



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
RAFAELA BROGNARA ALBINO

ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DE PRODUTO ALIMENTÍCIO:
ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA

Tubarão
2018



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
RAFAELA BROGNARA ALBINO

ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DE PRODUTO ALIMENTÍCIO:
ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA

Relatório Técnico/Científico apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade do Sul de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Prof. Eng. Marcos Marcelino Mazzucco, Dr. (Orientador)

Tubarão

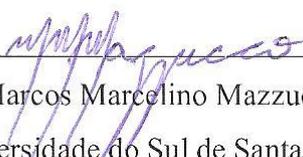
2018

RAFAELA BROGNARA ALBINO

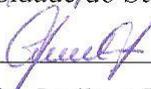
**ANÁLISE DE DEGRADAÇÃO DE PRODUTO ALIMENTÍCIO:
ESTUDO DA VIDA DE PRATELEIRA**

Este relatório técnico/científico foi julgado adequado à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Engenharia Química da Universidade do Sul de Santa Catarina.

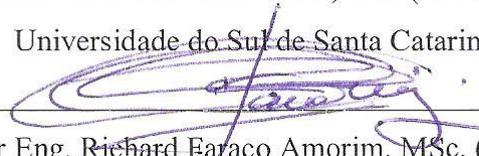
Tubarão, 18 de junho de 2018.



Professor Eng. Marcos Marcelino Mazzucco, Dr. (Orientador)
Universidade do Sul de Santa Catarina



Professora Lic. Jucilene Feltrin, Dra. (Avaliadora)
Universidade do Sul de Santa Catarina



Professor Eng. Richard Faraco Amorim, MSc. (Avaliador)
Universidade do Sul de Santa Catarina

Aos meus pais, pelos esforços diários dedicados a mim, e por serem o motivo de eu sempre buscar ir mais longe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade do Sul de Santa Catarina pelo suporte e oportunidade de realizar a graduação e demais atividades desenvolvidas durante minha passagem pela universidade.

Ao curso de Engenharia Química, por todas as oportunidades de crescimento pessoal e profissional conquistadas no decorrer de minha formação.

A todos os mestres com quem tive a oportunidade de conviver, adquirir conhecimentos e trocar experiências.

Ao professor Marcos Marcelino Mazzucco, por todo o suporte, apoio, confiança e dedicação à orientação e realização desde estudo.

Ao Laboratório pela oportunidade de realização do estágio, e principalmente ao meu supervisor, Gustavo, e colegas de trabalho, Jéssica e Davi, pela convivência nos últimos meses.

À empresa que cedeu as amostras, em nome de Olávio, Renata, Júlio Cesar e Juliana, pela ajuda e confiança no desenvolvimento do estudo, sendo imprescindível para a realização do mesmo.

Aos laços de amizade criados na faculdade, por todo incentivo, apoio e parceria. Especialmente, Rogério, Patrícia, Giovana, José Luiz, Daniela, Sabrina, Herica e Barbara, obrigada por dividirem comigo momentos de alegria e angústia durante os anos de graduação, sem vocês a jornada seria muito mais difícil.

E também aos amigos conquistados durante a vida, que a seu modo, deixaram suas contribuições e lembranças. Eloisa, Gentil, Ivair, Matheus, Marrayana, obrigada pelos momentos compartilhados, pelo apoio e encorajamento nessa reta final.

Por fim, agradeço aos meu pais, José e Normélia, e meu irmão, Álvaro, por todo amor, carinho e compreensão dedicados a mim, principalmente nos últimos anos. Obrigada por entenderem minhas ausências e falhas, e por serem meu amparo sempre que eu precisei.

E minha maior gratidão a Deus, pelo dom da vida, por me proporcionar todas as experiências vividas, por me dar forças para nunca desistir, ser meu refúgio nos momentos de aflição e minha esperança nos momentos de felicidade.

RESUMO

O presente estudo do teste de vida de prateleira da nata pelo método acelerado foi desenvolvido acondicionando as amostras em três temperaturas diferentes: uma de controle (5°C), a ambiente (25°C) e a acelerada (35°C). Foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais a fim de averiguar a mudança dos parâmetros iniciais do produto no decorrer do tempo. Foi definido como principal parâmetro de degradação a acidez, representada em porcentagem de ácido láctico presente no produto. As análises sensoriais apresentaram quedas, as quais eram esperadas, porém sem prejudicar a qualidade total do produto. Dentro da microbiologia, analisou-se a contagem de mesófilos aeróbios, a qual apresentou curva de crescimento bem característica a 5°C, de estafilococos, que tiveram resultados praticamente nulos em todas as análises, e de coliformes totais e termotolerantes, os quais apresentaram contaminação em quase 30% das amostras. As análises de acidez resultaram em curvas bem satisfatórias, mostrando que a temperatura de conservação interfere diretamente na qualidade do alimento. Quanto ao tratamento cinético dos dados, aplicou-se o método diferencial, utilizando as derivadas das funções obtidas em cada temperatura. A ordem de reação encontrada foi de 2,5 e o parâmetro Q_{10} resultou em 3, mostrando que a reação de degradação da nata é bem sensível às mudanças de temperatura. Avaliou-se que o método tem condições para ser implantado no local de pesquisa, porém necessita-se de alguns aprimoramentos, como aquisição de materiais e maior número de analistas.

Palavras-chave: Vida de prateleira. Método acelerado. Cinética química.

ABSTRACT

This research about cream shelf life tests was developed by using three different temperatures: the first at control temperatura (5°C), one at ambient temperature (25°C) and another at accelerated condition (35°C). Physicochemical, microbiological and sensorial analyzes were carried out to verify the changes of the initial parameters over time. The acidity of the product was defined as the main parameter of degradation, which is represented in percentage of lactic acid. The sensorial analyzes presented falls, which were expected, but without impairing the total quality of the product. In the microbiology, the count of aerobic mesophiles was analyzed, which presented a very characteristic growth curve at 5°C, staphylococcus had practically no results in all the analyzes, and about total and thermotolerant coliforms analyzes, which presented contamination in almost 30% of the samples. The acidity analyzes resulted in very satisfactory curves, showing that the storage temperature interferes directly with the quality of the food. As for the kinetic treatment of the data, the differential method was applied, using the derivative of the functions obtained at each temperature. The reaction order was found to be 2.5 and the parameter Q_{10} resulted in 3, showing that the degradation reaction of the cream is very sensitive to changes in temperature. The place was evaluated that the method has conditions to be implanted in the research site, but needs some improvements, such as acquisition of materials and greater number of analysts.

Keywords: Shelf life. Accelerated method. Chemical kinetic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Curvas da acidez <i>versus</i> tempo para as três temperaturas.....	39
Figura 2 – Crescimento microbiano de mesófilos aeróbios à 5°C.....	40
Figura 3 – Contagem de mesófilos aeróbios à 25°C.....	42
Figura 4 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 35°C.....	43
Figura 5 – Análise sensorial de cor	47
Figura 6 – Análise sensorial de sabor	47
Figura 7 – Análise sensorial de odor	48
Figura 8 – Análise sensorial de textura	48
Figura 9 – Análise sensorial de aparência	49
Figura 10 – Aumento da acidez à temperatura de 5°C	50
Figura 11 – Gráfico de $\ln (dC_A/dt)$ <i>versus</i> $\ln (C_A)$ para temperatura de 5°C.....	50
Figura 12 – Curva da elevação da concentração de acidez a 25°C.....	51
Figura 13 – Gráfico de $\ln (dC_A/dt)$ <i>versus</i> $\ln (C_A)$ para temperatura de 25°C.....	52
Figura 14 – Curvas de acidez para temperatura de 35°C.....	52
Figura 15 – Gráfico de $\ln (dC_A/dt)$ <i>versus</i> $\ln (C_A)$ para temperatura de 35°C.....	53
Figura 16 – Gráfico da aplicação de linearização da equação de Arrhenius.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Plano de Amostragem.....	31
Tabela 2 - Descrição da pontuação para análise sensorial.....	36
Tabela 3 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 5°C	41
Tabela 4 – Contagem de mesófilos aeróbios para 25°C	42
Tabela 5 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 35°C	43
Tabela 6 – Resultado de coliformes para o ponto zero.....	44
Tabela 7 – Resultados das análises de coliformes para as temperaturas estudadas	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	JUSTIFICATIVA E PROBLEMA	13
1.2	OBJETIVOS	14
1.2.1	Geral.....	14
1.2.1.1	Específicos.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	<i>SHELF LIFE</i>	15
2.1.1	Método acelerado	16
2.1.2	Cinética de reações	16
2.2	INDÚSTRIA EM SANTA CATARINA	19
2.2.1	Indústria Alimentícia	20
2.2.1.1	Indústria de laticínios	20
2.2.1.1.1	<i>Nata</i>	21
2.3	CARACTERÍSTICAS DOS ALIMENTOS	22
2.4	ASPECTOS ANALÍTICOS.....	23
2.4.1	Físico-química.....	23
2.4.1.1	Acidez.....	23
2.4.2	Microbiologia.....	24
2.4.2.1	Mesófilos aeróbios.....	24
2.4.2.2	Coliformes	25
2.4.2.3	Estafilococos coagulase positiva	25
2.4.3	Sensorial	26
3	METODOLOGIA.....	28
3.1	PESQUISA CIENTÍFICA	28
3.2	A PESQUISA.....	28
3.3	O PROCESSO DA PESQUISA REALIZADA.....	29
3.3.1	Definição de metodologia.....	30
3.3.2	Amostras	30
3.3.3	Amostragem.....	31
3.3.4	Análises.....	31
3.3.4.1	Acidez.....	32

3.3.4.2	Microbiologia	33
3.3.4.2.1	<i>Mesófilos aeróbios</i>	33
3.3.4.2.2	<i>Coliformes</i>	33
3.3.4.2.3	<i>Estafilococos coagulase positiva</i>	34
3.3.4.3	Sensorial	35
3.3.5	Tratamento dos dados	36
3.3.5.1	Tratamento Estatístico	36
3.3.5.2	Tratamento Cinético	36
3.3.6	Avaliação da implantação de metodologia	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	ACIDEZ.....	39
4.2	MICROBIOLOGIA	40
4.2.1	Mesófilos Aeróbios	40
4.2.2	Coliformes	44
4.2.3	Estafilococos Coagulase Positiva	46
4.3	SENSORIAL.....	46
4.4	DADOS CINÉTICOS	49
4.5	AVALIAÇÃO DE IMPLEMENTAÇÃO.....	55
5	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXOS	61
	ANEXO A – TABELA PARA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) PARA ANÁLISE DE COLIFORMES	62
	APÊNDICES	63
	APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL	64

1 INTRODUÇÃO

As revoluções industriais ocorrem diariamente dentro dos polos produtivos nos dias atuais, a todo momento novas tecnologias estão sendo criadas e aperfeiçoadas, melhorando processos e produtos. Quanto mais os processos produtivos são aprimorados, mais o consumidor fica atento às principais características de qualidade do produto. Isso ocorre também, e principalmente, com os alimentos. Os clientes buscam marcas de confiança e produtos de qualidade reconhecida.

Os consumidores atualmente estão mais exigentes por produtos que apresentam desempenho superior: alimentos devem não apenas possuir valor nutricional adequado, mas também características como sabor, odor e textura devem estar de acordo com as preferências do mercado. (PEDRO, 2009, p. 20).

A preocupação da indústria com a segurança alimentar e a consciência dos consumidores reforçam a procura por produtos seguros e de qualidade atestada, valorizando a garantia de origem e os selos de qualidade, obtidos a partir de boas práticas de fabricação e controle de riscos. (CORADELLO, 2015, p. 91). Da mesma forma, há tendências de reforço nos métodos de controle de qualidade e atualizações na legislação que contribuem para o desenvolvimento de trabalhos que busquem a viabilidade sistemas de produção seguros.

Dentro das indústrias alimentícias, o tempo de escoamento de seus produtos deve ser rápido, tendo que obter-se os resultados das análises de qualidade do produto em tempo hábil, considerando que a cada lote produzido, diferenças nos parâmetros podem ser encontrados. Outra questão em relação ao tempo está ligada ao desenvolvimento de novos produtos, uma vez que, os testes nesses casos devem ser mais rígidos e controlados.

A cinética química estuda o comportamento das reações, a fim de entender os mecanismos de ocorrência das mesmas, para melhor adequar os processos. Ela analisa, através de dados experimentais, fatores como velocidade de reação e energia necessária para que a reação aconteça, avaliando seu desempenho no decorrer do tempo.

O estudo das cinéticas de reações químicas nos processos de produção de alimentos pode ser um aliado importante na economia do tempo, uma vez que quando obtidos os parâmetros cinéticos das reações, o método pode ser utilizado para determinar tempo de vida de prateleira, determinar crescimento microbiano e até identificar problemas de contaminação na produção.

1.1 JUSTIFICATIVA E PROBLEMA

A preocupação com a qualidade de produtos alimentícios tem sido cada vez maior, tanto por parte dos consumidores, quanto pelas indústrias do setor. O consumidor está atento às informações nutricionais, à qualidade do produto, e também ao prazo de validade dos alimentos. Já as indústrias alimentícias têm buscado mais soluções e aplicações tecnológicas que permitam a produção de alimentos com maior qualidade e prazo de validade mais longo.

O teste de *Shelf Life*, ou vida de prateleira, é utilizado para a determinação de tempo de vida de diversos produtos. A vida de prateleira pode ser definida como o tempo no qual um produto, quando armazenado em certas condições, mantém suas características ou, pelo menos, as alterações ocorridas não interferem na qualidade do mesmo. Nesse teste são analisadas características físicas, químicas, microbiológicas e organolépticas.

Porém, a espera pelos testes para a determinação do prazo de validade de cada lote dos produtos acarreta longos períodos de espera até que o produto chegue ao seu usuário final. Com o desenvolvimento de métodos mais rápidos, esse intervalo pode ser diminuído em níveis bem consideráveis, economizando tempo aos produtores, e fazendo com que os consumidores recebam produtos mais frescos e com maior qualidade.

O desenvolvimento de novos produtos também pode ser beneficiado com a aplicação do método acelerado, uma vez que, a inserção de novos produtos no mercado necessita de estudos aprofundados de teste vida de prateleira, e a demora pelos resultados pode ser um empecilho aos produtores.

Percebendo o aumento da procura por este tipo de análise, definiu-se a questão central de pesquisa: **é possível a aplicação do método acelerado do teste de vida de prateleira em produto lácteo, em investigação realizada para estágio supervisionado em engenharia química, em laboratório de análises químicas localizado na região sul de Santa Catarina, no ano de 2018?**

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

Avaliar a vida de prateleira da nata através de metodologia acelerada visando aplicabilidade para implementação do método em laboratório de análises químicas.

1.2.1.1 Específicos

- a) Determinar metodologia para determinação da vida de prateleira;
- b) Analisar os principais parâmetros de qualidade do produto;
- c) Acompanhar a atividade microbológica no produto durante os testes;
- d) Obter os parâmetros cinéticos por meio da degradação da principal característica de qualidade do produto;
- e) Avaliar a possibilidade de implementação do teste em laboratório de análises de alimentos;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *SHELF LIFE*

O prazo de validade impresso na embalagem de cada produto alimentício é o tempo no qual o consumo do mesmo é seguro, sendo este período definido pelo teste de vida de prateleira, que tem por finalidade analisar as reações que ocorrem no alimento, estimando um prazo que garanta a qualidade do mesmo.

A vida útil de produtos alimentícios, conhecido também como vida de prateleira, ou *Shelf life*, pode ser definida como o tempo que determinado produto leva para alcançar uma condição que não possa ser aceita ou que seu consumo seja impróprio. (FU; LABUZA, 1993 apud CORADELLO, 2015).

Durante os testes de *Shelf life*, são analisados os principais parâmetros de qualidade do produto, acompanhando sua degradação no decorrer do tempo. As análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais são realizadas periodicamente, mantendo os produtos estocados na temperatura de conservação indicada pelo fabricante. O teste termina quando algum parâmetro do produto atinge níveis inaceitáveis pela legislação ou que comprometam a saúde dos consumidores, ou as análises sensoriais estejam alteradas, não sendo mais atrativo aos clientes. Aí, então, é determinada a vida de prateleira do produto, e como consequência o prazo de validade.

Estudos na área de tecnologia de alimentos buscam trazer aprimoramentos aos testes de vida de prateleira, buscando métodos mais rápidos e eficazes, economizando tempo e recursos para as indústrias alimentícias.

2.1.1 Método acelerado

De acordo com a cinética de reações químicas, a temperatura é um dos principais fatores que influenciam a velocidade das reações, sendo que quanto maior for a temperatura, maior será o coeficiente de velocidade da reação.

Existe uma relação linear entre a velocidade de crescimento microbiano e a velocidade de deterioração do produto, portanto, a vida útil do produto está relacionada com a velocidade de crescimento dos microrganismos, que por sua vez está relacionada com a temperatura. (MASSAGUER, 2006, p. 143-144).

Portanto, o método acelerado do teste de vida de prateleira é conduzido de maneira que, mantendo os produtos em diferentes temperaturas, consiga-se construir as curvas de degradação do alimento, obtendo-se gráficos quantitativos do principal parâmetro de qualidade *versus* o tempo.

As condições de estocagem devem ser definidas em função das características de cada produto e respectivas reações de transformação, cuja ocorrência e velocidade variam em função dos fatores ambientais aos quais estes são expostos. Dentre os fatores ambientais que influenciam a velocidade das reações de degradação dos alimentos, temperatura e umidade relativa são os mais importantes. (CORADELLO, 2015, p 18).

Assim, deve-se estocar os alimentos em, no mínimo, três temperaturas diferentes: na de controle, a qual é indicada pelo fabricante; na ambiente; e na acelerada, a qual deve ser acima das outras duas. Então, comparam-se as curvas, conseguindo extrair os coeficientes cinéticos, e a partir disto, definir a vida útil do produto para qualquer temperatura de estocagem.

2.1.2 Cinética de reações

A cinética de reações químicas é muito utilizada nas indústrias, com o intuito de prever e acompanhar o comportamento das reações, permitindo soluções e aprimoramentos dos processos. Através do acompanhamento da velocidade das reações com o tempo, a

indústria alimentícia consegue aplicar modelos matemáticos à degradação dos alimentos, aprimorando as técnicas de teste de vida de prateleira.

A cinética de reações é utilizada como instrumento de determinação da taxa deterioração de alimentos, uma vez que esta pode ser expressa através de equações matemáticas, pois o estudo cinético analisa os fatores que interferem nas reações de deterioração dos alimentos, como temperatura e composição. Assim, a utilização da cinética química permite estimar a vida de prateleira de alimentos, como também antecipar certos problemas durante o processamento do mesmo. (VAN BOEKEL, 2008 apud CORADELLO, 2015).

Todos os alimentos possuem suas características particulares, ocorrendo um conjunto de reações específicas em cada um deles, assim, os indicadores de qualidade são diferentes para cada produto. Os parâmetros cinéticos conseguem prever as alterações dos principais indicadores em função das condições de armazenamento, estimando a vida útil de cada alimento.

Alterações físicas, químicas e microbiológicas ocorrem concomitantemente durante o processo de deterioração dos alimentos, não possibilitando a criação de modelos matemáticos genéricos aplicáveis a todas as alterações na qualidade do produto. Portanto, é necessária que seja realizada uma correlação entre as condições de construção do modelo e aquelas nas quais ele será aplicado. (AZEREDO *et al*, 2012 apud CORADELLO, 2015).

O desenvolvimento de modelo cinético para a degradação de alimentos é um processo extenso e complexo, tendo que levar em consideração diversos aspectos, como as características intrínsecas dos produtos, reações de degradação, fatores ambientais (temperatura, umidade, etc.). Porém, o mesmo traz vários benefícios para as empresas, como a maior agilidade na determinação do prazo de validade dos produtos, e conseqüentemente, na distribuição dos mesmos.

A velocidade no qual ocorrem as reações e os fatores que a influenciam é definida pela equação da taxa de reação (r_A):

$$-r_A = k \cdot C_A^n \quad (1)$$

O sinal negativo indica que a substância analisada é um reagente, ou seja, o mesmo desaparece no decorrer da reação, quando trata-se de um produto, o sinal deve ser positivo, indicando a formação do mesmo.

A taxa de reação é definida pela relação entre a constante de velocidade da reação (k), a concentração do reagente ou produto no meio (C) e a ordem da reação (n) que está ligada ao comportamento da mesma.

Para encontrar a relação entre a taxa de velocidade de uma reação e a influência da temperatura a que a mesma ocorre, utiliza-se a equação da Lei de Arrhenius:

$$k = k_0 e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (2)$$

Onde k é a constante de velocidade da reação, a qual define a taxa de velocidade que uma reação ocorre a determinada temperatura; E_a é a energia de ativação, que é definida como sendo a energia necessária para que a reação ocorra; R representa a constante dos gases ideais; e T a temperatura no qual a reação foi realizada.

A energia de ativação corresponde ao mínimo de energia requerido, por parte dos reagentes, para que a reação se inicie. O termo $e^{-\frac{E_a}{RT}}$ corresponde, segundo a teoria cinética dos gases, à fração de colisões entre as moléculas que promovem a energia E_a . (MAZZUCCO, 2009, p. 12).

A variação da velocidade específica da reação (k), de acordo com a mudança de temperatura representa transformações no mecanismo controlador da reação, sendo que, quanto maior for o valor de E_a da reação, mais sensível a mesma será às mudanças de temperatura. (LEVENSPIEL, 2000; MAZZUCCO, 2009).

A constante de velocidade de reação é uma variável diretamente dependente da temperatura, podendo ser representada pela relação abaixo, a qual representa a proporcionalidade da taxa de velocidade com a temperatura da reação (LEVENSPIEL, 2000):

$$k \propto T^m e^{-\frac{E}{RT}} \quad (3)$$

A linearização da equação da Lei de Arrhenius permite a realização do método gráfico de ajuste de dados, no qual os dados são dispostos num gráfico e é observada a adequação de uma reta para a representação da função, a fim de se obter o valor da energia de ativação.

Para que a análise desses dados seja realizada, necessita-se encontrar o valor da taxa de velocidade em diferentes temperaturas, sendo assim, alguns métodos de análise de dados cinéticos são empregados, como o integral e o diferencial. O primeiro é desenvolvido a partir da integração das funções, enquanto o segundo aplica-se a derivada.

Para entender como o aumento de temperatura atua sobre o aumento na velocidade das reações de alteração de um alimento, utiliza-se o parâmetro Q_{10} , o qual é definido como a taxa de aceleração da reação para 10°C de acréscimo na temperatura de acondicionamento do alimento. O mesmo pode ser encontrado através de duas formas: a razão entre as constantes de velocidade em diferentes temperaturas (equação 4) ou a aplicação de

equação envolvendo a energia de ativação e a temperatura de estudo (5), que estão representadas abaixo:

$$Q_{10} = \frac{k_{(t)}}{k_{(t-10)}} \quad (4)$$

$$Q_{10} = 10^{E_A/0,46 \cdot T^2} \quad (5)$$

2.2 INDÚSTRIA EM SANTA CATARINA

A indústria em Santa Catarina é considerada bastante ampla e diversificada, tendo atuação em todo o país. Seu desenvolvimento deu-se em todo o território estadual e em diversos segmentos, como o carvoeiro, têxtil, cerâmico e o alimentício, ganhando força nos últimos tempos com o crescimento da agroindústria, que vem conquistando cada vez mais espaço no exterior.

O crescimento industrial no Estado ocorreu, principalmente, pelo bom Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) catarinense, que conta com critérios como educação, saúde e economia, sendo um dos melhores do país, o que levou diversas indústrias de vários ramos a se instalarem em Santa Catarina. (FIESC, 2010).

A qualidade de vida do catarinense e o investimento no setor industrial estão intimamente ligados. Isso porque, uma vez que o governo investe no Estado em setores como educação, saúde e segurança pública, promove melhoria na qualidade de vida dos cidadãos, o que atrai maior interesse de empresas a se instalarem em Santa Catarina, trazendo mais investimento pro setor, e conseqüentemente, pro cidadão catarinense.

Atualmente, o Estado ocupa o 2º lugar no Índice de Desafios da Gestão Estadual (IDGE) e no Ranking de Competitividade dos Estados, os quais analisam aspectos como saúde, desenvolvimento, educação, potencial de mercado, inovação, dentre outros. (FIESC, 2017).

O crescimento econômico, social e industrial andam lado a lado, o que faz com que um beneficie o outro, aumentando tanto a qualidade de vida da população quanto a industrialização do Estado. Este fenômeno gera um ciclo de investimentos no Estado,

proporcionando os bons índices de crescimento que Santa Catarina vem apresentando nos últimos anos.

2.2.1 Indústria Alimentícia

Destacando-se principalmente no Oeste, o ramo de alimentos faz parte da economia da maioria das regiões do Estado, com muitas indústrias de derivados, frutas e com grande participação na exportação de carne suína, bovina e aves. O parque industrial de Santa Catarina é composto por indústrias de todos os portes, desde as pequenas propriedades de produtores rurais até multinacionais, como a BRF Brasil Foods e a Duas Rodas.

Segundo a Federação das Indústrias de Santa Catarina (FIESC), o setor de alimentos e bebidas foi o segundo com maior investimento no Estado, chegando a mais de R\$ 214 milhões. Sendo considerado também o setor mais representativo na economia industrial de Santa Catarina, principalmente envolvendo o segmento de produção de carnes e pescados.

Isso comprova que esse setor industrial tem crescido muito nos últimos anos, movimentando muito capital, e que tanto indústrias quanto governo estão dispostos a investirem cada vez mais em novas tecnologias no ramo alimentício.

2.2.1.1 Indústria de laticínios

Em Santa Catarina, dentro do setor alimentício, destaca-se a produção de derivados de leite. Com grande parte do setor presente no Oeste do Estado, nos últimos anos a região Sul vem ganhando força nesse ramo, principalmente no interior sul catarinense, onde também há o predomínio de criação de bovinos.

No ano de 2016, Santa Catarina foi o 4º estado na produção de leite, compreendendo 9% da produção de todo o Brasil, tendo crescido 30,8% de 2010 a 2016. (FIESC, 2017).

A indústria de laticínios tem uma gama muito grande de produção de alimentos além do próprio leite, como queijos, iogurte, nata, e cremes à base de leite, sendo que todos produtos são muito populares na mesa dos brasileiros, estando presentes diretamente nas refeições diárias e também como ingredientes em receitas de outros produtos.

De acordo com o SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, em pesquisa realizada no ano de 2011, o setor de laticínios é o segundo mais requisitado pelos compradores de alimentos, que incluem supermercados e outras indústrias.

Com a diversificação e grande popularidade dos produtos fabricados por essa indústria, os investimentos no setor tendem a crescer cada vez mais, com o intuito de aprimoramento de processos, criação de novos itens e aumento nas produções dos pequenos empreendimentos.

2.2.1.1.1 Nata

A nata é um produto derivado de leite, produzido através da gordura do mesmo, o qual passa por processo de pasteurização. Este produto é um creme de coloração branca, de textura firme e uniforme, com sabor e odor bem característicos. Seu tempo de vida de prateleira varia de acordo com os fabricantes, tendo, em média, de 30 a 35 dias de prazo de validade.

Nata é o produto lácteo relativamente rico em gordura retirada do leite, que apresenta a forma de uma emulsão de gordura em água, homogeneizado ou não, e submetido a processo de pasteurização, mediante tratamento térmico e procedimentos tecnologicamente adequados, suficientes para destruir todos os microrganismos patogênicos. (BRASIL, 2003).

A nata é um produto de características bem marcantes, porém, tem suas restrições quanto ao seu preparo e propriedades finais. A fim de garantir suas principais características organolépticas e obter segurança quanto ao seu consumo, a mesma é regulamentada por uma Instrução Normativa (IN) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e tem fiscalização encarregada pela CIDASC – Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina.

A Instrução Normativa Nº 23 de 30 de agosto de 2012 regulamenta a identidade e qualidade da nata, abordando os requisitos mínimos de qualidade e segurança do alimento. Segundo a mesma IN, a acidez do produto tem limite máximo de 0,20 gramas de ácido láctico a cada 100 gramas do produto, e quanto à massa gorda, o limite mínimo é de 45 % (m/m) de matéria gorda.

A nata, como o leite e seus derivados, é um ótimo meio para a proliferação de bactérias, uma vez que tem alto índice de nutrientes e elevada atividade de água, além do pH relativamente neutro. A contaminação dos produtos pode dar-se durante o processo de

produção (equipamentos, manipulação, etc.), ou após o processamento térmico. (LANDGRAF, FRANCO, 2003).

Quanto às condições microbiológicas, são requisitadas análises de contagem de mesófilos aeróbios, estafilococos coagulase positivo, e coliformes, totais e termotolerantes. As características sensoriais analisadas são cor, odor, sabor, textura e aparência. Todas as análises devem estar dentro dos parâmetros indicados na Instrução Normativa Nº 23 de 30 de agosto de 2012 do MAPA.

2.3 CARACTERÍSTICAS DOS ALIMENTOS

As propriedades físico-químicas, microbiológicas e organolépticas determinam a característica geral do produto e são específicas a cada um. Quando ocorrem alterações significativas em algum desses parâmetros pode ser que ocorra a perda de qualidade do produto ou afete a segurança do alimento, comprometendo o consumo do mesmo, e conseqüentemente, seu tempo de vida.

Existem diversos critérios que podem ser usados para estabelecer os prazos de validade e de “consumir de preferência antes de” incluindo: qualidade sensorial, perda de nutrientes, e grau de perecibilidade. (nossa tradução, LABUZA, 1979, p.7). A presença de microrganismos patogênicos (causadores de doenças) ou que deteriorem o produto, alterações físico-químicas ou sensoriais e a perda de nutrientes do produto, podem ser fatores que levem à rejeição do produto por parte dos consumidores. (CORADELLO, 2015).

As propriedades intrínsecas dos alimentos, aquelas que caracterizam o produto final, são próprias dos mesmos, porém dependem de como o produto foi preparado, embalado, distribuído e armazenado, ou seja, das características extrínsecas, pertencentes ao meio ambiente ao qual o produto foi condicionado.

A fim de assegurar que os alimentos saiam das indústrias em bom estado de consumo, são realizadas análises específicas para certificar a qualidade dos mesmos, e variam de acordo com o tipo de produto, sendo elas definidas pelas Instruções Normativas referentes.

2.4 ASPECTOS ANALÍTICOS

As análises realizadas para o teste de vida de prateleira envolvem os parâmetros físico, químico, microbiológico e sensorial, formando um conjunto de dados correlacionados a serem avaliados a fim de determinar a vida útil do produto. As análises físico-químicas são aquelas relacionadas às transformações físicas e reações químicas, a microbiologia está ligada às ações de microrganismos e as sensoriais são referentes ao conjunto de propriedades observadas através dos sentidos perceptivos dos seres humanos. As análises foram determinadas a partir de consulta em artigos e legislação vigente.

2.4.1 Físico-química

As análises físico-químicas realizadas durante o teste de vida de prateleira são relativas mudanças químicas e físicas que podem ocorrer durante o processo de deterioração dos alimentos. Dentre os aspectos químicos mais comuns estão análise de água, matéria gorda e concentração de componentes. No aspecto físico destacam-se textura, cor e densidade.

Geralmente são realizadas análises quantitativas, ou seja, para determinar a quantidade de determinado parâmetro, as quais estão ligadas à composição do alimento, como a perda de nutrientes ou o aumento da acidez.

2.4.1.1 Acidez

A acidez de alimentos deve ser monitorada no teste de *shelf life*, uma vez que elevados índices de ácidos num produto interfere em seu sabor e odor, sendo causados pela presença de bactérias fermentativas no alimento.

A acidez do produto derivado de leite pode se dar através da fermentação de açúcares presentes, produzindo ácidos como o láctico, acético ou butírico. (LANDGRAF, FRANCO, 2003).

Visto que as condições encontradas no leite e seus derivados são excelentes para o crescimento microbiano, o cuidado com a acidez deve ser constante e rígido, pois a mesma interfere diretamente nas características organolépticas dos produtos.

2.4.2 Microbiologia

Os alimentos podem sofrer diversos tipos de contaminações no processo produtivo ou até desencadear reações que acentuem suas características microbiológicas, assim, o cuidado com o manuseio e estocagem dos produtos é de primordial importância.

O aspecto microbiológico, refere-se não só à ausência ou presença de microrganismos no próprio alimento, como também às instalações, equipamentos, água, pessoal, embalagens, armazenamento, transporte, distribuição dos produtos, etc. (...). (CHAVES, 1994, p 11). Tem-se que empenhar certo cuidado com a indústria num geral, desde o recebimento da matéria-prima até o alimento chegar ao seu consumidor final, isso porque as alterações microbiológicas são uma das que necessitam de maior atenção, por estar diretamente ligada à segurança alimentar. (CORADELLO, 2015).

As análises microbiológicas tratam sobre a quantificação e/ou qualificação dos microrganismos presentes no produto, que podem ser deterioradores, patógenos ou coliformes.

Parâmetros nos quais são necessários a contagem de colônias, tem-se um limite inferior (m) e um superior (M), sendo que, resultados inferiores a m são considerados aceitáveis, enquanto superiores a M, inaceitáveis. Quando o resultado estiver entre m e M, considera-se que o produto está em nível de qualidade marginal. (FRANCO, 2003).

Além dos limites de quantificação, a legislação aborda a categoria da análise, que varia de 1 a 15, determinando as condições e o tipo de risco à saúde para cada determinado organismo e alimento.

2.4.2.1 Mesófilos aeróbios

Denominado também como contagem padrão em placas, é a determinação do número total de bactérias mesófilas aeróbias existentes no alimento.

Os microrganismos mesófilos são correspondentes à maioria daqueles que importam quanto aos alimentos, sendo ainda a maioria dos patógenos de interesse. Sua temperatura mínima de multiplicação pertence ao intervalo de 5 a 25°C, enquanto a ótima fica entre 25 e 40°C e a máxima de 40 a 50°C. (FRANCO, 2003).

De acordo com a IN 23, o parâmetro de contagem de mesófilos aeróbios tem um limite inferior de 10.000 e superior de 100.000 colônias, sendo este requisito de categoria de risco 5, ou seja, dentro da classe que tem risco baixo e indireto e as condições de manipulação mantêm o risco inalterado.

2.4.2.2 Coliformes

A presença de coliformes em amostras alimentícias pode ser analisada quanto à higiene em geral da indústria, uma vez que a alta contagem dessas bactérias significa alta contaminação dos produtos ainda durante a produção ou que o processo de tratamento térmico empregado é ineficaz. Dentre o segmento dos coliformes, temos a contagem de coliformes totais e termotolerantes.

Coliformes totais é um grupo de bactérias que se apresentam em forma de bastonetes, são pertencentes ao grupo Gram-negativo, aeróbios ou aeróbios facultativos. De acordo com a IN 23, a contagem de coliformes totais tem m de 10 e M de 100, sendo que seu grau de risco é considerado 5, baixo ou indireto, e de risco inalterado.

O termo “coliformes termotolerantes” é designado para representar a contagem de coliformes a 45°C ou fecais. Na IN 23 consta que o limite inferior para coliformes termotolerantes é de 3 e o superior de 10, tendo categoria de risco 5, baixo ou indireto, e inalterado.

2.4.2.3 Estafilococos coagulase positiva

O gênero *Staphylococcus* é de importante monitoramento em alimentos, uma vez que o mesmo é causa de intoxicação quando ocorre a ingestão de alimentos contaminados por causa das possíveis toxinas geradas por essas bactérias. A presença do gênero se dá por colônias pretas brilhantes com aureolos brancos.

Estafilococos são bactérias do tipo Coco Gram-positivo, mesófilas e anaeróbios facultativos, com crescimento maior em meio aeróbio. Apresentam temperatura de

crescimento entre 7 e 47,8°C, com faixa de temperatura ótima entre 35 e 37°C (FRANCO, 2003; CHAVES, 1994).

A análise desse patógeno é importante em derivados de leite, pois pode haver a presença do mesmo no gado leiteiro, uma vez que espécies podem estar presentes tanto em humanos quanto em animais.

O *S. aureus*, principal espécie do gênero, pode ser encontrado em lesões de pele ou em vias aéreas superiores, podendo contaminar facilmente os alimentos, onde podem causar o aparecimento de enterotoxinas, podendo levar a problemas de saúde quando ingeridos. (FRANCO, 2003).

Sabe-se que apenas Estafilococos coagulase positiva estão envolvidos em intoxicação, e daí o motivo para que as colônias sejam testadas quanto à presença de coagulase. (CHAVES, 1994, p. 72).

A contagem de Estafilococos coagulase positiva tem limite inferior de 10 e superior de 100, sendo sua classificação de risco considerado moderado, direto, e difusão restrita, e condição de risco inalterado, enquadrando-se na classificação 8. (MAPA, 2012).

2.4.3 Sensorial

As características organolépticas de um alimento são referentes àquelas que são identificadas pelos sentidos, olfato, visão e paladar. Dentre as análises sensoriais, tem-se: a cor, aparência e textura, identificadas pela visão; sabor, pelo paladar; e odor pelo olfato. Apesar de cada parâmetro ter seu sentido específico, elas são formadas também pelo conjunto de sensações que o alimento transmite ao consumidor, sendo eles muito bem correlacionados entre si. Tais parâmetros são determinantes para a satisfação do cliente no momento de consumir um alimento ou rejeitá-lo.

Alterações sensoriais são sinais de deterioração que permitem uma rápida identificação, como por exemplo, mudanças de textura, geração de sabores e odores indesejáveis e até crescimento visível de fungos. (WOJSLAW, s.d. apud CORADELLO, 2015).

Mudanças dos aspectos organolépticos dos alimentos estão fortemente ligadas às outras alterações, como microbiológica ou química, as quais modificam as características dos

alimentos através de reações. Assim, é possível, através de estudos mais aprofundados, correlacionar as mudanças sensoriais com ou outros parâmetros analisados.

Qualidade sensorial, como cor, odor, e sabor, é o maior critério de discernimento para estabelecer datas de prazo de validade e “melhor consumir antes de”. Para alguns alimentos, a mudança de qualidade sensorial também pode ser um indicador de qualidade nutricional. Porém, agências reguladoras provavelmente não estariam aptas a usar critérios sensoriais para determinar se um alimento, que ainda está no prazo de validade, esteja fora da conformidade em algum nível de qualidade, além de que testes para determinar se um dado produto é designado à alguma qualidade sensorial exige capacitados painéis de provas em áreas específicas. Entretanto, se um método físico ou químico puder ser altamente correlacionado com um teste sensorial, testes de conformidade seriam simplificados. (Nossa tradução, LABUZA, 1979, p. 7)

As análises sensoriais não permitem dados quantitativos, portanto, utilizam-se geralmente painéis sensoriais para a realização desse tipo de análise. Esses painéis são compostos por escalas de pontuação dos parâmetros, a fim de obter-se notas para as amostras, qualificando o produto pelo ponto de vista do cliente.

3 METODOLOGIA

3.1 PESQUISA CIENTÍFICA

A pesquisa científica é o meio pelo qual os fenômenos são investigados, os fatos são apurados, as indagações são estudadas, analisadas as hipóteses e explorados os caminhos. É através da pesquisa científica que questionamos os acontecimentos e circunstâncias ao nosso redor, a fim de os elucidarmos.

Pesquisa é a atividade científica pela qual descobrimos a realidade. Partimos do pressuposto de que a realidade não se desvenda na superfície. Não é o que aparenta à primeira vista. Ademais, nossos esquemas explicativos nunca esgotam a realidade, porque esta é mais exuberante que aqueles. (DEMO, 2013, p. 21).

A ciência é o ramo do conhecimento que procura pela elucidação dos fenômenos observáveis, reprodutíveis e quantificáveis. A pesquisa científica pode ser considerada o sentido da ciência, que por sua vez nos dá o direito de duvidar da realidade ao nosso redor e está intrinsecamente presente na vida do homem.

Demo (2013), distinguiu a pesquisa em quatro ramos: teórica, metodológica, empírica e prática. A primeira trata de discussões e definições conceituais, a segunda sobre as avaliações de metodologias e construção da ciência. A pesquisa empírica é aquela referente aos processos mensuráveis, aqueles que podem ser manipulados e observados através de fenômenos. Por fim, a prática aborda a comprovação (ou não) de ideias e conceitos teóricos a partir de testes.

3.2 A PESQUISA

As hipóteses de uma pesquisa científica são criadas pela e para o desenvolvimento da mesma, norteando os passos e conduzindo a metodologia de aplicação. Através delas, conseguem-se aplicar maneiras de comprová-las, ou não, buscando a explicação prática dos fatos estudados.

A abordagem quantitativa refere-se àquela na qual ocorre a quantificação das variáveis, através de metodologia de testes práticos. Esta é uma abordagem muito comum na área das ciências exatas, uma vez que, segundo Fonseca (2002, p. 20 apud Silveira e Córdova, 2009, p. 33), a pesquisa quantitativa recorre à linguagem matemática para descrever as causas de um fenômeno, as relações entre variáveis, etc.

O método científico diz respeito à maneira como a pesquisa se deu, ou seja, como o caminho foi percorrido para os resultados fossem obtidos, determinando a estratégia de pesquisa. O método experimental pertence ao grupo dos métodos que indicam os meios técnicos da investigação, tendo por objetivo a assertividade e rigor necessários na investigação dos fenômenos estudados.

O método experimental consiste essencialmente em submeter os objetos de estudo à influência de certas variáveis, em condições controladas e conhecidas pelo investigador, para observar os resultados que a variável produz no objeto. (GIL, 2012, p. 16).

O nível de pesquisa trata do objeto específico abordado. O nível descritivo é aquele que relaciona as variáveis, descrevendo comportamentos através dos dados experimentais obtidos. Gil (2012, p. 28), diz que as pesquisas deste tipo têm como objetivo primordial a descrição das características de determinada população ou fenômeno ou o estabelecimento de relações entre variáveis.

Para a resposta à hipótese de trabalho (problema) foram elaboradas hipóteses secundárias em investigação caracterizada como de abordagem quantitativa, método de procedimento experimental e nível descritivo pois envolveu a manipulação de variáveis.

3.3 O PROCESSO DA PESQUISA REALIZADA

A princípio, realizou-se uma descrição do problema de pesquisa e levantamento bibliográfico de dados e metodologias, a fim de ser definido o melhor método a ser empregado no estudo. Foi, então, escolhida uma gama de alimentos propícios a serem estudados, sendo a de derivados de leite, como também delimitadas as análises a serem realizadas. Buscou-se uma empresa parceira interessada no desenvolvimento do estudo para o fornecimento das amostras necessárias. Para tanto, ficou decidido que o alimento utilizado no estudo seria a nata, pois é um produto que ocorre grande variação entre lotes. Logo, foram iniciadas as análises de acordo com planejamento feito anteriormente. De acordo com a

obtenção dos resultados analíticos, foram construindo-se gráficos para cada tipo de análise e cada temperatura de acondicionamento, com o intuito de acompanhar os comportamentos das reações de degradação. Por fim, foi realizado tratamento cinético do principal indicador de qualidade do alimento, sendo definido como a análise de acidez, obtendo-se os parâmetros cinéticos da degradação do produto.

3.3.1 Definição de metodologia

Através de levantamento bibliográfico em artigos do ramo, definiu-se que as amostras do produto seriam mantidas em três temperaturas de acondicionamento, sendo uma de controle, recomendada pelo fabricante, uma a temperatura ambiente e a terceira de temperatura acelerada, sendo utilizadas as temperaturas de 5, 25 e 35°C, respectivamente. Ficou definido também que a cada dia de análise seriam utilizadas três amostras diferentes do produto para cada temperatura.

3.3.2 Amostras

O produto foi disponibilizado por um laticínio localizado na região Sul de Santa Catarina. Um total de 156 amostras de nata, do mesmo lote de fabricação, foram armazenadas em sua embalagem comercial, lacrada, contendo aproximadamente 100g do produto.

O alimento foi enviado ao laboratório no mesmo dia de sua fabricação. Assim que chegaram, as amostras foram acondicionadas em cada local à temperatura desejada, geladeira (5°C), refrigerador com aquecimento (25°C) e estufa (35°C), sendo que foram colocadas 51 embalagens em cada local. Todas as temperaturas foram controladas para que a variação permanecesse dentro de 1°C, para mais ou para menos.

As outras três amostras remanescentes foram utilizadas como amostras para análises do ponto “zero”, sendo realizadas no mesmo dia de chegada do produto ao laboratório.

3.3.3 Amostragem

O plano de amostragem foi executado de maneira que, com os dados obtidos, pudesse ser construída uma curva de degradação precisa, para acompanhar o processo até o final do período de validade do produto. A cada dia de análise foram utilizadas três amostras de cada temperatura de acondicionamento, obtendo-se a média e desvio padrão para cada condição analisada.

A Tabela 1, traz a data de análise e a equivalência do dia a partir do início do processo.

Tabela 1 – Plano de Amostragem

DIA	DATA	ANÁLISES	DIA	DATA	ANÁLISES	DIA	DATA	ANÁLISES
0	18/mai	Análises	11	29/mai		22	09/jun	
1	19/mai		12	30/mai	Análises	23	10/jun	
2	20/mai		13	31/mai		24	11/jun	Análises
3	21/mai	Análises	14	01/jun		25	12/jun	
4	22/mai		15	02/jun	Análises	26	13/jun	
5	23/mai		16	03/jun		27	14/jun	Análises
6	24/mai	Análises	17	04/jun		28	15/jun	
7	25/mai		18	05/jun	Análises	29	16/jun	Análises
8	26/mai		19	06/jun		30	17/jun	
9	27/mai	Análises	20	07/jun		31	18/jun	Análises
10	28/mai		21	08/jun	Análises	32	19/jun	

Fonte: da autora, 2018.

3.3.4 Análises

Antes do início das análises, as amostras eram retiradas de suas respectivas estufas, codificadas e armazenadas na temperatura “natural” de conservação (5°C), a fim de padronizar o estado no qual as amostras se encontrariam para as pesagens e análises.

3.3.4.1 Acidez

Para a análise da acidez foi realizada titulometria, sendo utilizada metodologia adaptada de CHAVES (1994) e ADOLFO LUTZ (2008).

Pesou-se aproximadamente 10 g da amostra em um erlenmeyer de 250 mL, e foi adicionado 100 mL de água morna para que houvesse a diluição da amostra e fosse possível realizar a titulação. Utilizou-se como indicador solução alcoólica de fenolftaleína, adicionando algumas gotas à solução a ser titulada. Em uma bureta, colocou-se a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, como agente titulante. A reação de titulação prosseguiu até aparecimento de coloração rósea persistente por mais de 40 segundos.

Para o cálculo da acidez em termos de ácido láctico foi utilizada a seguinte equação:

$$\frac{V \cdot f \cdot 0,9}{P} = \text{acidez em ácido láctico \% (m/m)} \quad (6)$$

Onde:

V – volume de NaOH utilizado na titulação, em mL;

f – fator de correção da solução de NaOH;

P – massa da amostra, em g;

0,9 – fator de conversão para ácido láctico.

A solução de NaOH 0,1N foi obtida a partir da diluição de 4,0 gramas de hidróxido de sódio em pastilhas, pesados em um béquer e dissolvido em água deionizada, depois transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 1 L, onde completou-se o volume. A solução final foi armazenada em frasco âmbar.

O fator de correção (f) do NaOH 0,1N foi realizado de acordo com legislação vigente (IN MAPA nº 68, de 12 de dezembro de 2006). Secou-se determinada quantidade de biftalato de potássio ($C_8H_5KO_4$) em estufa a 105°C por uma hora, do qual depois foram pesadas 0,5 gramas. O mesmo foi dissolvido em 75 mL de água deionizada e transferido para erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se algumas gotas de solução de fenolftaleína e prosseguiu-se com titulação utilizando a solução de NaOH preparada previamente. A reação foi interrompida quando houve aparecimento de coloração rósea.

O valor de *f* foi obtido através da seguinte equação:

$$f = \frac{m}{0,2042 \cdot V \cdot N} \quad (7)$$

Onde:

m – massa de $C_8H_5KO_4$ pesado, em gramas;

V – volume de NaOH gasto na titulação, em mL;

N – normalidade desejada da solução de NaOH.

3.3.4.2 Microbiologia

Para as análises microbiológicas foi realizada uma pesagem de $25 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ de cada amostra em uma saqueta plástica estéril, adicionado 225 mL de solução salina peptonada 1% e homogeneizado em equipamento denominado *stomacher* por 60 segundos, sendo esta a diluição 10^{-1} . Para obter maiores diluições realizou-se diluição de 1 mL da amostra em 9 mL da solução diluente e a homogeneização em agitador de tubos, aumentando o expoente da solução a cada diluição realizada.

3.3.4.2.1 *Mesófilos aeróbios*

A contagem de mesófilos aeróbios é realizada através de plaqueamento em profundidade. Em placas de Petri estéreis descartáveis, 90 mm de diâmetro por 15 mm de profundidade, pipetou-se 1 mL da amostra na diluição desejada à base da placa, para então adicionar o meio de cultura.

O meio de cultura utilizado foi o *Plate Count Agar* (PCA), ou ágar para contagem em placa, o qual foi preparado a partir da dissolução do meio em água deionizada e levado à esterilização a 121°C por 15 minutos. Então colocou-se o meio em banho-maria a 45°C para atingir a temperatura adequada e depois foi adicionado às placas até que toda sua base fosse preenchida. Movimentou-se a placa para que houvesse homogeneização entre meio e amostra, e depois esperou-se a solidificação da mistura.

As placas foram acondicionadas em posição invertida em estufa a 36°C por 48 horas e então contadas as colônias presentes na diluição aplicada, utilizando contador de colônias.

3.3.4.2.2 *Coliformes*

Como o limite de contagem de coliformes tanto totais quanto termotolerantes no produto analisado é baixo (menor que 100), utilizou-se o método de Número Mais Provável (NMP), ou também denominado de técnica dos tubos múltiplos. O método é baseado no fato de que, quando na presença de lactose, as bactérias realizam processo fermentativo.

Foram utilizadas três séries de diluições de três tubos cada, ou seja, a cada série de diluição, colheu-se três alíquotas da mesma diluição e adicionou-se uma a cada tudo correspondente, sempre aumentando a diluição das séries. Os tubos de ensaio foram preparados com 10 mL de soluções dupla (para alíquota de 10 mL) ou simples (para alíquotas iguais ou menores a 1 mL) de caldo lauryl sulfato, contendo um tubo de Duhran invertido para a captação de gás. Os tubos de ensaio foram incubados em estufa a 30°C por 72 horas. O resultado é considerado positivo quando ocorre turvação e geração de gás dentro dos tubos.

Para a confirmação de coliformes totais e termotolerantes foram utilizados tubos de ensaio de meio de cultura Green Bile (ou Verde Brilhante – VB) 2% e EC, respectivamente. Os tubos de lactose que foram considerados positivos na primeira parte da análise foram então repicados tanto para os tubos de VB quanto para os de EC. Para isso, utilizou-se alças estéreis para transferir alíquota do tudo de lauryl sulfato para os tubos de confirmação.

Os tubos de VB e EC foram preparados com 10 e 4 mL dos respectivos meios, ambos contendo tubos de Duhran invertidos. Os tubos de VB foram incubados a 35°C por 48 horas, enquanto os de EC foi a 45°C por 24 horas. O resultado positivo ocorreu quando houve turvação e geração de gás.

Todos os tubos utilizados nas análises foram esterilizados anteriormente em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Para a determinação de NMP/g para ambos os coliformes foi utilizada a tabela estatística de Hoskins para o método de três séries de três tubos, a qual considera o número de tubos positivos de cada série para estimar a contagem de coliformes presentes a amostra.

3.3.4.2.3 *Estafilococos coagulase positiva*

A análise de estafilococos coagulase positiva ocorre em duas etapas: contagem em placa e confirmação em coagulase.

Para a contagem de colônias é realizado plaqueamento em superfície. O meio de cultura utilizado foi o ágar Baird-Parker (BP), o qual foi preparado através da dissolução do meio em água deionizada, autoclavado a 121°C por 15 minutos, adicionou-se, então, 10 mL de Egg Yolk e 0,6 mL de Telurito de Sódio para cada 200 mL de meio preparado, homogeneizou-se a mistura e então foi disposto em placas de Petri estéreis descartáveis, 90 x 15 mm, de modo a cobrir toda a base da placa. Depois de solidificadas, foi então adicionada alíquota de 0,1 mL da amostra em cima do meio, e com o auxílio de alça de Drigalski, previamente esterilizada, espalhou-se a alíquota por toda a superfície até total absorção da mesma pelo meio de cultura. Também podem ocorrer diluições para a realização da contagem, necessariamente quando o número de colônias for grande. A utilização de alíquota de 0,1 mL direto da solução inicial é equivalente à diluição de 10^{-2} .

As placas foram dispostas invertidas em estufa a 36°C por 48 horas, e então contou-se o total de colônias pretas presentes, típicas e atípicas, utilizando contador de colônias. Então, repicou-se 3 colônias de cada placa para tubo de ensaio contendo 3 mL de caldo cérebro-coração (Brain-Heart Broth – BHI) utilizando alças estéreis. Os tubos foram incubados por 24 horas em estufa a 36°C.

Para o teste de coagulase foram utilizados tubos de ensaio estéreis, adicionou-se, primeiramente, 0,3 mL de coagu-plasma e depois alíquota de 0,1 mL do tubo de BHI repicado anteriormente. Fez-se isso para todas as colônias repicadas. Incubou-se, então, os tubos de coagulase em estufa a 36°C por 24 horas. O resultado positivo foi considerado quando obteve-se a formação de coágulo na solução. A porcentagem de tubos positivos foi multiplicado pelo número total de colônias contadas nas placas de BP, onde foi obtido o número final de colônias de estafilococos coagulase positivo.

3.3.4.3 Sensorial

Para a realização da análise sensorial foi elaborado um formulário (APÊNDICE A) para ser preenchido pelos três analistas que realizaram os testes, considerando os cinco aspectos de análise: cor, sabor, odor, textura e aparência. Para cada um dos parâmetros colocou-se uma escala de pontuação, variando de 1 a 5, onde a nota um era considerada nada característico, até cinco, muito característico, de forma que, quanto maior a nota, melhor a condição do produto. A tabela 2 apresenta a pontuação e sua respectiva descrição.

Tabela 2 - Descrição da pontuação para análise sensorial

Pontuação	Descrição
1	Nada característico
2	Pouco característico
3	Levemente característico
4	Bem característico
5	Muito característico

Fonte: da autora, 2018.

As amostras foram dispostas em recipientes plásticos contendo aproximadamente 15 gramas do alimento, na temperatura ideal de consumo. Os analistas receberam as amostras codificadas e tiveram o auxílio de colheres para a realização das análises. Foram realizadas análises sensoriais apenas nas amostras mantidas a 5°C, pois como o objetivo do estudo é acelerar o processo de degradação do alimento, poderia ocorrer crescimento de patógenos, colocando em risco a saúde dos analistas.

3.3.5 Tratamento dos dados

3.3.5.1 Tratamento Estatístico

A cada análise realizada, obteve-se 3 resultados para cada temperatura avaliada, assim, realizou-se o cálculo da média entre os valores das amostras de cada temperatura, sendo os resultados das médias os valores utilizados nos cálculos posteriores.

3.3.5.2 Tratamento Cinético

Para realizar a obtenção das curvas e dados cinéticos, foi necessário determinar o principal parâmetro de degradação do alimento, optou-se pela acidez, uma vez que, a presença de ácido lático no alimento provém, além de outros fatores, da ação de microrganismos, e a

mesma influencia nas características organolépticas do produto. Ou seja, a acidez se correlaciona tanto com as análises microbiológicas, quanto com as sensoriais.

Então, foram dispostos em tabelas, os valores para o tempo em dias, iniciando no dia 0, a partir da primeira análise, e seus respectivos resultados para a acidez do alimento. Então, foram plotados gráficos da concentração de acidez pelo tempo, obtendo-se a curva de crescimento para cada temperatura.

A fim de encontrarem-se os parâmetros, testou-se os modelos cinéticos e aplicou-se aquele com melhor correlação, sendo este o método diferencial. Para isso, os gráficos obtidos anteriormente tiveram seus dados suavizados, uma vez que havia muita variação entre os pontos. A partir da curva suavizada, encontrou-se a função da mesma e aplicou-se a derivada. Então, plotou-se um gráfico do logaritmo da derivada da função *versus* o logaritmo dos dados de acidez, obtendo-se, assim, uma reta, a qual o coeficiente angular é a ordem de geração de ácido láctico (n) e o coeficiente linear a taxa de velocidade da função (k). Isso porque, como o método diferencial aplica a derivada da função inicial, tem-se que a taxa de reação (r_A) pode ser definida como a variação de acidez pelo tempo:

$$\frac{dC_A}{dt} = r_A \quad (8)$$

Como o ácido láctico está sendo gerado, o sinal da taxa da reação é positivo.

Aplicando (1) em (6):

$$\frac{dC_A}{dt} = k \cdot C_A^n \quad (9)$$

Linearizando a equação acima:

$$\ln\left(\frac{dC_A}{dt}\right) = n \cdot \ln(C_A) + \ln k \quad (10)$$

E quando comparado com a equação da reta:

$$y = ax + b \quad (11)$$

Tem-se que o valor de n é representado por a , e o de k por b .

Para encontrar o valor da energia de ativação de uma reação, realizou-se a linearização da equação de Arrhenius, obtendo-se:

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_A}{R} \frac{1}{T} \quad (12)$$

Para cada temperatura de estudo obteve-se uma velocidade de reação diferente, assim, esses pontos foram plotados num gráfico de $\ln k$ por $1/T$, a linearização da equação gerou uma reta, na qual, quando comparada com a equação da reta, tem-se que o coeficiente

angular é a energia de ativação dividido pela constante dos gases ($-E_A/R$) e o coeficiente linear, o logaritmo da velocidade da reação inicial (k_0).

Para obter-se o valor de Q_{10} , foram utilizadas duas equações (4) e (5), utilizando os coeficientes cinéticos encontrados anteriormente.

3.3.6 Avaliação da implantação de metodologia

Para determinar a possibilidade de implementação da metodologia desenvolvida para análise de vida de prateleira de alimentos em laboratório de análises químicas, avaliou-se determinados pontos cruciais para o bom desenvolvimento e emprego do método como, equipamentos, materiais, análises requeridas, pessoal e tempo de análise.

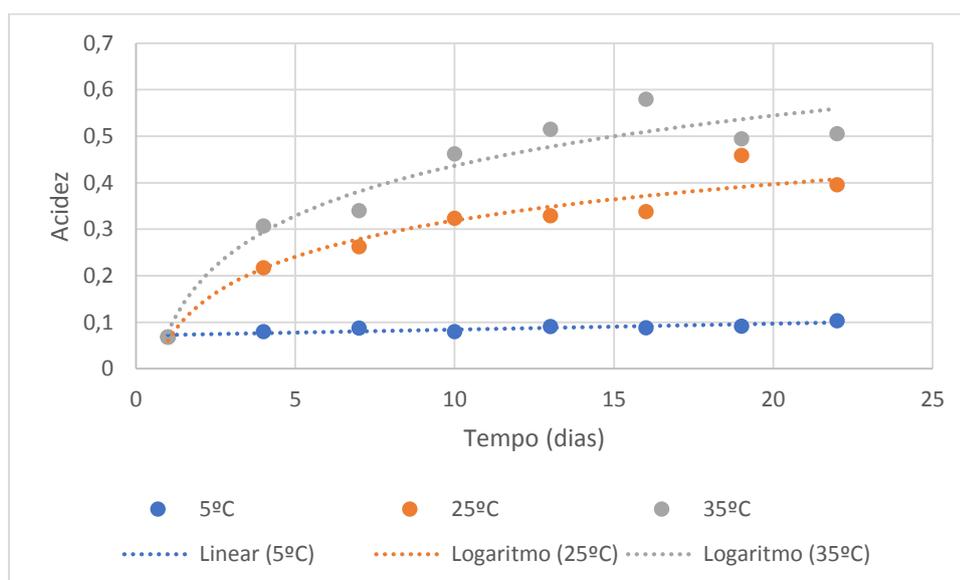
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ACIDEZ

Para a padronização do NaOH, obteve-se o valor do fator de correção de 0,9913, sendo este aplicado no cálculo da acidez do alimento através da equação (7).

O comportamento das curvas do aumento de acidez da nata pelo tempo se mostraram bem satisfatórias, apresentando crescimentos consideráveis nas curvas de 25 e 35°C, comprovando que, com o aumento da temperatura, a concentração de ácido láctico aumenta significativamente.

Figura 1 – Curvas da acidez *versus* tempo para as três temperaturas.



Fonte: da autora, 2018.

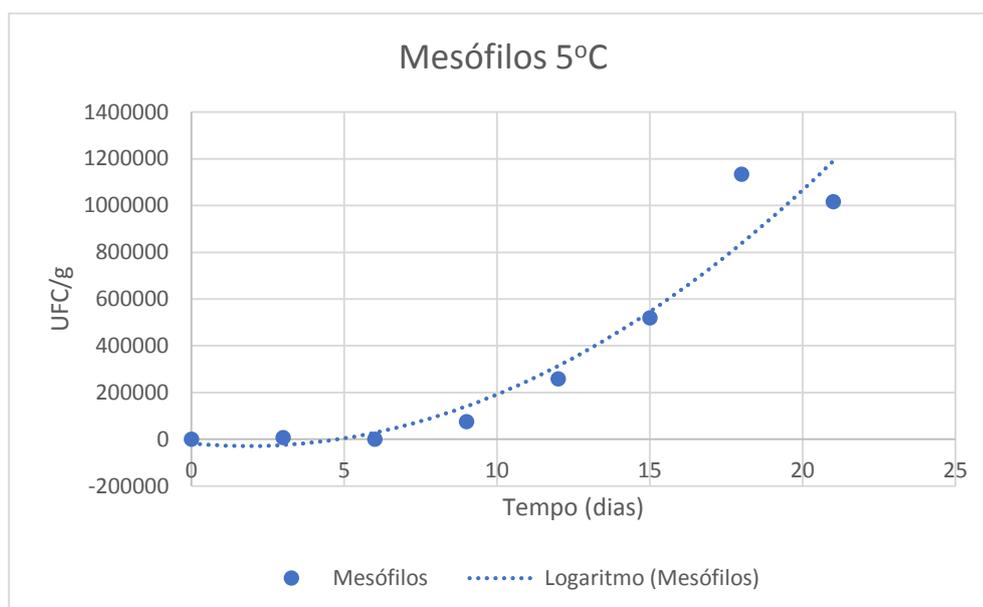
Pode-se perceber que, comparado ao aumento da acidez das maiores temperaturas, as amostras mantidas a 5°C tem comportamento praticamente constante, tendo pouca variação após vários dias de estudos. Tal comportamento pode ser comprovado através da Figura 1, onde percebe-se que os resultados da análise de acidez para a temperatura de controle tem característica praticamente linear, enquanto para as outras temperaturas, as curvas apresentam crescimento logarítmico.

4.2 MICROBIOLOGIA

4.2.1 Mesófilos Aeróbios

Os dados de contagem de mesófilos aeróbios obtidos para a temperatura de 5°C apresentaram comportamento bem característico, demonstrando que, com o passar do tempo, mesmo não estando em temperatura ótima de crescimento, a multiplicação dos microrganismos são bem representativas. Este fato pode ser observado de acordo com a Figura 2.

Figura 2 – Crescimento microbiano de mesófilos aeróbios à 5°C



Fonte: da autora, 2018.

Comparando os resultados obtidos com os limites estabelecidos na legislação, tem-se que o limite superior para contagem de unidades formadoras de colônias de mesófilos aeróbios por grama é de 100.000 ou $1 \cdot 10^5$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama. Porém, de acordo com a literatura, pode-se admitir limite máximo de $1 \cdot 10^7$ UFC/g para a segurança do consumidor. Na Tabela 3 são apresentadas as contagens de mesófilos aeróbios para cada dia de análise na temperatura de 5°C.

Tabela 3 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 5°C

Temperatura 5°C	
Dia	UFC/g
0	$3,733 \cdot 10^2$
3	$7,003 \cdot 10^3$
6	$9,667 \cdot 10^2$
9	$7,610 \cdot 10^4$
12	$2,590 \cdot 10^5$
15	$5,190 \cdot 10^5$
18	$1,134 \cdot 10^6$
21	$1,017 \cdot 10^6$

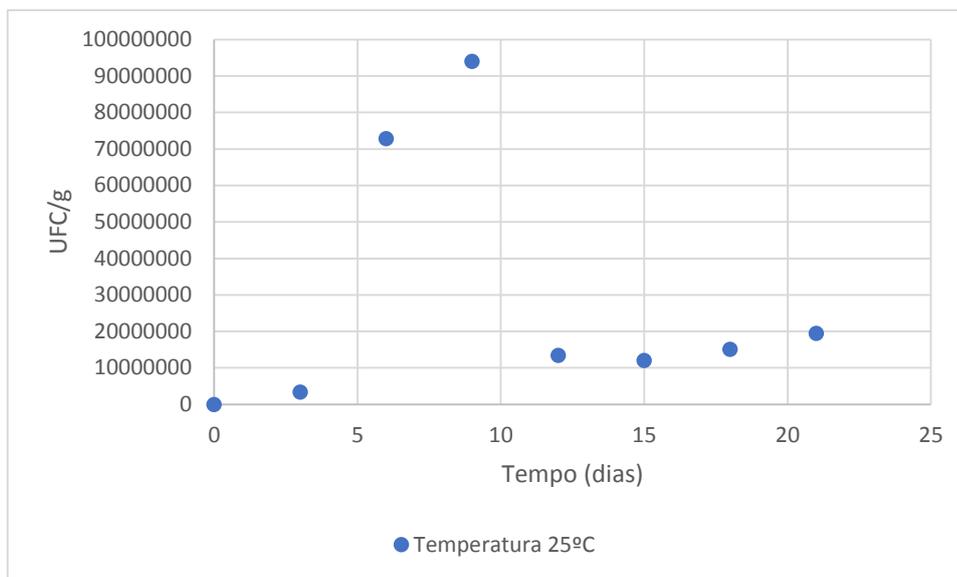
Fonte: da autora, 2018.

Através da tabela acima, vê-se que as amostras atingiram o limite superior da legislação entre o 9º e o 12º dia de análise, porém de acordo com literatura, ainda não atingiu o valor máximo.

Para as amostras estocadas à 25 e 35°C, os resultados de contagem de mesófilos aeróbios não apresentou os resultados esperados. Devido à paralisação nacional ocorrida em maio de 2018, o estoque de reagente da solução de diluição das amostras acabou, interferindo diretamente nas análises microbiológicas. Para não interromper os estudos, utilizou-se água estéril para realizar as diluições, como citado em Chaves (1994), porém, como encontrado em literatura, a utilização de água estéril poderia provocar menor contagem de mesófilos, por consequência de menor solubilização dos microrganismos em água do que em solução de água peptonada 1%.

Através da Figura 3, pode-se verificar que a utilização de água estéril realmente interferiu na contagem de mesófilos aeróbios na temperatura de 25°C.

Figura 3 – Contagem de mesófilos aeróbios à 25°C



Fonte: da autora, 2018.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados da contagem de mesófilos aeróbios para a temperatura de 25°C, a cada dia de análise realizada.

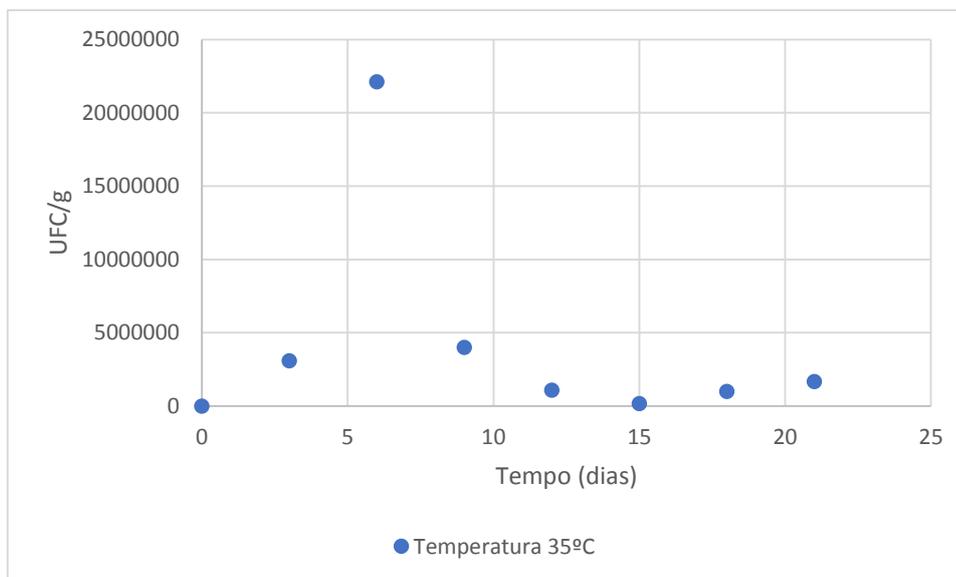
Tabela 4 – Contagem de mesófilos aeróbios para 25°C

Temperatura 25°C	
Dia	UFC/g
0	3,733·10 ²
3	3,353·10 ⁶
6	7,283·10 ⁷
9	9,400·10 ⁷
12	1,341·10 ⁷
15	1,207·10 ⁷
18	1,513·10 ⁷
21	1,950·10 ⁷

Fonte: da autora, 2018.

O mesmo comportamento pode ser observado para os resultados das análises realizadas nas amostras acondicionadas a 35°C, como pode ser verificado através da Figura 4.

Figura 4 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 35°C



Fonte: da autora, 2018.

Os dados para a contagem de mesófilos aeróbios a 35°C da Figura 4 estão exibidos na Tabela 5.

Tabela 5 – Contagem de mesófilos aeróbios para temperatura de 35°C

Temperatura 35°C	
Dia	UFC/g
0	$3,733 \cdot 10^2$
3	$3,077 \cdot 10^6$
6	$2,213 \cdot 10^7$
9	$4,000 \cdot 10^6$
12	$1,080 \cdot 10^6$
15	$1,667 \cdot 10^5$
18	$9,900 \cdot 10^5$
21	$1,677 \cdot 10^6$

Fonte: da autora, 2018.

Quando comparados os valores obtidos a 25°C e a 35°C, percebe-se que o crescimento na primeira temperatura é maior do que na segunda. Apesar de ambas estarem dentro da faixa ótima de crescimento de mesófilos aeróbios, esperava-se resultados maiores

na temperatura mais elevada, pois segundo literatura consultada, esse gênero de microrganismo cresce melhor a 32°C.

4.2.2 Coliformes

As análises de coliformes totais e termotolerantes não apresentaram crescimento contínuo, isso é explicado pelo fato de que, a contagem desses microrganismos numa amostra são registradas devido à presença inicial dos mesmos na amostra. Em outras palavras, só há o desenvolvimento desse microrganismo pois no começo do processo já havia a existência deles no alimento.

As análises iniciais apontaram que a contagem, para ambos os coliformes, resultaram em 3,6 NMP/g em apenas uma amostra, conforme mostra a Tabela 6. Para a análise de totais, o valor apresenta-se abaixo do limite inferior, que é de 10 NMP/g, porém para de termotolerantes o mesmo resultado demonstra que a amostra está na faixa intermediária, pois encontra-se acima do limite inferior (<3,0 NMP/g) e abaixo do superior (10 NMP/g). Portanto, esse resultado pode ser proveniente de contaminação prévia, no processo produtivo e representar que um terço das amostras do lote podem estar contaminadas com coliformes, ou ser oriundo de contaminação no processo de análise das amostras.

Tabela 6 – Resultado de coliformes para o ponto zero

Amostra	Totais	Termotolerantes
1	3,6	3,6
2	<3,0	<3,0
3	<3,0	<3,0

Fonte: da autora, 2018.

Observando-se os resultados das análises para as temperaturas estudadas, averigua-se que na maioria das amostras do produto alimentício foi constatada a presença tanto que coliformes totais, quanto de termotolerantes. Para a temperatura de 5°C percebeu-se uma contaminação relativamente alta, tendo que, no mínimo uma amostra a cada análise realizada apresentou contagem de coliformes, sendo que, em 3 das 7 confirmações, a contagem ultrapassou o limite máximo de coliformes termotolerantes, enquanto que para a análise de totais, todos os resultados ficaram abaixo do limite superior.

Já para as análises das amostras mantidas à 25°C, observou-se que 1/3 das amostras apresentou o valor máximo de contagem para a metodologia de NMP, sendo este valor acima de 1100 NMP/g. Dentre as outras amostras, 12 apresentaram valores inferior ao limite de quantificação da metodologia, que é de 3,0 NMP/g.

Dentre os resultados das amostras acondicionadas à 35°C, apenas uma amostra apresentou contagem máxima de coliformes, sendo que para todas as demais amostras não foi constatada contagem acima de 3,0 NMP/g para os coliformes termotolerantes, e para a contagem de totais, apenas uma amostra resultou em 3,6 NMP/g, estando abaixo do limite inferior. A Tabela 7 indica os resultados obtidos em todas as análises para as três temperaturas estudadas.

Tabela 7 – Resultados das análises de coliformes para as temperaturas estudadas

Temperatura Dia/Amostra	T 5°C		T 25°C		T 35°C	
	Totais	Termotolerantes	Totais	Termotolerantes	Totais	Termotolerantes
2105/1	<3,0	<3,0	>1100	>1100	<3,0	<3,0
2105/2	<3,0	<3,0	>1100	>1100	<3,0	<3,0
2105/3	75	75	>1100	>1100	<3,0	<3,0
2405/1	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
2405/2	<3,0	<3,0	>1100	>1100	<3,0	<3,0
2405/3	3,6	3,6	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
2705/1	<3,0	<3,0	>1100	>1100	<3,0	<3,0
2705/2	<3,0	<3,0	>1100	>1100	3,6	<3,0
2705/3	43	43	<3,0	<3,0	>1100	>1100
3005/1	93	93	29	29	<3,0	<3,0
3005/2	<3,0	<3,0	43	43	<3,0	<3,0
3005/3	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0206/1	3,6	3,6	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0206/2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0206/3	3,6	3,6	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0506/1	3,6	3,6	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0506/2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0506/3	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0806/1	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0806/2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0
0806/3	7,4	7,4	>1100	>1100	<3,0	<3,0

Fonte: da autora, 2018.

A contagem máxima de microrganismos por grama de amostra obtidas nas temperaturas de 25 e 35°C, significa que esse resultado não foi proveniente de erro no processo de análise, e sim de contaminação prévia do alimento, sendo expandida sua percepção devido à temperatura de estocagem elevada, que faz com que os microrganismos presentes se multipliquem.

Em parecer geral, as análises de coliformes totais e termotolerantes, demonstraram resultado positivo para 19 e 18 amostras, respectivamente, das 66 analisadas, obtendo uma porcentagem de quase 30% de contaminação, comprovando a primeira estimativa realizada com base nas análises do ponto zero. Tal resultado pode representar deficiência no processo de pasteurização do produto.

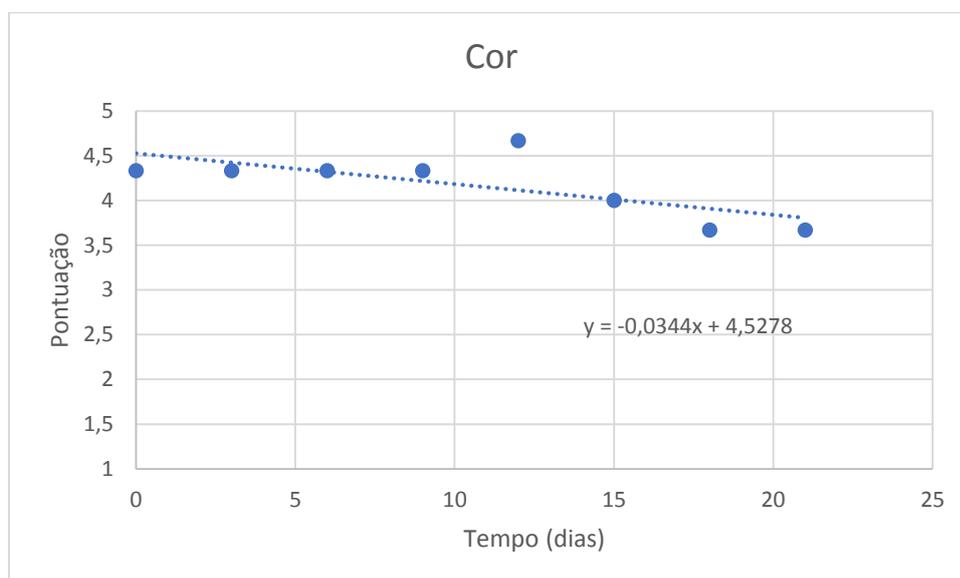
4.2.3 Estafilococos Coagulase Positiva

As análises de Estafilococos apresentaram crescimento de colônias pretas, porém a maioria de características atípicas, ou seja, com nenhum ou apenas um halo branco à sua volta. Após a repicagem para a confirmação de coagulase positiva, apenas 3 amostras apresentaram resultado positivo, ou seja, a formação de coágulo. Destas, duas amostras estavam estocadas à 5°C, e uma à 25°C. Este resultado não era o esperado, uma vez que o crescimento de colônias do gênero *Staphylococcus* acontece, principalmente, na faixa entre 35-37°C.

4.3 SENSORIAL

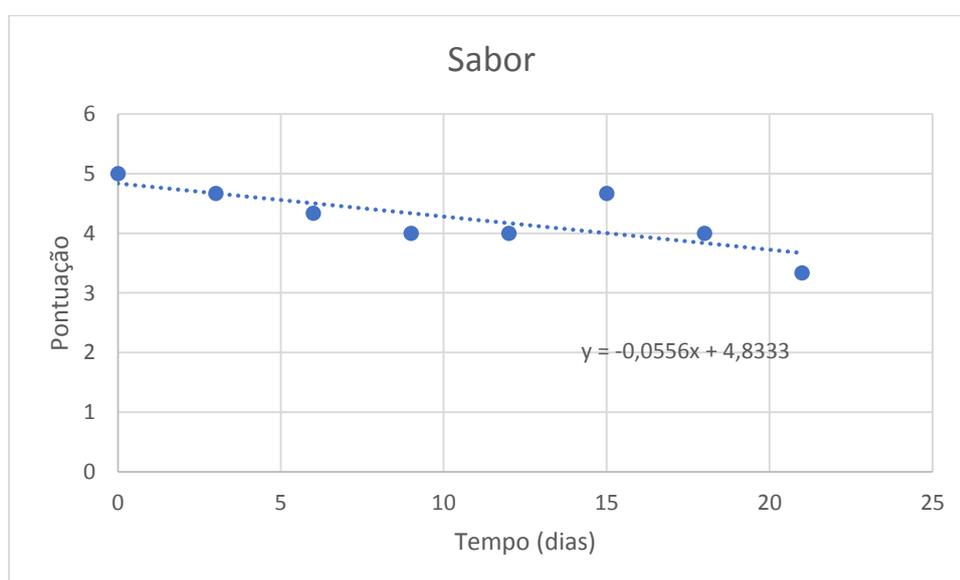
Para a avaliação dos resultados das análises sensoriais, foram realizadas as médias das pontuações, as quais foram plotadas em gráficos a fim de verificar-se a variação das características no decorrer do tempo de análise. As Figuras 5, 6, 7, 8 e 9, mostram o decréscimo da pontuação da cor, sabor, odor, textura e aparência respectivamente. Tal comportamento representa a perda da qualidade das características organolépticas do produto, porém, esse declínio das propriedades sensoriais não chega a fazer com que o produto seja rejeitado pelo consumidor, sendo considerado uma queda normal nos parâmetros que ocorre no decorrer do tempo.

Figura 5 – Análise sensorial de cor



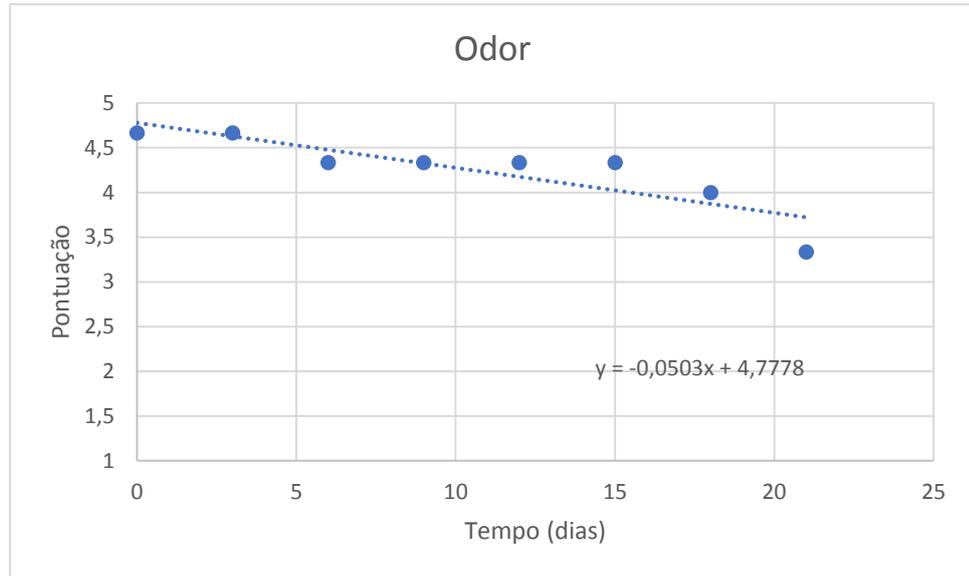
Fonte: da autora, 2018.

Figura 6 – Análise sensorial de sabor



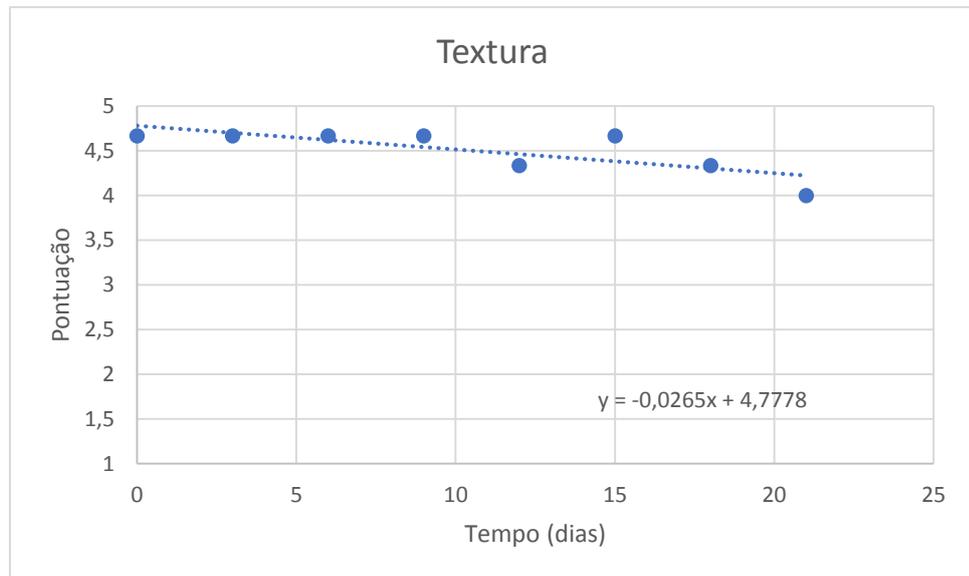
Fonte: da autora, 2018.

Figura 7 – Análise sensorial de odor



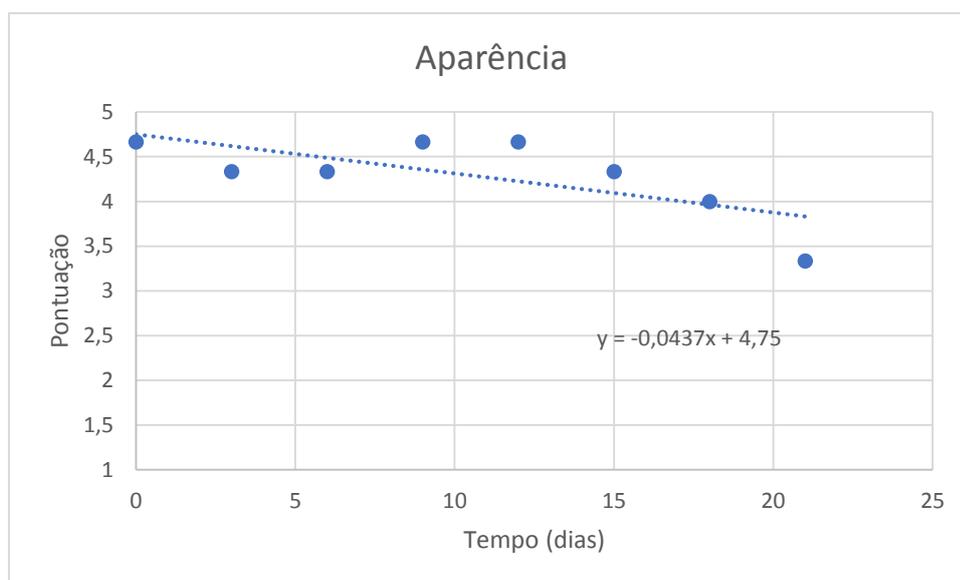
Fonte: da autora, 2018.

Figura 8 – Análise sensorial de textura



Fonte: da autora, 2018.

Figura 9 – Análise sensorial de aparência



Fonte: da autora, 2018.

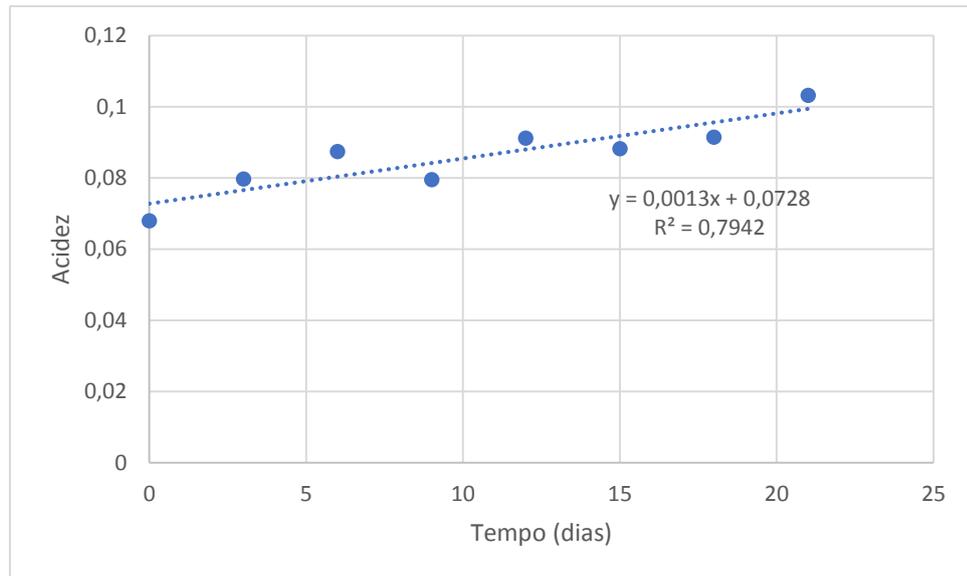
Observando as figuras acima, percebe-se que o parâmetro com maior queda na qualidade foi o sabor, com um coeficiente angular de -0,0556, seguido pelo odor (-0,0503), aparência (-0,0437), cor (-0,0344) e textura (-0,0265).

4.4 DADOS CINÉTICOS

Os dados de acidez ao longo do tempo foram suavizados usando a função $y=aln(x)+b$, pois os dados não estavam bem condicionados para aplicação do método diferencial. Como o método requer o cálculo da derivada numérica a variabilidade dos dados interfere bastante na aplicação do método. Assim, a função suavidade foi derivada e com isto obtém-se um resultado melhor para aplicação do método diferencial.

$$y = 0,013x + 0,0728 \quad (13)$$

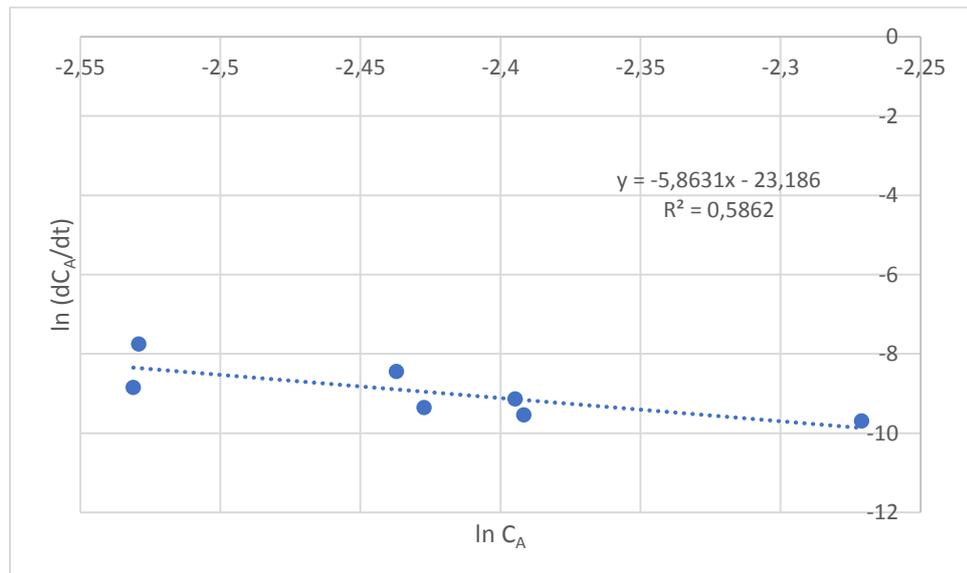
Figura 10 – Aumento da acidez à temperatura de 5°C



Fonte: da autora, 2018.

Com a aplicação da derivada na função obtida através da reta do gráfico da Figura 10, gerou-se um novo gráfico (Figura 11), do logaritmo natural da derivada da função pelo logaritmo natural de y .

Figura 11 – Gráfico de $\ln (dC_A/dt)$ versus $\ln (C_A)$ para temperatura de 5°C



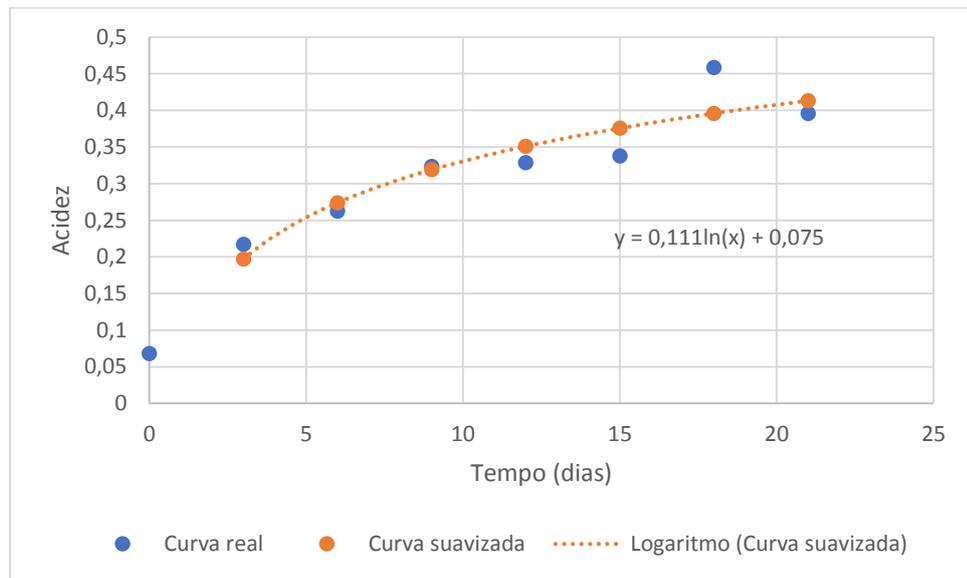
Fonte: da autora, 2018.

Baseando-se na equação 10, tem-se que a ordem de geração de ácido lático é o coeficiente angular e o linear é o logaritmo natural da constante de velocidade. Portanto, para temperatura de 5°C tem-se n igual a 5,86 e k igual a 8,52E-11.

Com a suavização da função do aumento de ácido pelo tempo, na temperatura de 25°C, obteve-se a equação da função (14), sendo representada na Figura 12.

$$y = 0,111 \ln(x) + 0,075 \quad (14)$$

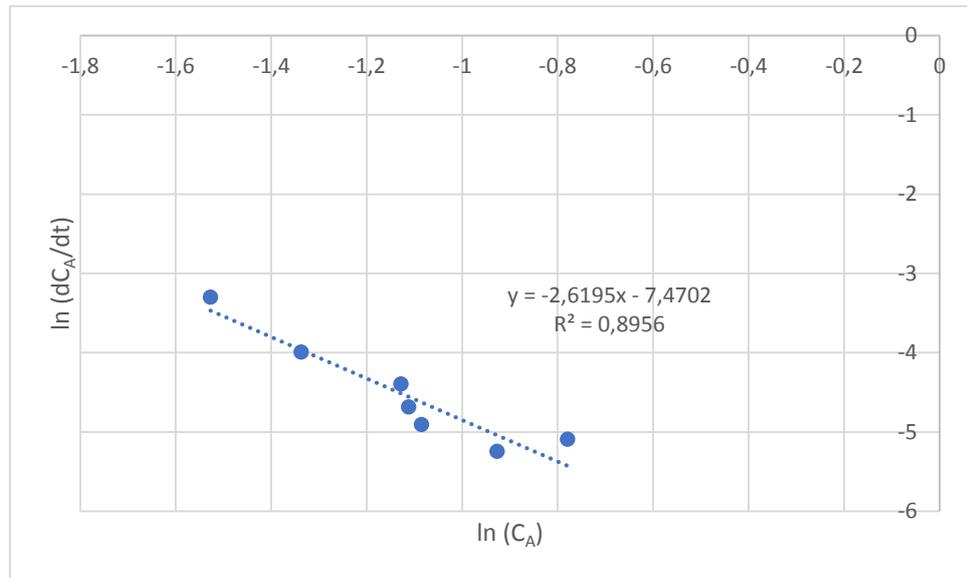
Figura 12 – Curva da elevação da concentração de acidez a 25°C



Fonte: da autora, 2018.

Aplicando-se a linearização da derivada da função encontrada, bem como da concentração de ácido, e plotando-se num gráfico, obteve-se a Figura 13.

Figura 13 – Gráfico de $\ln (dC_A/dt)$ versus $\ln (C_A)$ para temperatura de 25°C



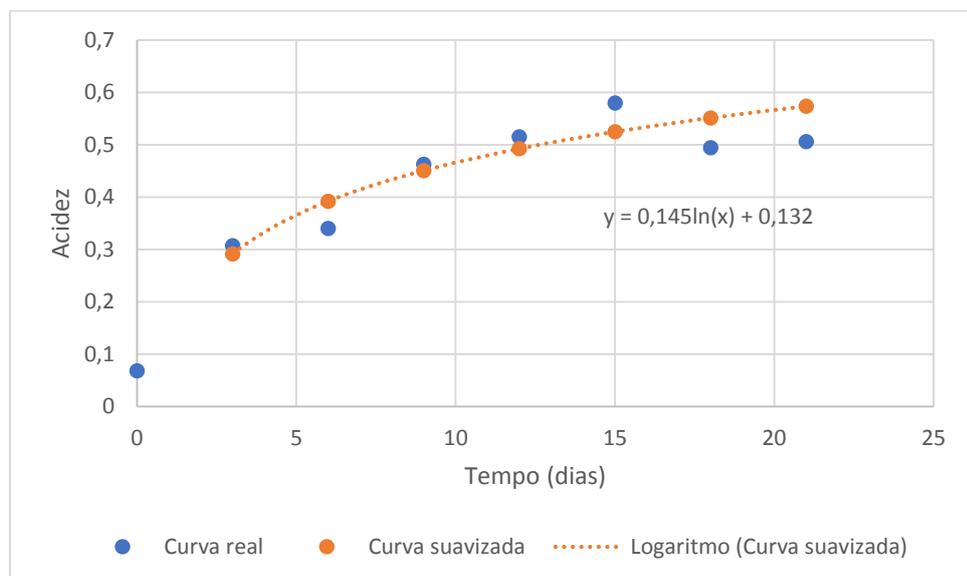
Fonte: da autora, 2018.

Aplicando-se o conceito da equação 10, tem-se que a ordem de geração de ácido é de aproximadamente 2,5 (2,6195), enquanto a constante de velocidade de geração é de 0,0007 a 25°C.

Para a análise dos dados de 35°C, aplicou-se também a suavização da curva original, chegando-se na função abaixo (Equação 15) e representada pela Figura 14.

$$y = 0,145 \ln(x) + 0,132 \quad (15)$$

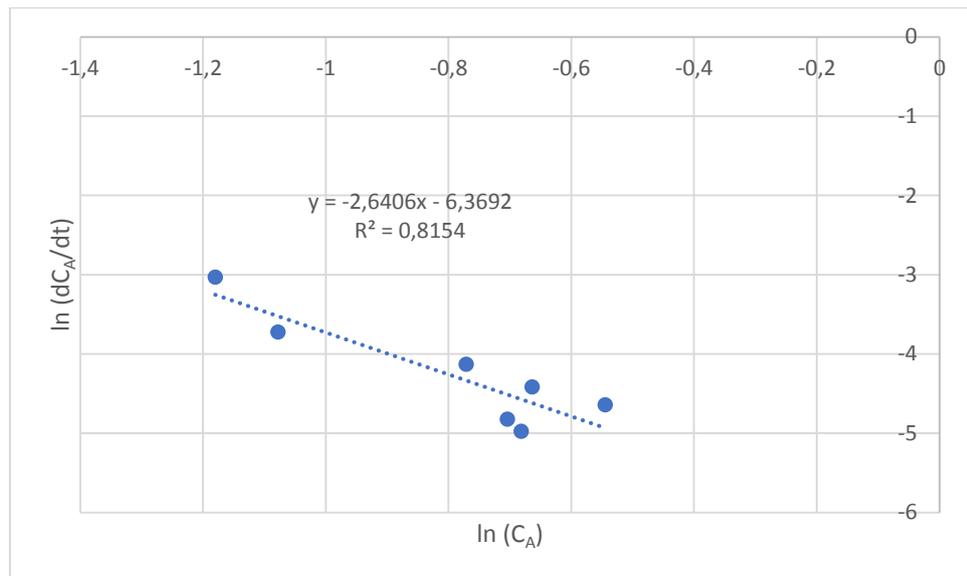
Figura 14 – Curvas de acidez para temperatura de 35°C



Fonte: da autora, 2018.

Fazendo a linearização da equação 9 e utilizando os dados obtidos previamente para a temperatura de 35°C, originou-se o gráfico a seguir, a partir da plotagem do logaritmo natural da derivada da função no eixo y, e do logaritmo da concentração de ácido no eixo x, tendo que o coeficiente de inclinação é a ordem de geração e o linear é o logaritmo da constante de velocidade de produção de ácido.

Figura 15 – Gráfico de $\ln(dC_A/dt)$ versus $\ln(C_A)$ para temperatura de 35°C



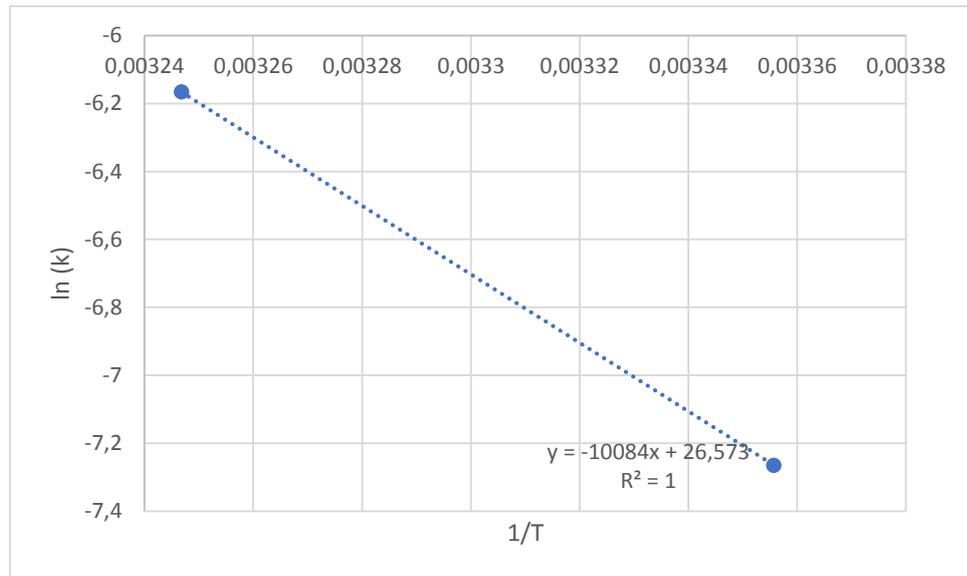
Fonte: da autora, 2018.

A equação da reta resultou num valor de ordem de geração de aproximadamente 2,5 (2,6406), e de constante de velocidade de 0,0021 a 35°C.

Analisando-se os dados obtidos nas três temperaturas, determinou-se então que a ordem de geração de ácido láctico é de 2,5, sendo esse o valor encontrado tanto na função a 25°C, quanto na de 35°C. O valor obtido na função da temperatura de controle foi bem diferente, e isso pode ser explicado pelo fato de que a função inicial de concentração de ácido láctico *versus* o tempo é praticamente constante, tendo pouca inclinação, o que gera valores errôneos para os parâmetros.

Para encontrar o valor da Energia de Ativação, baseando-se na equação linearizada de Arrhenius (12), plotou-se um gráfico do logaritmo das constantes de velocidade das duas temperaturas (25 e 35°C) pelo inverso da temperatura em Kelvin, resultando na Figura 16.

Figura 16 – Gráfico da aplicação de linearização da equação de Arrhenius



Fonte: da autora, 2018.

O número de pontos mínimo para a construção da reta seria três, porém, como apenas duas temperaturas resultaram em valores satisfatórios para o parâmetro de ordem de geração (n), foram utilizados apenas dois pontos para a construção do gráfico, resultando num R^2 igual a 1. Sabe-se que isto interfere na confiabilidade dos parâmetros da equação da reta, contudo os valores obtidos para a ordem da reação nas duas temperaturas foram tão próximos que incentivaram o cálculo da Energia de ativação, mesmo com número de pontos insuficiente.

Aplicando-se o conceito da equação 12, tem-se que o coeficiente linear da função é o logaritmo da constante de velocidade inicial (k_0), e o coeficiente angular a energia de ativação sobre a constante dos gases.

Encontrando E_A , utilizando R igual a 1,987 cal/mol.K:

$$-\frac{E_A}{R} = -10084$$

$$E_A = \frac{10084}{1,987}$$

$$E_A = 20036,908 \text{ cal/mol} \quad (17)$$

Portanto, a energia mínima necessária para a geração de ácido láctico é de 20,037 kcal/mol. Aplicando-se os dados para encontrar Q_{10} :

Através da equação 4:

$$Q_{10} = \frac{k_{35}}{k_{25}}$$

$$Q_{10} = \frac{0,0021}{0,0007}$$

$$Q_{10} = 3$$

Através da equação 5:

$$Q_{10} = 10^{\frac{20036,908}{0,46 \cdot 35^2}}$$

$$Q_{10} = 2,8628$$

$$Q_{10} \cong 3$$

Ambos os valores encontrados para Q_{10} resultaram em 3. Segundo a literatura, geralmente as reações de degradação dos alimentos apresentam valor de Q_{10} próximo a 2,0. Utilizando a definição de que esta taxa representa a aceleração da reação a cada 10°C no aumento da temperatura, isso quer dizer que, como o conjunto de reações de geração de ácido láctico na nata demonstrou uma taxa maior do que a usual, representa que o produto estudado tende a sofrer maiores alterações com o aumento da temperatura, aumentando ainda mais a velocidade do processo de degradação desse alimento, do que para os demais. Assim sendo, o cuidado com transporte, armazenamento, distribuição deve ser muito maior para a nata, pois qualquer mínimo aumento de temperatura interfere muito na qualidade do produto.

4.5 AVALIAÇÃO DE IMPLEMENTAÇÃO

O laboratório no qual foi desenvolvido o estudo apresentou boas instalações para a realização do teste de vida de prateleira. As estufas e geladeiras comportaram o número de amostras necessário, todas as análises obrigatórias para o teste já são realizadas pelo laboratório, sem precisar implementar nenhuma nova metodologia. Os materiais requeridos estavam à disposição para a realização dos testes.

Contudo, verificou-se que a parte mais demorada de todo o processo é a preparação dos materiais microbiológicos, uma vez que é necessário lavar, secar, preparar e colocar em autoclave todos os utensílios utilizados desde a pesagem até as pipetas. Por isso, estabeleceu-se alguns pontos de melhoria, como: a compra de mais materiais, como tubos, pipetas e colheres, a fim de diminuir o tempo gasto com preparo de materiais; e a contratação de mais analistas, para agilizar tanto o processo de análises, quanto a limpeza dos utensílios.

Como o local trabalha também com análises de água e efluentes, caso deseje investir mais no teste de vida de prateleira de alimentos, seria necessário também a aquisição de novos equipamentos para a armazenagem das amostras, para que não prejudique o desempenho das outras análises se adéque aos requisitos sanitários de análise de alimentos e efluentes sem possibilidades de contaminação cruzada.

5 CONCLUSÃO

A determinação da metodologia a ser empregada no teste de vida de prateleira requereu muito embasamento teórico, uma vez que, quando começaram os testes, não poderia haver alterações nos métodos. Com os resultados obtidos verificou-se a eficiência do processo desenvolvido, abordando todos os aspectos analíticos necessários, sendo de relativa facilidade de realização.

As análises físico-química, microbiológicas e sensoriais realizadas permitiram visualizar de maneira mais detalhada, e por diferentes perspectivas, o processo de degradação da nata. Até o presente momento, nenhum dos parâmetros analisados na temperatura de controle do alimento ultrapassou os limites estabelecidos pela legislação ou apresentou possíveis características para a rejeição por parte do consumidor.

O acompanhamento da microbiologia, por ter ligação direta com a saúde do consumidor, é imprescindível, e oportunizou desde acompanhar o crescimento característico de microrganismos, como também a identificação de problemas de contaminação das amostras provenientes do processo de produção.

A aplicação do estudo da cinética química oportunizou desenvolver modelo matemático para a determinação do tempo de vida útil do alimento, tanto pelo modo convencional quanto pelo acelerado. Os parâmetros cinéticos obtidos permitiram reconhecer o mecanismo geral de formação de ácido láctico na nata, bem como avaliar o nível da influência da temperatura sobre o alimento.

A implementação do método acelerado do teste de vida de prateleira no local de realização do estágio é viável, sendo aconselhado maior investimento em materiais de análises e pessoal qualificado para que seja possível a ampliação deste tipo de metodologia.

A presente pesquisa continua em desenvolvimento, a fim de obter-se mais dados sobre a cinética de reação de degradação do alimento. Como sugestões para a continuação deste e para novos estudos, ficam os seguintes tópicos: avaliar os parâmetros cinéticos baseando-se na atividade de água do alimento; testar o modelo desenvolvido para outros produtos lácteos de características semelhantes às da nata; abranger o espectro de alimentos a serem estudados para futura implementação de metodologia do teste acelerado; realizar estudo econômico sobre o custo do desenvolvimento do teste para a empresa e o retorno a ser obtido.

REFERÊNCIAS

BRASIL. **Instrução Normativa MAPA Nº 23 de 30/08/2012**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Nata. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=244749>>. Acesso em: maio/2018.

_____. **Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006**. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: maio/2018.

_____. **Instrução Normativa SDA Nº 62 de 26/08/2003**. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>>. Acesso em: abril/2018.

_____. **Resolução – RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: maio/2018.

CAMPBELL-PLATT, Geoffrey. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri, SP: Manole, 2015. Disponível em: <<http://unisol.bv3.digitalpages.com.br/users/publications/9788520434277/pages/5>>. Acesso em: abril/2018.

CHAVES, José Benício Paes. **Controle de qualidade para indústrias de alimentos**. Universidade Federal de Viçosa: Imprensa Universitária. 1994.

CORADELLO, Luiz Fernando Catai. **Vida de prateleira de alimentos**. Brasília. 2015. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/document/374628254/Vida-de-Prateleira-de-Alimentos>>. Acesso em: abril/2018.

DAMIANI, Clarissa *et al.* **Análise física, sensorial e microbiológica de geleias de manga formuladas com diferentes níveis de cascas em substituição à polpa**. *Ciência Rural*, v. 38, n. 5, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000500035&script=sci_abstract>. Acesso em: março/2018.

DEMO, Pedro. **Introdução à Metodologia da Ciência**. 2ª ed. 2013. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522466030/cfi/1!/4/2@100:0.00>>. Acesso em: junho/2018.

FIESC. **Desenvolvimento SC: Uma visão da indústria**. 2010. Disponível em: <<http://www2.fiescnet.com.br/web/uploads/recursos/8977715556b8506e6fb8b92617f9aaa2.pdf>>. Acesso em maio/2018.

_____. **SC em dados**. 2015. Disponível em: <https://fiesc.com.br/sites/default/files/inline-files/sc_em_dados_site_2015.pdf>. Acesso em: maio/2018.

_____. **SC em dados**. 2017. Disponível em: <<http://www.portalsetorialfiesc.com.br/login/?ReturnUrl=/fiesc/2017/12/13/santa-catarina-em-dados-2017>>. Acesso em: maio/2018.

FILHO, Alcides Goularti. **A formação econômica de Santa Catarina**. Porto Alegre: Ensaios FEE, v. 23, n. 2, p. 977-1007. 2002. Disponível em: <<https://revistas.fee.tche.br/index.php/ensaios/article/viewFile/2049/2431>>. Acesso em: mai/2018.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu. 2003.

GIL, Antônio Carlos. **Métodos e Técnicas de Pesquisa Social**. 6ª ed. 2012. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522484959/cfi/3!/4/4@0.00:0.00>>. Acesso em: junho/2018.

GRIZOTTO, Regina Kitagawa *et al.* **Estudo da vida-de-prateleira de fruta estruturada e desidratada obtida de polpa concentrada de mamão**. Campinas. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/0D/cta/v26n3/31779.pdf>>. Acesso em: março/2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. IV edição. 2008. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: abril/2018.

LABUZA, Theodore. **Shelf-life Dating of Foods**. Westport: Food and Nutrition Press, 1979. Disponível em: <<https://www.princeton.edu/~ota/disk3/1979/7911/7911.PDF>>. Acesso em: abril/2018.

LEVENSPIEL, Octave. **Engenharia das Reações Químicas**. 3ª ed. Editora Edgard Blücher LTDA. 2000.

MARTINS, Glêndara Aparecida de Souza. **Determinação da Vida-de-Prateleira por Testes acelerados de doce em massa de banana cv. Prata**. 2009. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/2991/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Determina%C3%A7%C3%A3o%20da%20vida-de-prateleira%20por%20testes%20acelerados%20de%20doce%20em%20massa%20de%20banana%20c.v.%20Prata.pdf>. Acesso em: março/2018.

MASSAGUER, Pilar Rodriguez de. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela. 2005.

MAZZUCCO, Marcos Marcelino. **Introdução à Cinética Química**. 2009. Disponível em: <<http://paginas.unisul.br/eqm/Prof/marcos/>>. Acesso em: junho/2018.

MIGUEL, A. C. A, ALBERTINI, S, SPOTO, M. H. F. **Cinética de degradação da geleada de morango**. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/3959/395940091022/>>. Acesso em: abril/2018.

MOREIRA, Thaysa Fernandes Moreira. **Avaliação da vida de prateleira de suco de abacaxi adicionado de polpa de yacon** (*Smallanthus sonchifolius*). Campo Mourão. 2015. Disponível em: <<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/4990>>. Acesso em: março/2018.

MOURA, Silvia *et al.* **Determinação da Vida-de prateleira de maçã passa por testes acelerados**. Campinas. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n1/24.pdf>>. Acesso em: março/2018.

OLIVEIRA, Ricardo Pinheiro de Souza. **Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba – SP**. Piracicaba. 2005. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-18072005-164621/publico/RicardoOliveira.pdf>>. Acesso em: junho/2018.

PEDRO, André M.K; FERREIRA, Márcia M. **Multivariate accelerated shelf-life testing: a novel approach for determining the shelf-life of foods**. 2006. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.598.8738&rep=rep1&type=pdf>>.

PEDRO, André Messias Krell. **Desenvolvimento do método multivariado acelerado para determinação do prazo de validade de produtos unindo quimiometria e cinética química**. Campinas: São Paulo. 2009. Disponível em: <<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/000469661.pdf>>. Acesso em: março/2018.

SEBRAE. **Estudo Setorial da Indústria Catarinense**. 2011. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/310812d5766b1f5f758393bb0757491f/\\$File/5739.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/310812d5766b1f5f758393bb0757491f/$File/5739.pdf)>. Acesso em: maio/2018.

SILVA, Neuzeli *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo. Logomarca Varela. 2007. Disponível em: <<https://pt.scribd.com/doc/174416175/Livro-Manual-de-Metodos-de-Analise-Microbiologica-de-Alimentos>>. Acesso: maio/2018

SILVEIRA, Denise Tolfo *et al.* **Métodos de Pesquisa**. Porto Alegre: Editora da UFRGS. 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/cursopgdr/downloadsSerie/derad005.pdf>>. Acesso em: junho/2018.

ANEXOS

ANEXO A – Tabela para determinação do Número Mais Provável (NMP) para análise de coliformes

TABELAS DE NMP

Tabela NMP-1. Número Mais Provável (NMP) e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade, para diversas combinações de tubos positivos em série de três tubos. Quantidade inoculada da amostra: 0,1 - 0,01 e 0,001g ou ml.

Combinação de tubos +	NMP/g ou ml	Intervalo de confiança (95%)		Combinação de tubos +	NMP/g ou ml	Intervalo de confiança (95%)	
		Mínimo	Máximo			Mínimo	Máximo
0-0-0	<3,0	-	9,5	2-2-0	21	4,5	42
0-0-1	3,0	0,15	9,6	2-2-1	28	8,7	94
0-1-0	3,0	0,15	11	2-2-2	35	8,7	94
0-1-1	6,1	1,2	18	2-3-0	29	8,7	94
0-2-0	6,2	1,2	18	2-3-1	36	8,7	94
0-3-0	9,4	3,6	38	3-0-0	23	4,6	94
1-0-0	3,6	0,17	18	3-0-1	38	8,7	110
1-0-1	7,2	1,3	18	3-0-2	64	17	180
1-0-2	11	3,6	38	3-1-0	43	9	180
1-1-0	7,4	1,3	20	3-1-1	75	17	200
1-1-1	11	3,6	38	3-1-2	120	37	420
1-2-0	11	3,6	42	3-1-3	160	40	420
1-2-1	15	4,5	42	3-2-0	93	18	420
1-3-0	16	4,5	42	3-2-1	150	37	420
2-0-0	9,2	1,4	38	3-2-2	210	40	430
2-0-1	14	3,6	42	3-2-3	290	90	1.000
2-0-2	20	4,5	42	3-3-0	240	42	1.000
2-1-0	15	3,7	42	3-3-1	460	90	2.000
2-1-1	20	4,5	42	3-3-2	1.100	180	4.100
2-1-2	27	8,7	94	3-3-3	>1.100	420	-

Fonte: *Bacteriological Analytical Manual* (Blodgett, 2003).

Fonte: *Bacteriological Analytical Manual* (Blodgett, 2003) apud SILVA *et al.* (2007, p.71).

APÊNDICES

APÊNDICE A – Formulário de Análise Sensorial

FORMULARIO DE ANALISE SENSORIAL

Analista: _____

Código da Amostra: _____

Data: __/__/__

COR				
Característica: branca ou levemente amarelada				
1	2	3	4	5
NADA	POUCO	LEVEMENTE	BEM	MUITO

TEXTURA				
Característica: firme, untosa , com bom espalhamento				
1	2	3	4	5
NADA	POUCO	LEVEMENTE	BEM	MUITO

APARÊNCIA				
Característica: brilhante, sem apresentação de grumos, sem soro aparente				
1	2	3	4	5
NADA	POUCO	LEVEMENTE	BEM	MUITO

SABOR				
Característico, suave, não rançoso nem ácido, sem sabor estranhos				
1	2	3	4	5
NADA	POUCO	LEVEMENTE	BEM	MUITO

ODOR				
Característico, suave, não rançoso nem ácido, sem odor estranho				
1	2	3	4	5
NADA	POUCO	LEVEMENTE	BEM	MUITO