DELAZARI, I, UBOLDI EIROA, M.N. and FERREIRA, V.L.P. Esterilização do leite de coco em escala industrial. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p. 437-446, 1985.
16. UBOLDI EIROA, M.N.; LEITÃO, M.F.F.; DE MARTIN, Z.J. and NATO, K. Microbiologia do leite de coco. *Coletânea do ITAL*. V. 6, p. 1-10, 1975
17. VITAL, M.. Entrevista concedida pelo Diretor Industrial da Cia. Industrial do Coco, DUCOCO, Fortaleza, out. 1999.

*Aplicação do método de Superfície de Resposta para
avaliação da proteína de coco na estabilidade
do leite de coco tipo comercial*

3

EQUIPE:

Marcia P. SOLER; Adilma R.P. SCAMPARINI

Marcia Paisano Soler : Pesquisador Científico do ITAL, CIAL

Av. Brasil 2880

CEP: 13071-001

Campinas- SP

e mail: soler@ital.org.br

Adilma Regina P. Scamparini: Prof. Dra. do Departamento de Ciência de

Alimentos da FEA, Faculdade de Eng. de

Alimentos da UNICAMP

SUMMARY

The coconut milk was obtained by pressing grated coconut in a screw press, packed into 200 ml bottles and sterilized in a revolving retort. A SRM - Surface Response Methodology - was applied to evaluate the influence of the protein concentrate added to the product and additive combinations, such as a high viscosity carboxyl-methyl-celulose, Tween and Span 60. The coconut milk samples were kept on a shelf. Samples were also submitted to viscosity measurement. The samples were evaluated during a period of 13 weeks by the response Surface Statistic Methods (RSM) and the most favorable stability was obtained for the following formulation: 0,15% emulsifier (Tween and Span 60) mixed to obtained an hydrophilic, lyophobic balance, HLB, of 10, plus 0,30% of high viscosity CMC.

RESUMO

O leite de coco foi obtido pela prensagem do coco ralado seco reidratado, engarrafado em embalagens de 200 ml e esterilizado em autoclave rotativa. A metodologia empregada foi a de Superfície de Resposta - MRS para avaliar a influência da concentração de proteína de coco adicionada ao produto combinada com carboximetilcelulose de alta viscosidade, polissorbato e monoestearato 60. As garrafas foram mantidas estáticas, armazenadas em câmara à 35^o C e após um período de 13 semanas foram avaliadas pelas curvas de contorno (MRS) obtidas com dados experimentais. Foi concluído que a proteína acrescentada não teve influência significativa na estabilidade física do produto, quando comparado ao leite de coco formulado com 0,30% de CMC e 0,15% de emulsificantes.

1. INTRODUÇÃO

O leite de coco é um produto de grande importância no mercado brasileiro, uma vez que é amplamente empregado na culinária. É uma emulsão óleo em água contendo proteínas, açúcares, sais minerais e água, sendo que a água é o componente que predomina.

Esse produto apresenta alguns problemas de estabilidade física, ou seja, separação das fases oleosa e aquosa e também problemas de caráter físico-químico, como é o caso da coagulação da fração protéica do leite, devido ao tratamento térmico em temperaturas elevadas (DE MARTIN, 1980).

Em pesquisa desenvolvida por UBOLDI EIROA et al (1975), ficou demonstrada a viabilidade do emprego de uma combinação de 0,30% de Tween 80 (polissorbato 80) e 0,4% de carboximetilcelulose de sódio, CMC, porém o produto obtido apresentou uma viscosidade superior à do produto comercial.

A esterilização comercial do leite de coco em embalagem de vidro foi estudada em função de dois diferentes coadjuvantes de processo, a porcentagem de gordura e combinações de tempo e temperatura por TEIXEIRA NETO) et al (1985a), que optaram nesse trabalho pelo uso de CMC como estabilizante, pelo conteúdo de lipídeos de 30% e por fixar a temperatura de esterilização de 121°C com o tempo variando de acordo com a capacidade da embalagem empregada. SOLER et al (1990) aprimoraram os estudos de esterilização do leite de coco utilizando o sistema de autoclave rotativa Stock , Mod. Pilot- Rotor 900. As taxas de transferência de calor foram maiores, diminuindo o tempo de tratamento térmico

de 60 para 15 minutos

Utilizando o método estatístico de superfície de resposta, SOLER et al (1991), fizeram um estudo da determinação do balanço hidrofílico – lipofílico, HLB e da composição de estabilizantes e emulsificantes para melhorar a estabilidade física do leite de coco. Nesse trabalho foi estabelecido que 0,15% de emulsificantes (polissorbato e monoestearato 60) combinados para se obter HLB 10 e 0,30% de CMC de alta viscosidade (1/5000) da Oxiteno S.A. Ind. e Comércio , deram bom resultado, diminuindo o nível de separação do produto e evitando a solidificação da gordura na parte superior da embalagem.

MUSCHIOLIK et al (1985) estudaram a influência da goma xantana em emulsões estabilizadas com proteína. As altas concentrações de polissacarídeos conferem ao produto uma consistência diferente, não muito popular aos consumidores, mas não é possível eliminá-los da formulação como espessantes, devido à sua habilidade de ligação com a água. A adição de uma proteína junto com um polissacarídeo tem efeito positivo nas propriedades reológicas, sendo que combinados oferecem maiores possibilidades de acerto das propriedades de escoamento dessas emulsões. O autor conclui nesse trabalho que a combinação de uma proteína com superfície ativa e goma xantana abre a possibilidade de produzir emulsões acidificadas com boa estabilidade de separação de gordura ou de soro e com propriedades de fluidez específicas.

O perfil de dependência com o tempo de separação da gordura de uma emulsão contendo 18% em volume de óleo mineral e 2% em peso de Tween 20 contendo goma xantana foi estudado por DICKINSON et al (1994). Neste caso, a

separação de fase foi diminuindo com o aumento da concentração, quando comparado com a amostra padrão sem goma.

No trabalho desenvolvido por CAO et al (1991) foi feito o estudo da influência de polissacarídeos na separação de gordura de emulsões estabilizadas por caseína. Foi observado um aumento da viscosidade interfacial para 0,025% em peso de caseinato + 0,075% de CMC de média viscosidade. Essa tendência também foi notada para a CMC de alta viscosidade.

DROHAN et al. (1997), estudaram os principais fatores que governam a gelificação da mistura de leite e κ -carragena. Foi concluído que a importância da proteína de leite na formação do gel varia com a concentração de carragena: a baixas concentrações de carragena (0,018% em peso) as proteínas podem até impedir a formação do gel. O mecanismo da gelificação e as propriedades mecânicas do gel são portanto influenciados principalmente pela concentração da carragena, do meio iônico e pelo pH. Para uma dada força iônica e determinada concentração de carragena, pode haver a interferência da proteína na formação do gel.

DAS & KINSELA (1993) estudaram a influência de macromoléculas no tamanho das gotículas em emulsão óleo/água, utilizando goma xantana e CMC. Concluíram que o tamanho médio das partículas independe da composição da fase dispersa, e que o uso de proteína de soro de leite ajuda na obtenção de uma emulsão de "butter oil" ou de gordura vegetal. A homogeneização reduz o tamanho das partículas, a adição de Tween e a presença de componentes que aumentem a viscosidade ajudam na estabilidade da emulsão .

ANTONOV et al (1994), estudaram a compatibilidade termodinâmica da proteína de leite desnatado, com polissacarídeos de origem microbiana. Foram utilizados três tipos de goma xantana, obtidas de formas diferentes no seu processamento, alginato e simusan. A quantidade de proteína separada por unidade de massa de polissacarídeo foi de 2 a 5 vezes maior que o parâmetro correspondente para CMC e pectina, indicando que uma emulsão com proteína e essas duas gomas são menos propensas à separação.

MCMACREDIE & GEITHMAN (1997), trabalhando com formulações de molhos para saladas afirmam que devido à tecnologia moderna dos equipamentos de medida de viscosidade, esta passou a ser um fator determinante nesse tipo de formulação, embora não seja o único fator determinante da qualidade. Certamente um fator crítico de aceitabilidade em termos de textura é a sensação na boca, neste caso é importante a realização de análises adequadas para entender e correlacionar a viscosidade com outras variáveis para a formulação de um produto com qualidade. A viscosidade desse produto varia proporcionalmente ao conteúdo de óleo (fase dispersa), isto é, quando o conteúdo de óleo aumenta, a viscosidade também aumenta. O conteúdo de hidrocolóides tem também influência na viscosidade sendo ainda reforçado por proteínas e amidos. Quando um hidrocolóide é acrescido a uma emulsão óleo em água, a fase aquosa fica mais espessa, e a viscosidade da emulsão aumenta. Uma extensão lógica desse conceito é que se a concentração de óleo for reduzida, pode ser obtida uma emulsão de viscosidade comparável aumentando-se a concentração do hidrocolóide.

Embora os estudos até então realizados para o leite de coco tenham criado uma tecnologia para industrialização desse produto com segurança microbiológica e maior estabilidade física, assegurando a qualidade do produto, existem alguns fatores que podem ainda ser estudados, principalmente no que diz respeito à influência da concentração de proteína na separação de fases e solidificação da gordura na parte superior da embalagem. No presente trabalho aplicou-se o método de Superfície de Resposta para avaliar a influência da proteína do coco na estabilização do produto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima (leite de coco)

Coco ralado seco integral com 3% de umidade e teor de gordura de 67%, procedente da Cia. Industrial DUCOCO, reidratado em partes iguais de coco e água (em peso) foi prensado para a extração do leite. Esta extração foi feita numa extratora de parafuso sem fim, FMC mod. 35, com peneira de 0,05mm de diâmetro dos furos .

2.2. Obtenção das amostras de leite de coco.

Para o processamento das amostras de leite de coco esterilizado em autoclave rotativa foi utilizado o método descrito por SOLER et al (1990), variando-se a composição dos emulsificantes e estabilizantes conforme descrito a seguir no **Quadro 1**. As amostras foram envasadas em garrafas de vidro de 200ml (**Fluxograma da Figura1**).

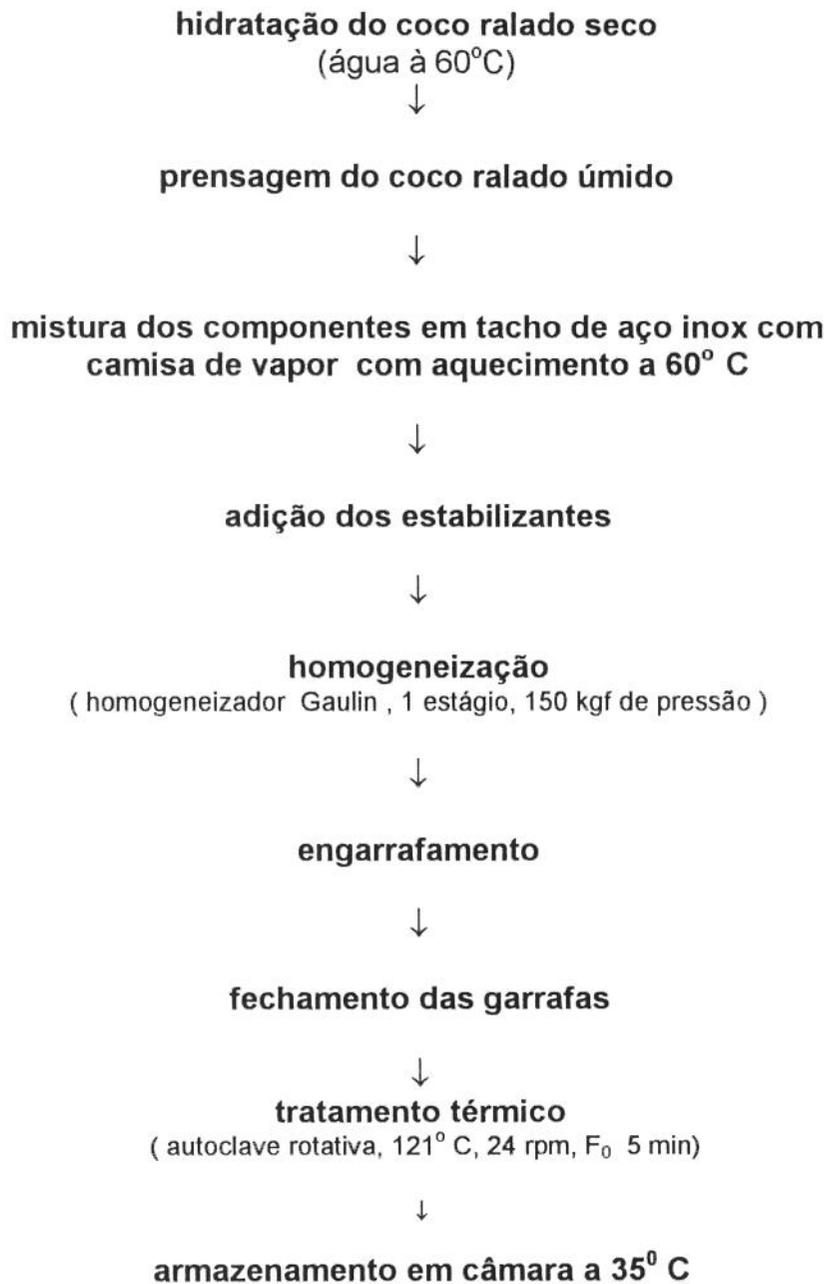


Figura 1. Fluxograma de processamento das formulações com leite de coco

2.3. Proteína isolada de coco obtida por Ultrafiltração

O coco foi quebrado, descascado, e desintegrado. Foi feita a extração do leite de coco por prensagem, passando-o em seguida por um sistema de peneiras vibratórias (mesh 120) para remoção dos resíduos. O pH do leite foi ajustado para 7,0 com adição de NaOH.

Esse leite foi centrifugado em Centrífuga (Westfalia Separator) Mod. WA 205-1 e o creme coletado (emulsão contendo 63-66% de óleo) foi refrigerado (5 - 7° C) por 2 horas, aquecido a 80° C e agitado com uma bomba de alta velocidade para quebrar a emulsão, separando-se o óleo na centrífuga. A fase aquosa restante foi para extração da proteína por um processo de ultracentrifugação para separação da proteína concentrada. Na ultracentrifugação foram usadas as seguintes Membranas ROMICON Alfa-Laval:

- Tipo DDS- 40-3-GR 6 com área de 4,0 m²
- Tipo DDS- 30- GR 6 com área de 4,5 m²

A fase aquosa recirculou pela membrana até conter mais que 25% de matéria seca na concentração final. O concentrado foi liofilizado num *freeze-drier* para a obtenção da proteína.

Esse processo de obtenção da proteína de coco apresenta-se no fluxograma da **Figura 2**.

Desintegração do coco

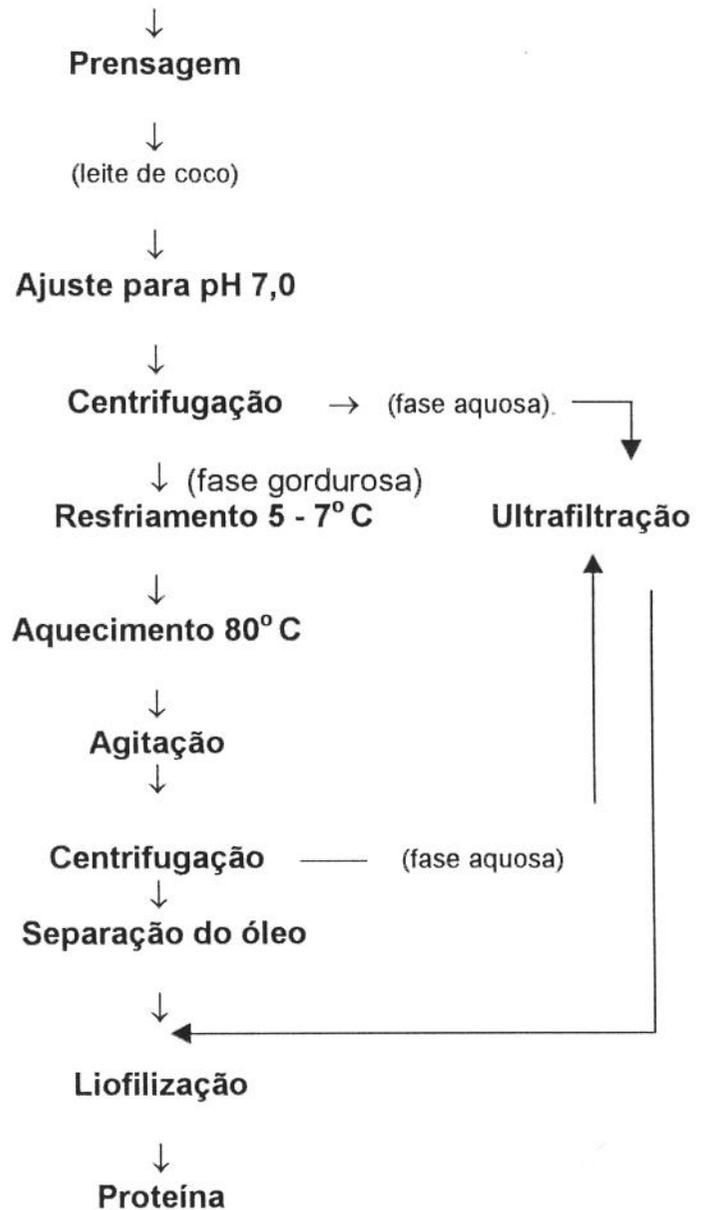


Figura 2. Fluxograma de obtenção da proteína do coco

2.4. Aplicação do método de superfície de resposta - MSR

Esta técnica estatística foi empregada com o objetivo de encontrar os valores das variáveis que minimizem ou maximizem respostas das formulações do leite de coco.

Na primeira etapa dos testes realizados com o simulado do leite de coco, (SOLER et al, no prelo) foram determinadas as variáveis de controle de processo, as quantidades de espessantes, estabilizantes e proteína para serem aplicadas à MSR, estabelecendo-se suas faixas de utilização para o delineamento estatístico .

O produto leite de coco foi estudado empregando-se a técnica de superfície de resposta utilizando-se o delineamento rotacional composto central de 2ª ordem, com dois fatores, carboximetilcelulose de sódio (CMC) e Proteína de Coco, variando-os no intervalo 0 a 0,30% e 0,5 a 1,5%, respectivamente (determinados anteriormente) e cinco pontos centrais (**Quadro 1**).

Quadro 1. Combinação de valores da concentração de CMC e Proteína de Coco estabelecidos no delineamento estatístico.

Seqüência	formulação	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
		CMC	Proteína	% CMC	% proteína
12	1	-1	-1	0,044	0,65
2	2	1	-1	0,256	0,65
1	3	-1	1	0,044	1,35
8	4	1	1	0,256	1,35
4	5	-1,414	0	0	1,0
7	6	1,414	0	0,3	1,0
5	7	0	-1,414	0,15	0,5
13	8	0	1,414	0,15	1,5
11	9	0	0	0,15	1,0
6	10	0	0	0,15	1,0
9	11	0	0	0,15	1,0
10	12	0	0	0,15	1,0
3	13	0	0	0,15	1,0

2.5. Medida de separação de fases

Foram feitas as medidas em milímetros da fase aquosa do produto nas garrafas em posição vertical, mantidas estáticas a partir do processamento. As amostras foram armazenadas em câmara a 35°C, condição em que a gordura de coco se mantém fluída e, portanto, mais favorável à separação, sendo feitas medidas semanais da altura da fronteira de separação, sendo considerado como ponto inicial o fundo da garrafa, até que o resultado se mantivesse estável.

2.6. Medida da viscosidade

A viscosidade das amostras formuladas foi medida em viscosímetro BROOCKFIELD modelo RVT e spindle 1 e 2, dependendo do hidrocolóide utilizado, nas velocidades de 20 e 50 rpm a 30°C.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Aplicação do método de superfície de resposta - MRS

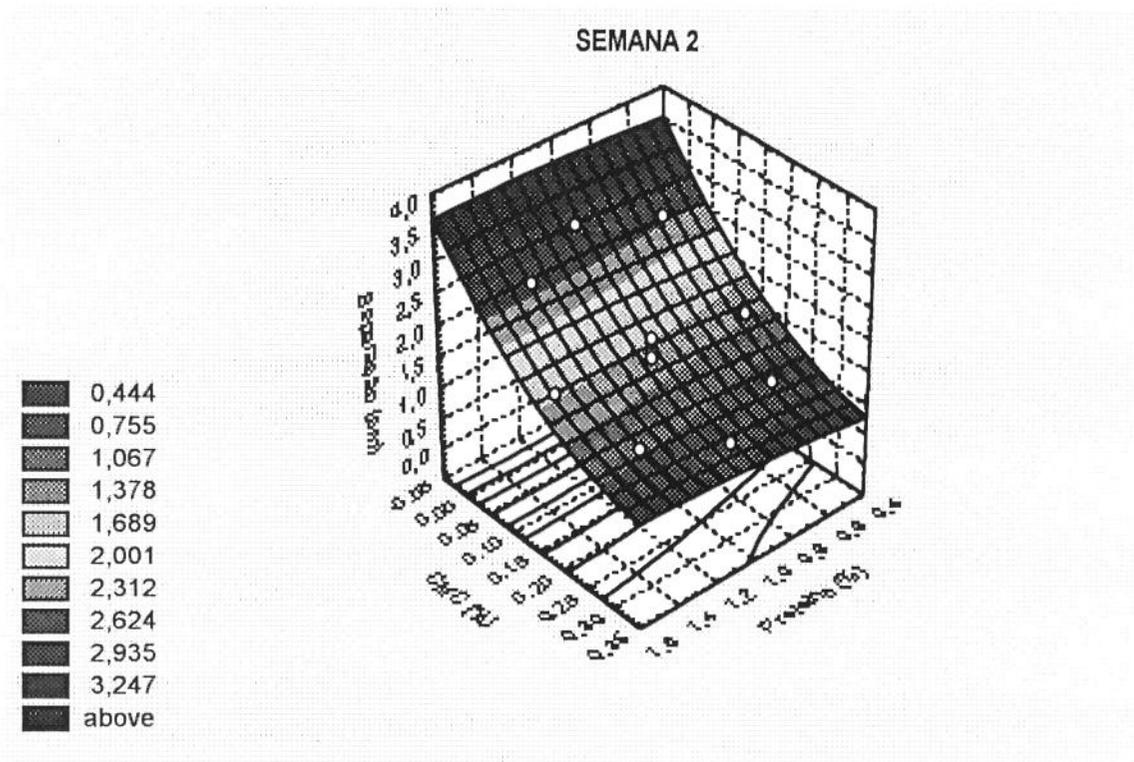
As variáveis para aplicação da Superfície de Resposta foram porcentagem de CMC e porcentagem de proteína adicionada, de acordo com a distribuição apresentada no **Quadro 1**.

Foram feitos gráficos de contorno para a resposta separação das fases de cada semana medida. As **Figuras 3, 4 e 5**, apresentam os resultados das superfícies de resposta para a 2ª, 7ª e 13ª semana. Pelas figuras pode-se observar que as curvas para a separação (cm) têm o mesmo tipo de comportamento quase paralelo ao eixo do percentual de proteínas, mostrando que o aumento da concentração de proteína praticamente não tem nenhuma influência na

estabilidade física do produto, ou seja, alterando-se a concentração de proteína para uma concentração fixa de CMC, a altura da fronteira de separação não é alterada de maneira significativa.

Esse comportamento se assemelha ao encontrado por DROHAN et al (1997), onde foram estudados os principais fatores que governam a gelificação da mistura de leite com carragena. Os autores concluíram que a importância da proteína do leite na formação do gel varia com a concentração de carragena, porém em altas concentrações de carragena o resultado é predominantemente devido ao polissacarídeo.

O mesmo foi também observado por CAO et al (1991), em seu trabalho com caseína, onde a viscosidade interfacial do filme adsorvido pela mistura proteína / polissacarídeo foi muito maior que para a proteína sem a associação do polissacarídeo, mostrando que a influência deste é maior que a da proteína, embora a combinação de ambos tenha efeitos positivos na estabilidade da emulsão.



ANOVA

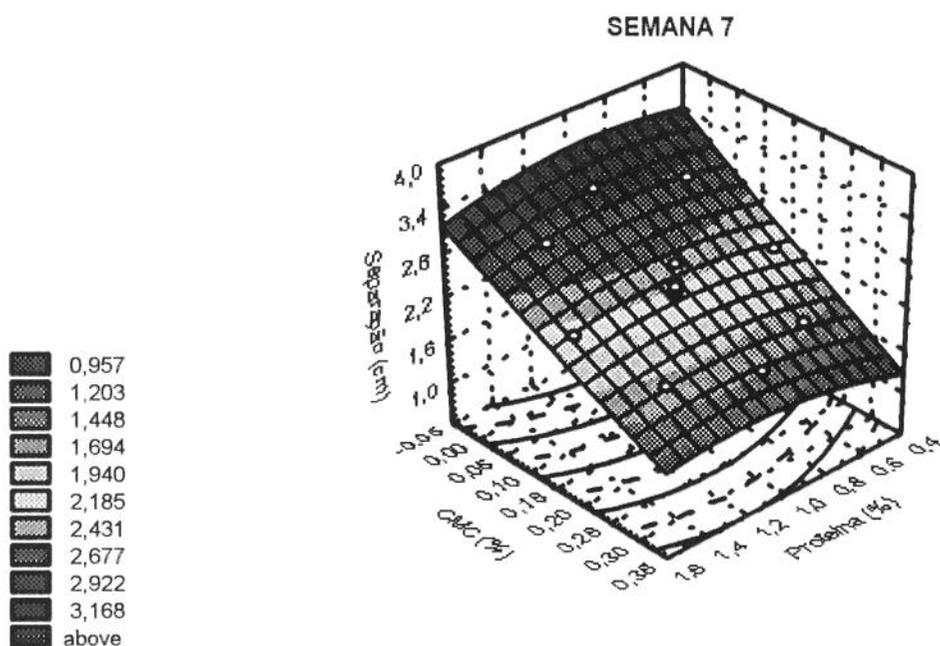
Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F Tabelado
Regressão	5,7535	1	5,7535	244,52	4,96
Resíduo	0,2588	11	0,0235		
Falta Ajuste	0,1468	7			
Erro Puo	0,1120	4			
Total	6,0123	12			

$R^2 = 0,9570$

EQUAÇÃO AJUSTADA (codificada)

$$\text{SEPARAÇÃO} = 2,5445 - 13,159 \cdot \text{CMC}$$

Figura 3. Superfície de resposta da separação (cm) de fases do leite de coco em função da concentração de proteína e de CMC para 2ª semana de armazenamento.



ANOVA

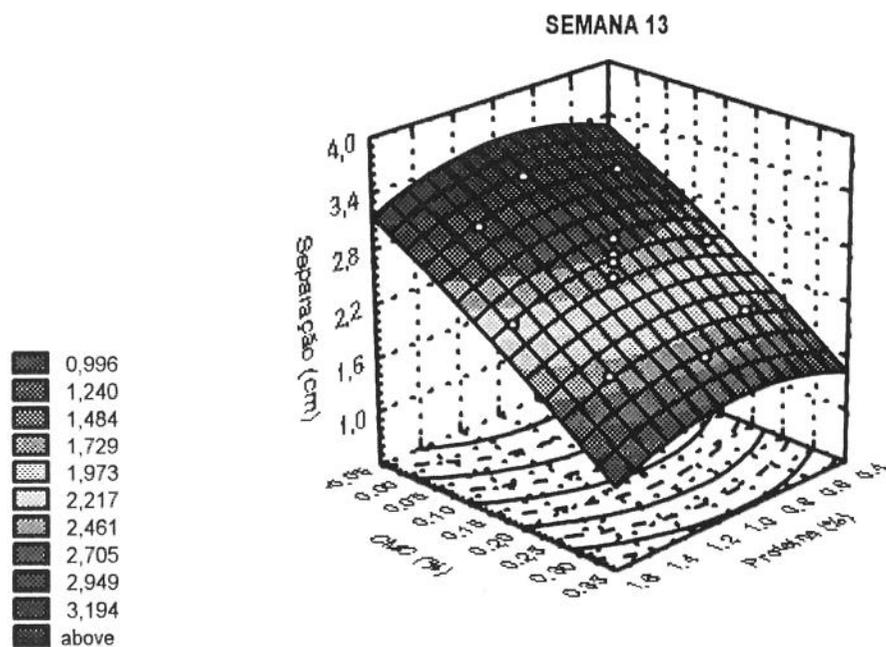
Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F Tabelado
Regressão	2,8613	1	2,8613	129,95	4,96
Resíduo	0,2479	11	0,0225		
Falta Ajuste	0,0359	7			
Erro Puo	0,2120	4			
Total	3,1092	12			

$R^2 = 0,9203$

EQUAÇÃO AJUSTADA (codificada)

$$\text{SEPARAÇÃO} = 2,5147 - 7,0996 \cdot \text{CMC}$$

Figura 4. Superfície de resposta da separação (cm) de fases do leite de coco em função da concentração de proteína e de CMC para a 7ª semana de armazenamento.



ANOVA

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F Tabelado
Regressão	2,9250	1	2,9250	194,12	4,96
Resíduo	0,1657	11	0,0151		
Falta Ajuste	0,0337	7			
Erro Puo	0,1320	4			
Total	3,0908	12			

$R^2 = 0,9464$

EQUAÇÃO AJUSTADA (codificada)

$$\text{SEPARAÇÃO} = 2,2622 - 4,6795 \cdot \text{CMC}$$

Figura 5. Superfície de resposta da separação (cm) de fases do leite de coco em função da concentração de proteína e de CMC para a 13ª semana de armazenamento.

As **Figuras 3 a 5**, mostram as superfícies de resposta da separação das fases em função das concentrações de proteína e CMC. Pela análise variância (ANOVA) observou-se que apenas a concentração de CMC foi significativa ao nível de 95% e que a análise do modelo é também altamente significativo, de tal forma que a equação ajustada dos dados codificados representa perfeitamente o fenômeno.

3.2. Medidas de viscosidade

O **Quadro 2** apresenta as formulações e os resultados das medidas de viscosidade (cP) do leite de coco, para velocidade do spindle de 20 e 50 rpm. Observa-se que tanto o aumento da concentração da CMC como a da proteína aumentaram a viscosidade do produto, porém a proteína teve uma influência maior nesses valores, pois um pequeno acréscimo de proteína alterou muito a viscosidade das formulações 8 e 13.

Quadro 2. Formulações e medidas de viscosidade (cP) do leite de coco, para velocidades de *spindle* de 20 e 50 rpm a 30^o C

Formulação	Ingrediente		Viscosidade (cP)	
	CMC (%)	Proteína (%)	20 rpm	50 rpm
1	0,044	0,65	704,0	428,0
2	0,256	0,65	776,0	544,0
3	0,044	1,35	764,0	454,0
4	0,256	1,35	1076,0	740,0
5	0	1,00	708,0	415,2
6	0,300	1,00	722,0	506,0
7	0,150	0,50	394,0	276,0
8	0,150	1,50	1522,0	974,0
9	0,150	1,00	694,0	467,2

As formulações 9 , 10, 11,12 e 13 foram repetições do ponto central.

O leite de coco comercial esterilizado apresentou a 20 rpm e a 30^oC uma

viscosidade média de 655 cP determinado por SOLER et al (1991), portanto uma nova formulação deverá apresentar viscosidade semelhante para não descaracterizar o produto.

3.3 Medidas de separação de fases

A Figura 6 apresenta a evolução da separação em função do tempo. Observa-se que a partir da quarta semana, a separação já é estável para as melhores formulações obtidas, ou seja a 2, a 4 e a 6.

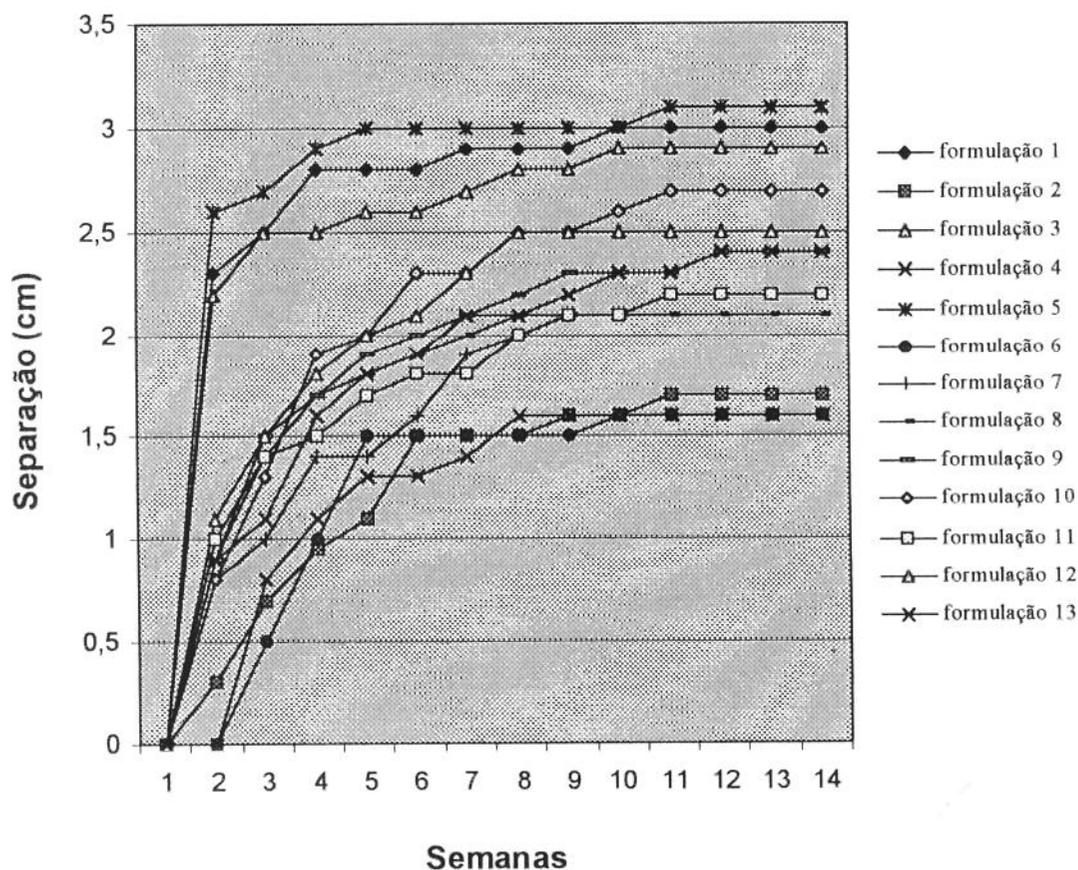


Figura 6. Medidas de separação de fases para o leite de coco (cm) para as treze semanas de ensaio

Esta observação é corroborada pelas Figuras 3 a 5, onde observa-se bastante semelhança entre as Figuras 4 e 5.

Quanto à separação, observa-se na **Figura 6**, que as formulações 2, 4 e 6 que têm maior teor de CMC, foram as que apresentaram melhores resultados, com menos de 2,0 cm de separação, após 13 semanas de armazenamento estático à 35° C.

A **Figuras 6** mostra também, como descrito acima, a evolução da separação do produto, sendo que nas duas primeiras semanas observou-se um início de separação, até a 4ª semana, período em que as amostras tiveram maior alteração de separação. A partir da 4ª, até a 13ª semana, quando foram encerrados os testes, não ocorreram grandes mudanças, sendo que as amostras estabilizaram-se nesse período.

Por esses resultados fica também evidente que a influência do polissacarídeo na estabilidade do produto é muito maior que a da proteína, uma vez que na formulação 2 (0,256% de CMC + 0,65% de proteína), na 4 (0,256% CMC + 1,35 % proteína) e na 6 (0,30% CMC + 1,0% de proteína) o teor de proteína é bastante variável para valores próximos de CMC e os resultados são praticamente iguais, concluindo-se que as melhores formulações com relação ao resultado de estabilidade foram as obtidas com os valores mais altos de CMC.

Esses resultados são condizentes aos obtidos por ANTONOV et al, 1994, indicando que a emulsão combinando CMC e proteína é de duas a cinco vezes mais estável do que quando usado outra goma (xantana e alginato).

A altura da fronteira de separação foi de 1,5 cm para as melhores formulações,

resultado considerado extremamente satisfatório, pois em alguns produtos comerciais chegam a apresentar de 4 a 5 cm de separação. Para mascarar esse aspecto desagradável as empresas costumam usar rótulos que envolvem 70% da embalagem, escondendo a separação.

4. CONCLUSÕES

- Foi observado pela avaliação das superfícies de resposta que a somente a concentração da CMC teve influência significativa na estabilidade da emulsão.
- Ficou evidenciado que alterando-se a concentração de proteína para uma concentração fixa de CMC, a altura da fronteira de separação não é alterada de maneira significativa
- Quanto à viscosidade observa-se que tanto a CMC como a proteína aumentam a viscosidade do produto, porém a proteína tem uma influência muito maior, pois um pequeno acréscimo na sua concentração altera muito a viscosidade das formulações

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTONOV, Y.A.; SOSHINNSKII, A.A.; GLOTOVA, Y.K.. Thermodynamic compatibility of skim milk proteins with microbial polisaccharides in aqueous media. *Applied Biochemistry and Microbiology* . v. 30, n. 6, p. 760-765, 1994.
6. BATDORF, J.B. & ROSSMAN, J.M. Sodium Carboxymethylcellulose. In WHISTTLER, R.L. & BeMILLER, J.N. *Industrial Gums*. Academic Press, New York and London, 695-729, 1973.
3. CAO, Y.; DICKINSON, E.; WEDLOCK, D.J. Influence of polyssaccharides on the creaming of casein stabilized emulsion. *Food Hydrocolloids*. v.5, n. 5, p. 443-454, 1993.
7. DAS, K.P. & KINSELLA, J.E.. Droplet size and coalescence stability of Whey Protein stabilized Milkfat Peanut oil emulsions. *Journal of Food Science*. v. 58, n. 2, p. 439-444, 1993.
5. DE MARTIN, Z.J.; KATO,K.; TERUO,P.; TURATTI,J.M.; SANTOS, L. C. dos; SILVA,M.T.C & MEDINA, J.C. *Coco. Série Frutas Tropicais* , Campinas, ITAL. v. 5, 1980, p. 153 – 252.
6. DICKINSON, E.; MA, J.; POVEY, M.J.W. Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids*. v. 8, n. 5, p. 481-497, 1994.
7. DROHAN,D.D.; TZIBUOLA,A.; McNULTY.D.; HORNE, D.S.. Milk protein – carrageenan interactions. *Food Hydrocolloids*. v. 11, n. 1, p. 101-107,1997.
8. MCMACREDIE, J.; GEITHMAN, L.. Application of Avicel® Cellulose Gel and Marine Colloids Carrageenan in Salad Dressing. *Food Ingredients Division, FMC, Bouletin*, 1997.
9. MUSCHIOLIK,G.; SCHIMIDT,G.; ANDERSSON,O. O. Field bean protein isolated as stabilizers for food emulsions. In *Gums and Stabilisers for the Food Industry*, v.3. PHILLIPS,G. O.; WEDLOCK,D.J.; WILLIANS,P.A . Conference Proceedings, 1985, 675p
11. SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; MATARAZZO, A.A.W.; BARUFATI, C.S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera*, L) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. *Coletânea ITAL*, Campinas, v. 21, n. 1, p. 285-96, 1991.

12. _____; VITALI, A.A.; BARUFATI, C.R.S.; FERREIRA, V.L.P.; SILVA, M.T.C.; UBOLDI EIROA, M.N. Étude de stabilité du lait du coco stérilisé em autoclave rotative. *Symposium de la Fédération International des Producteurs des Jus de Fruits*, 20. Paris, França, Commission Scientifique et Technique, 1990. p.421-9.
13. SOLER, M.P.; SANTANA, L.R.R. de; DE MARTIN, Z.J. Estudio de la estabilidad física de la leche de coco comercial. *Avances en Tecnologia de Alimentos*. In: *Congreso Mundial de Tecnologia de Alimentos*, 2, Barcelona, Espanha, Anales... v.2. 1987, p.1061-70.
14. TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; GONÇALVES, J.R. and DELAZARI, I. Esterilização do leite de coco em recipiente de vidro. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p. 471-435, 1985a.
15. TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; DELAZARI, I, UBOLDI EIROA, M.N. and FERREIRA, V.L.P. Esterilização do leite de coco em escala industrial. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, n. 4, p. 437-446, 1985b.
16. UBOLDI EIROA, M.N.; LEITÃO, M.F.F.; DE MARTIN, Z.J. and NATO, K. Microbiologia do leite de coco. *Coletânea do ITAL*. v. 6 p. 1-10, 1975.

Sugestões para trabalhos futuros

A área de processamento de derivados do coco tem muito ainda a ser estudado, seja leite de coco, coco ralado, água de coco e outros. É um setor muito grande envolvendo pesquisa agrícola e tecnológica tanto de utilização de subprodutos como da matéria prima.

Para o leite de coco, embora muita coisa já tenha sido feita, a partir de nossos trabalhos, outros estudos devem ser elaborados para a constante melhoria dessa tecnologia e adaptação para pequenas e médias empresas, que não teriam disponibilidade de equipamentos sofisticados para processamento, como por exemplo autoclave rotativa.

Para a conservação do leite de coco embalado em garrafas, seria interessante um estudo de métodos combinados de conservação, para evitar a esterilização, que embora seja um processo seguro, é caro e necessita de tecnologia bem adaptada. A acidificação leve combinada à redução de atividade de água, uso de conservadores e tratamento térmico menos enérgico poderia ser uma estratégia segura do ponto de vista microbiológico, colocando à disposição de pequenas e médias empresas, uma tecnologia adaptável às suas condições de instalações

Poderia também ser sugerido um novo estudo complementar a esse de tecnologia, que é o de segurança microbiológica, repetindo-se o estudo de inoculação com *Clostridium PA 3679*, porém em condições menos drásticas do que as que foram feitas em nosso trabalho (Apendice), usando níveis de inoculação mais baixos. Poderia também ser testado o próprio *Clostridium*

Botulinum para comprovação do desenvolvimento da toxina botulínica no produto. Na área de estabilidade física cabe o estudo de novos hidrocolóides ainda não testados para esse produto, como é o caso da goma gelana e suas combinações, que poderia ter um resultado satisfatório nesse tipo de emulsão. Um levantamento bibliográfico foi feito para a empresa Monsanto, divisão Kelco, atualmente denominada CP Kelco, sobre as possibilidades de aplicação da goma gelana em emulsões do tipo do leite de coco.

Os trabalhos desenvolvidos para o leite de coco tem servido de referência inclusive para outras matérias primas como é o caso de leite de arroz, leite amêndoas, utilizadas como substitutos de leite de vaca no combate a desnutrição e problemas de intolerância ao leite.

APÊNDICE

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS NA ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE COCO¹

Márcia Paisano SOLER², Alfredo de Almeida VITALI³, Valéria C.A. JUNQUEIRA⁴, Ana Lúcia FADINI⁵

RESUMO

As indústrias de leite de coco no Brasil utilizam como método de conservação deste produto a pasteurização acompanhada da adição de conservadores químicos do tipo metabisulfito de sódio, sorbato de potássio e benzoato de sódio. Devido às características do produto (pH 6,0 e atividade de água maior que 0,85), esse tratamento não é efetivo para garantir sua estabilidade microbiológica. Estudou-se então a estabilidade microbiológica do leite de coco, comercializado à temperatura ambiente, através da avaliação da eficiência dos processos termoquímicos mais comumente empregados pelas indústrias, comparando-os ao processo de esterilização em autoclave rotativa. O leite de coco foi previamente formulado e acrescido de esporos de *Clostridium sporogenes* (PA 3679). Para cada processo utilizaram-se dois níveis de inoculação, um de 2×10^2 e outro de 2×10^6 esporos/200ml. Os resultados obtidos demonstram que existe a possibilidade do desenvolvimento de clostrídios anaeróbios putrefativos, indicando inclusive o risco de desenvolvimento de *Clostridium botulinum* quando não se utiliza a esterilização do leite de coco em autoclave rotativa. Portanto, o tratamento térmico à pressão atmosférica praticado pela indústria implica em risco potencial à saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Leite de coco; Coco; Esterilização; Microbiologia.

SUMMARY

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT HEATING TREATMENTS ON THE MICROBIOLOGICAL STABILITY OF COCONUT MILK

As a conservation method for this product, Brazilian coconut milk industries have been using pasteurization combined with preservatives such as sodium metabisulfite, potassium sorbate and sodium benzoate. Due to the product characteristics (pH 6.0 and water activity higher than 0.85), this treatment is not effective in guaranteeing its microbiological stability. Through an evaluation of the effectiveness of the heating processes most commonly employed by the industries, a study of the microbiological stability of the coconut milk commercialized at room temperature was carried out, comparing these processes with the rotary autoclave sterilization process. The coconut milk was first formulated and spores of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) added. Two inoculation levels were used in each process, one of 2×10^2 and the other 2×10^6 spors/200ml. The results obtained showed that, when the rotary autoclave sterilization is not used for coconut milk, there is the possibility of growth of the putrefactive anaerobic clostridium as well as *Clostridium botulinum*. Therefore, the heating treatment at atmospheric pressure used by the industries represents a potential risk to public health.

KEY-WORDS: Coconut milk; Coconut; Sterilization; Microbiology.

1. INTRODUÇÃO

O leite de coco é um produto de amplo uso na culinária brasileira, empregado principalmente na elaboração de bebidas, doces, confeitos e sorvetes, entre outros.

Este tipo de produto apresenta alguns problemas nas etapas posteriores à sua extração, tais como na estabilidade física, no que se refere à separação das fases gordura/água, problemas de

caráter físico-químico, como é o caso da coagulação e precipitação de sua fração protéica e, dependendo do tipo de processamento empregado, pode ser potencialmente perigoso à saúde pública, uma vez que é caracterizado como um produto de baixa acidez, tendo um pH em torno de 6,0 e atividade de água superior a 0,90 (SOLER *et al.*, 1986). De acordo com a FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) (1984) esta categoria de produto exige, para garantia de sanidade, quando comer-

1 - Recebido para publicação em: 06/12/1996. Aceito para publicação em: 15/05/1997.

2, 3, 4, 5 - Pesquisadores do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL.

cializado sem refrigeração, um processamento térmico mais rigoroso do que uma simples pasteurização em banho-maria à temperatura em torno de 100°C (TEIXEIRA NETO *et al.*, 1985).

Devido às suas características o leite de coco é um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos. O mais preocupante do ponto de vista da saúde pública é o *Clostridium botulinum*, bactéria esporogênica, termorresistente e altamente patogênica. A capacidade de formar esporos permite que esta bactéria sobreviva em uma variada gama de condições desfavoráveis, tais como no calor e em presença de substâncias químicas (FOOD PROCESSORS INSTITUTE (FPI), 1990).

A composição química do leite de coco comercial é basicamente a seguinte:

QUADRO 1. Composição química do leite de coco comercial.

Componentes	(%)
Sólidos totais	31,0
Matéria graxa	25,9
Proteína bruta	2,9
Cinzas	0,3
Fibras	0,3
Açúcares redutores	0,4
Açúcares totais	2,4
Acidez (ml NaOH 0,1N/100g)	8,5
pH	6,1
SO ₂ total	Ausente

Segundo UBOLDI EIROA *et al.* (1975), a adição de conservantes em um produto como o leite de coco pode apenas retardar o desenvolvimento de microrganismos, não sendo suficiente para evitá-lo, uma vez que os conservantes químicos apresentam atividade reduzida em alimentos com pH superior a 4,5. Portanto, este tipo de produto deve ser submetido a um tratamento térmico de esterilização de forma que se mantenha estável microbiologicamente à temperatura ambiente, ou seja, sem o uso de refrigeração.

O presente trabalho vem confirmar a real e urgente necessidade de se adequar a tecnologia de produção do leite de coco utilizando-se, na etapa de tratamento térmico, a esterilização à alta temperatura e sob pressão, suprimindo desta forma o uso de conservantes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo do inóculo

Foram utilizados como inóculo esporos do PA 3679 obtidos a partir de cultura isolada pela National Food Processors Association (NFPA) e mantida pelo laboratório de microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). Esta cepa de *Clostridium sporogenes* possui características similares e resistência térmica maior que tipos mais termorresistentes de *Clostridium botulinum*, porém não é patogênica, podendo ser manipulada com segurança. Os esporos foram preparados segundo o método recomendado em GOLDONI *et al.* (1980), e estocados à temperatura de 4°C em água destilada estéril. Antecedendo a inoculação no produto os esporos foram contados por plaqueamento em profundidade em ágar figado de vitela (LVA), seguido de incubação anaeróbia a 35°C durante 48 horas.

Formulação e processamento do leite de coco

Utilizaram-se para este estudo as formulações de leite de coco comumente empregadas pela indústria nacional, com o intuito de reproduzir o máximo possível a realidade. Desta forma, o leite de coco foi preparado de acordo com o fluxograma geral descrito na Figura 1.

As amostras de 1 a 6 foram submetidas a um tratamento térmico de pasteurização; a amostra 7 foi esterilizada em autoclave rotativa piloto da marca STOCK Rotomat 900 e a amostra 8 teve apenas seu enchimento feito a quente (90°C), não sofrendo nenhum tipo de tratamento térmico (Quadro 2). Prepararam-se 12 garrafas de 200ml para cada amostra.

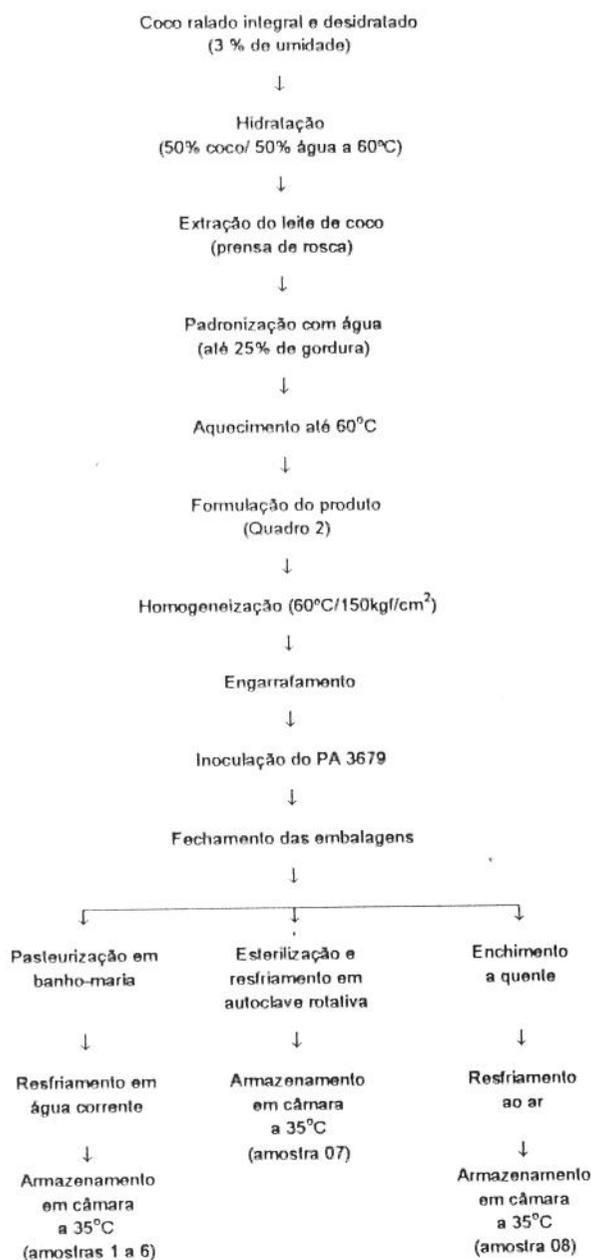


FIGURA 1. Fluxograma geral de processamento do leite de coco.

Tanto as amostras pasteurizadas como aquela esterilizada em autoclave foram imediatamente resfriadas após o término do tratamento térmico, sendo que a amostra 8 foi submetida a resfriamento ao ar.

No caso da amostra 7, levando-se em conta a eficiência do tratamento térmico utilizado, optou-se por usar apenas o maior nível de inóculo (2×10^6 esporos/200ml), sendo que para a amostra 8, em virtude de não ter sido submetida a nenhum tipo de tratamento térmico, usou-se apenas o enchimento a quente ("hot-fill"), utilizou-se o menor nível de inoculação (2×10^2 esporos/200ml).

Na esterilização feita em autoclave rotativa o aquecimento do produto foi feito através de água quente, sendo que a temperatura inicial do leite de coco era de 30°C . Utilizaram-se um F_0 de 5 e uma rotação de 24rpm (SOLER *et al.*, 1990). Realizou-se monitoramento da temperatura apenas para a esterilização em autoclave, onde foram posicionados termopares no centro geométrico de 4 garrafas de leite de coco. Por se tratar de um processo com agitação, assumiu-se uma uniformidade da temperatura em toda a embalagem.

Análises químicas

Foram realizadas análises de açúcares redutores, não redutores e totais, determinação de proteínas (HELRICK, 1990) e determinação do teor de gordura (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Os resultados obtidos nas análises foram comparados aos dados de composição, citados na literatura, do leite de coco comercial, a fim de se avaliar as conseqüências que um crescimento microbiológico pode acarretar na composição do produto.

Análise microbiológica

As garrafas contendo leite de coco inoculado com esporos de PA 3679 foram armazenadas em câmara a 35°C e observadas durante 10 dias quanto à ocorrência de alterações sensoriais.

Após este período, as amostras sem alterações aparentes foram submetidas a exame microbiológico para detecção de bactérias anaeróbias mesófilas, de acordo com a metodologia preconizada em FDA (1984).

QUADRO 3. Resultados das análises químicas e microbiológicas do leite de coco.

Amostras	Açúcares			Gordura (%)	Proteína (%)	Exame microbiológico
	Redutores (%)	Não redutores (%)	Totais (%)			
1	—	—	—	11,2	2,6	d
2	0,9	0,3	1,2	22,7	2,1	d
3	0,5	0,5	1,0	21,3	2,2	+
4	0,5	0,7	1,3	21,3	2,2	-
5	0,5	0,2	0,7	22,2	2,1	+
6	0,4	0,7	1,1	22,6	2,1	+
7	2,3	0,9	3,9	22,8	2,1	-
8	0,5	0,5	1,0	20,8	2,1	+

d = amostra deteriorada com odor putrefativo

+ = bactérias anaeróbias mesófilas putrefativas viáveis

- = ausência de bactérias anaeróbias mesófilas

Para a amostra 4 a não recuperação de microrganismos não significa segurança do produto, visto que o consumo de açúcar é conflitante com a estabilidade biológica.

Cabe destacar que a presença de conservantes químicos pode ter retardado o desenvolvimento de microrganismos, sendo que depois de um intervalo maior de tempo de armazenamento pudesse ocorrer a recuperação de microrganismos.

4. CONCLUSÃO

Considerando-se todas as características do leite de coco, verifica-se que o presente estudo vem confirmar a necessidade de se aplicar um tratamento térmico de esterilização (121°C/5 min/24rpm) na sua produção, sendo esta técnica a única, dentre as alternativas estudadas, que garantiu sua estabilidade microbiológica.

O leite de coco é um produto bastante aceito e consumido no Brasil, portanto, o potencial de risco que oferece à saúde pública é considerável. Espera-se que os resultados obtidos neste trabalho conscientizem as empresas fabricantes de leite de

coco a adotarem a tecnologia de esterilização em autoclave, a qual foi desenvolvida pelo ITAL e se encontra disponível, podendo desta forma oferecer aos consumidores um produto seguro e além disso saudável, uma vez que esta técnica dispensa o uso de conservantes químicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). *Bacteriological analytical manual*. 6. ed., Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1984, 430p.
- FOOD PROCESSORS INSTITUTE (FPI). *Alimentos enlatados: princípios de controle do processo térmico, acidificação e avaliação do fechamento de recipientes*. 4.ed. trad. Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL. Campinas, SP: ITAL, Brasil 1990. 280p. (Tradução de: *Canned foods: principles of thermal process control, acidification and container closure evaluation*. 5 ed. Washington, 1989).
- GOLDONI, J.S., KOJIMA, S., LEONARD, S. *et al.* Growing spores of PA 3679 in formulations of beef heart infusion broth. *Journal of Food Science*, v.45, p.467-470, 1980.
- HELICK, K. (Ed.) *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists - AOAC*, 15 ed. Arlington, Virginia, 1990. 1V.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3 ed. São Paulo, 1985. 1V.

QUADRO 2. Composição e tipos de tratamento térmico utilizados para diferentes formulações de leite de coco.

Amostras	1	2	3	4	5	6	7	8
Gordura (%)	25	25	25	25	25	25	25	25
*Estabilizantes (%)	—	—	—	—	0,15	0,15	0,15	—
Metabissulfito (ppm)	—	—	750	750	500	500	—	750
Sorbato (ppm)	—	—	1000	1000	—	—	—	1000
Benzoato (ppm)	—	—	1000	1000	—	—	—	1000
Ácido cítrico (ppm)	—	—	300	300	—	—	—	300
**CMC (%)	—	—	—	—	0,20	0,20	0,30	—
Tratamento térmico (°C/min)	98/60	98/60	98/60	98/60	98/60	98/60	121/5 (24rpm)	"hot-fill" (95°C)
Inóculo do PA 3679 (esporos/200ml)	2x10 ⁶	2x10 ²						

*Estabilizantes: Aline 600 (polissorbato) e Aline ES 600 (monoestearato de sorbitan) na proporção 0,55 e 0,45% respectivamente (Fabricante: Oxiteno - SP).

**Carboximetilcelulose Aline CM 1.2000 SF (Fabricante: Oxiteno -SP)

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises de açúcares, proteínas, gorduras e das análises microbiológicas encontram-se apresentados no Quadro 3.

As amostras formuladas sem o uso de conservantes e submetidas a um tratamento térmico de pasteurização (amostras 1 e 2) apresentaram crescimento do PA 3679 com produção de odor putrefativo, tanto para o maior quanto para o menor nível de inóculo utilizado. Já para as amostras que foram formuladas com uma combinação de diferentes conservantes químicos (amostras 3 e 4) e submetidas a pasteurização em banho-maria (98°C/60 min), observou-se a presença de bactérias anaeróbias mesófilas para a amostra 3, inoculada com 2×10^6 esporos/200ml, sendo que na amostra 4 não houve recuperação dessas bactérias, provavelmente devido ao menor número de esporos inoculado, associado à pasteurização (98°C/60 min) e à adição de conservantes.

No que diz respeito às amostras 5 e 6, formuladas apenas com o uso de metabissulfito e pasteurizadas em banho-maria (98°C/60min), observou-se

que ambas apresentaram desenvolvimento de bactérias anaeróbias mesófilas.

Observou-se que somente a amostra 7, esterilizada em autoclave rotativa e formulada apenas com estabilizantes e emulsificantes, sem o uso de conservantes químicos, não apresentou desenvolvimento microbiológico para o maior nível de inóculo utilizado.

A amostra 8, apesar de ter sido formulada exatamente igual à amostra 4, permitiu o desenvolvimento de bactérias anaeróbias mesófilas, uma vez que a esta amostra foi aplicado um tratamento térmico menos intenso ("hot-fill").

Relacionando-se os resultados microbiológicos com os químicos, observa-se que, com exceção da amostra 7 que foi esterilizada, as demais apresentaram consumo de açúcares. Este fato sugere o desenvolvimento da atividade microbiana. Como já mencionado, a adição de conservante em um produto como leite de coco com pH superior a 6,0, apenas retarda o desenvolvimento de microrganismos.

SOLER, M.P., SANTANA, L.R.R., DE MARTIN, Z.J. Estudo da estabilidade física do leite de coco do tipo comercial. *Boletim do ITAL*, Campinas, v.23, n.4, p.391-407, out./dez., 1986.

SOLER, M.P., VITALI, A.A., BARUFATTI, C.S.S. *et al.* Etude de la stabilité de coco stérilisé en autoclave rotative. In: SYMPOSIUM DE LA FÉDÉRATION INTERNATIONALE DES PRODUCTEURS DE JUS DE FRUITS, 20 . Paris, França: Commission Scientifique et Technique, 1990. p.421-9.

TEIXEIRA NETO, R.O., VITALI, A.A., DELAZARI, I. *et al.* Esterilização comercial do leite de coco em escala industrial. *Boletim do ITAL*, Campinas, v.22, n.4, p.437-446, out./dez., 1985.

UBOLDI EIROA, M.N., LEITÃO, M.F.F., DE MARTIN, Z.J. *et al.* Microbiologia do leite de coco. *Coletânea do ITAL*, Campinas, v.6, n.1, p.1-10, 1975.