

**CONSERVAÇÃO DO EXTRATO FLUIDO DE CASTANHA-DO-PARÁ  
(*Bertholletia excelsa*), COM ÊNFASE NO DESENVOLVIMENTO  
MICROBIANO, ACIDEZ TITULÁVEL E pH**

**HAÍSSA ROBERTA CARDARELLI**  
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. **ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**PIRACICABA**  
Estado de São Paulo - Brasil  
Janeiro - 1998

**CONSERVAÇÃO DO EXTRATO FLUIDO DE CASTANHA-DO-PARÁ  
(*Bertholletia excelsa*), COM ÊNFASE NO DESENVOLVIMENTO  
MICROBIANO, ACIDEZ TITULÁVEL E pH**

**HAÍSSA ROBERTA CARDARELLI**

Aprovada em: 06.04.1998

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira  
Prof. Dr. Claudio Rosa Gallo  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tais Helena Martins Lacerda

ESALQ/USP  
ESALQ/USP  
UNIMEP

  
Prof. Dr. ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA  
Orientador

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que investiram, incondicionalmente, anos de vida para que minha educação estivesse sempre em primeiro lugar e aos meus irmãos. Essa conquista também é deles.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço:

- à CAPES, Fundação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, por conceder a bolsa de estudos durante os anos de 1993, 94 e 95;
- também a todos os funcionários e professores da ESALQ que contribuíram para a realização deste trabalho;
- especialmente à Fabiana Maria de Siqueira pelo apoio no preparo do produto testado e pela orientação para a execução de algumas análises físico-químicas;
- ao orientador Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira e à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marisa A. B. Regitano D'Arce pelo incentivo, apoio e orientação antes, durante e após o desenvolvimento da pesquisa;
- aos amigos Sílvia Maria Ferreira Carpi Baggio, Carlos Eduardo Baggio e Kátia Cabrini pelo apoio nos momentos mais difíceis;
- aos meus pais e irmãos, sempre ao meu lado.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS .....	ix
RESUMO .....	x
SUMMARY .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
2.1. A castanha como alimento .....	5
2.2. Qualidade da matéria-prima .....	10
2.2.1. Influência da colheita .....	10
2.2.2. Influência do transporte .....	10
2.2.3. Influência do armazenamento .....	11
2.2.4. Influência do beneficiamento .....	12
2.2.5. Embalagem .....	13
2.2.6. Aspectos microbiológicos .....	14
2.2.6.1. A presença da aflatoxina .....	15
2.3. O extrato fluido ou “leite de castanha-do-pará” .....	15
2.3.1. Estabilidade física e físico-química .....	21
2.3.2. Uso de conservantes .....	25
2.3.3. Processamento térmico .....	34
2.3.4. Redução do pH .....	36
2.3.5. Acidez titulável e pH .....	38
2.3.6. Refrigeração .....	39
2.3.7. Embalagens .....	40
2.3.8. Qualidade e vida de prateleira .....	41
2.3.8.1. Aspectos microbiológicos .....	42
2.3.8.1.1. Microrganismos indicadores .....	50
2.3.8.1.2. Bactérias proteolíticas .....	51

## SUMÁRIO

	Página
2.3.8.1.3. Bactérias lipolíticas .....	52
2.3.8.1.4. Microrganismos termófilos .....	53
2.3.8.1.5. Bactérias mesófilas .....	54
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>55</b>
3.1. Delineamento experimental .....	55
3.2. Testes preliminares .....	56
3.2.1. Conservantes químicos .....	56
3.2.2. Pasteurização .....	57
3.3. Procedimento experimental .....	57
3.3.1. Obtenção do extrato fluido.....	57
3.3.2. Análises de caracterização físico-química do extrato fluido.....	61
3.3.3. Análises microbiológicas do extrato fluido .....	62
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
4.1. Testes preliminares .....	63
4.1.1. Conservantes químicos .....	63
4.1.2. Pasteurização .....	64
4.2. Análises físico-químicas de caracterização do “leite” de castanha- do-pará .....	64
4.3. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável no experimento armazenado sob refrigeração .....	66
4.4. Resultados das análises microbiológicas no experimento armaze- nado sob refrigeração .....	69
4.5. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável no experimento armazenado em temperatura ambiente .....	73
4.6. Resultados das análises microbiológicas no experimento armaze- nado em temperatura ambiente .....	75
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>79</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>

**SUMÁRIO****Página**

APÊNDICE 1 .....	93
APÊNDICE 2 .....	95
APÊNDICE 3 .....	97
APÊNDICE 4 .....	99
APÊNDICE 5 .....	101
APÊNDICE 6 .....	103
APÊNDICE 7 .....	105
APÊNDICE 8 .....	107
APÊNDICE 9 .....	109
APÊNDICE 10 .....	111
APÊNDICE 11.....	113
APÊNDICE 12 .....	115

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Etapas do processamento de castanha-do-pará para obtenção do “leite” .....	60
2 Comparativo entre os valores médios de pH nos tratamentos armazenados sob refrigeração .....	68
3 Comparativo entre os valores médios de acidez titulável % nos tratamentos armazenados sob refrigeração .....	69
4 Comparativo entre contagens de microrganismos mesófilos no experimento armazenado sob refrigeração .....	71
5 Comparativo entre contagens de microrganismos proteolíticos no experimento armazenado sob refrigeração .....	73
6 Comparativo entre pH e acidez titulável % no T2 armazenado em temperatura ambiente .....	74
7 Comportamento dos microrganismos mesófilos no T2 armazenado em temperatura ambiente .....	76
8 Comportamento dos microrganismos proteolíticos no T2 armazenado em temperatura ambiente .....	77
9 Comportamento dos microrganismos termófilos no T2 armazenado em temperatura ambiente .....	78



## LISTA DE TABELAS

	Página
1 Composição centesimal da castanha-do-pará .....	06
2 Composição centesimal e porcentagem dos principais ácidos graxos (A.G.) da fração lipídica da castanha-do-pará .....	07
3 Aminoácidos essenciais de amêndoas de castanha-do-pará .....	08
4 Teores de minerais em mg/Kg de castanhas-do-pará secas.....	08
5 Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará sem conservantes (Souza <i>et al.</i> , 1987) .....	17
6 Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará com conservantes (Souza <i>et al.</i> , 1987) .....	17
7 Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará sem conservantes (Regitano d’Arce & Siqueira, 1995) .....	20
8 Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará com conservantes (Regitano d’Arce & Siqueira, 1995) .....	20
9 Poder relativo dos ácidos, em partes por peso, para reduzir o pH e conferir sabor ácido .....	38
10 Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará ...	65
20 Valores médios de pH e acidez iniciais do experimento armazenado em temperatura ambiente .....	74

**CONSERVAÇÃO DO EXTRATO FLUIDO DE CASTANHA-DO-PARÁ (*Bertholletia excelsa*), COM ÊNFASE NO DESENVOLVIMENTO MICROBIANO, ACIDEZ TITULÁVEL E pH**

Autora: Haíssa Roberta Cardarelli

Orientador: Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira

**RESUMO**

A pasteurização a  $72\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos com e sem adição de conservantes químicos e o armazenamento do produto em temperatura ambiente e sob refrigeração foram realizados para avaliar a conservação do extrato fluido da amêndoa de castanha-do-pará.

A obtenção do produto seguiu o método já empregado por Souza *et al.* (1987) e Siqueira & Regitano D'Arce (1993), com modificações.

Monitorou-se o produto, ao longo de um período de 180 dias de armazenamento, através de análises microbiológicas e das análises físico-químicas de acidez titulável e de pH.

O produto armazenado em temperatura ambiente resistiu ao período de armazenamento apenas quando se adicionaram ácido cítrico (500 ppm), ácido benzóico (0,2% p/v) e sorbato de potássio (0,2% p/v).

Sob refrigeração, os tratamentos que receberam conservantes foram os mais estáveis microbiologicamente e o pH e a acidez titulável variaram fracamente.

A ausência de coliformes totais e fecais demonstrou a eficiência do método de pasteurização aplicado neste experimento.

Observou-se intensa produção de gás e liberação de odores pútridos nos produtos armazenados em temperatura ambiente.

Concluiu-se que a pasteurização só é um método viável de conservação do extrato fluido de castanha se associada à adição de conservantes e à manutenção do produto sob refrigeração.

Assim, a busca de processos alternativos de conservação poderá garantir a obtenção de um produto seguro para o consumo nas regiões produtoras e para uso na culinária nacional, como hoje é utilizado o leite de coco, aproveitando o potencial da castanha-do-pará, matéria-prima alimentícia rica em proteínas e lipídios, além de fonte de vitaminas.

**BRAZIL NUT (*Bertholletia excelsa*) FLUID EXTRACT CONSERVATION,  
ENPHASIZING MICROBIAL GROWTH, TITRATABLE ACIDITY AND pH**

Author: Haíssa Roberta Cardarelli

Adviser: Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira

**SUMMARY**

The pasteurization at  $72\pm 2^{\circ}\text{C}$  for 20 minutes with and without addition of chemical preservatives to Brazil nut fluid extract and the storage of the product at room temperature and under refrigeration was made to evaluate the conservation of the Brazil nut fluid extract.

The process to obtain the Brazil nut fluid extract was that used by Souza *et al.* (1987) and Siqueira & Regitano D'Arce (1993) with modifications.

The product was monitored, during storage for 180 days, by microbiological and physico-chemical analysis of titratable acidity and pH.

The product stored at room temperature was viable during the storage period only when citric acid (500 ppm), benzoic acid (0,2% w/v) and potassium sorbate (0,2% w/v) were added.

Under refrigeration, the products with preservatives added were microbiologically stable and the titratable acidity and pH varied slightly.

The absence of total coliforms and fecal coliforms showed the pasteurization efficiency of the method applied in this research.

A fairly gas production and putrid flavor release were observed in the product stored at room temperature.

The conclusion was that the pasteurization is only a viable method for conservation of Brazil nut fluid extract if it will be associated with the preservatives addition and stored under refrigeration.

Therefore, the research of alternative processes of conservation may guarantee a secure product for consume in the production areas and for cookery use, as coconut milk is used today, and may permit the utilization of the Brazil nut potential, that is an alimentary raw material, rich in protein and lipids, besides vitamin source.

## 1. INTRODUÇÃO

A castanha-do-pará, ou castanha-do-brasil, semente da castanheira-do-pará, *Bertholletia excelsa*, H.B. e K., da família das Lecitidáceas, compreende, no Brasil, 11 gêneros com cerca de 118 espécies, todas elas produzindo castanhas de excelente valor comercial (Vianna, 1972). É cultivada em toda a Amazônia e considerada uma das maiores riquezas nas regiões dos castanhais. É também encontrada no Acre, no Amapá, em parte do Maranhão, no norte do Mato Grosso, em Rondônia e em Roraima e em outros países vizinhos como Colômbia, Venezuela, Equador, Bolívia e Guianas (Ribeiro, 1992).

A extração de castanha na região amazônica tem grande importância econômica, pois trata-se de uma região de baixa densidade demográfica e características de subdesenvolvimento, com economia sustentada na produção extrativa (Ribeiro *et al.*, 1981). Essa fonte de extrativismo regional ocupa grande contingente de mão-de-obra, não somente nas matas, mas também nas cidades onde o produto é beneficiado (Müller & Calzavara, 1986).

Para Locatelli & Souza (1990), a castanha-do-pará tem alto valor econômico devido ao aproveitamento de suas amêndoas na alimentação humana e animal, *in natura*, ou transformadas em vários derivados.

O rendimento médio de um castanhais natural é de 0,25 a 0,41 hectolitros / hectare (CARTEIRA DE COMÉRCIO EXTERIOR (CACEX), 1984). Entretanto, com o plantio racional intensificado, estas médias foram superadas, como cita Nascimento (1984), pois já em 1981 o cultivo racional empregado pela EMBRAPA produziu 50 hectolitros / hectare.

Os principais Estados produtores são, pela ordem decrescente: Acre, Pará, Amazonas, Amapá, Rondônia, Mato Grosso e Roraima conforme dados de produção do ano de 1991 retirados de Anuário... (1994).

O fruto da castanheira é um pixídio lenhoso, rijo e esférico, denominado "ouriço", cujo diâmetro varia entre 10 e 15 centímetros, pesando 1 a 2 quilos. Cada "ouriço" possui de 5 a 25 castanhas, e cada castanha contém uma semente com um tegumento córneo protetor e uma amêndoa onde estão acumuladas reservas proteico-amilo-oleaginosas de elevado valor comercial e nutritivo (Souza, 1963 e Vianna, 1972).

Com o amadurecimento, os frutos caem das árvores, sendo então coletados. A apanha direta dos frutos nas árvores não ocorre porque as castanheiras atingem em média de 30 a 50 metros.

Os "ouriços" coletados são abertos; as castanhas retiradas são então lavadas nos rios. Nessa operação são eliminadas terra e impurezas aderentes. As castanhas chochas e estragadas são separadas ao flutuarem. As castanhas boas afundam (Ribeiro, 1992 e Vianna, 1972).

Depois dessa operação as castanhas são ensacadas e transportadas em barcos, canoas e pequenas embarcações ou em lombo de muares (no caso de transporte terrestre) para os paióis onde são armazenadas sob condições precárias. Dos paióis, o escoamento da produção se faz para os portos como o de Belém (Vianna, 1972).

O beneficiamento pode ou não ser feito, conforme as exigências dos importadores. As castanhas com casca podem ser vendidas desidratadas ou semidesidratadas ou ainda a granel (sem beneficiamento). As amêndoas (castanhas sem casca) são obtidas quebrando-se a castanha manualmente e podem ser vendidas com ou sem película. Devido ao formato irregular, há uma grande porcentagem que se quebra (Vianna, 1972). Segundo Sant'anna (1985), aproximadamente 10% delas se quebram, reduzindo-se seu valor comercial a 60% do das castanhas perfeitas, e a utilização dessa quantidade, bem como de parte da produção na forma de subprodutos, é alternativa para o aproveitamento dessa

matéria-prima de alto valor agroindustrial. Secas, são selecionadas, classificadas e acondicionadas. O processo mecânico de beneficiamento ou descascamento só é empregado na Grã-Bretanha, onde as usinas, operando com produtos químicos altamente explosivos, efetuam o descascamento em massa pelo congelamento em níveis de temperatura muito baixos, após prévio aquecimento, o que torna a casca vitrificada e facilmente quebrável. A seguir, as castanhas são colocadas em recipientes apropriados, onde, por agitação, as cascas são quebradas ao se chocarem umas com as outras e contra as paredes do recipiente (Vianna, 1972).

Nascimento (1984) relata que a castanha tem grande consumo no mercado exterior. A exportação da produção é quase total. Por outro lado, Produção... (1987) cita que a castanha-do-pará vem ganhando espaço no mercado interno, pois em 1977 apenas 2% da produção era consumida no mercado interno e em 1987 o percentual era de 10%.

O Estado do Pará é o maior exportador brasileiro e os maiores importadores de castanha são os Estados Unidos e a Inglaterra (Sant'anna, 1985). Conforme CACEX (1984), a produção nacional de castanha-do-pará representa de 80 a 90% da produção mundial, e EUA, Alemanha, Reino Unido e Itália são os principais mercados para a castanha desidratada com casca e para a castanha sem casca, seca e, além dos mercados já citados, incluem-se Austrália e República Sul Africana.

Conforme Ribeiro (1992), a industrialização é incipiente, restrita às áreas de produção, entre os castanheiros. Não há fabricação industrial de óleo e aproveitamento de subprodutos. Duas razões para esse reduzido aproveitamento são a baixa qualidade de conservação das amêndoas (principalmente o ranço) e a dificuldade em se quebrar a casca.

Para Aires *et al.* (1986), a castanheira é uma espécie que, se explorada racionalmente, contribuirá enormemente para a sustentabilidade econômica de toda a Amazônia, gerando, em termos geopolíticos, retornos expressivos, a médio prazo, de todo e qualquer investimento aplicado no desenvolvimento silvicultural da espécie. O incentivo da melhoria do parque fabril através de financiamento à



pequena e média empresa poderá levar à instalação de novas indústrias, o que facilitará o aumento da exportação na forma processada.

Dado o agradável sabor e reconhecido valor nutricional, a castanha-do-pará pode alcançar consumo considerável e mesmo se incorporar ao cotidiano alimentar da população brasileira, sendo, para isso, necessário seu aproveitamento industrial, obtendo-se um grupo de produtos que preservem as qualidades naturais da castanha e que sejam passíveis de armazenamento por períodos determinados.

Este trabalho objetiva avaliar a conservação do extrato fluido da amêndoa de castanha-do-pará (conhecido como "leite" de castanha), por pasteurização, adicionado ou não de conservantes químicos e armazenado em temperatura ambiente e sob refrigeração, com ênfase no desenvolvimento microbiano e características físico-químicas de acidez titulável e pH.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A castanha como alimento

Sant'anna (1985), citando Moura & Zucas (1981)<sup>1</sup>, enfatiza o problema da desnutrição proteico-calórica e sua responsabilidade na mortalidade infantil na América Latina. Daí a grande preocupação em se aproveitarem novas fontes proteicas como a castanha-do-pará.

Num estudo para o incentivo à produção de castanha-do-pará que foi realizado em 1986, a amêndoa da castanha é colocada como fonte alternativa de alimento, a baixos custos, podendo atender boa parte da população de baixa renda (Aires *et al.*, 1986). A CACEX (1984) cita que produtores, exportadores e empresários ligados à castanha preocupam-se com a ampliação do consumo interno e citam a utilização da castanha na merenda escolar, considerando-se seu alto valor nutritivo na dieta alimentar.

Há muito a castanha vem sendo utilizada como alimentação indígena e como complemento para realçar o paladar de mingaus de farinha de mandioca (Vianna, 1972).

A amêndoa (endosperma) da castanha-do-pará caracteriza-se por ser uma fonte de lipídios e proteínas, apresentando 60-70% de lipídios e 15-20% de

---

<sup>1</sup> MOURA, E.C.V. & ZUCAS, S.M. Ensaio nutricional da proteína de soja, suplementada com farinha de castanha-do-pará. **Revista Alimentação - ABIA**, 57: 6-17, 1981. Apud SANT'ANNA, N.M.G. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade e embalagem de alimentos formulados contendo castanha-do-pará**. Viçosa, 1985. (*"Magister Scientiae"* - Universidade Federal de Viçosa).

proteínas, sendo considerada de alto valor alimentício. Por prensagem extrai-se o óleo e obtém-se a torta, ambos usados como alimento pelos habitantes das regiões produtoras de castanha (Ribeiro, 1992).

De acordo com Souza (1963), dado o seu valor alimentício, nos Estados Unidos e Inglaterra, as saborosas amêndoas da castanha-do-pará são empregadas na indústria de confeitos, chocolates e bombons, substituindo vantajosamente as amêndoas européias, sendo que cerca de 70% da castanha importada do Brasil destina-se à indústria de confeitos (Souza, 1963). Rotenberg & Iachan (1975) e Yokoya *et al.* (1970 -1971) também citam o emprego das amêndoas de castanha-do-pará na indústria de confeitos e oleaginosas. Mais recentemente, Ribeiro (1992) descreve o uso da castanha como um produto complementar, ou secundário, em confeitarias. A mistura com outras amêndoas é também praticada, tendo ampla aceitação no mercado mundial (Vianna, 1972 e Ribeiro *et al.*, 1981). Já o consumo *in natura* ocorre principalmente na Inglaterra (Ribeiro *et al.*, 1981).

A castanha é recomendada como complemento dietético devido a algumas características importantes como:

a) composição (Tab. 1 e 2)

Tabela 1 - Composição centesimal da castanha-do-pará.

	Castanha ao natural	Castanha desidratada	Amêndoa com película	Amêndoa sem película
Umidade %	6,06	3,43	2,34	2,07
Teor de óleo %	65,51	66,67	70,90	70,63
Proteína %	14,08	14,82	14,01	13,86
Carboidratos %	8,62	8,45	8,01	7,95
Fibras %	2,71	3,42	2,10	2,28
Cinzas %	3,12	3,21	2,64	3,21

Fonte: Adaptada de SUDAM (1976)

Tabela 2 - Composição centesimal e porcentagem dos principais ácidos graxos (A.G.) da fração lipídica da castanha-do-pará.

	Umidade	Lipídios	Proteína	Cinza	Fibra	Carboidrato
%	2,5	69,4	12,8	2,9	2,9	8,1
A.G.		Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	
%		14,5	8,3	27,2	49,9	

Fonte: Adaptada de Melo & Mancini Filho (1991)

b) destacam-se as vitaminas B<sub>1</sub> (tiamina) com 0,96 mg/100g de amêndoa, PP (niacina) com 1,6mg/100g segundo Nery (1969). Conforme o trabalho da SUDAM (1976), obteve-se uma farinha de castanha contendo cerca de 1,1 mg de B<sub>1</sub>/100g de farinha e 0,25mg de B<sub>2</sub>(riboflavina) /100g de farinha.

c) o teor proteico é bastante elevado, propiciando uma melhoria substancial no produto mediante a redução do teor graxo, com o rebalanceamento da relação proteína/ lipídio (Vianna, 1972).

Ainda segundo Vianna (1972), a castanha-do-pará é fonte de excelente proteína vegetal, só sendo superada em proteínas pelo leite.

Rotenberg & Iachan (1975) citam que a globulina é a principal proteína que se encontra na amêndoa da castanha.

Locatelli & Souza (1990) e Nascimento (1984) confirmam o alto valor biológico da castanha citando ainda que a amêndoa desidratada possui em torno de 17% de proteína (cerca de cinco vezes o conteúdo proteico do leite bovino *in natura*) e sua proteína contém os aminoácidos essenciais ao ser humano. Já em Superintendência do Desenvolvimento da Amazônia (SUDAM) (1976) e Zucas *et al.* (1975), considera-se o valor biológico da proteína de castanha 50% inferior ao da caseína, embora a composição em aminoácidos seja semelhante. A Tabela 3 apresenta a composição em aminoácidos essenciais da castanha e a Tabela 4 apresenta os teores de alguns minerais em castanhas.

Tabela 3 - Aminoácidos essenciais de amêndoas de castanha-do-pará.

Aminoácido	mg/Kg	% sobre o teor de proteína
Lisina	4313	3,39
Treonina	3263	2,57
Valina	4888	3,85
Metionina	4088	3,22
Leucina	9250	7,28
Isoleucina	3450	2,71
Fenilalanina	4380	3,44
Triptofano	1400	1,10

Fonte: Adaptada de SUDAM (1976)

Tabela 4 - Teores de minerais em mg/Kg de castanhas-do-pará secas.

Mineral	mg/Kg
Cálcio	1811
Potássio	7224
Magnésio	2287
Ferro	34
Manganês	14
Cobre	13
Fósforo	5880

Fonte: Adaptada de SUDAM (1976)

Antunes & Markakis (1977) estudaram a complementação do feijão (*Phaseolus vulgaris*), cuja fração proteica é deficiente em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), com a amêndoa de castanha-do-pará, que é excepcionalmente rica nesses aminoácidos. Segundo os mesmos, a torta de castanha contém cerca de seis vezes o teor dos aminoácidos sulfurados em relação à torta de feijão enquanto o teor de lisina é duas vezes inferior. Os autores

sugerem uma suplementação mútua. Rotenberg & Iachan (1975) também destacam o grande teor relativo em metionina, aminoácido essencial de grande importância.

O óleo da castanha substitui o azeite de oliva e outros óleos comestíveis como o de amendoim, o de soja e o de algodão. A indústria de cosméticos oferece amplas possibilidades para a absorção deste produto em quantidades crescentes, o mesmo ocorrendo com a indústria de confeitaria. No primeiro caso ressaltam-se as qualidades tônicas para a pele, além do emprego terapêutico nos casos de manchas na pele motivadas por hipovitaminose A. No segundo caso, o óleo de castanha conserva integralmente o sabor da semente e pode ser usado nos confeitados e doces (Vianna, 1972).

A demanda do óleo não se expandiu ao longo do tempo por não haver suprimento adequado do produto (Vianna, 1972). A produção esporádica de óleo se deve ao elevado preço da matéria-prima, o que compensa sua exportação natural ou beneficiada. Para a CACEX (1984), só se fabrica óleo quando a cotação da castanha no mercado internacional está além dos limites suportáveis, pois 80% do total produzido são destinados à exportação. Um estímulo à produção poderia regularizar a oferta do produto, com vantagens no aproveitamento da demanda potencial (Vianna, 1972 e CACEX, 1984). Ainda segundo CACEX (1984), a elevação dos preços torna atraente a exploração da castanha por outros países produtores como Serra Leoa e Peru, levando a uma expansão de suas áreas cultivadas.

Após a extração do óleo, obtém-se um resíduo (torta) do qual consegue-se uma farinha rica em proteína, que pode ser usada em misturas com farinha de trigo na panificação. Essa farinha também pode ser utilizada em alimentos pré-fabricados ou mesmo como ração animal (Ribeiro *et al.*, 1981).

O “leite de castanha”, um líquido branco e adocicado obtido pela adição de água à castanha ralada, é empregado no preparo de iguarias regionais nos locais de produção (Ribeiro *et al.*, 1981).

## **2.2. Qualidade da matéria-prima**

### **2.2.1. Influência da colheita**

Ao cair no solo, o “ouriço” deve ser rapidamente colhido, pois a sua longa permanência em contato com o solo prejudica sobremaneira a qualidade da amêndoa, havendo exposição ao sol e à umidade da floresta (Vianna, 1972). Além disso, o aumento da umidade no interior dos “ouriços” já ocorre a partir do momento em que o opérculo se retrai, ao secar, permitindo o aparecimento de um orifício que facilita a penetração de água e, com isso, ocorre um maior crescimento de fungos, inclusive os produtores de aflatoxina (Sant’anna, 1985).

Geralmente a castanha é acumulada nas barracas e barracões também em contato com o solo, o que dificulta ainda mais a manutenção da qualidade da mesma.

O manejo da castanha a partir da colheita é fundamental para a qualidade, pois a umidade e o calor criam condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos que alteram a qualidade da castanha e prejudicam seu valor comercial (Vianna, 1972).

### **2.2.2. Influência do transporte**

As castanhas já extraídas dos “ouriços” são levadas em paneiros (cestos de transporte) das barracas e choças aos barracões por transporte humano ou animal, sem qualquer proteção (Vianna, 1972). Dos barracões, as castanhas são levadas aos portos primários e daí até os pontos de convergência secundários; o transporte é feito em embarcações pequenas em decorrência da difícil navegabilidade dos rios (Vianna, 1972). O trajeto pode levar de alguns dias até três semanas, segundo Frank & Betancourt (1981). A constante exposição do produto ao sol e à umidade pode ocasionar deterioração de partidas inteiras (Vianna, 1972). Segundo Frank & Betancourt (1981), os barcos chegam aos portos de Manaus e

Belém atingindo temperaturas de 35° a 40°C e umidade relativa de 95%. Quando se utilizam embarcações maiores, faz-se o arejamento do produto movendo-se as castanhas (Vianna, 1972).

Segundo Souza (1963), as alterações da castanha devido às condições climáticas refletem principalmente na qualidade do seu óleo que rança com certa facilidade.

### 2.2.3. Influência do armazenamento

O armazenamento da castanha requer cuidados especiais. O arejamento torna-se indispensável, pois o impacto do calor e a presença de umidade favorecem a ação de microrganismos, os quais, quando as castanhas permanecem úmidas, desenvolvem-se rapidamente, sendo o *Aspergillus flavus* o principal deteriorador da amêndoa. A primeira etapa do armazenamento se processa junto às barracas de colheita. Em seguida, as castanhas são transportadas para os armazéns e barracões. Nos portos de convergência secundária, a castanha é armazenada em galpões, que não apresentam condições ideais de preservação das características naturais da mesma. Daí, a castanha é levada para os portos de exportação, onde as condições de preservação são relativamente melhores (Vianna, 1972).

Nos armazéns, já nas cidades, próximos aos portos, as castanhas permanecem estocadas de 27° a 33°C durante semanas, até mesmo meses. Danos causados por fungos nos armazéns, bem como no transporte, não podem ser evitados caso não se proceda à movimentação do material para que ocorra a secagem superficial (Frank & Betancourt, 1981).

As castanhas não beneficiadas apenas passam por classificadores vibratórios, que retiram as impurezas e separam por tamanho. As castanhas são, então, desidratadas em secadores rotativos de baixa rotação ou em estufas a 60°-65°C até umidade de 10 a 12% (Frank & Betancourt, 1981).



Segundo Yokoya *et al.* (1971), o armazenamento e a conservação da castanha-do-pará constituem os problemas mais importantes na sua comercialização. Os mesmos autores, em 1970 (Yokoya *et al.*, 1970), já haviam concluído que o armazenamento das amêndoas de castanha-do-pará em temperatura de 26° a 28°C, só pode ser feito com segurança em ambientes de umidade relativa inferior a 70%. Nestas condições, o produto pode ser armazenado pelo período de oito meses sem o perigo de alterações indesejáveis de caráter microbiológico ou químico.

As amêndoas não devem ser armazenadas em ambiente com umidade relativa superior a 95%, mesmo por um período curto de duas a três semanas. Observa-se, nestas condições de armazenamento, um aumento considerável do número de bactérias e fungos precedendo em quase duas semanas ao aparecimento da deterioração visível (Yokoya *et al.*, 1970).

Castrillón & Purchio (1988a) consideram que o percurso comercial do produto possa ser o maior responsável pelos danos que eventualmente ocorrem nas castanhas desde a extração no período das chuvas, o empilhamento das sementes após a retirada do “ouriço” e o transporte em condições inadequadas, facilitando a penetração dos fungos.

#### **2.2.4. Influência do beneficiamento**

Da castanha colhida, após as etapas de lavagem e classificação, apenas uma parte é enviada às usinas de beneficiamento para o preparo para exportação. As usinas descascam o produto, submetem-no à secagem em estufas e acondicionam-no adequadamente para a exportação. O beneficiamento se faz apenas para a castanha descascada, sendo a outra parte da produção exportada em bruto, desidratada ou semi-desidratada (Vianna, 1972).

O método de beneficiamento consiste em ferver a castanha por 1 a 2 minutos, o que facilita o amolecimento da casca e dá maior elasticidade à amêndoa. As castanhas, ainda quentes, são quebradas manualmente, usando-se

um martelo de ferro, separando-se, assim, a amêndoa da casca (Vianna, 1972). A quebra manual geralmente é feita por mulheres e crianças e o processo gera muitas amêndoas quebradas, o que é um inconveniente para a manutenção da qualidade e, conseqüentemente, para sua exportação Ribeiro *et al.* (1981).

Também utiliza-se uma autoclavagem (1 a 2 minutos à pressão de 300-400 libras/polegada quadrada) e as castanhas, ainda quentes, são quebradas em máquinas de operação manual, por compressão, deixando as amêndoas livres (Ribeiro *et al.*, 1981).

As amêndoas (com 15% de umidade) são colocadas em estufas com circulação de ar quente (50°-55°C). Após 3 a 4 dias, as castanhas encontram-se secas, prontas para serem embaladas, apresentando um teor de umidade de 2% (Vianna, 1972). Com o emprego de temperaturas pouco elevadas, evitam-se a rancificação, cheiros e gostos desagradáveis (Ribeiro *et al.*, 1981). Esse processo evita, ainda, que haja grande incidência de fungos na castanha, o que levaria a uma deterioração mais rápida.

### **2.2.5. Embalagem**

As castanhas, após a secagem, sofrem uma seleção onde são separadas as graúdas, as miúdas, as feridas, os pedaços e, então, são embaladas. O tipo de embalagem influi na conservação do produto. Considera-se que a utilização de sacos aluminizados fechados a vácuo em atmosfera de nitrogênio e colocados em caixa de papelão as conservem bem (CACEX, 1984). As amêndoas também podem ser acondicionadas em sacos plásticos e latas com capacidade para 15 Kg, enquanto as castanhas com casca são acondicionadas em sacos para 20 ou 50 Kg (Ribeiro *et al.*, 1981).

## 2.2.6. Aspectos microbiológicos

As castanhas podem ser contaminadas na árvore, no armazenamento intermediário e no transporte para as beneficiadoras, provocando sua deterioração, desde que condições de umidade relativa superiores a 75% ocorram (Frank *et al.*, 1981).

Wehner & Rabie (1970) examinaram a incidência de microrganismos em castanhas, nozes e amêndoas inteiras, selecionadas e acondicionadas (processadas) e em não-processadas, quebradas, que seriam eliminadas. Os microrganismos predominantes eram formadores de esporos e as maiores contaminações ocorreram nas amostras de material não-processado, com maior frequência de *Aspergillus niger* e *Bacillus* spp., seguidos por *Aspergillus flavus* e *Micrococcus* spp., sem produção de toxina. Não foram encontrados coliformes. Segundo os autores, as castanhas, nozes e amêndoas podem se contaminar durante a colheita, processamento e acondicionamento; por isso uma elevada contaminação era esperada por eles.

Castrillón & Purchio (1988b) isolaram 23 gêneros de fungos a partir de cem amostras de castanha. Houve predominância dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Afirmaram que a associação de bactérias e fungos geralmente altera a cor da castanha (cinza escuro) e a consistência (gelatinosa), enquanto que a deterioração parda com odor de ranço ocorre na presença dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

Conforme Frank & Betancourt (1981), “ouriços” operculados recém-coletados possuem amêndoas deterioradas por fungos ou bactérias, cuja proporção pode chegar a 8%. O mesmo índice ocorre para as castanhas chochas. Estas, entretanto, já são separadas por flotação nos locais de coleta. Ainda conforme os mesmos autores, as beneficiadoras toleram até 8% de amêndoas deterioradas, índices superiores determinam redução nos preços, pois, importadores estabeleceram que castanhas naturais (frescas) não poderiam ter

mais do que 10% de deterioradas, enquanto que o material desidratado não mais do que 7%, sendo as castanhas chochas enquadradas como deterioradas.

A qualidade do produto, além de preocupação dos importadores, também é preocupação dos exportadores para que se garanta o preço de comercialização.

### **2.2.6.1. A presença da aflatoxina**

A contaminação por aflatoxinas nem sempre é importante na deterioração da castanha-do-pará, pois a distribuição de castanhas contendo aflatoxina numa amostra é extremamente irregular (Frank *et al.*, 1981).

Em condições de atividade de água favorável, diversos bolores, alguns deles produtores de aflatoxina, podem penetrar através da casca e contaminar a amêndoa (Frank *et al.*, 1981).

Yokoya *et al.* (1971) observaram, ainda em relação à aflatoxina, que a castanha não serve como substrato adequado para a produção da mesma pelos fungos *Aspergillus* spp. Verificaram que a produção de teores elevados de aflatoxina nas amêndoas só ocorre nas condições ótimas de desenvolvimento do fungo (Yokoya *et al.*, 1970). Talvez falte na castanha-do-pará algum elemento essencial para a boa produção de aflatoxina pelos fungos (Yokoya *et al.*, 1971).

Castrillón & Purchio (1988a) consideram que possivelmente a presença de cálcio e bário nas castanhas possa exercer um maior efeito inibidor da produção de aflatoxinas. Entretanto, os mesmos autores encontraram níveis elevados das aflatoxinas B1 e G1 (2,25 mg/Kg e 1,5 mg/Kg) em três amostras de cem analisadas.

## **2.3. O extrato fluido ou “leite” de castanha-do-pará**

Tendo em vista o alto valor nutricional da castanha-do-pará, Vianna (1972) mencionou em seu trabalho que a industrialização da castanha-do-pará é aconselhável do ponto de vista nutricional para a alimentação humana e também

lucrativa, seja pela implantação de uma nova atividade, seja pela solução dos problemas da castanha no que se refere ao armazenamento.

A obtenção de produtos derivados da castanha-do-pará já vem sendo estudada há muitos anos, embora poucos sejam os trabalhos encontrados na literatura referentes ao assunto (Siqueira & Regitano d'Arce, 1993).

Nascimento (1984) cita um projeto que visava a obtenção e conservação (sem refrigeração, pois o produto já obtido necessitava de refrigeração) do "leite" de castanha com teores de 4% de proteína e 4% de gordura, semelhantes aos do leite bovino *in natura*, chamado de "leite" vegetal.

Souza *et al.* (1987) obtiveram "leite" de castanha-do-pará em laboratório, adicionando água às castanhas na proporção de duas partes de água para uma parte de amêndoa (despeliculada manualmente e lavada em água clorada a 5 ppm) e triturando em liquidificador até consistência homogênea. O produto foi filtrado em tecido de algodão esterilizado e o "leite" obtido foi homogeneizado em liquidificador para a diminuição no tamanho das partículas. O "leite" foi dividido em uma porção com conservantes, onde foi adicionado metabisulfito de sódio a 0,04%, sorbato de potássio a 0,04% e benzoato de sódio a 0,02%, e outra sem a adição de conservantes e, então, foi homogeneizado e aquecido à temperatura de 80°C durante um minuto, em tacho aberto, para a exaustão do ar, acondicionado em garrafas de vidro (200 ml) e, depois de resfriado em água corrente, foi armazenado em congelador à temperatura de -18°C. Análises químicas feitas no "leite" após 120 dias apresentaram valores de 14,51%; 1,29% e 12,37% para matéria-seca, proteínas e lipídios, respectivamente, e pH 6,25, valores muito próximos aos encontrados em análises feitas no "leite" fresco: 14,98% de matéria seca; 0,90% de proteína; 10,85% de lipídios e pH 6,35 para o "leite" sem conservantes. O mesmo ocorreu para o "leite" com conservantes, cujos valores foram: 6,20; 15,16%; 0,67%; 10,22% no produto fresco, respectivamente, para pH, matéria-seca, proteína e lipídio, enquanto aos 120 dias foram de 6,15; 14,86%; 1,26%; 11,14%, respectivamente, para os mesmos parâmetros conforme apresentado nas Tabelas 5 e 6:

Tabela 5 - Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará sem conservantes.

Determinações	Período de estocagem (dias)				
	0	30	60	90	120
pH	6,35	6,05	6,20	5,80	6,25
Matéria-seca (%)	14,98	15,15	14,13	15,40	14,51
Lipídios (%)	10,85	10,80	16,06	11,80	12,37
Proteína bruta (%)	0,90	1,07	1,63	1,81	1,29

Fonte: Adaptada e Souza *et al.* (1987)

Tabela 6 - Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará com conservantes.

Determinações	Período de estocagem(dias)				
	0	30	60	90	120
pH	6,20	6,10	6,05	5,80	6,15
Matéria-seca (%)	15,16	15,03	11,76	15,50	14,86
Lipídios (%)	10,22	10,14	11,06	11,40	11,14
Proteína bruta (%)	0,67	1,11	1,15	1,11	1,26

Fonte: Adaptada de Souza *et al.* (1987)

Quanto às análises microbiológicas, Souza *et al.* (1987) concluíram que o “leite” de castanha conservado a  $-18^{\circ}\text{C}$ , mesmo sem a adição de conservantes, manteve-se apto para o consumo durante 120 dias (tempo máximo), uma vez que em amostras com e sem a adição de conservantes não se constatou nenhum crescimento de microrganismos (as análises envolveram: contagem de leveduras e bolores em ágar-batata-acidificado, contagem de bactérias mesófilas, termófilas, proteolíticas e lipolíticas).

A utilização de baixa temperatura para a conservação de produtos também foi indicada na literatura para o leite de coco. Segundo Medina *et al.*

(1980), em 1968 De Martin & Linchi<sup>2</sup> desenvolveram um processo para a obtenção do leite de coco congelado, acondicionado em embalagem flexível e armazenado à temperatura de aproximadamente -18°C.

Pesquisas com o “leite” de castanha também foram realizadas por Ribeiro *et al.* (1981), que desenvolveram dois experimentos em paralelo; num deles fez-se a moagem em moinho de disco e a adição de 50% do peso das amêndoas em água e trituração para redução do tamanho das partículas. O material foi filtrado em sacos de algodão esterilizados e obtido o “leite”. Dividiu-se o produto em quatro porções, a primeira (A1) recebeu 0,1% de sorbato de potássio e 0,1% de metabissulfito de sódio, enquanto a segunda (A2) recebeu, além dos conservantes, 20% de sacarose. Ambas foram pasteurizadas em banho-maria a 80°C por 15 minutos, engarrafadas e resfriadas em água corrente. As terceira e quarta porções (B1 e B2) foram obtidas de amêndoas despelculadas manualmente antes da moagem, sendo o restante do processamento idêntico ao descrito; o “leite” obtido foi acondicionado em garrafas e, em B1, procedeu-se à pasteurização em banho-maria, pelo sistema “hot pack”, por cinco minutos a 90°C e resfriamento em água corrente, enquanto, em B2, simplesmente resfriou-se e refrigerou-se, sem pasteurização. Análises feitas no “leite” fresco forneceram 47,65% de matéria-seca; 6,81% de proteína e 31% de gordura. Esses valores são bem superiores aos encontrados por Souza *et al.* (1987), podendo ser justificados pela menor quantidade de água quando da desintegração das amêndoas, conforme comentam Souza *et al.* (1987). As análises microbiológicas foram executadas apenas nos produtos B1 e B2 e foram as seguintes:

---

<sup>2</sup> DE MARTIN, Z. J.; LINCHI, L. J. **Frozen coconut milk**. Campinas: Ital, 1968. (Memorando técnico, 1). Apud MEDINA, J.C.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L.C. dos; SILVA, M.T.C. Processamento: produtos, características e utilização. In: MEDINA, J.C.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L.C. dos; SILVA, M.T.C.; CANTO, W.L. do; BICUDO NETO, L. C.; MORETTI, V.A. **Coco: da cultura, processamento e comercialização**. Campinas: ITAL, 1980. v. 5, n. 3, p. 183-255.

- a) o número mais provável (NMP) de coliformes totais foi 240 UFC/ml (B2) e 0/ml (B1);
- b) o número mais provável(NMP) de coliformes de origem fecal foi 0 UFC/ml (B2 e B1);
- c) ausência de *Salmonella* (B2 e B1);
- d) ausência de *Shigella* (B2 e B1);
- e) ausência de *S. aureus* (B2 e B1);
- f) a contagem de bolores e leveduras foi de  $1,7 \times 10^4$  UFC/mL (B2) e 0 UFC/mL (B1);
- g) ausência de anaeróbios (B2 e B1).

Ribeiro *et al.* (1981) verificaram, no “leite” extraído de amêndoas com película, a precipitação de pequenas partículas escuras, provenientes da película, que prejudicam a aparência do produto, provocando um ligeiro escurecimento. O teor de proteínas encontrado é maior do que o da maioria dos leites de origem animal (o de vaca tem 3,6%, o humano tem 1,4%) (Ribeiro *et al.*, 1981). Os mesmos autores consideraram que a refrigeração mostrou-se ineficaz para a conservação do “leite” por mais de 48 horas, enquanto os tratamentos térmicos, combinados ou não com a adição de conservantes, mostraram-se eficazes, e o produto com maior aceitação nos testes de análise sensorial foi o pasteurizado a 90°C por cinco minutos e sem adição de conservantes.

Regitano d’Arce & Siqueira (1995) prepararam o extrato fluido de castanha-do-pará tomando amêndoas despeliculadas manualmente, armazenadas sob congelamento, e submetidas a prensagem em prensa hidráulica até 5.000 lb/in<sup>2</sup> de pressão. A torta obtida foi homogeneizada em liquidificador na proporção de duas partes de água para uma de torta até obtenção de consistência homogênea e, então, filtrada em saco de algodão esterilizado, e o “leite” obtido, homogeneizado em liquidificador e levado para aquecimento até coagulação da fração proteica (85°C). O produto recebeu amido de milho (1,6% em volume de “leite”) e aquecimento até gomificação. Dividiu-se o volume de “leite” em duas partes, das quais uma recebeu 0,01% de ácido cítrico e 0,01% de ácido benzóico. O



“leite” foi acondicionado em frascos de vidro de 150 ml com tampa rosqueável e aquecido em banho-maria a 80°C por 1 minuto para exaustão do ar, tampados e esfriados à temperatura ambiente. Armazenados sob refrigeração por um ano, apresentaram os seguintes resultados (Tab. 7 e 8):

Tabela 7 - Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará sem conservantes.

Determinações	Período de estocagem (dias)						
	0	60	120	180	240	300	360
pH	6,40	6,34	6,78	6,73	6,96	6,75	6,94
Acidez titulável (%)	0,10	0,20	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10
Matéria-seca (%)	16,30	16,23	16,01	16,50	16,17	15,86	15,49
Lipídios (%)	5,17	5,24	5,12	5,28	5,16	5,28	5,25
Proteína bruta (%)	15,54	16,23	16,19	16,85	18,56	20,61	21,30

Fonte: Adaptada de Regitano d'Arce & Siqueira (1995)

Tabela 8 - Determinações físico-químicas no “leite” de castanha-do-pará com conservantes.

Determinações	Período de estocagem (dias)						
	0	60	120	180	240	300	360
pH	6,13	6,12	6,64	6,70	6,90	6,80	6,71
Acidez titulável (%)	0,30	0,40	0,50	0,30	0,30	0,20	0,20
Matéria-seca (%)	16,67	16,62	16,76	16,92	16,69	16,28	16,14
Lipídios (%)	4,86	5,11	5,62	5,23	5,16	4,77	5,46
Proteína bruta (%)	16,86	17,92	18,21	18,50	20,65	20,58	22,40

Fonte: Adaptada de Regitano d'Arce & Siqueira (1995)

Conforme os autores, o “leite” manteve-se apto para consumo, com acidez titulável e pH constantes ao longo do período de armazenamento. Os resultados de matéria-seca, teor de lipídios e proteína bruta apresentaram

pequenas diferenças atribuídas pelos autores a falhas na homogeneização do produto na amostragem. Os valores médios foram de 16,4%, 20% e 5% para matéria-seca, proteína e teor de lipídios respectivamente, enquanto Souza *et al.* (1987) obtiveram valores de 15%, 11% e 1,2% respectivamente. A variação nos resultados foi justificada pelos autores porque Souza *et al.* (1987) empregaram amêndoas inteiras, sem prensagem. Não se constatou crescimento de microrganismos aos 180 dias (eficiência do tratamento térmico e das condições de baixa temperatura de armazenamento), enquanto aos 360 dias a contagem total em PCA ("Plate Count Agar") no "leite" com conservante foi de  $9,0 \times 10^1$  UFC/ml e no "leite" sem conservante foi de  $5,7 \times 10^1$  UFC/ml. O crescimento de leveduras e bolores foi inibido pelos conservantes e, no produto sem conservantes, a contagem em malte ágar foi de  $6,7 \times 10^1$  UFC/ml. Os autores concluíram que a metodologia de obtenção do "leite" é viável e os métodos de conservação são eficazes e adequados.

### 2.3.1. Estabilidade física e físico-química

O "leite" de castanha-do-pará apresenta problemas de estabilidade física (separação das fases de gordura e de água) e problemas de caráter físico-químico (coagulação e precipitação da fração proteica devido ao tratamento térmico). Esses problemas também são encontrados na obtenção do leite de coco, que apresenta características semelhantes às do "leite" de castanha-do-pará (embora o teor de lipídios atinja 37%, o teor proteico 4% e a umidade 54% no leite de coco integral, conforme De Martin *et al.* (1975), com a vantagem de ser de consumo mais popularizado e, portanto, mais estudado (De Martin *et al.*, 1975; Siqueira & Regitano d'Arce, 1993).

Tanto no leite de coco como no "leite" de castanha-do-pará tem-se a presença da emulsão "óleo em água" e, conforme Becker (1966)<sup>3</sup> citado por

---

<sup>3</sup> BECKER, P. **Emulsions, theory and practice**. 2. ed. New York: Reinhold Publishing Corporation, 1966. 440 p. Apud MEDINA, J.C.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L.C. dos; SILVA,

Medina *et al.* (1980), a emulsão é um sistema disperso, no qual ambas as fases externa e interna são líquidas e insolúveis uma na outra, achando-se uma das fases dispersa na outra sob a forma de finas gotículas.

Quando deixados em repouso durante alguns minutos, comumente ocorre a separação em duas frações distintas, tanto no leite de coco como no “leite” de castanha, porque, segundo Medina *et al.* (1980), a dispersão natural do leite de coco não apresenta garantias de uma estabilidade prolongada, coalescendo rapidamente até a separação das fases, sendo necessária a utilização de emulsificantes para melhorar a estabilidade desse produto, modificando a tensão superficial (De Martin *et al.*, 1975).

Segundo Soler *et al.* (1986), a estabilização de uma emulsão consiste em manter um equilíbrio de forças. A manutenção de uma suspensão pode ser facilitada, reduzindo-se ao máximo o tamanho das partículas, que é o caso da homogeneização, ou suprimindo-se a incompatibilidade água/matéria-graxa, por exemplo, pela adição de emulsificantes. Porém, muitas vezes, embora o tamanho das partículas tenha sido reduzido, ainda ocorre o deslocamento e, conseqüentemente, a separação. Com a criação de uma rede tridimensional, que engloba as partículas (conseguida pela adição de geleificantes em dosagens fracas), há um baixo acréscimo de viscosidade. O uso de espessantes em doses normais provoca um aumento da viscosidade do meio, que pode levar a modificações das características ou da aparência do produto (o aumento da viscosidade da fase contínua leva a uma resistência que pode ser suficiente para compensar o deslocamento das partículas). Pode-se, ainda, combinar os aditivos a fim de se obterem os dois efeitos simultaneamente, sem que as características do produto sejam muito afetadas.

A CMC (carboximetilcelulose) (EP III ou ET XLII) é um éster de celulose, polímero linear aniônico solúvel em água, fisiologicamente inerte, que forma soluções homogêneas e de diversas viscosidades. Suas propriedades físico-químicas permitem sua utilização como agente espessante, emulsionante, adesivo, dispersante, floculante, aglutinante, entre outras (Soler *et al.*, 1986). Segundo os mesmos autores, as interações entre a CMC e proteínas estão relacionadas com o pH do meio e o tipo de proteína. Quando uma molécula de CMC combina com uma de proteína, poderá ocorrer um aumento de solubilidade da proteína, podendo dar origem a um precipitado ou a um complexo solúvel formado próximo ao ponto isoelétrico das proteínas. Esse complexo confere grande estabilidade às proteínas em relação à precipitação por aquecimento ou resfriamento, impedindo ainda mudanças muito significativas na viscosidade do meio em questão. A CMC não é solúvel em gordura, mas, apesar de não agir como emulsificante em sistemas gordurosos, de alguma forma age na superfície ativa e acaba sendo empregada como um colóide protetor estabilizante no sistema do alimento (Soler *et al.*, 1986).

As interações entre a CMC e proteínas têm natureza eletrostática, o que pode explicar porque a pH 6,0 as interações de polissacarídeos aniônicos são muito fortes. A dependência das cargas sugere que o grupo carboxilato dos polissacarídeos deve estar envolvido com alguns dos resíduos proteicos carregados positivamente, como  $\epsilon$ -amino,  $\alpha$ -amino, guanídio e imidazol, e a força das interações está relacionada ao número e distribuição desses sítios bem como à carga total da proteína. Na desnaturação, o número desses sítios aumenta e grupos básicos são liberados, além da flexibilidade conformacional da proteína desnaturada permitir ajustes configuracionais para maximizar a interação, produzindo complexos mais estáveis do que com as proteínas naturais (Samant *et al.*, 1993).

No caso de complexos entre polissacarídeos aniônicos e proteínas, a conformação e a razão de cargas dos componentes moleculares ditam as propriedades funcionais. A formação de complexos pode ser usada para aumentar a solubilidade proteica e, assim, aumentar a faixa de pH na qual a solução proteica

é estável. A capacidade de formação de uma emulsão e sua estabilidade aumentam na transição da proteína para seu complexo com um polissacarídeo (Samant *et al.*, 1993).

A CMC tem sido bastante efetiva em manter as proteínas do leite bovino em solução (Samant *et al.*, 1993).

O efeito da temperatura sobre a viscosidade da CMC é reversível, e variações nas temperaturas das soluções não provocam alterações permanentes nas propriedades reológicas dos produtos. A viscosidade das soluções de CMC diminuem com o aumento da temperatura (Hirata & Souza, 1990).

As soluções de CMC mantêm sua viscosidade normal na faixa de pH de 4,0 a 10,0. Em geral, apresentam os maiores valores com pH entre 7,0 e 9,0. Pode ocorrer precipitação de CMC em pH de 2,0 a 3,0 (Hirata & Souza, 1990).

A CMC tem aplicação em produtos de laticínios, bebidas, carnes e peixes, alimentos dietéticos, molhos e condimentos, panificação, confeitaria, merenda escolar entre outros (Hirata & Souza, 1990).

De Martin *et al.* (1975) demonstraram a viabilidade do emprego de uma mistura do emulsificante "Tween-80" (mistura de polissorbatos, polioxietileno e monoleato de sorbitol) na proporção de 0,3% e de carboximetilcelulose na proporção de 0,4%, como espessante do meio, na estabilidade física do leite de coco esterilizado, evitando a conseqüente separação das fases de gordura e água.

De Martin *et al.* (1985) testaram aditivos, tais como carboximetilcelulose (CMC), Tween 80, carragenato puro, carragenato com goma-guar e amido modificado (100% de amilopectina), em leite de coco integral, visando a não separação física do produto. O melhor resultado obtido foi a combinação de 0,20% de CMC com 0,06% da mistura de carragenato e goma guar.

Soler *et al.* (1986) prepararam leite de coco padronizando o teor de gordura em 30%, aquecendo a 90°C por 5 minutos sob agitação, adicionaram combinações de aditivos, homogeneizaram sob pressão e esterilizaram em autoclave estática. A melhor combinação foi a de carragenato e goma-guar (0,06%) com CMC (0,2%). Observaram que era imprescindível o uso da combinação do

espessante e do geleificante (carragenato atua como geleificante com caráter termorreversível, passando para o estado líquido com temperaturas de 40 a 55°C) para a manutenção da estabilidade física do produto dentro do período de 180 dias.

De acordo com Gonçalves *et al.* (1984) o leite de coco contém 4 a 5% de proteínas que dificultam o processamento térmico, visto coagularem, notadamente em temperaturas superiores a 70°C. De Martin *et al.* (1975) aqueceram o leite de coco até a temperatura de 90°C, em tacho de aço inoxidável encamisado, durante alguns minutos, visando provocar a coagulação da fração protéica. Com o produto ainda quente, fez-se a adição de emulsificante e de espessante do meio. O produto, após conveniente uniformização (leite + emulsificante + espessante), foi homogeneizado em homogeneizador "Creamery Package" à pressão de 300Kg/cm<sup>2</sup>. Esse tratamento fez com que o leite de coco readquirisse sua fluidez.

### **2.3.2. Uso de conservantes**

O "leite" de castanha-do-pará assim como o leite de coco, devido a sua composição, são meios de cultivo excelentes para o desenvolvimento de microrganismos quando pasteurizados e conservados em temperatura ambiente, necessitando da adição de conservantes para o aumento do seu tempo de conservação (Siqueira & Regitano d'Arce, 1994).

De acordo com Volpi (1985), os aditivos alimentares contribuem na conservação dos alimentos, podendo ser usados para suplementar a eficácia dos métodos tradicionais de conservação de alimentos. Devem ser evitados quando o efeito desejado pode ser obtido com boas práticas de fabricação economicamente viáveis.

A quantidade de um aditivo autorizado deve ser a mínima necessária para alcançar o efeito desejado (Volpi, 1985).

Conservantes são substâncias químicas com propriedades antimicrobianas que, quando adicionadas aos alimentos processados ou não, agem inibindo o crescimento e/ou o desenvolvimento de microrganismos,

aumentando a vida útil e garantindo o consumo seguro. Embora a manipulação da temperatura e da atividade de água do alimento sejam os principais modos de inativação de microrganismos, o uso de substâncias químicas específicas com propriedades antimicrobianas pode apresentar efeitos similares (Araújo, 1990). Segundo Ferreira & Camargo (1993), a importância dos conservantes é evidente nos problemas de armazenamento e de utilização racional dos excedentes, sobretudo nos países menos avançados em tecnologia alimentar, muitos dos quais situados em zonas tropicais, onde o armazenamento é deficiente.

Conforme Frazier & Westhoff (1993), as alterações que os alimentos sofrem podem ser causadas por microrganismos, por enzimas dos próprios alimentos ou por reações químicas. Portanto, os microrganismos não são os únicos responsáveis por deteriorações dos alimentos. Os conservantes agem inibindo os microrganismos por interferência junto às membranas celulares, na atividade enzimática intracelular ou nos mecanismos genéticos dos microrganismos (Frazier & Westhoff, 1993 e Taylor, 1980). Já conforme Araújo (1990), a adição de conservantes em concentrações aceitáveis promove a inibição de microrganismos até a eliminação dos conservantes por volatilização, metabolização, degradação ou por meio de interações químicas com outros componentes do alimento.

Os conservantes têm sua efetividade influenciada pela própria concentração do produto; pelo número, classe, idade e história prévia do microrganismo envolvido; pela temperatura; pelo tempo e pelas características físicas e químicas do alimento (atividade de água, pH, classe e proporção das substâncias em dissolução, tensão superficial, presença de colóides e de outras substâncias protetoras). Assim, um conservante pode ser bactericida em determinada concentração, apenas inibidor em outra mais baixa ou perder sua efetividade em diluições maiores (Frazier & Westhoff, 1993). Deve-se considerar, conforme Robach (1980), o nível de contaminação inicial do produto, pois o conservante não é um substituto da boa sanitização no processamento do alimento. O conservante deve ser usado em conjunto com as boas práticas sanitárias. Ademais, o efeito dos conservantes é potencializado pelo tratamento

térmico e pelas condições de armazenamento (a duração, a temperatura e o tipo de embalagem).

A atuação dos conservantes está diretamente correlacionada ao pH do alimento. A forma não-dissociada da molécula do conservante é que confere a característica antimicrobiana. A concentração da forma não-dissociada aumenta com o aumento da acidez do alimento. Na faixa de pH entre 5,5 - 6,0, os ácidos orgânicos são relativamente ineficientes, à exceção dos “parabens” (ésteres do ácido p-hidroxibenzóico), que permanecem na forma não-dissociada, sendo efetivos inibidores. Acredita-se que a forma não-dissociada do conservante penetre através da membrana, ionizando-se no interior da célula e interferindo no sistema de transporte da membrana celular (Araújo, 1990).

Um conservante ideal deveria possuir um amplo espectro de atividade antimicrobiana, não ser tóxico para o homem ou animais, ser econômico, não afetar o sabor e aroma do alimento original, não ser inativado pelo alimento ou por qualquer substância do mesmo, não favorecer o desenvolvimento de cepas resistentes e ser capaz de destruir mais do que inibir os microrganismos. Infelizmente não há um conservante que reúna todas essas características, e muitas das substâncias ainda empregadas são conservantes antigos (Frazier & Westhoff, 1993).

Os conservantes químicos encontrados no leite de coco pasteurizado são ácido cítrico (H II) (2000 ppm), ácido benzóico (P I) (1000 ppm) ou ácido sórbico (P IV) (1000 ppm) e seus sais de cálcio e metabissulfitos (P V) (200 ppm) conforme Teixeira *et al.* (1989).

De acordo com Furia (1972) , o ácido sórbico e seus sais de sódio e potássio têm atividade contra leveduras e fungos, entretanto Robach (1980) cita que alguns estudos demonstraram que os sorbatos também inibiram o crescimento de *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, todos microrganismos causadores de toxinfecções alimentares. Medina (1980) cita que as bactérias aeróbias catalase-positivas e as catalase-negativas como *Lactobacillus* e *Clostridium* são parcialmente inibidas pelo ácido sórbico. A ordem



de toxicidade do ácido sórbico é menor do que a do ácido benzóico, e o metabolismo daquele, no corpo de mamíferos, é semelhante ao dos ácidos alifáticos, tais como ácido capróico e butírico (Furia, 1972). O dióxido de enxofre e sulfito são empregados contra fungos, leveduras e bactérias numa infinidade de produtos. O gás formado com a adição de sulfitos desaparece durante a estocagem na razão aproximadamente proporcional ao logaritmo de sua concentração (Furia, 1972).

O ótimo de efetividade do ácido sórbico e seus sais vai até o pH 6,5 (Costa, 1992; Simão, 1985 e Robach, 1980) e pH 6,0 (Araújo, 1990).

Smith *et al.* (1962), em estudos sobre a aplicação de sorbato de potássio e benzoato de sódio em suco de maçã fresco contra o crescimento de leveduras, afirmaram que o sorbato foi o melhor conservador na faixa de pH de 6,0 a 4,0 e numa concentração de 0,025 a 0,1%. Ainda salientaram que a ação dos dois conservantes foi melhorada pelo abaixamento do pH.

A ação inibidora do ácido sórbico e derivados está relacionada com a incapacidade dos microrganismos afetados de metabolizarem a estrutura química alifática contendo sistema dieno  $\alpha$ -insaturado. A presença da estrutura dieno do ácido sórbico interfere nas desidrogenases celulares que participam da oxidação dos ácidos graxos (Araújo, 1990). Os sorbatos são metabolizados pelo corpo até dióxido de carbono e água nos mamíferos e pode também ser metabolizado por microrganismos (Furia, 1972). A principal desvantagem dos sorbatos é seu custo, embora sejam usados em quantidades inferiores aos benzoatos e propionatos (mais baratos) em produtos com pH elevado para atingir o efeito desejado (Robach, 1980).

A atividade antimicrobiana inibitória ótima do ácido benzóico e seus derivados está na faixa de pH entre 2,5 e 4,0 (Furia, 1972; Araújo, 1990). Ainda conforme Araújo (1990), o ácido benzóico é eficiente no controle de bolores e leveduras, embora não tenha uso recomendado no controle de bactérias devido à sua baixa atividade em  $\text{pH} \geq 4,5$  (faixa de pH de alimentos onde a principal contaminação geralmente é de origem bacteriana). Conforme Robach (1980), a

baixa eficiência em pH superior a 4,0-4,5 deve-se ao baixo pKa (constante de dissociação) do ácido, já que a forma ativa é a do ácido não-dissociado.

Conforme Fennema (1976), o ácido benzóico é freqüentemente usado em combinação com o ácido sórbico ou os “parabens”, em concentrações que variam de 0,05 a 0,1% em peso.

Yabiku *et al.* (1987) destacam o dióxido de enxofre e seus sais minerais, o metabissulfito e bissulfito de sódio e potássio (agentes sulfitantes) como a mais versátil classe de conservadores para alimentos. Sabe-se que sua ação contra bactérias é mais eficaz do que contra leveduras e bolores, porém, quando associado ao ácido benzóico ou seus sais, sua amplitude de atuação é aumentada, sendo ideal para a conservação de sucos de frutas. Conforme Gava (1984), o mecanismo da ação estabilizadora do dióxido de enxofre parece estar relacionado com a estrutura enzimática da célula. Conforme Araújo (1990), em  $\text{pH} \leq 4,5$  o íon bissulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) e o ácido não-dissociado são as formas predominantes e ativas no controle de bolores, leveduras e bactérias. Conforme Frazier & Westhoff (1993), a efetividade do ácido sulfuroso é maior em pH baixo, e esse efeito resulta da predominância da forma não-dissociada em pH abaixo de 3,0. O mecanismo de inibição do sulfito em nível celular pode ser assim explicado: redução de ligações bissulfídricas essenciais em enzimas, formação de compostos de adição que interferem na cadeia respiratória envolvendo o  $\text{NAD}^+$ , reações com aminoácidos, pirimidinas e nucleosídeos (Araújo, 1990). O sulfito interage com vários constituintes dos alimentos: açúcares redutores, aldeídos, cetonas e proteínas, sendo que o sulfito na forma ligada é reduzido em alimentos ácidos. Devido ao seu efeito destrutivo da vitamina B1 (tiamina), o sulfito não é permitido em alimentos considerados como fonte desta vitamina (Furia, 1972; Robach, 1980; Araújo, 1990). A utilização do dióxido de enxofre em concentrações superiores a 500 ppm na maioria dos alimentos produz “flavors” desagradáveis (Robach, 1980; Furia, 1972); já conforme Medina (1980), concentrações superiores a 100 ppm podem ser responsáveis por odores desagradáveis, embora em frutas possa ser encontrado em concentrações de até 2000 ppm sem alterações organolépticas no

alimento (Fennema, 1976). Em alguns experimentos, em pH 7,0, o dióxido de enxofre e sulfitos foram ineficazes no controle de leveduras e bolores e 1000 ppm eram necessárias para inibir bactérias, segundo Medina (1980). Embora a adição de dióxido de enxofre seja considerada segura pelo *Food and Drug Administration* (FDA), a substituição do seu uso por outros conservantes vem ocorrendo devido a casos descritos de reações asmáticas a sulfitos, e outras reações adversas. Conforme Taylor (1993), a existência dessas reações adversas resultou num intenso interesse em buscar alternativas para permitir que a indústria alimentícia eliminasse ou reduzisse certos usos dos sulfitos e passasse a identificar a presença de sulfitos através dos rótulos dos alimentos nos EUA. Gomez & Herrero (1983) enfatizam que o dióxido de enxofre é um produto prejudicial, e seu uso em alimentos é questionável, principalmente devido a sua interação com ácidos nucleicos, inclusive sendo capaz de induzir mutações.

O ácido parahidroxibenzóico e seus ésteres (“parabens”) são usados largamente em produtos farmacêuticos, cosméticos e também em conservas vegetais (na concentração de 0,1%). Os “parabens” compreendem os ésteres: metil, etil, propil e butil do ácido parahidroxibenzóico e a atividade antimicrobiana é diretamente proporcional ao comprimento da cadeia lateral. São mais ativos contra bolores e leveduras. O metabolismo desses ésteres consiste na hidrólise da ligação éster e conjugações metabólicas (Simão, 1985). Conforme Araújo (1990), são menos eficientes no controle de bactérias, especialmente as Gram (-), e a inibição do crescimento dos microrganismos é atribuída à interferência no transporte de nutrientes e à inibição da síntese de RNA e DNA. São utilizados normalmente em combinação com outros tipos de conservantes.

Os ésteres do ácido parahidroxibenzóico são ativos numa faixa ampla de pH em razão da permanência na forma não-dissociada. A ligação éster é estável à hidrólise em temperatura de esterilização, característica desejável durante o processamento do alimento (Araújo, 1990). Resistem também à saponificação (Furia, 1972). Quando usados em combinações, aumentam a eficiência contra a proliferação de microrganismos em alimentos de baixa acidez (Araújo, 1990).

Dos “parabens”, os metil e propil-paraben são os mais empregados em alimentos (Frazier & Westhoff, 1993). Conforme Robach (1980), a combinação de metil e propil-paraben é freqüentemente empregada na concentração de 0,1%, embora com custo mais elevado do que outros conservantes.

Tong & Draughon (1985) estudaram a ação antimicrobiana de alguns aditivos alimentícios contra os fungos *Aspergillus sulphureus* e *Penicillium viridicatum*. Observaram que com o pH de 4,5, sorbato de potássio a 0,02% e 0,067% de metil-paraben inibiram o crescimento e a produção de toxina de ambos os fungos e com pH 5,5, bissulfito de sódio a 0,1% inibiu 45 e 89% de *A. sulphureus* e *P. viridicatum*, respectivamente; sorbato de potássio a 0,134% inibiu completamente o crescimento fúngico e metil-paraben foi 100% eficiente em ambos os pHs para inibir o crescimento fúngico em dosagens baixas (0,033%). Concluíram que, com o pH de 5,5, os agentes mais inibidores foram o sorbato de potássio e o metil-paraben.

Cabe salientar que a ingestão de conservantes em doses acima da ingestão diária aceitável (IDA) pode ocasionar problemas toxicológicos e reações alérgicas. Daí a necessidade de um rigoroso controle, por parte dos órgãos governamentais, do uso dos conservantes químicos em alimentos. Esse talvez seja um motivo que incentive a utilização decrescente de conservantes e outros aditivos em alimentos, partindo-se para tratamentos alternativos.

A maior disponibilidade de refrigeração e congelamento tem reduzido a necessidade de conservantes, e os consumidores desejam menos “química” em seus alimentos, a ponto de encontrarmos a tarja escrita “sem conservantes” (Diehl, 1990).

O emprego de ácidos orgânicos, como o cítrico e o acético, não têm limites estritos fixados principalmente porque sua concentração em alimentos é limitada pelo sabor ácido detectável (Diehl, 1990).

Segundo Diehl (1990), o ácido sórbico é um dos conservantes menos agressivos ao organismo humano, possuindo uma ingestão diária aceitável (IDA) de 0 a 25 mg/Kg de peso corpóreo do homem e é metabolicamente utilizado como

outros ácidos alifáticos, sendo água e dióxido de carbono seus produtos finais. Comparativamente pode-se citar que a IDA para o ácido benzóico é de 0 a 5 mg/Kg de peso corpóreo do homem e a dos ésteres do ácido parahidroxibenzoico é de 0 a 10 mg/Kg de peso corpóreo, enquanto a IDA para o SO<sub>2</sub> é de 0 a 0,7 mg/Kg (Medina, 1980).

Conforme Frazier & Westhoff (1993), os conservantes comumente empregados (benzoato, sorbato e metabissulfito) para a conservação do leite de coco são mais eficazes em alimentos ácidos do que em alimentos de baixa acidez.

Estudos desenvolvidos por Eiroa *et al.* (1975) com o leite de coco esterilizado e adicionado de polissorbato de potássio e metabissulfito de sódio (em duas concentrações: 147 µg/ml SO<sub>2</sub> e 243 µg/ml SO<sub>2</sub>) inoculado com *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus coagulans*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella typhimurium* e *Clostridium botulinum* tipos A, B e E demonstraram que em todos os casos houve a deterioração do produto como resultado do desenvolvimento dos microrganismos inoculados, e as alterações mais acentuadas ocorreram nos produtos sem adição de conservantes, mostrando um discreto efeito inibidor dos conservantes.

Teixeira *et al.* (1989) não evidenciaram crescimento microbiano em leite de coco acidificado (pH 4,2 a pH 4,4) e armazenado por 150 dias. Segundo os autores, a ausência de bactérias mesófilas, coliformes fecais e totais, bolores e leveduras foi devida ao tratamento térmico (100°C/30 min) empregado e à ação do benzoato de sódio utilizado como conservante (0,06%). A ausência de sulfito-redutores pode ser decorrente da baixa contaminação da matéria-prima durante o processamento. A não-evidência de desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* pode ser devida à acidez dos produtos aliada à baixa resistência térmica destas bactérias.

Conforme a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1980), as células de várias espécies microbianas têm diferentes níveis de tolerância à acidificação ou à acumulação de ânions, e suas membranas têm

permeabilidades e características diferentes para ácidos lipofílicos. Dependendo da natureza do ácido usado para acidificação, a tolerância dos microorganismos ao pH pode ser modificada; no entanto, geralmente é considerado que a relação entre pH e microorganismos é relativamente estável.

Convém ressaltar que, segundo a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1980), em alimentos ácidos ou acidificados os esporos de microorganismos podem estar presentes, mas a maioria tem sua germinação inibida na presença de ácidos.

Gonçalves & Teixeira Neto (1982) enfatizam a importância do *Bacillus coagulans*, uma bactéria anaeróbia facultativa, não patogênica, que apresenta atividade fermentativa sobre carboidratos, com produção de ácidos, mas sem formação de gases (“flat sour”), que pode se desenvolver em pH 4,0 ou 4,5. Por ser esporogênica, exige um tratamento térmico mais intenso para destruição de seus esporos. Outros esporogênicos de importância na deterioração de alimentos ácidos são as anaeróbias butíricas como o *Clostridium pasteurianum* e *C. butyricum*. Apresentam atividade fermentativa sobre carboidratos, com produção dos ácidos acético e butírico e dos gases carbônico e hidrogênio.

Bactérias esporogênicas são importantes para a indústria alimentícia porque sobrevivem aos processamentos dos alimentos e podem causar deterioração. É impossível destruir todos os esporos em alimentos sem comprometer a qualidade organoléptica ou nutricional, e outros métodos devem ser usados para inibir o crescimento dos esporos após o processamento. A inibição dos esporos pode ser feita pela formulação de produtos, pelas condições adequadas de armazenamento e pelo uso de agentes antimicrobianos. Os agentes antimicrobianos podem prolongar a vida de prateleira dos alimentos, bem como prover uma margem de proteção, se os alimentos são colocados em condições de temperatura inadequadas (Cook & Pierson, 1983). O ácido sórbico interfere em vários sistemas enzimáticos essenciais para a esporulação e metabolismo celular e pode inibir esporos até nas fases finais do processo de esporulação. Entretanto, esta inibição é dependente do pH (6,5 no máximo). Os “parabens” podem,

seletivamente, inibir a germinação e prevenir o crescimento de esporos e, embora os de cadeia longa sejam os mais efetivos, o ótimo tamanho de cadeia estaria entre 3 e 4 átomos de carbono, pois as cadeias muito longas são insolúveis em água (Cook & Pierson, 1983). O benzoato de sódio em concentrações de 0,01-0,03% permite a germinação e emergência do esporo germinado, mas a elongação é prevenida a pH 6,0 (Cook & Pierson, 1983).

O emprego de ácidos orgânicos abaixa o pH e inibe o crescimento de esporos. O benzoato de sódio tem inibido a esporulação de espécies de *Bacillus*, e, ao aumentar o pH, a eficiência do ácido benzóico diminui (Cook & Pierson, 1983).

A combinação de agentes químicos pode ser mais efetiva para inibir o crescimento de esporos do que o uso isolado, e os níveis de esporos podem afetar a habilidade dos agentes antimicrobianos (Cook & Pierson, 1983). Entretanto, os níveis comumente usados dos agentes antimicrobianos não previnem completamente o crescimento bacteriano a partir de seus esporos, mas geralmente prolongam a vida de prateleira do produto. Os agentes inibidores químicos são mais eficientes quando usados em conjunto com outros tratamentos como armazenamento a baixas temperaturas, baixo pH (Cook & Pierson, 1983).

Tabata *et al.* (1994), em seu trabalho sobre a degradação de aflatoxinas por aditivos alimentares, sugerem que as aflatoxinas podem ser degradadas ou removidas por tratamento com aditivos alimentares durante o processamento. Os autores testaram, dentre os aditivos, o sulfito de sódio, o bissulfito de sódio e o metabissulfito de potássio.

### **2.3.3. Processamento térmico**

A conservação pelo emprego de calor é o método mais eficaz para evitar a deterioração microbiológica. Na esterilização comercial, o produto é submetido a um processamento térmico suficiente para a isenção de formas viáveis de microrganismos, patogênicos ou não, capazes de se desenvolverem no meio sob condições normais de armazenamento e distribuição sem refrigeração. Diante do

interesse em se obter um produto com baixo investimento tecnológico, excluiu-se a possibilidade da esterilização do “leite” de castanha a ser desenvolvido, embora saiba-se que um produto apenas pasteurizado resista armazenado em temperatura ambiente, por poucos dias.

A pasteurização tem como objetivo principal a destruição de células vegetativas de microrganismos, sendo pouco efetiva no controle da deterioração por bactérias esporogênicas. Assim, uma operação conjunta para prolongar a estabilidade de produtos pasteurizados é fundamental (estocagem sob temperaturas reduzidas, ajuste do pH, eliminação parcial da umidade) (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1980; Gonçalves *et al.*, 1984). Segundo Frazier & Westhoff (1993), emprega-se a pasteurização quando um dos objetivos é a destruição de microrganismos patogênicos. Oliveira *et al.* (1994) reafirmam o exposto por Frazier & Westhoff (1993), quando consideram que a aplicação de tratamentos térmicos ao leite bovino, como a pasteurização, que visa eliminar os microrganismos patogênicos, é extremamente importante para se assegurar ao consumidor um produto de alta qualidade sanitária e para aumentar a vida útil do leite pela eliminação da maioria dos microrganismos presentes.

Eiroa *et al.* (1975) estudaram três diferentes marcas comerciais de leite de coco com o objetivo de detectar microrganismos viáveis e isolaram espécies de *Bacillus* e *Clostridium*. Os resultados mostraram que o tratamento térmico empregado pelas indústrias (pasteurização a temperaturas abaixo de 100°C e conservantes) não foi suficiente para destruir esporos desses microrganismos, sendo suficiente apenas para a destruição de bactérias não-esporogênicas, bolores e leveduras. Como o produto é pouco ácido (da mesma forma que o “leite” de castanha), há um risco potencial da presença de esporulados patogênicos no produto final. Conforme já citado, a eficiência dos conservantes depende principalmente do nível de acidez do substrato e, com valores de pH inferiores a 4,5, há uma maior eficiência, reduzida à medida que a acidez diminui. Portanto, se não se empregar a esterilização, a conservação e comercialização do produto devem ser feitas sob refrigeração.



No artigo Leite de coco sem conservantes (1993), pesquisadores do ITAL divulgaram as evoluções das pesquisas desenvolvidas com este produto para torná-lo mais seguro e estável fisicamente, citando o uso de autoclave rotativa para a esterilização do produto e misturas de emulsificantes e espessantes para evitar a separação de fases ou a precipitação da fração proteica. A combinação de carragenato, goma-guar (0,06%) e CMC (carboximetilcelulose) (0,2%) seguida de homogeneização sob pressão de 50 a 150 Kg/cm<sup>2</sup> e esterilização em autoclave estática conforme experimento desenvolvido por Soler *et al.* (1986) já vem sendo empregada, e o produto comercializado pela Du Coco.

Conforme Leufstedt (1990), o leite de coco integral pasteurizado e refrigerado (5-8°C) tem uma vida de prateleira de apenas dois dias, enquanto o produto esterilizado pelo sistema UHT (Ultra High Temperature) a 140°C/4s e embalado assepticamente tem uma vida de prateleira de 3 a 12 meses.

#### 2.3.4. Redução do pH

Não há evidências de crescimento de bactérias patogênicas em alimentos com pH abaixo de 4,5. A acidificação aliada à pasteurização (sabe-se que esta elimina os deterioradores menos resistentes ao calor) poderia garantir a estabilidade microbiológica sem haver a necessidade de refrigeração e da adição de conservantes (Gonçalves *et al.*, 1984). Considerando a possível utilização do “leite” de castanha na formulação de outros alimentos, como é feito com o leite de coco (Gonçalves *et al.*, 1984), um produto acidificado não alteraria sensivelmente as características organolépticas dos produtos derivados.

Gonçalves *et al.* (1984) testaram a conservação do leite de coco por acidificação (pH 4,5) seguida de pasteurização em tanque aberto com água em ebulição. Selecionaram, dentre os ácidos málico, cítrico, fosfórico, fumárico, tartárico e láctico, os três últimos, em função de características organolépticas, custo e volume utilizado. O produto final obtido revelou características organolépticas

satisfatórias e não foi evidenciada alteração microbiológica durante os 90 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

Teixeira *et al.* (1989) realizaram um experimento com acidificação do leite de coco até pH 4,2 - 4,4. O produto recebeu os conservantes de uso comum em leite de coco, que foram o benzoato de sódio (0,06%) e metabissulfito de sódio (0,03%), e, após o pré-aquecimento do produto (85°C/5 minutos), o produto dividido em cinco partes recebeu os ácidos cítrico, málico, láctico, tartárico e fosfórico para a acidificação. Foi acondicionado em garrafas de 200 ml e pasteurizado em banho-maria a 100°C por 30 minutos e resfriado, até temperatura ambiente, em água corrente, sendo armazenado em temperatura ambiente. Os autores evidenciaram que a redução do pH para a faixa ácida e a pasteurização mostraram-se eficientes na conservação do produto sob o aspecto microbiológico.

Cuidado deve ser tomado na escolha do acidulante, pois pode conferir ao produto sabor ácido característico além da própria acidez. O sabor ácido deve-se ao anionte do ácido, e a sensação de acidez é função das constantes de dissociação. Assim, vários ácidos quando utilizados na mesma quantidade não dão igual sensação de acidez (Gonçalves & Teixeira Neto, 1982). A Tabela 9 mostra o poder relativo de alguns ácidos comumente empregados em conservas alimentícias, quanto às capacidades de reduzir o pH e conferir sabor ácido.

A combinação da acidificação com outros tratamentos, como o uso de calor, preserva alimentos. Nesses processos, o calor é suficiente para inativar células vegetativas, mas não inativa esporos presentes no alimento (Blocher & Busta, 1983).

A quantidade de ácido não-dissociado presente num sistema é função do pH, da constante de dissociação e da concentração do ácido. Num dado pH, o ácido com constante de dissociação maior estará menos dissociado. A diminuição do pH ou o aumento da concentração mantêm o ácido não-dissociado. Mudanças na quantidade de ácido não dissociado alteram o grau de inibição e tomam difícil a comparação de tratamentos em diferentes valores de pH (Blocher & Busta, 1983).

Tabela 9 - Poder relativo dos ácidos, em partes por peso, para reduzir o pH e conferir sabor ácido.

Ácido	Igual queda de pH	Igual sabor ácido
Cítrico	1,00	1,00
Málico	1,00	0,80
Lático	1,00	1,25
Tartárico	0,56	1,00
Fosfórico	0,23	0,90

Fonte: Adaptado de Gonçalves & Teixeira Neto, 1982

A efetividade antimicrobiana dos ácidos pode ser feita por inibição relativa, onde diferentes ácidos são usados para acidificar um sistema até o mesmo pH, ou pela concentração mínima inibitória (Blocher & Busta, 1983).

Os acidulantes reduzem o pH, minimizando o crescimento microbiano e freqüentemente incrementam o efeito dos conservantes levemente ácidos (Robach, 1980).

O mecanismo de inibição dos ácidos nos esporos bacterianos é, para muitos, desconhecido. Há várias teorias, dentre elas a explicação da inibição é que o ácido não-dissociado atravessa a membrana, dissocia-se acima de 99% e desequilibra o gradiente de prótons. Entretanto, a interferência no transporte de íons de hidrogênio não é suficiente para explicar a inibição das células bacterianas por sorbato, benzoato e propionato (Blocher & Busta, 1983).

### 2.3.5. Acidez titulável e pH

Antes de se executar um processamento, é essencial conhecer a variação de acidez esperada num produto. A resistência dos microrganismos ao calor e a sua capacidade de crescimento são bastante influenciadas pelo pH (The Measurement..., 1968).

O termo pH é o símbolo usado para designar a acidez efetiva, o grau ou intensidade de acidez. A acidez total indica a quantidade total de ácido presente, com relação à sua força. A atividade de um ácido pode ser expressa em termos de concentração hidrogeniônica (pH) e depende da natureza do ácido, da temperatura, da diluição e de outros materiais dissolvidos na solução. A atividade efetiva depende da concentração de íons de hidrogênio ativos e não do total de ácido em solução, pois muitos dos íons de hidrogênio podem estar inativos. Ácidos que têm grande quantidade de íons de hidrogênio ativos são chamados de fortes (The Measurement..., 1968).

O processamento, o armazenamento ou a incubação podem causar aumento na acidez, especialmente em produtos de baixa acidez. A deterioração microbiana freqüentemente causa uma redução marcante no pH, especialmente em produtos com baixa acidez (The Measurement..., 1968).

### **2.3.6. Refrigeração**

As baixas temperaturas são usadas para retardar as reações químicas e a ação de enzimas e para atrasar ou inibir o crescimento e a atividade dos microrganismos que se encontram nos alimentos. Admite-se que qualquer alimento cru, vegetal ou animal, contém um número variável de bactérias, leveduras e bolores, para cuja alteração são necessárias apenas condições de crescimento adequadas. Cada microrganismo tem um ótimo de temperatura e outro mínimo abaixo do qual não pode se multiplicar. À medida que a temperatura reduz-se abaixo da ótima, o ritmo de crescimento do organismo decresce. As temperaturas mais baixas evitam o crescimento, mas a atividade metabólica pode continuar, mesmo lentamente. Assim, o abaixamento da temperatura normal de um alimento produz efeitos diferentes nos distintos microrganismos presentes. Uma diminuição de 10°C pode deter o crescimento de alguns microrganismos e retardar o de outros em proporções que variam com o tipo de microrganismo (Frazier & Westhoff, 1993).

A refrigeração geralmente apenas diminui a velocidade de crescimento dos microrganismos. Temperaturas de 5 ou 6°C retardam a multiplicação dos microrganismos produtores de intoxicações alimentares, com exceção do *C. botulinum* tipo E. O armazenamento sob refrigeração emprega temperaturas não muito superiores às do congelamento, necessitando do emprego de gelo ou da refrigeração mecânica. As mudanças enzimáticas e microbianas não são evitadas por completo, mas são retardadas consideravelmente com a refrigeração (Frazier & Westhoff, 1993).

### **2.3.7. Embalagens**

A embalagem é um meio de preservar os produtos alimentícios durante a estocagem e comercialização, evitando as alterações devido à ação do ambiente. Dentre as funções básicas das embalagens, citam-se: conter o produto, protegê-lo e informar o consumidor (Cabral, 1983).

As embalagens não são especificadas apenas em função do produto, mas também levando-se em conta o tempo de estocagem, as condições de estocagem e de processamento (Madi, 1981).

Efeitos resultantes da exposição à luz (oxidação de vitaminas e matéria graxa) e a altas temperaturas, que afetam bastante a vida de prateleira de produtos alimentícios, são de difícil controle através de embalagem (Madi, 1981).

Danos mecânicos por queda da embalagem e compressão devido a empilhamento, podem levar ao rompimento da embalagem, causando perdas. Com relação ao danos biológicos, muito pouco se sabe sobre a permeabilidade de filmes plásticos a microrganismos (Madi, 1981).

Têm-se verificado vantagens no uso de embalagens flexíveis sobre as metálicas e o vidro. Conforme Medina (1980), a transparência, a versatilidade, a produção em grande escala e a baixo peso e custo são algumas das vantagens a serem consideradas.

O emprego do vidro nas embalagens populares é preterido por seu alto custo e fragilidade, apesar de ser mais nobre devido à impermeabilidade e à sua resistência química (Proteção..., 1979).

Os termoplásticos, plásticos de maior uso para a embalagem de alimentos, são: polietileno (PE) de alta (PEAD) e baixa densidade (PEBD), polipropileno (PP), poliestireno (PS), policarbonato (PC), poliéster, celofane, náilon, polietileno tereftalato (PET) e cloreto de polivinila (PVC) (Medina, 1980; Domene, 1982).

O polietileno tem limitações como a pequena resistência ao desgaste, a alta transmissão de odores e a baixa resistência à migração de óleos e gorduras, embora seja o plástico transparente mais comercializado e mais barato (Medina, 1980).

Os filmes compostos, chamados de laminados ou sanduíches, formados pela sobreposição de mais de uma camada de material, têm aplicações específicas de acordo com a combinação de materiais empregados.

O filme composto por náilon e PEBD combina a resistência à ruptura, resistência a temperaturas elevadas (resistência a tratamentos térmicos), baixa permeabilidade a gases e barreira a graxas e óleos do náilon com a resistência ao impacto, barreira ao vapor d'água e propriedades de soldagem do PEBD (Domene, 1982; Ortiz, 1983).

### **2.3.8. Qualidade e vida de prateleira**

Os produtos alimentícios apresentam atividade biológica através de transformações de natureza química, física, bioquímica ou microbiológica, que levam a uma deterioração de sua qualidade (Ortiz, 1982).

A vida de prateleira pode ser considerada como o período de tempo durante o qual se mantém a aceitação do produto pelo consumidor, levando em conta critérios como as alterações organolépticas, perda de nutrientes e interações produto/embalagem (Ortiz, 1982).

Durante o período de estocagem e distribuição, o alimento está sujeito a diversos tipos de deterioração, decorrentes de condições inadequadas de manuseio, contaminação microbiológica e infestação por insetos e roedores, que poderão causar graves danos ao consumidor, dependendo do grau de intensidade e do tipo de alteração em questão (Ortiz, 1982).

Grande parte das transformações e deteriorações pode ser minimizada ou evitada pelo uso de embalagens adequadas e que atendam aos requisitos de proteção específicos de cada produto alimentício (Ortiz, 1982).

Os principais parâmetros a serem avaliados na estimativa da vida de prateleira de alimentos são: valor nutritivo (vitaminas e proteínas), crescimento microbiano, ação enzimática, infestação de insetos e qualidades organolépticas como sabor, aroma, textura, aparência geral (Cabral & Fernandes, 1980).

Pode-se controlar a vida de prateleira por parâmetros do ponto de vista do consumidor como as alterações organolépticas e estéticas, pois é difícil para o consumidor avaliar o alimento quanto aos aspectos nutricionais ou microbiológicos (Ortiz, 1982). Pode-se considerar, ainda, que de nada adianta o produto apresentar alto valor nutritivo, estar completamente estéril, se o consumidor não o aceita (Cabral & Fernandes, 1980).

### **2.3.8.1. Aspectos microbiológicos**

O crescimento microbiano é fator preponderante na manutenção da qualidade de alimentos, sendo, assim, um parâmetro para a avaliação da vida de prateleira (Cabral & Fernandes, 1980).

Há duas classes principais dos alimentos: perecíveis e não-perecíveis. Os perecíveis necessitam de estocagem a baixas temperaturas para minimizar as alterações de qualidade manifestadas principalmente pelo crescimento de bactérias, bolores e leveduras. A deterioração microbiana geralmente antecede às demais, sendo perceptível pelo consumidor devido ao aroma e aspectos desagradáveis. A estocagem de produtos perecíveis requer processamento térmico

ou congelamento. Os alimentos não-perecíveis podem ser estocados em temperatura ambiente sem que ocorra crescimento microbiano em escala tal que implique em sua deterioração ( Cabral & Fernandes, 1980).

Considera-se, ainda, o conceito de semi-perecibilidade, relativo a alimentos que contêm inibidores naturais ou que receberam algum tipo de tratamento específico de modo a aumentar sua tolerância às condições de manuseio, transporte e estocagem (Cabral & Fernandes, 1980). Para esses alimentos recomenda-se a refrigeração, e sua vida útil varia de 30 a 90 dias em estocagem refrigerada, enquanto os alimentos perecíveis refrigerados permanecem em boas condições de consumo somente durante 5 a 7 dias (Cabral & Fernandes, 1980).

A quantidade de água disponível no alimento para o desenvolvimento microbiano ou reações de natureza química, física ou enzimica, medida pela atividade de água (Aa) permite que um determinado grupo de microrganismos tenha condições preferenciais para o seu desenvolvimento (crescimento, germinação de esporos e outros processos vitais). A atividade de água de um alimento influencia a fase “lag”, a taxa de crescimento e os tipos de microrganismos que podem crescer. Geralmente um decréscimo na atividade de água resulta numa fase “lag” mais longa e uma taxa de crescimento mais lenta. As bactérias são mais sensíveis quanto à necessidade de água, seguidas pelas leveduras e bolores (Genigeorgis, 1981). Assim, a vida de prateleira pode ser aumentada com a diminuição da umidade do produto (Ortiz, 1982).

O pH também está intimamente relacionado com os tipos de microrganismos que podem se desenvolver no alimento. Alimentos pouco ácidos são mais suscetíveis à deterioração microbiológica. Alimentos que se caracterizam por pH maior que 4,5 e atividade de água maior que 0,85 são os perecíveis e apresentam condições excelentes para o desenvolvimento microbiano (Cabral & Fernandes, 1980).

Alimentos ácidos não podem ser invadidos por bactérias putrefativas, que são microrganismos ácido-intolerantes (Mossel & Ingram, 1956).



Se o poder-tampão do alimento é elevado, os microrganismos deterioradores mudarão pouco, enquanto o baixo poder-tampão permite mudanças radicais na composição microbiana durante o processo de decomposição (Mossel & Ingram, 1956).

A acidez do alimento afeta a fase “lag”, a taxa de crescimento e a taxa de mortalidade dos microrganismos em valores extremos. O efeito dos ácidos nos microrganismos pode ser devido à concentração hidrogeniônica e/ou à toxidez do ácido não-dissociado (Genigeorgis, 1981).

A resposta dos microrganismos patogênicos à acidez varia conforme o tamanho do inóculo, a cepa, o tipo de alimento e o tipo de ácido usado para ajustar o pH. Há interações com temperatura, atividade de água e potencial de oxirredução. Geralmente, quanto maior o nível de contaminação inicial e outras condições ótimas, mais larga a faixa de pH que permite o crescimento dos microrganismos. Considera-se, geralmente, que bolores e leveduras crescem melhor em meios ácidos, enquanto muitas bactérias crescem melhor em pH neutro ou levemente alcalino (Genigeorgis, 1981).

De maneira extrínseca, a temperatura e a umidade relativa do ambiente no qual o alimento esteja estocado influem decisivamente na sua vida de prateleira (Ortiz, 1982). Os microrganismos podem ser classificados em faixas de temperatura nas quais se desenvolvem mais rápido. Manipulando a temperatura por meio de processamentos térmicos ou pela manutenção do produto em temperaturas que inibam o desenvolvimento microbiano, pode-se prolongar a vida de prateleira dos alimentos (Ortiz, 1982). Condições com alta atividade de água permitem maior crescimento de bactérias e leveduras, pois crescem mais rapidamente do que bolores nessas condições (Mossel & Ingram, 1956).

A maioria das bactérias é mesófila, com temperatura ótima de crescimento entre 35° e 37 °C, desenvolvendo-se, porém, na faixa de 20° a 45 °C (Cabral & Fernandes, 1980). A grande maioria das bactérias patogênicas é mesófila, apresentando pouco ou nenhum desenvolvimento em temperaturas de refrigeração (4°-5°C) (Leitão, 1981).

A contagem inicial de microrganismos em alimentos perecíveis, quando alta, representa uma vida de prateleira mais curta, mesmo se forem empregadas as melhores técnicas de acondicionamento e conservação. Assim, a manutenção do alimento em baixas temperaturas apenas inibe o crescimento de alguns microrganismos, favorecendo a conservação do produto por curtos períodos, sem contudo melhorar a sua qualidade inicial (Ortiz, 1983).

O efeito da competição microbiana pode resultar na eliminação de certas espécies e sucessão de outras em função de fatores como a magnitude da contaminação inicial do alimento pelos microrganismos que competem, a habilidade do alimento em resistir ao crescimento microbiano específico que é controlado por fatores químicos (pH, atividade de água, potencial de oxirredução, conservantes), fatores físicos (congelamento, estado físico de dispersão coloidal), condições de armazenamento (temperatura, umidade relativa, composição dos gases durante o tempo de armazenamento) e a habilidade intrínseca dos microrganismos dominantes em produzir compostos inibidores ou estimulantes (Genigeorgis, 1981).

A inibição do crescimento de patógenos e/ou a produção de certos metabólitos, incluindo toxinas, por outras espécies de microrganismos pode ser mediada pela produção de ácidos e decréscimo do pH ou pela competição por nutrientes essenciais (Genigeorgis, 1981).

O estímulo do crescimento e/ou produção de metabólitos, incluindo toxinas, pode ser explicado pela presença de compostos que podem ser usados como nutrientes por outros microrganismos, pela mudança de pH próximo do ótimo, pelo metabolismo de substâncias inibitórias e ou por mudanças no potencial de oxirredução (Genigeorgis, 1981).

Há, também, bolores, leveduras e poucas bactérias capazes de assimilar ácidos naturalmente presentes em alimentos. Tal ação pode resultar em aumento do pH para concentrações nas quais os patógenos podem crescer (Genigeorgis, 1981).

Geralmente, patógenos de alimentos são maus competidores e seu crescimento pode ser minimizado pelos microrganismos naturais do alimento.

Como resultado do processamento, estes microrganismos podem ser mortos ou reduzidos de tal forma que não representem problema para o crescimento de patógenos que recontaminam o alimento após o processamento (Genigeorgis, 1981).

Os conservantes, em sua maioria, são bacteriostáticos e não bactericidas, permitindo que haja microrganismos vivos nos alimentos. Praticamente todos os conservantes adicionados são utilizados para controlar a deterioração e não para prevenir o crescimento de microrganismos causadores de intoxicações alimentares (Genigeorgis, 1981).

A temperatura de armazenamento afeta a fase "lag", a taxa de crescimento dos microrganismos e seleciona certos microrganismos em detrimento de outros. A fase "lag" é mais curta na temperatura ótima de crescimento e é prolongada quando a temperatura diminui. Na temperatura mínima de crescimento a fase "lag" tende ao infinito. De modo geral, a taxa de crescimento dos microrganismos aumenta com o aumento da temperatura e esse aumento pode ser calculado matematicamente segundo a equação de Van't Hoff-Arrhenius. O tamanho do inóculo contaminante e a idade fisiológica das células não têm efeito na taxa de crescimento exponencial (Genigeorgis, 1981).

Como cada espécie microbiana tem sua faixa ótima de crescimento, o armazenamento do alimento em baixa temperatura selecionará bactérias Gram (-) deterioradoras ou patógenos psicrotolerantes, enquanto o armazenamento em altas temperaturas pode selecionar *Bacillus cereus*, *C. perfringens*, *S. aureus* e outros microrganismos mesofílicos de alimentos (Genigeorgis, 1981).

A composição química do alimento pode ser crucial para a deterioração do produto, pois determina a quantidade de nutrientes disponíveis para o desenvolvimento dos microrganismos. As necessidades de nutrientes variam conforme as condições nas quais os microrganismos se desenvolvem (Mossel & Ingram, 1956).

A utilização dos carboidratos pelos microrganismos é menos específica do que a das fontes de nitrogênio. Assim, os microrganismos utilizam vários

açúcares e compostos relacionados como álcoois ou ácidos (Mossel & Ingram, 1956).

Muitos microrganismos possuem enzimas lipolíticas, e a presença de gorduras permite a predominância de espécies lipolíticas num alimento heterogêneo (Mossel & Ingram, 1956).

As espécies lipolíticas são comumente acompanhadas, no material em putrefação, por espécies levemente proteolíticas ou não proteolíticas que existam no produto em degradação, porque as únicas espécies capazes de iniciar a deterioração são as proteolíticas. As espécies proteolíticas podem não quebrar a molécula proteica em aminoácidos ou utilizá-los completamente. Os estágios finais de deterioração de proteínas podem tornar-se complexos em função do requerimento em aminoácidos de cada microrganismo e da forma como são quebrados (Mossel & Ingram, 1956).

Acredita-se que haja uma ação interativa entre os microrganismos deterioradores de carboidratos e os de proteínas, pois, em alimentos que contêm muito carboidrato, a deterioração é preferencialmente fermentativo-putrefativa até os carboidratos se exaurirem (Mossel & Ingram, 1956).

Alimentos deficientes em vitaminas são mais deteriorados por microrganismos capazes de sintetizarem-nas (Mossel & Ingram, 1956).

O complexo de características representadas pela composição do alimento estabelece um grupo particular de microrganismos através de um tipo de seleção natural, tanto que é uma regra geral que os organismos que ocorram numa situação particular sejam os mais bem adaptados a explorar o alimento completamente (Mossel & Ingram, 1956).

Proteínas e amido freqüentemente resistem melhor ao ataque microbiano quando na forma nativa ao invés da forma desnaturada. A desnaturação proteica e a gelatinização do amido envolvem mudanças estruturais que provavelmente causem essa grande suscetibilidade ao ataque de enzimas microbianas. Os resultados dessa mudança não se vêem afetando apenas o colóide propriamente, mas liberando uma porção de água de embebição. Esta pode ser a explicação para

a maior deterioração do alimento cozido em relação ao cru (Mossel & Ingram, 1956).

O controle microbiológico normalmente é feito selecionando-se grupos ou espécies de microrganismos que permitam uma avaliação das condições higiênico-sanitárias do processamento, da provável vida de prateleira do produto e dos riscos diretos à saúde do consumidor. Como parâmetros freqüentemente utilizados, podem-se mencionar a contagem total de mesófilos, as contagens de coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e, finalmente, as contagens de patógenos propriamente ditos (Leitão & Shirose, 1978).

Conforme Eiroa (1977), o controle da qualidade microbiológica dos alimentos é um conjunto de medidas que permitem manter as contagens microbianas tão baixas quanto possível, reduzindo o número de microrganismos contaminantes, prevenindo a proliferação daqueles cuja presença é inevitável, evitando, assim, possíveis contaminações por patógenos.

Costuma-se adotar na elaboração dos padrões microbiológicos para alimentos, limites máximos de contaminação tolerável extremamente rígidos. Entretanto há padrões praticamente impossíveis de serem alcançados dentro da realidade das condições de processamento e qualidade da matéria-prima (Leitão & Shirose, 1978).

Assim, a qualidade de um alimento pode ser avaliada com base em valores médios ou nível médio de qualidade exigido pelo mercado consumidor e não, necessariamente, na melhor qualidade possível de ser atingida, independentemente do custo (Leitão, 1981).

Um alimento pode tornar-se inseguro a partir de componentes naturais do alimento ou de aditivos permitidos aos quais alguns consumidores são alérgicos ou sensíveis (o glúten, o sulfito), de fragmentos de materiais sólidos (vidro ou metal) que possam entrar no alimento, de substâncias químicas contaminantes (desinfetantes, pesticidas ou metais pesados) e de microrganismos contaminantes e produtos de seu metabolismo .

O critério para se considerar um alimento microbiologicamente seguro, inicialmente, era que os patógenos devem estar ausentes. Mas alguns patógenos podem não representar riscos em todos os alimentos. *Clostridium botulinum* pode ser importante em alimentos enlatados, mas não o é em produtos crus. A ausência deveria ser considerada, também, em determinada quantidade de alimento, senão não haveria homogeneidade de critérios. Passou-se, então, a adotar, por exemplo, a ausência de *Salmonella* em 25 g de alimento ou não haver mais do que 1000 *Staphylococcus aureus* por grama de alimento.

Hoje grupos internacionais como a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), a International Standards Organization (ISO), a International Dairy Federation (IDF) e a Association of Official Analytical Chemists (AOAC) vêm contribuindo para o desenvolvimento de métodos uniformes para a regulamentação de critérios seguros em alimentos.

Uma forma de se obter um produto seguro, sem a elevação da letalidade do processamento térmico, é fazer um controle microbiológico mais efetivo nas etapas que antecedem à pasteurização, como a adoção de boas práticas sanitárias para a redução da população microbiana contaminante. A aplicação dessas medidas pode permitir a redução no tempo de pasteurização e, assim, preservar melhor as características físicas e químicas originais do produto (Gonçalves *et al.*, 1984).

Del Rosario & Mabesa (1976) avaliaram as condições de higiene no processamento do leite de coco e revelaram que as mãos dos operadores, as nozes e o ar são as principais fontes de contaminação microbiana. A sanitização de equipamentos e a higienização das mãos dos operadores chega a reduzir de 95 a 98% as contagens microbianas no produto, melhorando a qualidade microbiológica do leite.

Leufstedt (1990) observa que produtos com natureza pouco ácida são mais suscetíveis à deterioração microbiana e, diante disso, medidas de higiene durante o processamento são indispensáveis.

Conforme Sharf (1972), a presença de um grande número de coliformes fecais e totais indica falta de boas práticas sanitárias e um aviso de que as condições que provocaram a contaminação poderiam facilmente conduzir à deterioração e perda de qualidade do produto, tornando-o um perigo à saúde humana.

#### **2.3.8.1.1. Microrganismos indicadores**

A dificuldade técnica e a falta de métodos confiáveis para a detecção de microrganismos patogênicos e suas toxinas, quando presentes em número reduzido, têm levado à utilização de grupos (ou espécies) de microrganismo cuja detecção ou contagem se realiza com maior facilidade e cuja presença nos alimentos indica que estes estiveram expostos a certas condições que poderiam introduzir organismos perigosos e/ou permitir a multiplicação de espécies infecciosas ou toxigênicas. Os grupos ou espécies utilizadas para este fim se denominam microrganismos indicadores, e sua detecção permite avaliar as condições higiênico-sanitárias de obtenção ou manuseio do alimento e, assim, a segurança para seu consumo (Gallo, 1990).

Conforme Vanderzant (1992), aqueles microrganismos cuja presença poderia revelar uma contaminação fecal direta ou indireta do alimento e, conseqüentemente, maior ou menor risco da introdução de patógenos que têm, no trato intestinal de animais, o seu "habitat" exclusivo ou preferencial, são vistos neste grupo de microrganismos indicadores como coliformes fecais.

Dentre as bactérias coliformes estão os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Os coliformes são bactérias Gram (-), não esporuladas, na forma de bastonetes e fermentam a lactose com produção de ácidos e gás. Os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* são encontrados em outros ambientes naturais (solo, vegetais) além de matéria fecal. Assim, o grupo dos coliformes totais não pode ser considerado como indicativo de presença de bactérias enteropatogênicas. O número elevado de coliformes totais, no entanto,

indica seguramente a ocorrência de falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto. Os limites máximos tolerados pela legislação encontram-se na faixa de 10 a  $10^3$  UFC/g de alimento (Gallo, 1990).

Ao se considerar o grupo dos coliformes fecais, designa-se principalmente a predominância da bactéria *E.coli*. Esta, sim, tem o “habitat” preferencial como sendo o trato intestinal de animais, não persistindo por períodos prolongados em outros ambientes. Sua presença é uma indicação mais segura das condições higiênico-sanitárias do produto e da eventual ocorrência de enteropatogênicos. Os limites permitidos pela legislação para o grupo dos coliformes fecais é a ausência ou limites máximos de  $10^2$  UFC/g (Gallo, 1990).

Segundo Vanderzant (1992), a presença de coliformes em alimentos processados é um indicador útil de contaminação pós-sanitização e pós-processamento (pasteurização).

#### **2.3.8.1.2. Bactérias proteolíticas**

O grupo das bactérias proteolíticas é heterogêneo e envolve aquelas que produzem proteinases extracelulares, enzimas que se difundem fora da célula. Todas as bactérias têm proteinases dentro das células, mas um número limitado tem as proteinases extracelulares. As bactérias proteolíticas podem-se dividir em dois grupos: as aeróbias ou facultativas formadoras ou não de esporos e as anaeróbias formadoras de esporos. São exemplos: o *Bacillus cereus* (esporulado e aeróbio e anaeróbio facultativo), a *Pseudomonas fluorescens* (aeróbia ou facultativa e não-esporulada), o *Clostridium sporogenes* (esporulado e anaeróbio). Muitas das espécies de *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Proteus* são proteolíticas. Algumas bactérias proteolíticas promovem uma fermentação ácida e proteólise simultaneamente: *Streptococcus faecalis* var. *liquefasciens* e *Micrococcus caseolyticus* (Vanderzant, 1992). Outras são putrefativas, decompondo as proteínas anaerobiamente e formando compostos de mau cheiro como mercaptanas, sulfeto de hidrogênio, aminas, indol e ácidos graxos. A maioria



das espécies de *Clostridium* é putrefativa, assim como algumas espécies de *Proteus*, *Pseudomonas* e outros gêneros não formadores de esporos. Pode ocorrer também a putrefação de produtos da hidrólise das proteínas (Gallo, 1990).

Embora a proteólise possa ser favorecida por altas temperaturas (40°C, por exemplo), pode ocorrer também em temperaturas de refrigeração (Vanderzant, 1992).

### **2.3.8.1.3. Bactérias lipolíticas**

São um grupo de bactérias que produzem lipases, enzimas que catalisam a hidrólise das gorduras em ácidos graxos e glicerol (Gallo, 1990). A maioria das lipases são extracelulares, podendo atuar na ausência de células viáveis (Vanderzant, 1992). Muitas das bactérias proteolíticas aeróbias são também lipolíticas (como a *Pseudomonas fluorescens*). Representantes das bactérias lipolíticas encontram-se nos gêneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Serratia* e *Micrococcus* (Gallo, 1990).

Desenvolvem-se em alimentos que contêm elevado teor de gordura. Sua contagem não é feita rotineiramente pelos fabricantes de alimentos. Na enumeração de microrganismos lipolíticos determina-se, geralmente, apenas a atividade hidrolítica, pois a determinação de microrganismos oxidantes de lipídios não é possível ser executada através de técnicas rotineiras de contagens em placa (Vanderzant, 1992; Gallo, 1990).

As bactérias lipolíticas são, em grande parte, aeróbias ou facultativas, proteolíticas e não produtoras de ácido. Têm maior ação em produtos estocados sob refrigeração por períodos extensos. São freqüentemente psicrotóxicas (Gallo, 1978).

#### 2.3.8.1.4. Microrganismos termófilos

As bactérias termófilas são as que crescem em altas temperaturas e geralmente são esporuladas. Dividem-se em dois grupos em função da temperatura de germinação e crescimento dos esporos. As termófilas obrigatórias são aquelas cujos esporos não germinam e cujas células vegetativas não crescem em temperaturas abaixo de 50°C. Se o crescimento ocorrer em temperaturas de 50 a 66°C e em temperaturas mais baixas (por exemplo 38°C), são denominadas facultativas, podendo crescer em ambas as temperaturas. As bactérias termófilas não produzem toxinas durante a deterioração dos alimentos (Alimentos..., 1990).

Geralmente quanto maior a temperatura na qual um organismo esporogênico pode crescer, tanto maior será a resistência térmica de seus esporos. Os esporos de bactérias termófilas são tão resistentes ao calor que os processos de aquecimento projetados para destruir os tipos causadores de deterioração mesófila poderão não ser suficientes para evitar a deterioração termófila, a não ser que o produto seja resfriado e mantido abaixo da temperatura favorável para os termófilos (Alimentos..., 1990).

Conforme Vanderzant (1992), alguns microrganismos termodúricos, considerados como aqueles que resistem a tratamento térmico típico de pasteurização em temperaturas de 60 a 80°C, podem crescer eventualmente sob refrigeração, como os *Lactobacillus*, *Bacillus* e enterococos. Os microrganismos termodúricos podem não causar danos detectáveis ou então produzir ácidos, proteólise intensa, lipólise e gás.

Ainda segundo o mesmo autor, os microrganismos termodúricos tecnicamente são considerados formadores de esporos, embora haja espécies não esporuladas termodúricas.

Vanderzant (1992) considera que os seguintes gêneros contêm microrganismos termodúricos: *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* e bactérias corineiformes.

O grupo termodúrico está geralmente relacionado ao leite e seus derivados quando se considera que este grupo permanece viável após pasteurização (Vanderzant, 1992).

Assim, ao se contar o grupo mesófilo está-se detectando conjuntamente os termodúricos (Vanderzant, 1992).

Segundo Vanderzant (1992), quando alimentos previamente cozidos deterioram enquanto mantidos sob refrigeração, geralmente é resultado de recontaminação. Entretanto vários tipos de termodúricos podem crescer lentamente e produzir defeitos, principalmente quando a contaminação com microrganismos psicrotróficos após aquecimento é evitada ou minimizada.

#### **2.3.8.1.5. Bactérias mesófilas**

A verificação de contaminação geral do produto pode ser feita através da contagem aeróbica em placas, geralmente referida como contagem total. Entretanto, apenas são contadas aquelas bactérias que podem produzir colônias no meio de cultivo utilizado e sob as condições de incubação oferecidas. A temperatura de incubação pode afetar a contagem e interpretação dos dados de contagem aeróbica em placa. Esse tipo de contagem estima a quantidade de microrganismos deterioradores mesófilos e alguns psicrófilos deterioradores (crescem em condições ótimas nas temperaturas de refrigeração, mas podem crescer em condições mesófilas).

A alta contagem de aeróbios em placa pode indicar: processamento mal feito, manutenção em temperaturas inadequadas durante a estocagem, ou fermentação intencional (Vanderzant, 1992).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Delineamento experimental

A pesquisa consistiu em dois experimentos distintos que envolveram os mesmos tratamentos, em esquema fatorial, diferindo nas temperaturas utilizadas para a conservação das amostras. As amostras de extrato fluido de castanha-do-pará foram submetidas aos seguintes tratamentos:

##### Tratamento 1 (T1):

- ácido cítrico (H II) na concentração de 500 ppm
- ésteres metil-propil do ácido parahidroxibenzóico (P III) (3:1) na concentração e 0,1% p/v
- sorbato de potássio (P IV) na concentração de 0,2% p/v
- pasteurização a  $72 \pm 2$  °C (20 minutos)

##### Tratamento 2 (T2):

- ácido cítrico (H II) na concentração de 500 ppm
- ácido benzóico (P I) na concentração de 0,2% p/v
- sorbato de potássio (P IV) na concentração de 0,2% p/v
- pasteurização a  $72 \pm 2$  °C (20 minutos)

##### Tratamento 3 (T3):

- sem conservantes
- pasteurização a  $72 \pm 2$  °C (20 minutos)

As amostras dos tratamentos discriminados foram armazenadas em temperatura ambiente e sob refrigeração.

Duas amostras foram retiradas de cada tratamento, ou seja, duas embalagens plásticas (náilon-polietileno) com 100 ml de extrato fluido, para serem analisadas em cada período.

Os períodos de análise (em dias) foram: 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 e 180.

## **3.2. Testes preliminares**

### **3.2.1. Conservantes químicos**

A escolha dos conservantes químicos a serem combinados baseou-se, inicialmente, naqueles utilizados no leite de coco pasteurizado (ácido cítrico, ácido benzóico, ácido sórbico e metabissulfitos), conforme cita Teixeira *et al.* (1989), além daqueles utilizados por Souza *et al.* (1987), que trabalharam com “leite” de castanha.

a) O metabissulfito foi testado nas concentrações de 150 ppm e 300 ppm de metabissulfito de sódio.

b) A acidificação foi executada com ácido cítrico e ácido láctico para reduzir o pH até 4,5.

c) Foram testadas quantidades de 500, 1000 e 2000 ppm de ácido cítrico no produto, e avaliou-se o crescimento de microrganismos mesófilos por contagem aeróbia em placa, utilizando o meio “plate count agar” (PCA), incubando-se à 32<sup>o</sup>C por 24/48 horas.

d) Testaram-se os ácidos benzóico e sorbato de potássio nas concentrações de 0,1% e 0,2%.

e) Testou-se a mistura dos ésteres metil-propil-paraben [na proporção de 0,1% p/v e três partes de metil para uma parte de propil - conforme recomendação de Furia (1972)] - no produto armazenando-o por uma semana e avaliou-se o

crescimento de microrganismos mesófilos por contagem aeróbia em placa, utilizando o meio “plate count agar” (PCA), incubando-se à 32<sup>o</sup>C por 24/48 horas.

### **3.2.2. Pasteurização**

a) Fez-se o aquecimento (85<sup>o</sup>C) para a coagulação e precipitação da fração proteica sem a pasteurização.

b) Testaram-se diferentes tempos de pasteurização (5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos) e avaliou-se o crescimento de microrganismos mesófilos por contagem aeróbia em placa, utilizando o meio “plate count agar” (PCA), incubando-se à 32<sup>o</sup>C por 24/48 horas.

c) A temperatura de pasteurização foi determinada testando-se temperaturas inferiores a 85<sup>o</sup>C até que não houvesse coagulação e precipitação da fração proteica.

## **3.3. Procedimento experimental**

### **3.3.1. Obtenção do extrato fluido**

A pesquisa foi conduzida durante os meses de dezembro de 1994 a maio de 1995 e utilizou, como matéria-prima, amêndoas de castanhas-do-pará embaladas a vácuo em saco aluminizado, em caixas de papelão de 10 Kg, obtidas no comércio, utilizadas para exportação.

Após prévia seleção, quando retiraram-se amêndoas quebradas, mofadas ou com aparência inadequada, as amêndoas foram despeliculadas mecanicamente (com o auxílio de um multiprocessador com adaptador de velocidade) e manualmente (com o auxílio de facas de aço inoxidável).

As castanhas despeliculadas foram prensadas em prensas hidráulicas, de laboratório, tipo Carver, a frio, até pressão de 5.000 lb./pol.<sup>2</sup>, tendo um

rendimento de aproximadamente 34% v/p de óleo bruto em relação ao peso de castanha.

A torta proveniente da prensagem foi mantida sob armazenamento congelado em sacos plásticos, na quantidade de 500g cada, para melhor conservação até a obtenção da quantidade necessária para a execução da pesquisa.

Para a obtenção do “leite”, a torta foi dividida em dois lotes, um para cada experimento (em temperatura ambiente e sob refrigeração), sendo cada ensaio executado em semanas diferentes e consecutivas. A torta foi homogeneizada em liquidificador juntamente com água filtrada na proporção de 2 partes de água para uma parte de torta, até a obtenção de consistência homogênea.

O produto obtido foi então centrifugado em aparelho doméstico, obtendo-se o “leite” e a farinha úmida.

O “leite” assim preparado foi submetido ao aquecimento a 85°C para a coagulação da fração proteica, segundo recomendação de Regitano d’Arce & Siqueira (1995).

Após o aquecimento, adicionou-se 0,3% p/v de carboximetilcelulose (CMC) (EP III) e novamente homogeneizou-se em liquidificador.

O “leite” foi, então, subdividido em três porções, sendo que duas receberam os conservantes correspondentes aos tratamentos T1 e T2.

Em seguida, o “leite” foi distribuído em embalagens de náilon-polietileno com capacidade para 100 ml, na quantidade total de 150 embalagens, as quais foram seladas termicamente em seladora elétrica e depois submetidas à pasteurização em banho-maria a  $72 \pm 2^\circ\text{C}$  por 20 minutos.

Após a pasteurização, as embalagens foram imediatamente resfriadas por imersão em banho de gelo até atingirem a temperatura ambiente e armazenadas sob a condição de temperatura indicada para cada experimento [em temperatura ambiente (média de  $25^\circ\text{C}$ ) e sob refrigeração ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ )] (Figura 1).

O procedimento de obtenção do extrato fluido (“leite”) utilizado foi resultado de testes prévios e adaptações dos trabalhos de Souza *et al.* (1987) e Siqueira & Regitano d’Arce (1993).



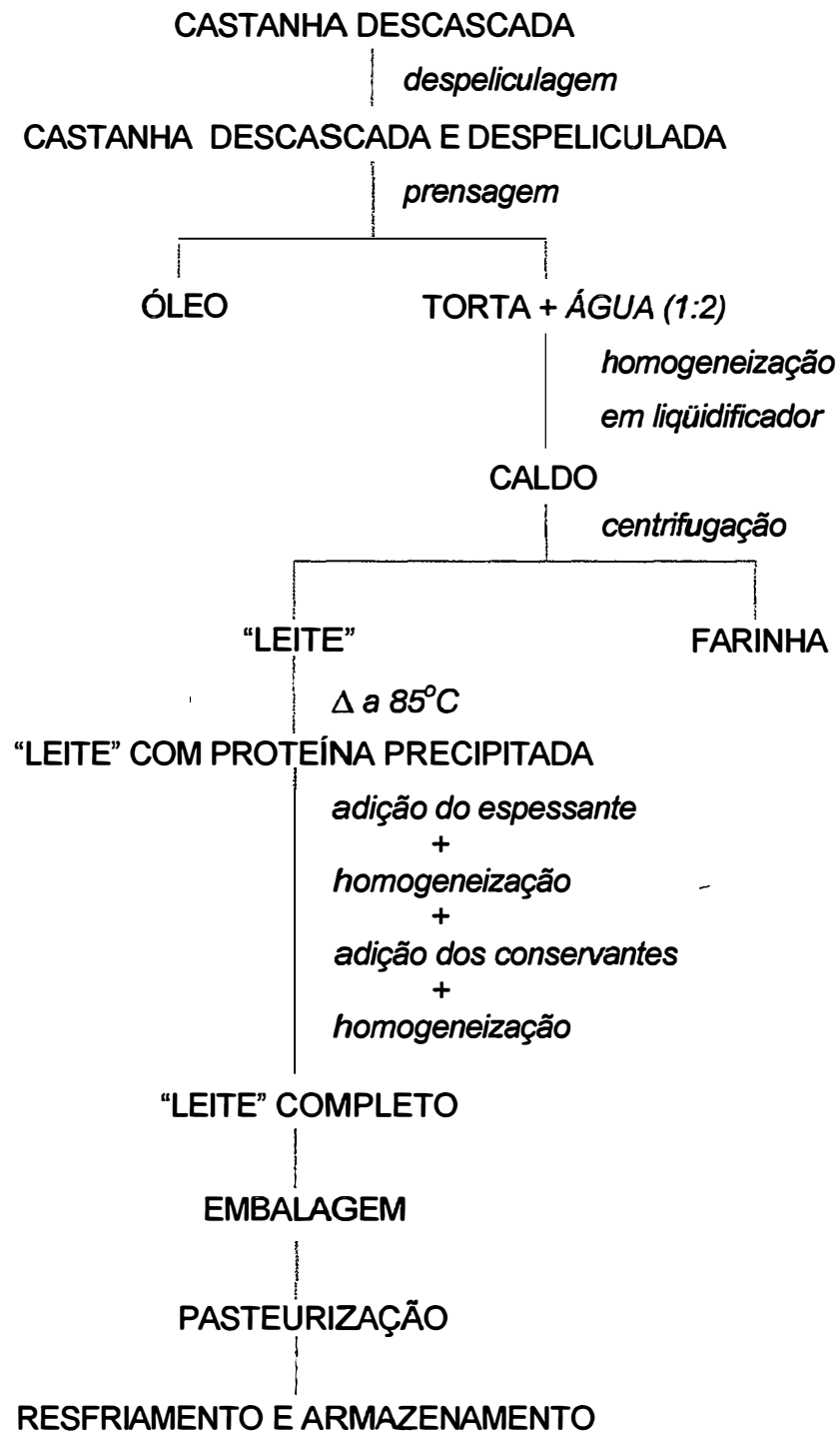


Figura 1 - Etapas do Processamento da Castanha para Obtenção do "leite"

### 3.3.2. Análises de caracterização físico-química do extrato fluido

a) **pH**: determinado por leitura direta em potenciômetro DIGIMED, modelo DMPH-2, calibrado com as soluções-tampão (pH 4,0 e 7,0), com as amostras em temperatura ambiente (25°C).

b) **Acidez titulável**: determinada usando-se 1ml da amostra mais 50 ml de água, adicionando-se 2 gotas de fenolftaleína a 1% e titulando-se com NaOH 0,1N até o aparecimento da coloração rósea na amostra. Os resultados são expressos em porcentual da solução normal de hidróxido de sódio. Método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL) (1985).

c) **Lipídios**: a extração foi feita através de separação da fração lipídica do restante, utilizando uma mistura clorofórmio-metanol na proporção 2:1, com posterior evaporação do resíduo de solvente e secagem do material em estufa a 105°C, até peso constante (Folch *et al.*, 1957). Análise executada apenas para caracterização inicial do produto.

d) **Proteína bruta**: determinação feita conforme método de Kjeldahl, descrito pelo IAL (1985). O teor de nitrogênio total da amostra, multiplicado pelo fator 5,46, conforme Hart & Fisher (1971), fornece a quantidade de proteína bruta. Análise executada apenas para caracterização inicial do produto.

e) **Matéria-seca**: cálculo feito por diferença com o grau de umidade, que é determinado pelo método de secagem em estufa a 105°C até peso constante, partindo de um volume de 10 ml de extrato fluido, conforme fórmula abaixo. Método descrito pelo IAL (1985) para extrato seco de leite.

$$\% \text{ matéria-seca (m.s. \%)} = 100 - \% \text{ umidade}$$

### 3.3.3. Análises microbiológicas do extrato fluido

a) **Contagem de aeróbios totais:** contagem de colônias de microrganismos mesófilos aeróbios em placa, utilizando o meio PCA ("Plate Count Agar"), empregando as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e incubando a 32°C por 24/48 horas, segundo Vanderzant (1992).

b) **Microrganismos termófilos:** contagem de microrganismos termófilos aeróbios em placa, utilizando o meio PCA ("Plate Count Agar"), empregando as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e incubando a 55°C por 24/48 horas, segundo normas do Standard Methods for the Examination of Dairy Products (American Public Health Association) (APHA, 1972).

c) **Microrganismos proteolíticos:** contagem de microrganismos proteolíticos, utilizando PCA acrescido de 1% de leite desnatado esterilizado, empregando as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e incubando a 32°C por 24/48 horas. Faz-se, então, a contagem das colônias que apresentem um halo de proteólise ao redor, segundo (APHA) (1972).

d) **Microrganismos lipolíticos:** contagem de microrganismos lipolíticos em placa, utilizando o meio Nile blue A agar, empregando as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e incubando a 32°C por 5 dias. Contam-se as colônias com halo azulado ao redor, conforme Banwart (1975).

e) **Microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica:** detecção de microrganismos termófilos produtores de  $H_2S$  (*Desulfotomaculum nigrificans*), realizada com séries de seis tubos por amostra de "leite", utilizando o meio ágar-sulfito. Incuba-se a 55°C por 24/48 h. Observa-se a presença ou não de pontos enegrecidos correspondentes às colônias do microrganismo desenvolvidas no meio (Vanderzant, 1992).

f) **NMP (número mais provável) de coliformes totais e fecais:** realizado segundo as Normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (1991) para alimentos.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Testes preliminares**

#### **4.1.1. Conservantes químicos**

Após testes com diferentes combinações entre os conservantes químicos, observou-se:

a) O metabissulfito liberava odor de H<sub>2</sub>S no produto, sendo extremamente desagradável, nas concentrações de 150 ppm e 300 ppm de metabissulfito de sódio. Conforme Medina (1980), concentrações superiores a 100 ppm de dióxido de enxofre possam ser responsáveis por odores desagradáveis. Outro aspecto, segundo Taylor (1993), é que, embora o dióxido de enxofre seja considerado seguro para a "Food and Drug Administration", reações adversas vêm favorecendo sua substituição por outros conservantes. Além disso, segundo Furia (1972), o dióxido de enxofre decompõe a vitamina B1 e, sendo a castanha fonte dessa vitamina, não seria recomendável o uso de dióxido de enxofre.

b) A acidificação com ácido cítrico e ácido láctico para reduzir o pH até 4,5 levou a produtos cuja fração proteica precipitava e cujo sabor era extremamente ácido quando se avaliou sensorialmente o produto.

c) Os resultados obtidos com as diferentes quantidades de ácido cítrico adicionado no produto mostraram-se bastante próximas, optando-se pela adição de 500 ppm devido à interferência na acidez do produto e à adição de outros conservantes combinados.

d) Obtiveram-se menores contagens microbianas com a concentração de 0,2% dos ácidos benzóico e sorbato de potássio.

e) A utilização da mistura dos ésteres metil-propil-paraben levou a contagens microbianas semelhantes às do produto adicionado de ácido benzóico. Araújo (1990) coloca que os “parabens” combinados com outros conservantes aumentam a eficiência contra a proliferação de microrganismos em alimentos de baixa acidez, embora sejam menos eficientes no controle de bactérias, especialmente as Gram (-).

#### **4.1.2. Pasteurização**

a) Com aquecimento ( $85^{\circ}\text{C}$ ) para a coagulação e precipitação da fração proteica sem a pasteurização, o produto não resistiu, liberando, em poucos dias, odores pútridos em consequência da deterioração por microrganismos.

b) Os resultados dos testes com diferentes tempos de pasteurização demonstraram que a partir de 20 minutos de pasteurização obtinham-se as menores contagens.

c) A temperatura de pasteurização em que não houve coagulação e precipitação da fração proteica ficou na faixa de  $72 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.2. Análises físico-químicas de caracterização do “leite” de castanha-do-pará**

Ao se observar a Tabela 10, que contém os resultados das análises físico-químicas executadas com o produto no dia de sua elaboração, pode-se notar uma diferença nos valores de matéria-seca entre o experimento sob refrigeração, cuja média é de 19,37%, e o experimento armazenado em temperatura ambiente, cuja média é de 18,53%.

Embora os experimentos tenham sido executados seguindo estritamente a mesma metodologia, observa-se diferença na matéria-seca em consequência de

os produtos terem sido elaborados em semanas consecutivas. O experimento armazenado sob refrigeração foi iniciado no dia 6/12/94, enquanto o experimento armazenado em temperatura ambiente iniciou-se no dia 13/12/94. Assim, essa variação também ocorreu com os resultados de proteína, pois são corrigidos com base na matéria-seca, apresentando os valores médios de 21,46% para o experimento sob refrigeração e 22,33% para o experimento armazenado em temperatura ambiente. Já os resultados de lipídios foram bastante próximos, com as médias de 5,15% e 5,20% para os experimentos armazenados sob refrigeração e em temperatura ambiente respectivamente.

Tabela 10 - Determinações físico-químicas médias no "leite" de castanha-do-pará.

Determinações	Experimento armazenado sob refrigeração			Experimento armazenado em temperatura ambiente		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
matéria-seca %	19,01	19,43	19,68	18,82	18,00	18,77
lipídios %	5,06	5,51	4,88	5,17	5,34	5,08
proteína bruta % m.s.	21,82	21,33	21,23	22,06	22,60	22,32

\* Média de três repetições

Ao se compararem os resultados obtidos com o trabalho de Regitano d'Arce & Siqueira (1995), no dia de processamento, dos produtos sem conservantes e com conservantes, puderam-se observar valores de matéria-seca inferiores (16,30% e 16,67% respectivamente para os produtos sem e com conservantes). Quanto aos lipídios, os valores foram bastante próximos (5,17% e 4,86% respectivamente). Quanto ao teor de proteína, os autores obtiveram valores bastante inferiores (15,54% e 16,86% respectivamente). Parte da diferença no percentual de proteína é devida à variação da matéria-seca, e pode-se supor que a utilização de um multiprocessador elétrico para a separação da torta nesse experimento, em comparação com a filtragem em tecido de algodão utilizada pelos autores citados, tenha sido responsável, também, por parte da variação obtida, pois

metodologia utilizada nesse experimento baseou-se na utilizada por Regitano d'Arce & Siqueira (1995).

Houve pouca separação de fases no produto, mas a facilidade de homogeneização é garantida pela presença da CMC e por se poder utilizar a embalagem plástica, que pode ser agitada.

#### **4.3. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável no experimento armazenado sob refrigeração**

Os dados médios de pH e acidez titulável do experimento sob refrigeração estão apresentados nas Figuras 2 e 3. As Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados originais de pH e acidez titulável do experimento sob refrigeração e constam dos Apêndices 1 e 2, respectivamente.

Conforme a Figura 2, o patamar inicial de pH variou em função do caráter mais ou menos ácido das combinações de conservantes utilizados nos tratamentos 1 e 2, observando-se valores médios decrescentes com  $T3 > T1 > T2$  ( $7,02 > 6,82 > 6,14$ ).

Constatou-se que houve um decréscimo mais acentuado do pH do T3 em relação aos outros tratamentos, deduzindo-se que esse produto, apenas pasteurizado e refrigerado, tenha sido menos estável ao longo dos 180 dias de armazenamento. O pH final médio para o T3 foi de 5,99, apresentando uma redução de 1,03 pontos em relação ao pH inicial (de 7,02 para 5,99).

Ao se compararem os tratamentos 1 e 2, observa-se pequena variação nos valores de pH ao longo do período de armazenamento. O T1 iniciou com pH de 6,82, que caiu progressivamente até 6,05 com 150 dias de armazenamento e novamente se elevou aos 180 dias para 6,30. O T2 iniciou com pH 6,14 e caiu, de forma semelhante ao T1, até 5,61 com 150 dias, elevando-se aos 180 dias para 5,85. A amplitude de variação foi menor em T2, levando a concluir que o tratamento T2 tenha sido o mais estável quanto ao pH, seguido por T1 e T3.

Os resultados de Regitano d'Arce & Siqueira (1995) curiosamente mostraram elevação em seus valores de pH, tanto sem quanto com conservantes, conforme mostraram as Tabelas 7 e 8. Vários fatores podem ser responsáveis por esse comportamento: a combinação de conservantes, o tipo de embalagem empregada, as condições de processamento térmico, o grau de contaminação do produto.

É interessante notar que, embora se esperasse uma maior estabilidade do T1, que, ao invés do ácido benzóico, possui os "parabens" (ésteres considerados mais eficientes na inibição do crescimento microbiológico em produtos de baixa acidez, conforme Araújo (1990)), o T2 mostrou valores de pH mais estáveis ao longo do período de armazenamento.

Da Figura 3 pode-se observar que os dados de acidez titulável no T1 iniciaram-se com 0,21%, havendo um pico aos 60 dias de armazenamento (0,30%) e voltando a cair, finalizando, aos 180 dias, com 0,23%, valor próximo ao do início. No T2 os valores iniciais foram os maiores (0,26%) devido à combinação de conservantes. Os valores de acidez mantiveram-se estáveis por 15 dias, reduzindo-se aos 30 dias (0,21%) e elevando-se significativamente aos 60 dias (0,35%), caindo, então, ao patamar inicial e permanecendo praticamente estáveis até os 150 dias, quando novamente elevaram-se até os 180 dias de armazenamento.

Ao se observarem as curvas de T1 e T2 na Figura 3, verifica-se que há certa coincidência nos comportamentos, havendo elevação acentuada até os 60 dias e queda dos valores após os 60 dias. Não há correlação com um decréscimo correspondente no pH como era de se esperar. Ocorre, em seguida, uma redução nos valores. O T1 atinge patamares inferiores, o que novamente demonstra uma maior estabilidade do T2. Percebe-se, mais uma vez, que não houve vantagem na utilização dos "parabens" adicionados no T1, conforme demonstram os valores de acidez observados.

Salienta-se, entretanto, que as faixas máxima e mínima de acidez nunca estiveram exacerbadas em relação à conservação do produto. Basta verificar o



trabalho de Regitano d'Arce & Siqueira (1995), cujos valores de acidez titulável para o produto com conservantes variaram de 0,30% a 0,50%.

O T3 seguiu o padrão de comportamento dos outros dois tratamentos, conforme pode-se observar na Figura 3. Entretanto, o patamar inicial (0,10%) foi bem menor devido à ausência de conservantes, resultando num produto menos ácido. Houve elevação acentuada da acidez aos 60 dias (0,27%) e os valores não retornaram ao patamar inicial, oscilando e finalizando com a acidez de 0,28%. Ao se comparar, novamente, com o trabalho de Regitano d'Arce & Siqueira (1995), houve bastante diferença no comportamento da acidez titulável também nos produtos que não receberam conservantes, sendo que os autores obtiveram maior estabilidade dos valores de acidez, o que confirma menor contaminação microbiológica (expressa pela contagem total) encontrada e maior estabilidade de seus produtos sem adição de conservantes.

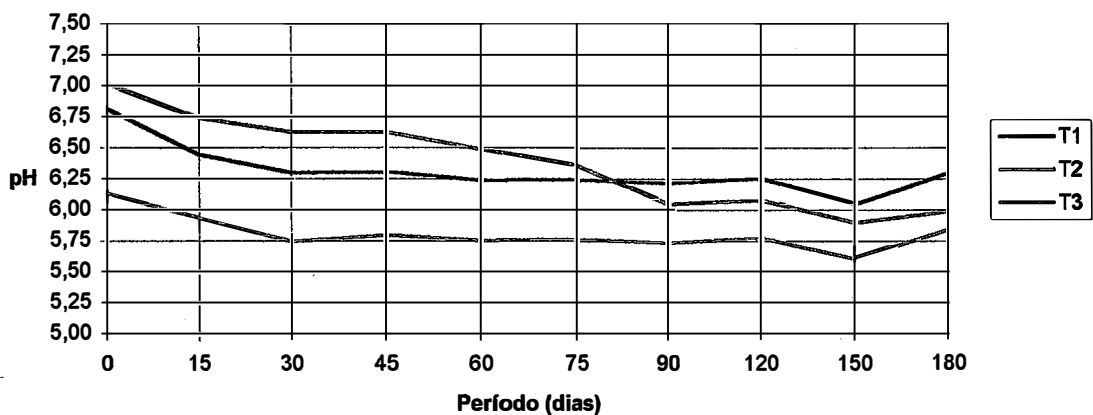


Figura 2 - Comparativo entre os valores médios de pH nos tratamentos armazenados sob refrigeração

Parte do comportamento de acidez e pH no experimento pode ser explicada por The Measurement... (1968), que considera que o processamento, armazenamento ou incubação podem causar aumento na acidez, e a deterioração

microbiana freqüentemente causa uma redução marcante no pH, especialmente em produtos de baixa acidez. Leufstedt (1990) também observa que produtos de baixa acidez são mais suscetíveis à deterioração microbiana.

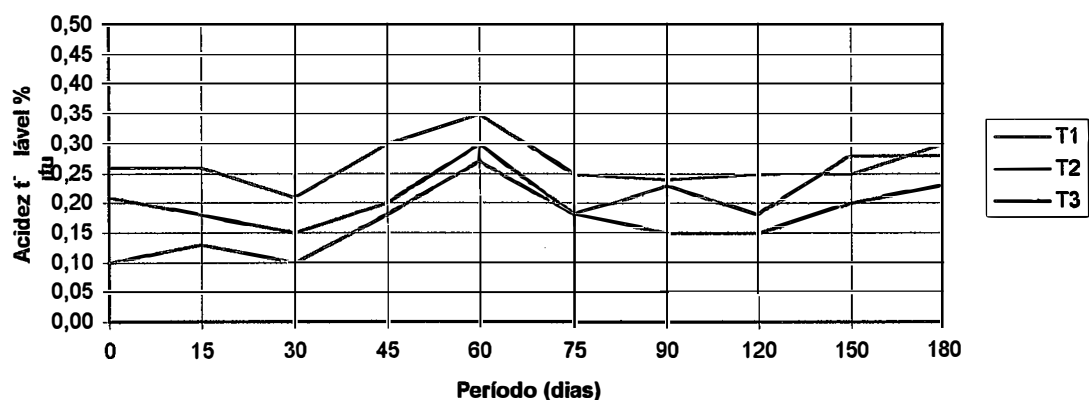


Figura 3 - Comparativo entre os valores médios de acidez titulável % nos tratamentos armazenados sob refrigeração

#### 4.4. Resultados das análises microbiológicas no experimento armazenado sob refrigeração

Os resultados das análises microbiológicas de contagens de microrganismos termófilos e lipolíticos não foram conclusivos para o experimento sob refrigeração, pois esses dois grupos praticamente não foram encontrados no produto ao longo do período de armazenamento nos diferentes tratamentos. As Tabelas 13 e 14 apresentam os valores médios de contagem em UFC/mL de produto (unidades formadoras de colônia por mililitro de "leite"-de-castanha) dos microrganismos lipolíticos e termófilos e constam dos Apêndices 3 e 4, respectivamente. As determinações de microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica e as contagens pelo NMP (número mais provável) de

coliformes totais e fecais encontram-se nas Tabelas 15 (Apêndice 5) e 16 (Apêndice 6).

A obtenção de baixas contagens de microrganismos termófilos denota a eficiência do tratamento térmico, e a ausência desse grupo ao longo do período de armazenamento confirma que a temperatura de armazenamento do produto foi adequada para evitar o desenvolvimento de microrganismos que pudessem ter resistido ao tratamento térmico, independentemente do tratamento testado, seja com ou sem conservantes.

A ausência dos microrganismos lipolíticos evidencia que o teor de lipídios do produto não selecionou a microbiota resistente para permitir o crescimento desse grupo específico.

A ausência dos grupos de coliformes totais e fecais é um indicativo da eficiência do tratamento térmico de pasteurização e da ausência de recontaminação, pois, conforme Vanderzant (1992), a presença de coliformes em alimentos processados é um indicador útil de contaminação pós-sanitização e pós-processamento. No processamento executado por Ribeiro *et al.* (1981), a pasteurização em banho-maria pelo sistema "hot pack", por 5 minutos a 90<sup>0</sup>C, seguida de refrigeração, foi eficiente para eliminar o grupo dos coliformes totais, enquanto que no produto exclusivamente sob refrigeração encontraram-se 240 UFC/mL de coliformes totais. Este produto resistiu apenas por 48 horas.

O comportamento dos microrganismos mesófilos pode ser observado na Figura 4, cujos resultados são expressos em logaritmo decimal de UFC/mL, e os valores médios de contagem obtidos (UFC/mL) constam na Tabela 17 (Apêndice 7).

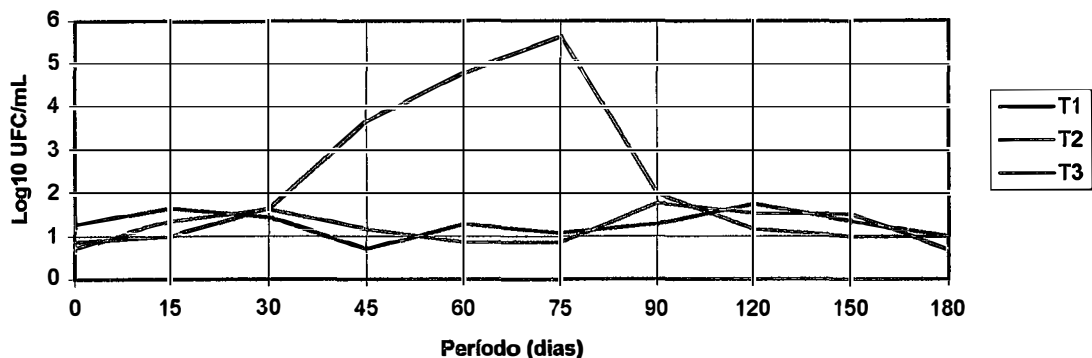


Figura 4 - Comparativo entre contagens de microrganismos mesófilos no experimento armazenado sob refrigeração

Verificou-se, a partir da Figura 4, que os tratamentos mais estáveis foram o T1 e o T2, com contagens relativamente estáveis ao longo do período de armazenamento e inferiores a  $10^2$  UFC/mL. O T3 mostrou resultados levemente crescentes até 15 dias de armazenamento e, a partir de então, o crescimento dos microrganismos foi exponencial, atingindo o máximo de contagem aos 75 dias ( $10^5$  UFC/mL). A população reduziu-se, gradativamente, ao patamar inicial, ao longo do restante do período de armazenamento, provavelmente devido à exaustão de nutrientes, com alteração drástica das condições do meio.

Esse comportamento de crescimento de mesófilos para os tratamentos ao longo do período de armazenamento demonstrou a efetividade da adição dos conservantes nos T1 e T2. Genigeorgis (1981) considera que a adição de conservantes é um fator importante para o aumento da habilidade do alimento em resistir ao crescimento microbiano. Entretanto, apenas auxiliam no controle da deterioração, não prevenindo o crescimento de microrganismos. Os grupos prováveis seriam os termófilos, os mesófilos (incluindo os termodúricos, que

crecem lentamente sob refrigeração, segundo Vanderzant (1992)) e psicrotróficos (multiplicam-se em temperatura de refrigeração).

A evolução do crescimento dos microrganismos proteolíticos pode ser observada na Figura 5, que apresenta os resultados médios de contagem transformados em logaritmo decimal de UFC/mL. Os valores médios de contagem em UFC/mL constam na Tabela 18 (Apêndice 8).

Conforme a Figura 5, os microrganismos proteolíticos cresceram pouco nos tratamentos que receberam conservantes, T1 e T2, atingindo, no máximo  $10^2$  UFC/mL. O T3 apresentou crescimento exponencial a partir dos 15 dias de armazenamento até o máximo de crescimento ao 75 dias, quando, então, houve um decréscimo significativo da população até permanecer praticamente estável dos 120 dias em diante. Esse comportamento é bastante semelhante ao dos microrganismos mesófilos no T3.

Deduz-se desse comportamento do T3 que possivelmente os microrganismos resistentes ao tratamento térmico tiveram condições facilitadas para sua multiplicação, atribuindo-se a eles, além do caráter mesofílico, o proteolítico e psicrotrófico. Pode-se lembrar que, conforme Vanderzant (1992), a proteólise pode ocorrer em temperaturas de refrigeração. Observa-se que a adição de conservantes influenciou de alguma forma, seja pela redução do pH, seja pelo efeito inibitório dos ácidos utilizados como conservantes, o crescimento dos microrganismos nos produtos sob refrigeração.

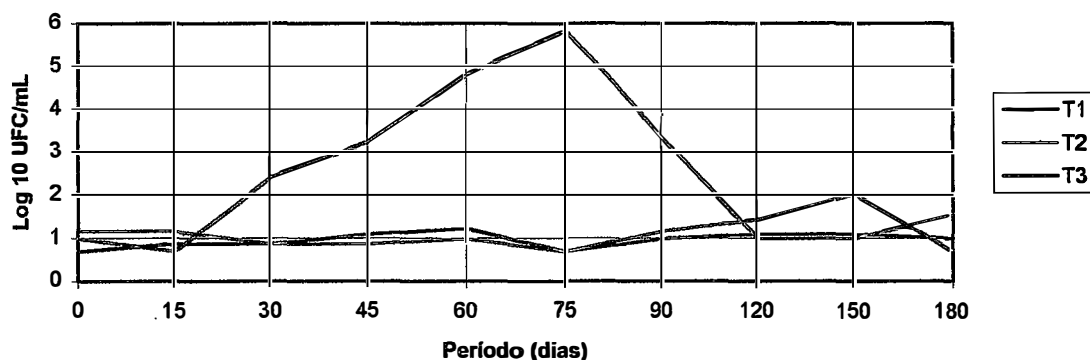


Figura 5 - Comparativo entre contagens de microrganismos proteolíticos no experimento armazenado sob refrigeração

#### 4.5. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável no experimento armazenado em temperatura ambiente

As amostras do experimento armazenado em temperatura ambiente deterioraram-se. Todas as amostras dos tratamentos T1 e T3 romperam-se pela produção intensa de gás ou deterioraram-se, produzindo odores pútridos. Os odores podem ter sido produzidos a partir de uma deterioração fermentativo-putrefativa, sobre carboidratos e proteínas, conforme discorrem Mossel & Ingram (1956), tendo inclusive sido facilitadas devido à desnaturação proteica provocada com a precipitação de proteína executada no processo de obtenção do "leite" de castanha. Apenas o T2 pôde ser analisado conforme o planejamento experimental. Assim, os resultados de acidez e pH ao longo do período de armazenamento foram compilados na Tabela 19 (Apêndice 9) e podem ser observados graficamente na Figura 6.

A Tabela 20 apresenta os resultados de acidez e pH iniciais.

Conforme pode-se observar na Tabela 20, o tratamento T2 foi aquele que iniciou com pH mais baixo, embora o valor de acidez fosse o mesmo do T1. As

amostras que se deterioraram antes de 15 dias de armazenamento foram as dos T1 e T3, que possuíam pH acima de 6,00.

Tabela 20 - Valores médios de pH e acidez iniciais do experimento armazenado em temperatura ambiente

	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Acidez titulável %	0,21	0,21	0,07
pH	6,45	5,93	6,78

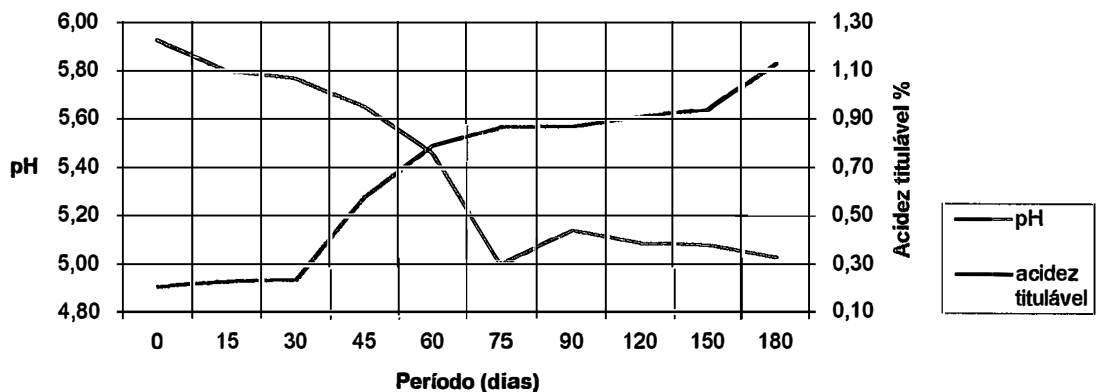


Figura 6 - Comparativo entre pH e acidez titulável % no T2 armazenado em temperatura ambiente

A Figura 6 apresenta os resultados de pH e acidez titulável. O pH iniciou em 5,93 e caiu progressivamente ao longo do período de armazenamento até pH 5,03, enquanto a acidez elevou-se de 0,21% até 1,13% no mesmo período. Comportamento semelhante ocorreu com as mesmas variáveis no experimento sob refrigeração para o T3. Entretanto, os valores de acidez, no experimento em temperatura ambiente, elevaram-se rapidamente e, a partir dos 30 dias de armazenamento, atingiram valores muito altos.

Esse comportamento sugere que houve um intenso consumo de nutrientes com a produção de ácidos pelos microrganismos presentes, o que pode significar deterioração acelerada.

#### **4.6. Resultados das análises microbiológicas no experimento armazenado em temperatura ambiente**

As análises microbiológicas para os tratamentos T1 e T3 só puderam ser realizadas no período inicial. Os resultados médios da análise de microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica, das análises de contagem de coliformes totais e fecais, de microrganismos mesófilos, de proteolíticos, de lipolíticos e de termófilos são apresentados nas Tabelas 21, 22, 23, 24, 25 e 26 (Apêndices 9, 10, 11 e 12).

De forma semelhante ao experimento sob refrigeração, os microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica não foram detectados no produto armazenado em temperatura ambiente, assim como os grupos de coliformes totais e fecais também estiveram ausentes, registrando-se pelo NMP valores inferiores a 0,3 UFC/mL, conforme se verifica nas Tabelas 21 e 22 (Apêndices 9 e 10).

A ausência dos grupos de coliformes totais e fecais é um indício de que o processo de pasteurização foi eficiente e de que não houve recontaminação do produto.

O comportamento dos microrganismos mesófilos no T2 do experimento em temperatura ambiente pode ser observado na Figura 7.



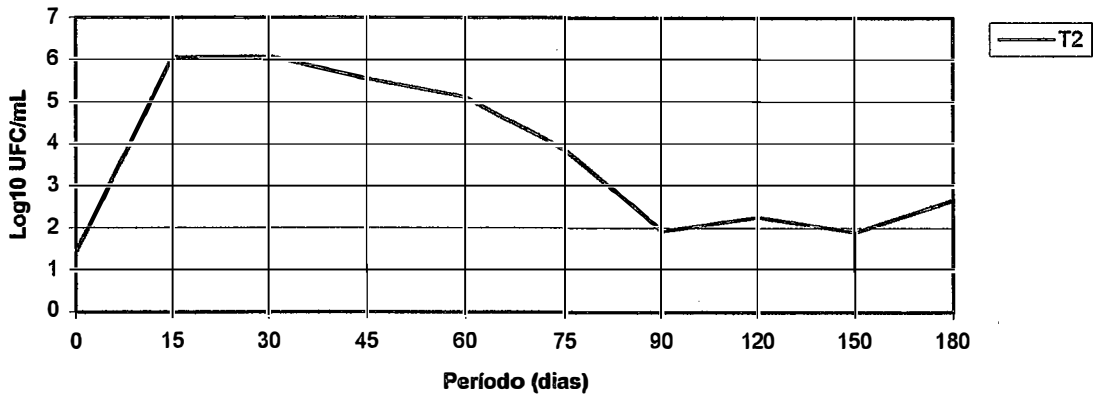


Figura 7 - Comportamento dos microrganismos mesófilos no T2 armazenado em temperatura ambiente

As contagens observadas na Figura 7 foram crescentes, desde o período inicial, atingindo  $10^6$  UFC/mL já aos 15 dias de armazenamento. A partir dos 30 dias houve redução da população de mesófilos, tornando-se praticamente estável a partir de 90 dias de armazenamento. Esses resultados demonstram a inviabilidade do armazenamento, em temperatura ambiente, do produto pasteurizado, mesmo com a adição de conservantes, pois as contagens já são muito altas aos 15 dias, tornando o produto inapto para consumo humano.

A Tabela 24 (Apêndice 11) apresenta os resultados obtidos nas contagens dos microrganismos proteolíticos e a Figura 8 registra a evolução do crescimento dos proteolíticos no T2 armazenado em temperatura ambiente.

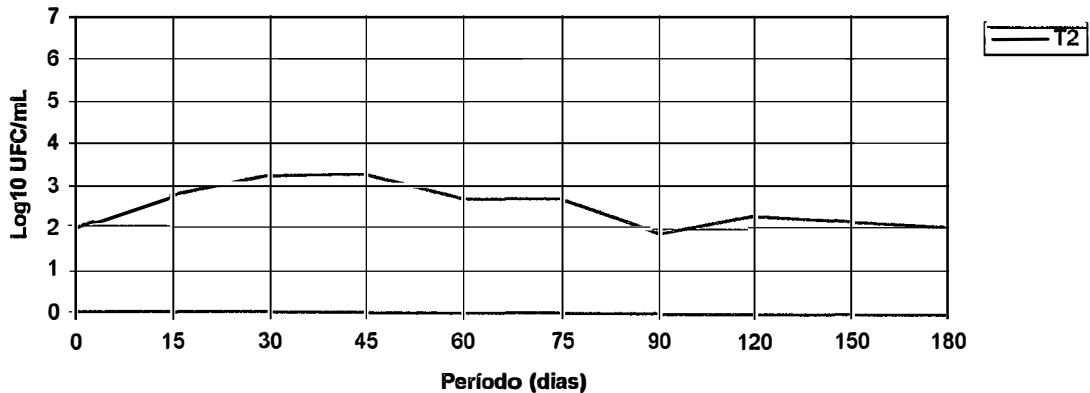


Figura 8 - Comportamento dos microrganismos proteolíticos no T2 armazenado em temperatura ambiente

O comportamento de crescimento dos microrganismos proteolíticos não se correlacionou com o crescimento de mesófilos, estando aquele sempre com valores inferiores a  $10^4$  UFC/mL. Embora a contagem inicial tenha sido  $10^2$  UFC/mL, valor justificável devido ao fato de as análises terem sido executadas apenas no período da tarde, após várias horas da obtenção do produto. Como as condições ambientais apresentaram temperaturas sempre elevadas (acima de  $20^{\circ}\text{C}$ ), pois o experimento foi conduzido durante o verão, esse período antes da execução dos testes microbiológicos pode ter permitido um início de crescimento microbiano. Embora a população de proteolíticos tenha se elevado até o 45.º dia ( $10^3$  UFC/mL), a partir desse ponto houve uma ligeira redução, permanecendo no nível de  $10^2$  UFC/mL, possivelmente devido ao efeito inibidor dos conservantes.

Não foi verificado crescimento de microrganismos lipolíticos nos produtos do experimento armazenado em temperatura ambiente, independentemente do tratamento. As contagens desse grupo constam na Tabela 25 (Apêndice 11).

A Tabela 26 (Apêndice 12) apresenta os resultados médios de contagens dos microrganismos termófilos dos produtos armazenados em temperatura ambiente

e a Figura 9 mostra o comportamento de crescimento desse grupo de microrganismos ao longo do período de armazenamento apenas para o T2.

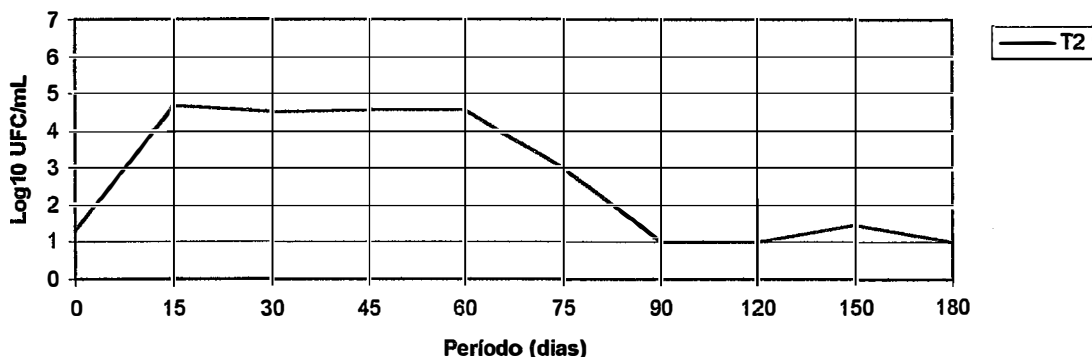


Figura 9 - Comportamento dos microrganismos termófilos no T2 armazenado em temperatura ambiente

O crescimento dos microrganismos termófilos foi semelhante ao dos mesófilos, conforme pode-se observar na Figura 9. Já aos 15 dias de armazenamento, as contagens atingiram  $4,96 \times 10^4$  UFC/mL, permanecendo nessa faixa até os 60 dias, quando diminuíram gradativamente até se estabilizarem aos 90 dias. Esse comportamento induz a se considerar que esse grupo possa ser, na verdade, composto por microrganismos termodúricos, isto é, microrganismos que toleram temperaturas mais elevadas (de pasteurização). Observa-se, novamente, que aos 15 dias pode-se considerar que o produto não esteja apto para consumo, devido às altas contagens apresentadas, embora os conservantes possam ter agido, de alguma forma, evitando a produção de gases e de odores pútridos.

## 5. CONCLUSÕES

1. O processo tecnológico de obtenção do “leite” de castanha-do-pará empregado levou a um produto com um teor de proteína significativo de 21,19% sobre a matéria-seca, lipídio baixo, ao redor de 5%, pouco superior ao do leite bovino integral. Consistiu, assim, em alternativa viável para a complementação energético-proteica de dietas, podendo até ser utilizado em programas de merenda escolar nas regiões produtoras, onde há abundância da matéria-prima.

2. A pasteurização não se mostrou eficiente como método único de conservação do produto, tanto sob refrigeração como em temperatura ambiente.

3. O efeito aditivo da pasteurização e da adição de conservantes também mostrou-se ineficiente para a conservação do produto em temperatura ambiente.

4. O emprego de pasteurização e refrigeração permitiram que o produto se mantivesse estável microbiologicamente por, pelo menos, 30 dias, podendo ser classificado como semi-perecível.

5. O efeito aditivo de pasteurização, refrigeração e adição de conservantes garantiu a estabilidade do produto durante os 180 dias de armazenamento.

6. Os parâmetros de pH e acidez titulável podem auxiliar no monitoramento da estabilidade do produto.

7. A ausência dos grupos de coliformes totais e fecais garantiu que as condições de higiene no processamento e armazenamento do produto fossem consideradas satisfatórias.

8. Os testes com microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica e lipolíticos não se mostraram relevantes para o monitoramento da estabilidade microbiológica do produto.

10. As contagens de aeróbios em placa dos microrganismos mesófilos, proteolíticos e termófilos podem ser consideradas parâmetros importantes para o monitoramento da estabilidade do produto pasteurizado.

11. Os tratamentos T1 e T2 mostraram-se melhores do que o T3 para o produto armazenado sob refrigeração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, J.; MAGALHÃES, J.M.; HESSE, S.R.; SANTOS, J.C.F. Proposta - Base das diretrizes para formulação de um programa de incentivo à produção de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* - H.B.K.). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ENGENHEIROS FLORESTAIS. 4., Rio de Janeiro, 1986. **Anais**. Rio de Janeiro, 1986. p. 143-150.

ALIMENTOS enlatados - princípios de controle do processamento térmico, acidificação e avaliação do fechamento de recipientes. 4. ed. Campinas: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Coordenadoria de Pesquisa Agropecuária, 1990. 239 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of dairy products**. 13. ed. Washington: American Public Health Association, 1972. 345 p.

ANTUNES, A.J.; MARKAKIS, P. Protein supplementation of Navy beans with Brazil nuts. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 1096 - 1098. Sept. / Oct. 1977.

ANUÁRIO Estatístico do Brasil. Extração vegetal e silvicultura. 1994.

ARAÚJO, J.M.A. Conservadores químicos em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3/4, p. 192-210. jul./dez. 1990.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* em alimentos - Determinação do número mais provável (NMP)**. MB-3463. Rio de Janeiro, nov. 1991. 7 p.

BANWART, G.J. **Laboratory exercises for food microbiology**. Columbus: The Ohio State University, 1975. 176 p.

BERGEY'S manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1105; 1141.

BLOCHER, J.C.; BUSTA, F.F. Bacterial spore resistance to acid. **Food Technology**, v. 37, n. 11, p. 87-99. nov. 1983.

CABRAL, A.C.D. Migrações de monômeros e solventes residuais de embalagens para alimentos: assistência tecnológica à indústria e estabelecimento de padrões. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 1, p. 25-35. jan./mar. 1983.

CABRAL, A.C.D. ; FERNANDES, M.H.C. Aspectos gerais sobre a vida de prateleira de produtos alimentícios. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, p. 371-439. out./dez. 1980.

CARTEIRA DE COMÉRCIO EXTERIOR. **Informação semanal**, Rio de Janeiro, v.19, n. 901. jun. 1984.

- CASTRILLÓN, A.L.; PURCHIO, A. Ocorrência de aflatoxinas em castanhas do Pará (*Bertholletia excelsa*, Humb. & Bonpl., 1808). **Acta Amazônica**, v.18, n. 1-2, p. 49-56. 1988a.
- CASTRILLÓN, A.L.; PURCHIO, A. Fungos contaminantes e produtores de aflatoxinas em castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*, Humb. & Bonpl., 1808). **Acta Amazônica**, v.18, n. 3-4, p. 173-183. 1988b.
- COOK, F.K.; PIERSON, M.D. Inhibition of bacterial spores by antimicrobials. **Food Technology**, v. 37, n. 11, p.115-126. nov. 1983.
- COSTA, M.R. Conservação de alimentos. **Leite & Derivados**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 32-33. mar./abr. 1992.
- DE MARTIN, J.Z.; EIROA, M.N.U.; KATO, K.; SILVA, S.D.; LEITÃO, M.F.F.; ANGELUCCI, E. e MEDINA, J.C. Processamento e estudo da estabilidade do leite de coco integral. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 6, 51-68. 1975.
- DE MARTIN, J.Z.; SANTANA, L.R.R.; SOLER, M.P. Estudo da estabilidade física do leite de coco esterilizado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 8., Itabuna, 1985. **Anais**. Itabuna: SBCTA, 1985. p. 17-22.
- DEL ROSARIO, R.R.; MABESA, R.C. Quality control in coconut milk processing: I. sources of microbial contamination. **Philippine Agriculturist**, v. 60, p. 66-72. June/July 1976.



- DIEHL, J.F. Health safety of food preservatives - with special reference to potassium sorbate and sodium sorbate. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3/4, p. 85-89. jul./dez. 1990.
- DOMENE, O.L. Migração de aditivos de embalagens flexíveis para alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 16, n. 1, p. 17-27. jan./mar. 1982.
- EIROA, M.N.U. O controle de qualidade microbiológica dos alimentos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 49, p. 1-32. jan./fev. 1977.
- EIROA, M.N.U.; LEITÃO, M.F.de F.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K. Microbiologia do leite de coco. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 6, p. 1-10. 1975.
- FENNEMA, O.R. **Principles of food science and food chemistry**. New York:: Marcel Dekker, 1976. 792 p.
- FERREIRA, S.M.R.F.; CAMARGO, L. Aditivos em alimentos. **Boletim do CEPPA**, v. 11, n. 2, p. 159-176. jul./dez. 1993.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANNE STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, 497-509. 1957.
- FRANK, H.K.; BETANCOURT, L. A castanha-do-pará: I - origem, produção e características físicas e químicas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n. 4, 351-365. out./dez. 1981.

FRANK, H.K.; BETANCOURT, L.; EIROA, M.N.U. A castanha-do-Pará: II - deterioração e condições de formação de aflatoxina. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 4, 367-378. out./dez. 1981.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiología de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

FURIA, T.E. **Handbook of food additives**. Cleveland: CRC Press, 1972. 998 p.

GALLO, C.R. Estudo da microflora de derivados do leite como índice de qualidade. Piracicaba, 1978. 93 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

GALLO, C.R. **Microbiologia de Alimentos II**. Piracicaba: ESALQ/Depto. de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 1990.

GAVA, A.J. Emprego de conservadores em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p. 190-191. 1984.

GENIGEORGIS, A.C. Factors affecting the probability of growth of pathogenic microorganisms in foods. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 179, n. 12, p. 1410-1417. Dec. 1981.

GOMEZ, R.F.; HERRERO, A.A. Chemical preservation of foods. In: ROSE, A.H.. **Food microbiology - economic microbiology**. London: Academic Press, 1983. v. 8. cap. 3, p. 78-116.

- GONÇALVES, J.R.; TEIXEIRA NETO, R.O. Aspectos industriais na conservação do leite de coco. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 360-368. out/dez 1982.
- GONÇALVES, J.R.; LEITÃO, M.F.F.; TEIXEIRA NETO, R.O. Aspectos preliminares na conservação do leite de coco tipo industrial por acidificação e pasteurização. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 4, 489-502. out./dez. 1984.
- HART, F.L.; FISHER, H.L.. In: HART, F.L.; FISHER, H.L. **Modern food analysis**. New York: Springer Verlag, 1971. p. 271-283.
- HIRATA, R.; SOUZA, W.J. Carboximetilcelulose na indústria alimentícia - uma abordagem técnica. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3/4, p. 168-179. jul./dez. 1990.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. 3. ed. São Paulo, 1985.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microbial ecology of foods; factors affecting life and death of microorganisms**. New York: Academic Press, 1980. v. 1. 311 p.
- LEITÃO, M.F.F. O controle microbiológico na avaliação da qualidade de alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 3, p. 253-277. jul./set. 1981.
- LEITÃO, M.F.F.; SHIROSE, I. A amostragem na avaliação da qualidade microbiológica de alimentos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 55, jan./fev. 1978.

- LEITE de coco sem conservantes. **Comunicação da Pesquisa Agropecuária**, v. 11, n. 2, p. 8. 1993.
- LEUFSTEDT, G. Opportunities for future diversification of the coconut industry. **Oleagineux**, v. 45, n. 11, p. 505-508, nov. 1990.
- LOCATELLI, M.; SOUZA, V.F. de. **Castanha-do-brasil** - características agronômicas, produção de mudas e propagação vegetativa. Porto Velho: EMBRAPA - UEPAE, 1990. 11p. (Circular Técnica n.17).
- MADI, L.F.C. Influência da embalagem na contaminação de produtos alimentícios. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 283-352. jul./set. 1981.
- MEDINA, J.C. **Alguns aspectos tecnológicos das frutas tropicais e seus produtos**. Campinas: ITAL/ Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 296 p. 1980. (Série Frutas Tropicais, 10).
- MEDINA, J.C.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L.C.dos e SILVA, M.T.C. Processamento: produtos, características e utilização. In: MEDINA, J.C.; GARCIA, J.L.M.; DE MARTIN, Z.J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J.M.; SANTOS, L.C.dos.; SILVA, M.T.C.; CANTO, W.L.do.; BICUDO NETO, L.C.; MORETTI, V.A.. **Coco: da cultura processamento e comercialização**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1980. v. 5, cap. 3, p. 183-255. (Série Frutas Tropicais, 5).
- MELO, M.do S.O.M. e MANCINI FILHO, J. Antioxidantes naturais da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.R.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.11, n. 2, p. 239-251. jul./dez. 1991.

- THE MESUREMENT of acidity. In: **Laboratory manual for food canners and processors**. Westport: AVI Publ., 1968. v.2, cap. 19, p. 168-189.
- MOSSEL, D.A.A.; INGRAM, M. **The physiology of the microbial spoilage of foods**. 1956. p. 232-268.
- MÜLLER, C.H. e CALZAVARA, B.B.G. **Castanha-do-Brasil: conhecimentos atuais**. In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO. 1. 1984. Belém. **Documentos**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. v. 4, p.223-229.
- NASCIMENTO, C.N.B. do. **Amazônia: meio ambiente e tecnologia agrícola**. Belém: EMBRAPA - CPATU, 1984. 282 p. (Documentos, 27).
- NEDER, R.N. **Microbiologia de Alimentos I**. Piracicaba: ESALQ/Depto. Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 1992. 149 p.
- NERY, J.P. **Castanha-do-pará**. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, n. 20, p. 13-25. dez. 1969.
- OLIVEIRA, A.J.; GALLO, C.R.; CARVALHO, C.M. **Tratamento térmico do leite acondicionado em filme plástico em banho-maria**. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 1, p. 175-183. jan./abr. 1994.
- ORTIZ, S.A. **Aspectos legais da vida de prateleira de produtos alimentícios**. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.19, n. 1, p. 33-87. jan./mar. 1982.
- ORTIZ, S.A. **Embalagem para alimentos refrigerados**. In: Cabral, A.C.D. **Embalagens de produtos alimentícios**. Piracicaba: FEALQ/FTPT, 1983, p. 78-240.

PRODUÇÃO de castanha-do-pará diminui ano a ano. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 22 dez. 1987. Agrofólia: p. 8.

PROTEÇÃO e estética brigam na prateleira. **Química e Derivados / Plásticos e Embalagens**. São Paulo, n. 85, p. 12-17. mar. 1979.

REGITANO d'ARCE, M.A.B.; SIQUEIRA, F.M. Obtenção do leite e farinhas de castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*). In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO LATINOAMERICANOS SOBRE ÓLEOS E GORDURAS. 6., Campinas, 1995. **Proceedings**. Campinas: SBOG, 1995. p. 265-267.

RIBEIRO, C.C.; ARAÚJO, C.M.F. de; FERREIRA, R.S. Ensaio sobre a obtenção e conservação do leite de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). Belém: Universidade Federal do Pará, 1981. 42 p.

RIBEIRO, M.A. de A. Aproveitamento tecnológico de castanhas-do-brasil (*Bertholletia excelsa*): Estudo da Qualidade de Conservação. Piracicaba, 1992. 117 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

ROBACH, M.C. Use of preservatives to control microorganisms in food. **Food Technology**, v. 34, n. 10, p. 81-84. Oct. 1980.

ROTENBERG, B.; IACHAN, A. Estudo da proteína de castanha-do-pará. **Informativo do I.N.T.**, v. 8, n. 7, p. 22-24. 1975.

SAMANT, S.K.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R.; REGE, D.V. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 28, n. 6, p. 547-562. Dec. 1993.

- SANT'ANNA, N.M.G. Desenvolvimento e estudo de estabilidade e embalagem de alimentos formulados contendo castanha-do-pará. Viçosa, 1985. Dissertação (*"Magister Scientiae"*) - Universidade Federal de Viçosa.
- SHARF, J.M. **Exame microbiológico de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Polígono, 1972. 257 p.
- SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. São Paulo: Nobel, 1985. 274 p.
- SIQUEIRA, F.M. de; REGITANO d'Arce, M.A.B. **Obtenção de produtos da castanha-do-pará (leite e farinha) com vistas à popularização do seu consumo**. Piracicaba, 1993. 15 p. (Relatório apresentado à FAPESP relativo ao projeto de iniciação científica).
- SIQUEIRA, F.M. de; REGITANO d'Arce, M.A.B. **Obtenção de produtos da castanha-do-pará (leite e farinha) com vistas à popularização do seu consumo**. Piracicaba, 1994. 29 p. (Relatório apresentado à FAPESP relativo ao projeto de iniciação científica).
- SMITH, E.S.; BOWEN, J.F.; MACGREGOR, D.R. Yeast growth as affected by sodium benzoate, potassium sorbate and vitamin K5. **Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 93-95, March 1962.
- SOLER, M.P.; SANTANA, L.R.R.de; DE MARTIN, Z.J. Estudo da estabilidade física do leite de coco do tipo comercial. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 4, p. 391-407. out./dez. 1986.
- SOUZA, A.H. de. **Castanha-do-pará - Estudo botânico, químico e tecnológico** Rio de Janeiro: 1963. (Estudos Técnicos, 23).

SOUZA, M.L.de; HOLANDA, L.F.F.de; MAIA, G.A.; GASPAR JUNIOR, J.C. e FIGUEIREDO, R.W.de. Processamento e estabilidade do leite de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.J.). **Ciência Agronômica**, v.18, n. 1, p.137-146. jun. 1987.

SUPERINTENDÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DA AMAZÔNIA. **Estudos e pesquisas sobre a castanha do Pará**. Belém, 1976. 100 p.

TABATA, S.; KAMIMURA, H.; IBE, A.; HASHIMOTO, H. TAMURA, Y. Degradation of aflatoxins by food additives. **Journal of Food Protection**, v. 57, n.1, p. 42-47. Jan. 1994.

TAYLOR, R.J. Food additives. Chichester: John Wiley & Sons, 1980. 126p.

TAYLOR, S.L. Why sulfite alternatives. **Food Technology**, v. 47, n. 10, p. 14. Oct 1993.

TEIXEIRA, E.A.M.; MAIA, G.A.; HOLANDA, L.F.F. de; OLIVEIRA, G.S.F. de; GASPAR JÚNIOR, J.C.; FIGUEIREDO, R.W. de. Processo alternativo para conservação do leite de coco produzido para consumo comercial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 6, p. 761-768. jun. 1989.

TONG, C.H.; DRAUGHON, F.A. Inhibition by antimicrobial food additives of ocratoxin A production by *Aspergillus sulphureus* and *Penicillium viridicatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.49, n. 6, p. 1407-1411. June 1985.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, Don F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219 p.



- VIANNA, P. R.. **Estudo da castanha-do-Brasil**. Brasília: Ministério da Agricultura, Comissão de Financiamento da Produção, 1972.
- VOLPI, E.L. Aditivos alimentares. **Alimentação & Nutrição**, v. 6, n. 23, p. 40-44. 1985.
- WEHNER, F.C.; RABIE, C.J. The microorganism in nuts and dried fruits. **Phytophylactica**, v. 2, n. 3, p. 165-170. 1970.
- YABIKU, H.Y.; TAKAHASHI, M.Y.; MARTINS, M.S.; HEREDIA, R.; ZENEBON, O. Níveis de conservadores intencionais em sucos naturais de frutas comercializados no Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 47, n. 1/2, p. 65-75. jun./dez. 1987.
- YOKOYA, F.; ANTUNES, A.J.; JORDÃO, B.A. Deterioração da castanha-do-pará: I- Armazenamento das amêndoas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v. 1, p. 17-21. 1970.
- YOKOYA, F.; ANTUNES, A.J.; JORDÃO, B.A. Deterioração da castanha-do-pará: II- Armazenamento das castanhas. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v. 2, p.117-20. 1971.
- ZUCAS, S.M.; SILVA, E.C.V.; FERNANDES, M.I. Farinha de castanha do Pará valor de sua proteína. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v. 13, n. 1, p. 133-44. jan./jun. 1975.

## **APÊNDICE 1**

### **Tabela 11**

Tabela 11 - Resultados de pH dos tratamentos ao longo do período de armazenamento sob refrigeração

Tratamentos	Períodos (dias)	Repetições		Média
1	0	6,82	6,81	6,82
	15	6,49	6,40	6,45
	30	6,30	6,29	6,30
	45	6,30	6,31	6,31
	60	6,22	6,26	6,24
	75	6,24	6,26	6,25
	90	6,26	6,17	6,21
	120	6,26	6,26	6,26
	150	6,02	6,07	6,05
2	180	6,30	6,30	6,30
	0	6,14	6,13	6,14
	15	5,94	5,93	5,94
	30	5,74	5,75	5,75
	45	5,81	5,79	5,80
	60	5,75	5,76	5,76
	75	5,78	5,76	5,77
	90	5,75	5,72	5,73
	120	5,78	5,78	5,78
3	150	5,60	5,62	5,61
	180	5,82	5,88	5,85
	0	7,02	7,02	7,02
	15	6,73	6,75	6,74
	30	6,62	6,64	6,63
	45	6,62	6,64	6,63
	60	6,49	6,49	6,49
	75	6,53	6,18	6,36
	90	6,30	5,80	6,05
120	6,25	5,91	6,08	
150	5,82	5,97	5,90	
180	5,97	6,01	5,99	

## **APÊNDICE 2**

### **Tabela 12**

Tabela 12 - Resultados de acidez titulável % dos tratamentos ao longo do período de armazenamento sob refrigeração

Tratamentos	Períodos (dias)	Repetições		Média
1	0	0,26	0,15	0,21
	15	0,21	0,15	0,18
	30	0,15	0,15	0,15
	45	0,20	0,20	0,20
	60	0,30	0,30	0,30
	75	0,20	0,15	0,18
	90	0,15	0,15	0,15
	120	0,15	0,15	0,15
	150	0,20	0,20	0,20
2	0	0,26	0,26	0,26
	15	0,26	0,26	0,26
	30	0,21	0,21	0,21
	45	0,30	0,30	0,30
	60	0,30	0,40	0,35
	75	0,25	0,25	0,25
	90	0,20	0,27	0,24
	120	0,25	0,25	0,25
	150	0,25	0,25	0,25
3	0	0,10	0,10	0,10
	15	0,10	0,15	0,13
	30	0,10	0,10	0,10
	45	0,25	0,10	0,18
	60	0,34	0,20	0,27
	75	0,15	0,20	0,18
	90	0,15	0,30	0,23
	120	0,10	0,25	0,18
	150	0,25	0,30	0,28
180	0,30	0,25	0,28	

## **APÊNDICE 3**

### **Tabela 13**

Tabela 13 - Valores médios de UFC de microrganismos lipolíticos/mL de produto no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Períodos (dias)	UFC/mL
1	0	< 10
	15	< 10
	30	< 10
	45	< 10
	60	< 10
	75	< 10
	90	< 10
	120	< 10
	150	< 10
	180	< 10
2	0	< 10
	15	< 10
	30	< 10
	45	< 10
	60	< 10
	75	< 10
	90	< 10
	120	< 10
	150	< 10
	180	< 10
3	0	< 10
	15	< 10
	30	< 10
	45	< 10
	60	< 10
	75	< 10
	90	< 10
	120	< 10
	150	< 10
	180	< 10

## **APÊNDICE 4**

### **Tabela 14**



Tabela 14 - Valores médios de UFC de microrganismos termófilos/mL de produto no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Períodos (dias)	UFC/mL
1	0	< 10
	15	1,5 x 10
	30	1,5 x 10
	45	1,5 x 10
	60	< 10
	75	1,5 x 10
	90	< 10
	120	< 10
	150	< 10
	180	<10
2	0	<10
	15	1,5 x 10
	30	1,3 x 10
	45	<10
	60	<10
	75	10
	90	<10
	120	<10
	150	<10
	180	<10
3	0	<10
	15	1,8 x 10
	30	<10
	45	<10
	60	<10
	75	<10
	90	<10
	120	<10
	150	<10
	180	<10

## **APÊNDICE 5**

### **Tabela 15**

Tabela 15 - Resultados da detecção de microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Período (dias)	Série de 6 tubos positivos (+) ou negativos (-)
1	0	(-)
	15	(-)
	30	(-)
	45	(-)
	60	(-)
	75	(-)
	90	(-)
	120	(-)
	150	(-)
	180	(-)
2	0	(-)
	15	(-)
	30	(-)
	45	(-)
	60	(-)
	75	(-)
	90	(-)
	120	(-)
	150	(-)
	180	(-)
3	0	(-)
	15	(-)
	30	(-)
	45	(-)
	60	(-)
	75	(-)
	90	(-)
	120	(-)
	150	(-)
	180	(-)

## **APÊNDICE 6**

### **Tabela 16**

Tabela 16 - Número mais provável de UFC/mL de produto de coliformes totais e fecais no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	< 0,3
	15	< 0,3
	30	< 0,3
	45	< 0,3
	60	< 0,3
	75	< 0,3
	90	< 0,3
	120	< 0,3
	150	< 0,3
2	180	< 0,3
	0	< 0,3
	15	< 0,3
	30	< 0,3
	45	< 0,3
	60	< 0,3
	75	< 0,3
	90	< 0,3
	120	< 0,3
3	150	< 0,3
	180	< 0,3
	0	< 0,3
	15	< 0,3
	30	< 0,3
	45	< 0,3
	60	< 0,3
	75	< 0,3
	90	< 0,3
120	< 0,3	
150	< 0,3	
180	< 0,3	

## **APÊNDICE 7**

### **Tabela 17**

Tabela 17 - Valores médios de contagem de microrganismos mesófilos no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	$1,8 \times 10$
	15	$4,5 \times 10$
	30	$2,8 \times 10$
	45	<10
	60	$2,0 \times 10$
	75	$1,2 \times 10$
	90	$2,0 \times 10$
	120	$5,8 \times 10$
	150	$2,3 \times 10$
	180	10
2	0	<10
	15	$2,3 \times 10$
	30	$4,3 \times 10$
	45	$1,5 \times 10$
	60	<10
	75	<10
	90	$6,0 \times 10$
	120	$3,5 \times 10$
	150	$3,3 \times 10$
	180	<10
3	0	<10
	15	10
	30	$4,5 \times 10$
	45	$4,7 \times 10^a$
	60	$6,1 \times 10^b$
	75	$4,6 \times 10^c$
	90	$1,0 \times 10^c$
	120	$1,5 \times 10$
	150	10
	180	10

## **APÊNDICE 8**

### **Tabela 18**



Tabela 18 - Valores médios de contagem de microrganismos proteolíticos no experimento sob refrigeração

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	<10
	15	<10
	30	<10
	45	$1,3 \times 10$
	60	$1,8 \times 10$
	75	<10
	90	10
	120	$1,3 \times 10$
	150	$1,3 \times 10$
	180	10
2	0	$1,5 \times 10$
	15	$1,5 \times 10$
	30	<10
	45	<10
	60	10
	75	<10
	90	$1,5 \times 10$
	120	$2,8 \times 10$
	150	$1,1 \times 10^2$
	180	<10
3	0	10
	15	<10
	30	$2,5 \times 10^2$
	45	$1,8 \times 10^3$
	60	$6,4 \times 10^4$
	75	$6,6 \times 10^3$
	90	$2,3 \times 10^3$
	120	10
	150	10
	180	$3,5 \times 10$

## **APÊNDICE 9**

### **Tabelas 19 e 21**

Tabela 19 - Valores de pH e acidez titulável do T2 para o experimento em temperatura ambiente

Período (dias)	pH			Acidez titulável (%)		
	Amostra1	Amostra 2	Média	Amostra 1	Amostra 2	Média
0	5,93	5,92	5,93	0,21	0,21	0,21
15	5,85	5,75	5,80	0,24	0,21	0,23
30	5,67	5,87	5,77	0,26	0,21	0,24
45	5,60	5,70	5,65	0,66	0,50	0,58
60	5,31	5,60	5,46	0,89	0,69	0,79
75	4,99	4,01	5,00	0,98	0,76	0,87
90	5,07	5,20	5,14	0,94	0,79	0,87
120	5,10	5,08	5,09	0,89	0,96	0,91
150	5,01	5,14	5,08	0,84	1,03	0,94
180	4,99	5,06	5,03	1,28	0,98	1,13

Tabela 21 - Resultados da detecção de microrganismos termófilos produtores de deterioração sulfídrica no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	Série de 6 tubos positivos (+) ou negativos (-)
1	0	(-)
2	0	(-)
	15	(-)
	30	(-)
	45	(-)
	60	(-)
	75	(-)
	90	(-)
	120	(-)
	150	(-)
	180	(-)
3	0	(-)

## **APÊNDICE 10**

### **Tabelas 22 e 23**

Tabela 22 - Número mais provável de UFC/mL de produto de coliformes totais e fecais no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	< 0,3
2	0	< 0,3
	15	< 0,3
	30	< 0,3
	45	< 0,3
	60	< 0,3
	75	< 0,3
	90	< 0,3
	120	< 0,3
	150	< 0,3
	180	< 0,3
3	0	< 0,3

Tabela 23 - Valores médios de contagem de microrganismos mesófilos no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	$7,3 \times 10$
2	0	$3,0 \times 10$
	15	$1,2 \times 10^6$
	30	$1,2 \times 10^6$
	45	$3,6 \times 10^5$
	60	$1,3 \times 10^5$
	75	$7,5 \times 10^3$
	90	$8,8 \times 10$
	120	$1,9 \times 10^2$
	150	$8,3 \times 10$
	180	$4,8 \times 10^2$
3	0	$9,0 \times 10$

## **APÊNDICE 11**

**Tabelas 24 e 25**

Tabela 24 - Valores médios de contagem de microrganismos proteolíticos no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	10
2	0	$9,1 \times 10$
	15	$5,5 \times 10^2$
	30	$1,6 \times 10^3$
	45	$1,8 \times 10^3$
	60	$5,0 \times 10^2$
	75	$5,0 \times 10^2$
	90	$7,8 \times 10$
	120	$2,2 \times 10^2$
	150	$1,7 \times 10^2$
	180	$1,2 \times 10^2$
3	0	$3,0 \times 10$

Tabela 25 - Valores médios de contagem de microrganismos lipolíticos no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	<10
2	0	<10
	15	<10
	30	<10
	45	<10
	60	<10
	75	<10
	90	<10
	120	<10
	150	<10
	180	<10
3	0	<10

## **APÊNDICE 12**

### **Tabelas 26**



Tabela 26 - Valores médios de contagem de microrganismos termófilos no experimento em temperatura ambiente

Tratamentos	Período (dias)	UFC/mL
1	0	$2,0 \times 10$
2	0	$2,2 \times 10$
	15	$5,0 \times 10^4$
	30	$3,4 \times 10^4$
	45	$3,6 \times 10^4$
	60	$3,6 \times 10^4$
	75	$1,0 \times 10^3$
	90	10
	120	<10
	150	$3,0 \times 10$
	180	<10
3	0	10