



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



Estudo da Cinética de Acidificação de Palmito em Conserva

ERNESTO QUAST

Engenheiro de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luis Schmidt

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção de título de Mestre.

Campinas – SP

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Q28e Quast, Ernesto
Estudo de cinética de acidificação de palmito em conserva / Ernesto
Quast. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Flávio Luís Schmidt
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Alimento seguro . 2. Palmito. 3. Botulismo. I. Schmidt,
Flávio Luís. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Study of the kinetic of acidification in canned heart of palm

Palavras-chave em inglês (Keywords): Food safety, Heart of palm, Botulism

Titulação: Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Flávio Luís Schmidt

Marcelo Cristianini

Marcia Paisano Soler

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
FEA / UNICAMP
Presidente

Prof. Dr. Marcelo Cristianini
FEA / UNICAMP
Membro

Dra. Márcia Paisano Soler
GEPC / ITAL
Membro

Dra. Valéria Christina Amstalden Junqueira
CCQA / ITAL
Membro

Prof. Dr. José de Assis Faria
FEA / UNICAMP
Membro

Dedico este trabalho ao Pesquisador Científico Alfredo de Almeida Vitali, pela preocupação com a segurança de alimentos particulados, o que motivou a elaboração do presente projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Flávio Schmidt, cuja orientação foi decisiva em determinadas ocasiões no desenvolvimento dos experimentos e análise dos resultados.

À minha esposa e namorada Leda, que sempre esteve presente e ajudou nas dificuldades técnicas e suporte emocional, além de dar a luz à Catarina.

Aos colegas do ITAL, em especial ao Luciano Armiliato e ao Ricardo Massataka Fukuzawa, que sempre contribuíram para um ambiente de trabalho agradável, que permitiu aliar a rotina de trabalho com o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Aos estagiários do ITAL, em especial à Noma Luporini Ruiz, pela ajuda prestada.

Aos professores da Faculdade de Engenharia de Alimentos, ao professor Bruns, do Instituto de Química da Unicamp e ao amigo Lutz Bernhardt pelos conhecimentos passados.

À FAPESP pelo apoio financeiro fornecido.

Aos meus pais e amigos, que me passaram valores morais para que os conhecimentos técnicos e recursos públicos sejam aplicados em benefício da sociedade, não somente para a ascensão na carreira profissional pessoal.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com a realização deste trabalho.

RESUMO

A garantia da segurança microbiológica de alimentos prontos para o consumo é essencial para a sua comercialização. Alimentos sensíveis ao calor, como o palmito, podem ser conservados com tratamentos térmicos brandos, adição de conservantes químicos, diminuição do pH ou por métodos combinados. Aliando-se a pasteurização com a acidificação adequada é possível impedir a germinação de *Clostridium botulinum*. A difusão de ácido até o interior do tecido vegetal deve ocorrer durante um intervalo de tempo que não seja suficiente para permitir a germinação de esporos, multiplicação das células e conseqüente formação de toxina botulínica. A cinética de acidificação dos diferentes tecidos que compõe o tolete de palmito foi estudada, observando-se uma diferença significativa do tempo necessário para o abaixamento do pH dos mesmos. O tempo para a acidificação de toletes de com diferentes comprimentos também foi avaliado, sendo observado o desenvolvimento de esporos de *C. sporogenes* (PA3679) em toletes de palmito pupunha com comprimento maior que 3 cm, com pH de equilíbrio de 4,41, indicando a possibilidade da formação de toxina botulínica em toletes com tamanho comercial em pH de equilíbrio $\leq 4,5$ desde que exista a presença de esporos de *C. botulinum* no seu interior. O palmito não é um meio rico para o desenvolvimento de esporos de PA3679, fato observado pela não germinação destes esporos em suspensão de palmito triturado e misturado, com pH $< 5,2$. Isto mostra que o pH no interior do tolete deve atingir pH $< 5,2$ para impedir o desenvolvimento de esporos microbianos.

Palavras-chave: Cinética de acidificação, palmito, conservas particuladas, alimento seguro, botulismo.

ABSTRACT

Ready to eat food must have their food safety guaranteed. Heat sensible food, such as heart of palm, can be preserved using mild heat treatment, chemical preservatives addition and acidification or combined methods. Germination of *Clostridium botulinum* can be inhibited by combining mild heat treatment and lowering of pH. The diffusion of the acid to the interior of the vegetable tissue must be fast enough not to permit spores germination, multiplication of the vegetative cells and consequent botulinum toxin formation. Study of the acidification of heart of palm showed a significant difference between the tissues regarding to the time necessary for lowering the pH. Hearts of palm *Bactris gasipaes* were evaluated and were observed the growth of *C. sporogenes* (PA3679) spores in stems with length larger than 3 cm in equilibrium pH of 4.41, indicating the possibility of botulism toxin formation in commercial heart of palm preserves with $\text{pH} \leq 4.5$ if spores of *C. botulinum* are present in the vegetable tissue. Heart of palm is not rich growing medium as observed that spores of PA3679 did not grow in suspension of triturated heart or palm with $\text{pH} < 5.2$. This fact shows that pH in the interior of heart of palm should reach $\text{pH} < 5.2$ to inhibit bacteria spores development.

Palavras-chave: Kinetic of acidification, heart of palm, particulate food, food safety, botulism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exportação mundial de palmito, em milhões de dólares. (Fonte: ALADI, 2009; PROCOMER, 2009).....	6
Figura 2: Diagrama de funcionamento de eletrodo combinado de vidro	11
Figura 3: Esquema de funcionamento de ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006)	13
Figura 4: Diagrama de conexão de: (a) sensor de vidro e (b) sensor ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006).....	13
Figura 5: Partes do sensor ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006).....	14
Figura 6: Leitura de potencial elétrico para fornecer pH da solução (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006).....	15
Figura 7: (a) Palmito pupunha no campo e (b) Corte de palmito pupunha com idade comercial	19
Figura 8: Recebimento das hastes de palmito pupunha.....	20
Figura 9: Localização dos cortes para retirada das folhas externas da haste de palmito.....	22
Figura 10: Base do tolete.....	23
Figura 11: Região de término do corte dos toletes de palmito.....	23
Figura 12: Identificação de pontos para leitura de pH após aplicação de vácuo	25
Figura 13: Identificação dos pontos de leitura do pH (a) no comprimento e (b) no diâmetro dos toletes.....	26
Figura 14: Identificação dos pontos de leitura do pH nos toletes em solução 2% ácido cítrico	28
Figura 15: Identificação dos pontos utilizados para avaliação da difusão nos sentidos axial e radial	30
Figura 16: Aspecto inicial da adição de corante na salmoura contendo toletes de palmito	32

Figura 17: Identificação dos pontos de leitura do pH na cinética de acidificação a pH de equilíbrio 4,5	33
Figura 18: Identificação dos pontos de leitura do pH em cubos de "coração de palmito"	34
Figura 19: Abaixamento do pH em diferentes distâncias e tecidos de palmito "in natura", após aplicação de vácuo.....	38
Figura 20: Coloração de cortes de palmito "in natura" após aplicação de vácuo	39
Figura 21: Diferença de pH nos tecidos logo após o processamento, em solução 2% ácido cítrico	42
Figura 22: Diferença de pH nos tecidos 1 semana após o processamento, em solução 2% ácido cítrico.....	43
Figura 23: Penetração de calor durante a pasteurização de toletes de palmito pupunha.....	46
Figura 24: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 2 horas	49
Figura 25: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 3 dias	49
Figura 26: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 5 dias	50
Figura 27: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 10 dias	51
Figura 28: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 14 dias	51
Figura 29: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 21 dias	52
Figura 30: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 31 dias	53
Figura 31: Cinética de acidificação em tolete de palmito pupunha.....	55
Figura 32: representação da curva de acidificação no tecido externo do tolete de palmito pupunha	56

Figura 33: Linearização da cinética de abaixamento do pH no tecido externo do tolete	58
Figura 34: Cinética de aumento do pH na salmoura	58
Figura 35: Modelagem da cinética de acidificação do tecido externo do tolete	59
Figura 36: Curva de ajuste do abaixamento do pH nos tecidos internos do tolete.....	60
Figura 37: Linearização da cinética de acidificação dos tecidos internos do tolete.....	60
Figura 38: Modelagem da cinética de acidificação dos tecidos internos do tolete.....	61
Figura 39: Cinética de acidificação de toletes com 9 cm de comprimento	62
Figura 40: Cinética de acidificação no centro geométrico de tolete com 9 cm de comprimento	63
Figura 41: Modelagem da acidificação no centro geométrico de um tolete com 9 cm de comprimento.....	64
Figura 42: Aumento do pH da solução durante a acidificação de toletes de palmito pupunha	65
Figura 43: Modelagem de acidificação no tecido homogêneo do palmito	66
Figura 44: Linearização da cinética de acidificação dos tecidos homogêneo de palmito	67
Figura 45: Formação de gás durante a acidificação de toletes de palmito.....	68
Figura 46: Letalidade no “ponto frio” do tolete.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis utilizadas no planejamento experimental	26
Tabela 2: Delineamento composto central, tendo-se como resposta o pH nos pontos pré-definidos de leitura e tempos de armazenamento	27
Tabela 3: Delineamento composto central, tendo-se como respostas o pH nos pontos pré-definidos de leitura e tempos de armazenamento.	40
Tabela 4: ANOVA dos resultados do delineamento composto central 2^3 , logo após o processamento térmico	41
Tabela 5: Comparação do poder tamponante dos tecidos de toletes de palmito, avaliado por Tukey a 95%	44
Tabela 6: Análises de pH na difusão radial	45
Tabela 7: Difusão axial em toletes de palmito pupunha	45
Tabela 8: variação do pH em tolete de palmito pupunha durante o armazenamento.	54
Tabela 9: Equações obtidas nas cinéticas de acidificação de palmito.....	70
Tabela 10: Tempos necessários para acidificação de palmito	71
Tabela 11: Cálculo da letalidade de bactérias, bolores e leveduras não esporuladas	80

SUMÁRIO

1	Considerações Iniciais	1
1.1	Introdução.....	1
1.2	Objetivos e justificativas	2
1.3	Organização da dissertação	3
2	Revisão Bibliográfica	4
2.1	Características agronômicas de palmeiras que proporcionam palmito comestível.....	4
2.2	Mercado consumidor de palmito	5
2.3	Segurança microbiológica de alimentos prontos para o consumo	7
2.4	Princípios de funcionamento de eletrodos para leitura de pH	8
2.5	Importância do conhecimento do tempo para a acidificação de alimentos.....	16
3	Material e Métodos.....	18
3.1	Material	18
3.1.1	Matéria prima	18
3.1.2	Corte e processamento de toletes	20
3.2	Estudos preliminares.....	24
3.2.1	Avaliação da aplicação de vácuo.....	24
3.2.2	Cinética acelerada com solução a 2% de ácido cítrico	25
3.2.3	Estudo do poder tamponante dos tecidos constituintes do tolete.....	28
3.2.4	Cinética de acidificação do tolete nos sentidos axial e radial	29
3.3	Tratamento térmico	30
3.4	Avaliação da difusão de corante	31
3.5	Cinética de acidificação para pH de equilíbrio de 4,5	32
3.5.1	Acidificação de toletes.....	32

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 Introdução

Produtos sensíveis ao calor e com pH acima de 4,5, como o palmito de pupunha, que apresenta pH entre 5,6 e 6,2 (GOMES et al., 2006), não podem ser submetidos a tratamentos térmicos drásticos, pois estes podem alterar as características de textura agradáveis do palmito. Neste caso, a acidificação para pH inferior a 4,6 torna-se condição necessária para impedir o crescimento vegetativo do *C. botulinum* e garantir a segurança microbiológica do produto pronto para o consumo, sendo possível a utilização de um tratamento térmico brando (pasteurização) e conservação do alimento em temperatura ambiente (MICHIGAN DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2005). Caso a acidificação não seja realizada de forma adequada, o ambiente anaeróbio no interior da embalagem pode favorecer a germinação de esporos termorresistentes e o consequente desenvolvimento para a sua forma vegetativa, com sérios riscos ao consumidor (GOMES et al., 2006; U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1996).

No caso de conservas acidificadas, o grupo de bactérias de maior perigo são as cepas de *C. botulinum* do grupo I, proteolíticas, formadoras de toxina do tipo A e algumas dos tipos B e F. Apresentam temperaturas ótimas de crescimento entre 30 e 40°C, com temperatura mínima de 10°C. Seus esporos são resistentes à pasteurização e possuem similaridade com os de *C. sporogenes*, sendo este não toxigênico. Os esporos das cepas do grupo II (não proteolíticas), são formadoras de toxina E e algumas dos tipos B e F, são pouco resistentes ao tratamento térmico, porém, podem se multiplicar a temperaturas maiores que 3°C (CARLIN & PECK, 1996; LUND & PECK, 2000).

Durante o crescimento vegetativo do *C. botulinum* ocorre a formação de neurotoxina botulínica. A ingestão de 0,1g de alimentos que contenha neurotoxina, acima de 30 nanogramas, pode ser suficiente para a

manifestação de sintomas do botulismo (PECK, 2004). A mortalidade decorrente do botulismo de origem alimentar pode atingir até 60% em casos sem tratamento, podendo ser diminuído para 10% com tratamento adequado (VILLAR et al., 2002). O impacto econômico negativo de casos de botulismo é elevado. Baseado nos casos ocorridos nos Estados Unidos, foi estimado em 30 milhões de dólares, custo referente ao tratamento médico e às perdas econômicas devido ao impacto negativo sobre a imagem da empresa e sobre a cadeia produtiva (PECK, 2004). No Brasil, a imagem do palmito em conserva encontra-se associada a casos de botulismo, embora a toxina possa estar presente em qualquer conserva alimentícia com pH acima de 4,6 e armazenada à temperatura ambiente.

Nos Estados Unidos, onde existem dados notificados de botulismo, no período de 1899 a 1996 foram registradas uma média de 9,4 surtos por ano e 2,5 casos por surto. Em contrapartida, no Brasil, entre 1999 e 2006, apenas 32 casos de botulismo foram registrados, sendo que 10 pessoas faleceram. Segundo o Ministério da Saúde, a maioria originou-se de produtos em conserva (EDUARDO et al., 2007). Este baixo índice pode ser explicado pelo não diagnóstico adequado do botulismo, que pode ser confundido com paralisia flácida, tanto em crianças como em adultos (EDUARDO & SIKUSAWA, 2002). Entre 2005 e 2006, o Instituto Adolfo Lutz analisou conservas de palmito e das 112 amostras utilizadas, em 65% encontraram-se problemas nas embalagens e no produto, com alteração das características sensoriais, além de 3 amostras com acidificação inadequada (FOLHA DE SÃO PAULO, 2007).

1.2 Objetivos e justificativas

Em condições adequadas para o crescimento, de 3 a 7 dias são suficientes para haver formação de toxina botulínica a partir da presença de um esporo *C. botulinum*, na temperatura de 22°C (LUND & PECK, 2000). Gelli et al. (2002) relataram a detecção de toxina botulínica em alimentos com pH

inferiores a 4,6 sugerindo a possibilidade de formação de toxina antes de se atingir o pH de equilíbrio.

O desconhecimento do tempo necessário para se alcançar o equilíbrio da acidez do alimento com a solução é visto com temor por especialistas na área de legislação e segurança microbiológica de alimentos, segundo as normas atuais vigentes. Portanto, é pertinente a determinação do tempo necessário para a acidificação de todas as partes de alimentos sensíveis ao calor para se obter uma garantia da não formação de toxina botulínica em conservas alimentícias armazenadas em temperatura ambiente.

1.3 Organização da dissertação

Esta dissertação foi organizada de maneira que fosse abordada, no Capítulo 2, uma breve revisão bibliográfica a respeito dos tipos de palmeiras que proporcionam palmito comestível, a evolução do mercado consumidor de palmito, a importância da segurança microbiológica de alimentos prontos para o consumo nos dias atuais e uma descrição do funcionamento do sensor de pH tipo ISFET. Por fim, é mostrada a importância do estudo da cinética de abaixamento do pH em conservas alimentícias particuladas.

No Capítulo 3, são apresentados os materiais e metodologias utilizadas no desenvolvimento do trabalho. Primeiramente são apresentados os resultados preliminares, seguido dos estudos da penetração de calor e cinética de acidificação para pH de equilíbrio próximo a 4,5.

No Capítulo 4 são apresentados e discutidos os resultados experimentais. A letalidade do processamento térmico foi calculado e a cinética do abaixamento do pH foi modelada. Com base nestes resultados, foram realizados testes para avaliação do desenvolvimento de esporos.

Finalmente, no Capítulo 5, são apresentadas as conclusões do trabalho e as perspectivas para trabalhos futuros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características agronômicas de palmeiras que proporcionam palmito comestível

Diversas palmeiras proporcionam palmito comestível de valor comercial. As palmeiras juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e açai (*Euterpe oleracea* Mart.) predominam nesta atividade. A exploração indiscriminada no palmito juçara, espécie outrora dominante na Mata Atlântica da América do Sul, levou à sua extinção na maior parte de sua área original (PIZO & VIEIRA, 2004), com conseqüências sobre a fauna e flora originais (MATOS & BOVI, 2002).

Bovi (PASCHOALINO et al., 1997, p. 1) define palmito como:

“Denomina-se palmito o produto comestível, de formato cilíndrico, macio e tenro, extraído da extremidade superior do estipe de certas palmeiras. É constituído, basicamente, pelo meristema apical e um número variável de folhas internas, ainda não plenamente desenvolvidas e imbricadas, sendo envolto e protegido pela bainha das folhas adultas, mais externas.”.

Além do palmito de palmeira juçara e de açai, outras palmeiras podem proporcionar palmito de forma sustentável. Destacam-se o híbrido entre *E. oleracea* e *E. edulis*, o jerivá (*Arecastrum romanzoffianum*), a guabiroba (*Syagrus oleracea*), o indaiá (*Atallea dubia*), o inajá (*Maximiliana regia*) e a palmeira real australiana (*Archontophoenix alexandre* e *A. cunninghamii*) e pupunha (*Bactris gasipaes*) (PASCHOALINO et al., 1997).

As palmeiras do gênero *Euterpe* levam de 8 a 12 anos para atingirem o ponto de corte comercial. O açai apresenta a vantagem de perfilhar, o que contribui para a regeneração permanente da cultura, mesmo após o corte do palmito (PASCHOALINO et al., 1997). Após do corte do palmito de juçara, sua regeneração é feita somente por sementeira.

Com a escassez do palmito na Região Sudeste a partir de 1960, a exploração do palmito de açai, originário da Região Amazônica ganhou importância (NOGUEIRA & CONCEIÇÃO, 2000). Com a valorização do fruto

para elaboração de suco e polpa, a exploração do palmito de açaí começou a decrescer a partir de 1992 (EMBRAPA, 2006).

O palmito de palmeira real apresenta características semelhantes ao palmito de açaí e de juçara para industrialização na forma de conserva acidificada, sendo que seu corte pode ser realizado 2 anos após o seu plantio, em pleno sol (BERBARI et al., 2008).

O cultivo de pupunha (*Bactris gasipaes*) para fins comerciais aumentou a partir da década de 70, como alternativa sustentável para a produção de palmito (ANELAFOS, 2007). Essa palmeira apresenta vantagens em relação às outras, devido às suas características de precocidade, rusticidade e perfilhamento (PASCHOALINO et al., 1997), além de não escurecer rapidamente após o corte e poder ser consumida “in natura” ou minimamente processada (ANELAFOS, 2007). Pode ser comercializada na forma tradicional, como conserva acidificada, apesar do sabor ligeiramente adocicado e da coloração levemente amarelada e de possuir textura macia (GOMES et al., 2006).

2.2 Mercado consumidor de palmito

Após ser o maior exportador de palmito em conserva, o Brasil perdeu parte significativa do mercado internacional devido aos problemas com relação à origem da matéria prima e qualidade do palmito processado. Nos anos 80, o Brasil fornecia mais de 95% do palmito importado pela França. Em 1994, a França passou a importar de outros países, particularmente da Costa Rica e do Equador que exportam palmito de pupunheira cultivada (EQUADOR, 2001). Embora o Brasil seja responsável pela produção de aproximadamente 85% do palmito consumido no mundo, perdeu sua posição de principal país exportador a partir de 1999, como apresentado na Figura 1. Atualmente, a participação das exportações brasileiras representa aproximadamente 10% do mercado mundial.

Observa-se que as exportações de palmito pelo Brasil permanecem praticamente inalteradas a partir do ano 2000. Países com uma área muito inferior a do Brasil e que iniciaram suas exportações há menos de 30 anos, como Costa Rica e Equador apresentam tendência crescente de suas exportações mundiais. A diferença determinante nesses países é o tipo de exploração utilizada. No Brasil, o extrativismo do palmito representa ainda uma porção significativa do comércio de palmito, embora o cultivo do palmito pupunha apresente crescimento a partir de 1997 (ANEFALOS et al., 2007).

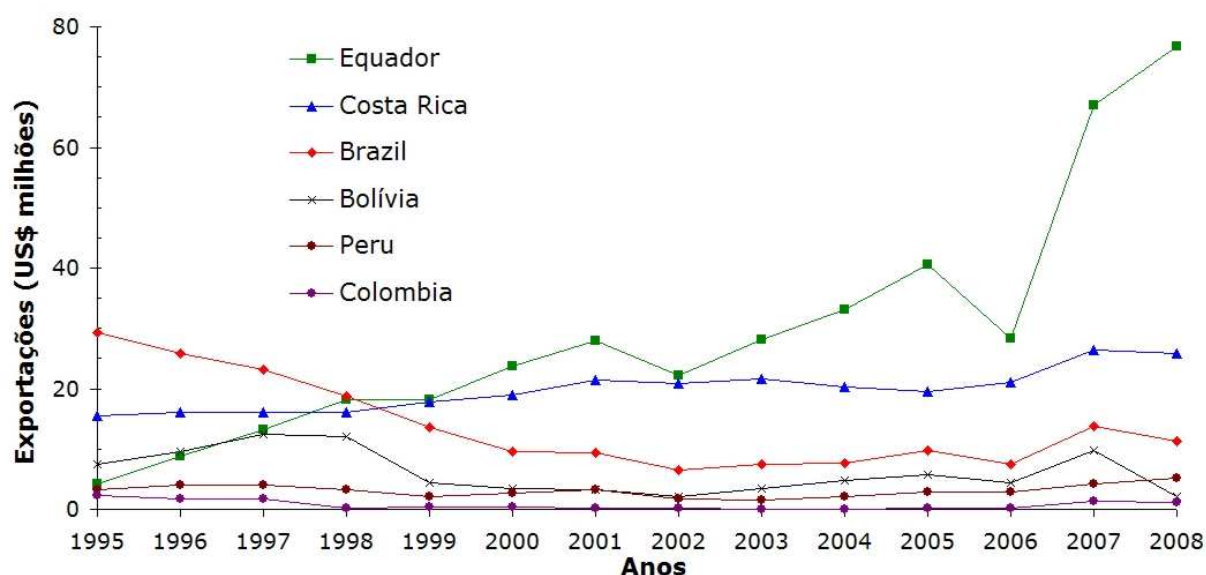


Figura 1: Exportação mundial de palmito, em milhões de dólares.
(Fonte: ALADI, 2009; PROCOMER, 2009)

Embora a importância brasileira nas exportações mundiais tenha decrescido significativamente, a produção brasileira de palmito em conserva é responsável por grande parte do consumo do produto, principalmente devido ao consumo interno, que corresponde a aproximadamente 100 mil toneladas de palmito por ano (ALADI, 2009). O Brasil exporta principalmente o palmito extraído do açaí e juçara, enquanto o Equador e a Costa Rica participam no mercado com palmito de pupunha, os quais têm aumentado as suas exportações em função da qualidade do produto.

O mercado mundial consumidor de palmito cresceu em média 5% nos últimos 10 anos. Em 2005, a exportação brasileira de palmito representou 9,7 milhões de dólares (ALADI, 2009). Comparando-se com as exportações de 1997 (Figura 1), observa-se uma redução de 53% das exportações brasileiras entre 1997 e 2007.

O cultivo do palmito pode contribuir para reduzir a volatilidade de mercado do palmito brasileiro no exterior, devido aos problemas no controle da qualidade do produto nacional (CLEMENT et al., 1993).

2.3 Segurança microbiológica de alimentos prontos para o consumo

A mudança do hábito de consumo de alimentos, decorrente da crescente participação das mulheres no mercado de trabalho, mudanças culturais e o tempo gasto para ir e voltar do trabalho, levou à diminuição do tempo reservado ao preparo de uma refeição: de 2 horas, em 1970, para uma média de 15 minutos nos dias atuais. Com isso, houve o aumento da demanda por alimentos prontos para o consumo (SOUZA, 2009).

O maior conhecimento sobre as etapas envolvidas na produção de alimentos levou o consumidor a uma procura por produtos com qualidade comprovada. A procura por produtos cujas matérias primas possuem garantia de origem, com exploração sustentável é crescente, assim como a busca por alimentos sem utilização de aditivos artificiais para sua conservação (CINTRA et al., 2003).

A esterilização é um método que emprega o calor para a conservação de alimentos, sem a necessidade do uso de aditivos químicos. Para garantir a segurança microbiológica do produto para o consumo, deve-se eliminar todos os micro-organismos patogênicos, incluindo-se os esporos. O esporo do *Clostridium botulinum* é o principal alvo, devido à sua resistência térmica aliado ao elevado perigo da intoxicação botulínica (LUND et al., 2000).

O palmito é um produto termo-sensível, isto é, suas características sensoriais são alteradas significativamente com um tratamento térmico severo. Assim, a esterilização não é uma técnica viável para a conservação do produto.

Estudos realizados por pesquisadores do ITAL foram fundamentais para alteração das normas de qualidade da ANVISA, sendo a determinação da quantidade de ácido necessária ao equilíbrio do pH final obtido por método experimental, sendo este valor próximo a 0,5% de ácido cítrico hidratado, em contraposição da legislação até então válida, que fixava a quantidade de ácido em 0,2% (ZAPATA & QUAST, 1975). Paschoalino et al. (1997) observaram um maior poder tamponante nas partes inferiores do palmito. Segundo a FDA (2009), para a garantia da segurança microbiológica de conservas acidificadas é necessário se atingir um pH de equilíbrio não superior a 4,6 em produtos com uma atividade de água acima de 0,85. Pela legislação brasileira, o limite máximo é pH 4,5, sendo que para atender a esta medida é obrigatório o uso de potenciômetro elétrico (BRASIL, 1999). Este valor foi estabelecido como referência no presente estudo. A utilização do eletrodo de calomelano (Hg/HgCl) como referência exige controle da temperatura no momento da medição. Para medidas de pH em temperaturas elevadas, recomenda-se a utilização de eletrodo de referência de Ag/AgCl (RADIOMETER, 2007).

2.4 Princípios de funcionamento de eletrodos para leitura de pH

A potenciometria com eletrodos polarizados é um método titulométrico no qual diferenças de potenciais são medidas entre eletrodos, que permite localizar com maior rapidez e precisão, o ponto final da titulação. A pequena corrente de polarização é mantida entre os eletrodos por meio de uma fonte de potencial em série com uma resistência variável (MAGALHÃES, 2000).

A Equação 1 apresenta a equação básica da cinética eletroquímica, onde a densidade de corrente de troca (i_0) reflete as propriedades de um sistema interfacial particular. Na condição de equilíbrio, a reação eletroquímica se dá

tanto no sentido da oxidação como na redução com a mesma velocidade, o que equivale à densidade de corrente de troca. Nesta condição, estabelece-se um potencial de equilíbrio.

$$i = i_0 \left\{ \exp \left[\frac{-\alpha \eta F}{RT} \right] - \exp \left[\frac{(1-\alpha) \eta F}{RT} \right] \right\} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

i = densidade de corrente de carga,

i_0 = densidade de corrente de troca,

α = coeficiente de transferência de carga,

F = constante de Faraday.

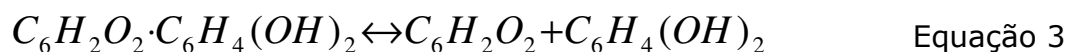
O parâmetro η é uma medida do sobrepotencial, isto é, o quanto o potencial se afasta do potencial de equilíbrio.

A densidade de corrente de troca é análoga à constante de velocidade (k) das reações químicas. Quanto maior o i_0 , mais rápida é a reação de transferência de cargas e menor é a inibição da reação e mais o eletrodo se aproxima da reversibilidade (MAGALHÃES, 2000).

O eletrodo de Hidrogênio/íons $H^+_{(aq)}$ é considerado um padrão primário para determinação de pH. Sua manipulação é bastante difícil. Neste caso, a diferença de potencial elétrico fornece o valor de pH, apresentado na Equação 2 (SANTOS, 1991).

$$pH = \frac{E}{0,05916} \quad (25^\circ C) \quad \text{Equação 2}$$

O eletrodo de quinidrona emprega um metal inerte como condutor (platina ou ouro) introduzido na solução que contém quinidrona. A quinidrona é uma substância orgânica que se dissolve ligeiramente em água e se dissocia parcialmente em quinona e hidroquinona (Equação 3):



O potencial normal do sistema quinona-hidroquinona é 0,6991 V a 25 °C.

$$pH = \frac{0,6991 - E_q}{0,05916} \quad (25^\circ\text{C}) \quad \text{Equação 4}$$

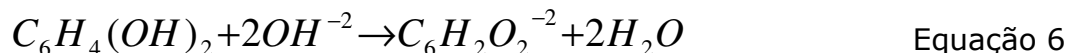
O eletrodo indicador de quinidrona em combinação com eletrodo de calomelano saturado ($E_{\text{cal.}} = 0,242 \text{ V}$) forma a seguinte célula:



A leitura do pH pode ser obtida pela Equação 5:

$$pH = \frac{0,4571 - E}{0,05916} \quad (25^\circ\text{C}) \quad \text{Equação 5}$$

A hidroquinidrona é um ácido muito fraco, mas que em solução alcalina (pH superior a 8) reage com o íon hidroxila.



Quando a concentração de íons hidroxila é elevada, acarreta no deslocamento do equilíbrio de reação apresentada na Equação 3, alterando o valor fornecido pelo eletrodo. Por isso, este eletrodo não deve ser utilizado para pH acima de 8. Outra limitação é a oxidação da hidroquinona por ação do ar, limitando o seu uso para no máximo dois dias após seu preparo (SANTOS, 1991).

O eletrodo de vidro é o mais comumente empregado como sensor de pH em eletrólitos aquosos. A utilização rotineira dos eletrodos de vidro foi possível após o desenvolvimento dos multímetros eletrônicos com resistência de entrada suficientemente elevada, capazes de amplificar correntes extremamente pequenas (SANTOS, 1991).

Combinando o eletrodo indicador de vidro com um eletrodo de referência, mais comumente eletrodo de calomelano ou de prata-cloreto de prata, forma-se uma célula, cuja representação esquemática é apresentada na Figura 2.

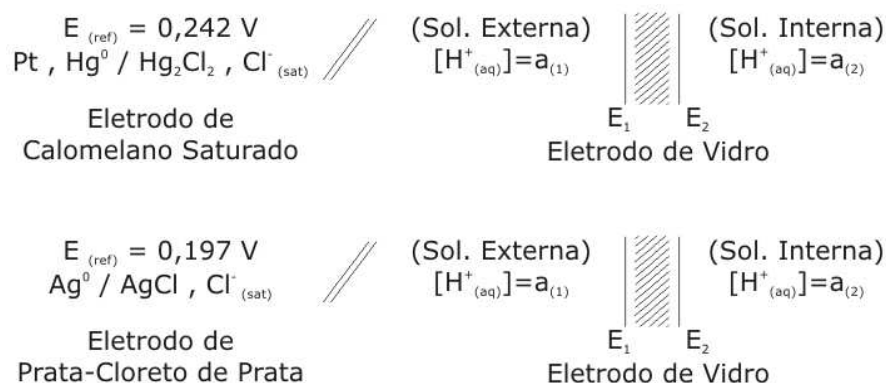


Figura 2: Diagrama de funcionamento de eletrodo combinado de vidro

Neste caso, a diferença de potencial pode ser expressa pela Equação 7.

$$E = (E_a + 0,05916) \log \frac{[\text{H}^+_{aq}]_B}{[\text{H}^+_{aq}]_A} - E_{ref} \quad \text{Equação 7}$$

Rearranjando:

$$E = (E_a - E_{ref} + 0,05916 \text{pH}_A) - 0,05916 \text{pH}_B \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

E_a = potencial de assimetria,

E_{ref} = potencial de referência,

pH_A = pH da solução A (interna),

pH_B = pH da solução B (externa).

Como os termos entre parênteses são constantes, a expressão do pH pode ser fornecida pela Equação 9.

$$pH = \frac{E - k}{0,05916}$$

Equação 9

A grande resistência ôhmica das membranas de vidro, na ordem de 100 a 1000 mega Ohm torna necessário o uso de instrumentos para medida da Diferença de Potencial Elétrico da célula, baseada em um circuito eletrônico de alta impedância. Tendo em vista a variação do potencial assimétrico, o eletrodo de vidro tem que ser calibrado antes do uso para eliminar este erro. Os eletrodos de vidro podem ser construídos com membranas muito finas para que a resistência ôhmica abaixe para 1 mega Ohm, mas nessas condições o eletrodo apresenta fragilidade mecânica (SANTOS, 1991).

A utilização de eletrodos de metal/óxido de metal como sensores tanto em processos de controle industriais e ambientais como em aplicações biomédicas (biossensores) aumentou por apresentarem baixo custo, serem fáceis de construir e mecanicamente resistentes. Devido a sua baixa resistência ôhmica, seu potencial pode ser medido utilizando-se circuitos potenciométricos comuns, sem necessidade de amplificação instrumental (NETO, 1991).

Os transistores de efeito de campo sensíveis a íons ou ISFETs (Ion Sensitive Field Effect Transistors) são os mais investigados sensores químicos baseados em MOSFETs (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistors). O princípio básico de funcionamento é o controle da corrente que flui entre os dois elementos semicondutores. No lugar de medir a diferença de potencial entre os dois lados do vidro, mede-se a corrente através do transistor (SKAF, 2008).

A Figura 3 apresenta o princípio de funcionamento de um sensor ISFET, onde o pH da solução atua no lugar da porta de óxido de metal. A concentração de íons H^+ afeta na leitura do ISFET, que deve ter um eletrodo de referência para sua leitura (SKAF, 2008; FREUNDENBERGER, 2006).

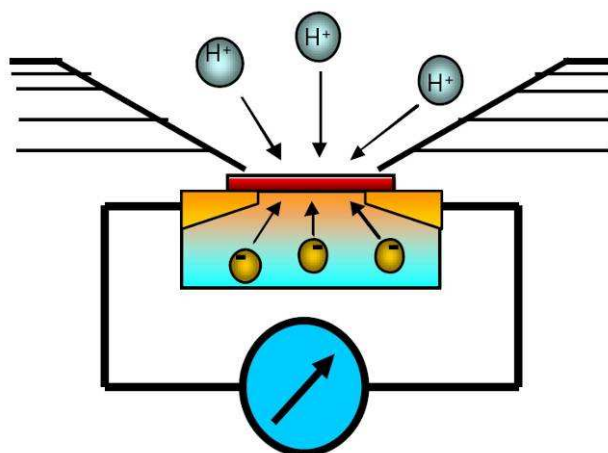


Figura 3: Esquema de funcionamento de ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006)

Os sensores ISFET apresentam a conexão de três cabos para a leitura do pH, diferente do sensor de vidro, que apresenta somente dois cabos. Essas diferenças podem ser visualizadas na Figura 4 (FREUNDENBERGER, 2006).

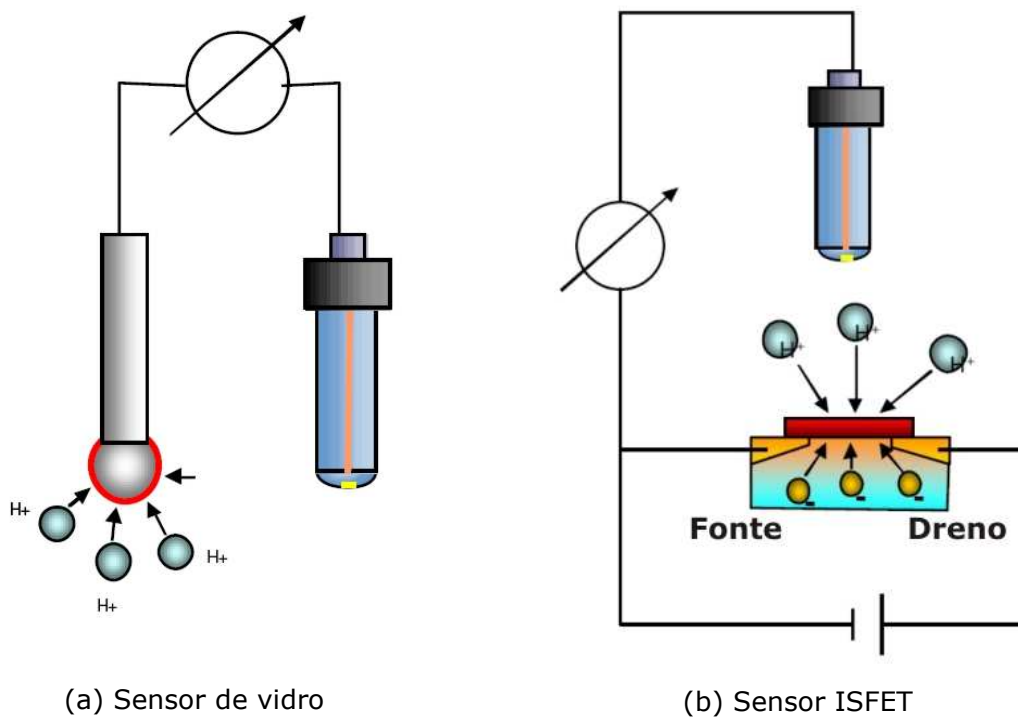


Figura 4: Diagrama de conexão de: (a) sensor de vidro e (b) sensor ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006)

Além da resistência mecânica e a durabilidade do sensor ISFET, os valores de pH podem ser automaticamente ajustados pela temperatura. Os diferentes componentes que fazem parte do conjunto do sensor ISFET são apresentados na Figura 5.

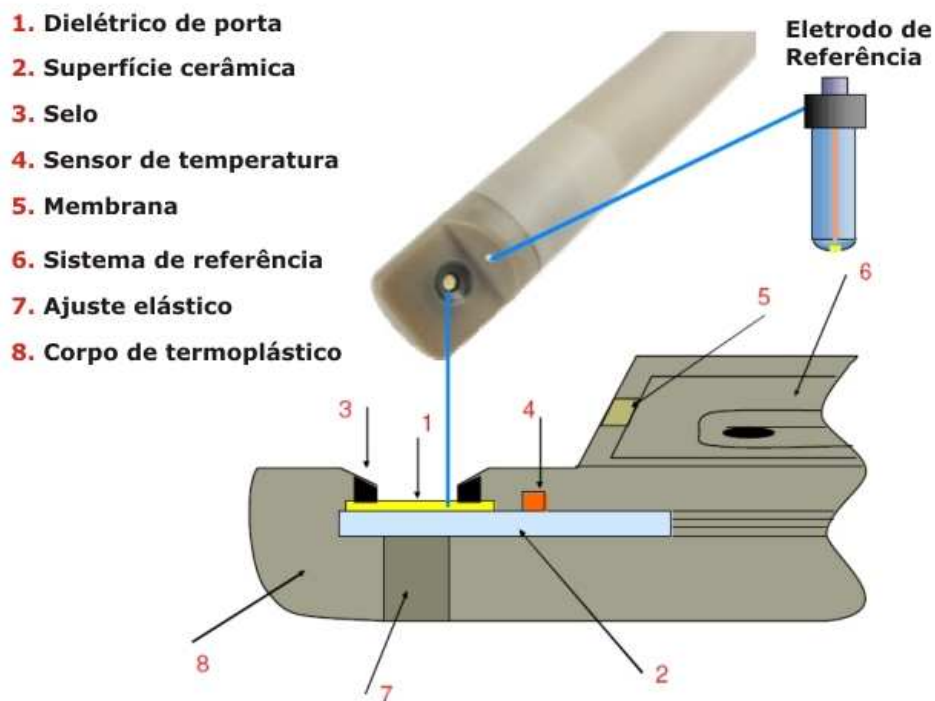


Figura 5: Partes do sensor ISFET (Fonte: FREUNDENBERGER, 2006)

O material dielétrico utilizado varia de acordo com a aplicação do dispositivo. Sua sensibilidade depende do material dessa camada de porta em contato com o eletrólito. Dentre os materiais mais utilizados se destacam o óxido de silício (SiO_2), o nitreto de silício (Si_3N_4), o óxido de alumínio (Al_2O_3) e o óxido de tântalo (Ta_2O_5) e a estrutura $\text{Si}/\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ (SKAF, 2008).

Os sensores ISFET seguem a Lei de Nerst (FREUNDENBERGER, 2006):

$$U = U_0 + \frac{RT}{nF} \ln[H^+] \quad \text{Equação 10}$$

Onde:

U = potencial elétrico no sensor,

U_0 = potencial elétrico em pH 7,0,

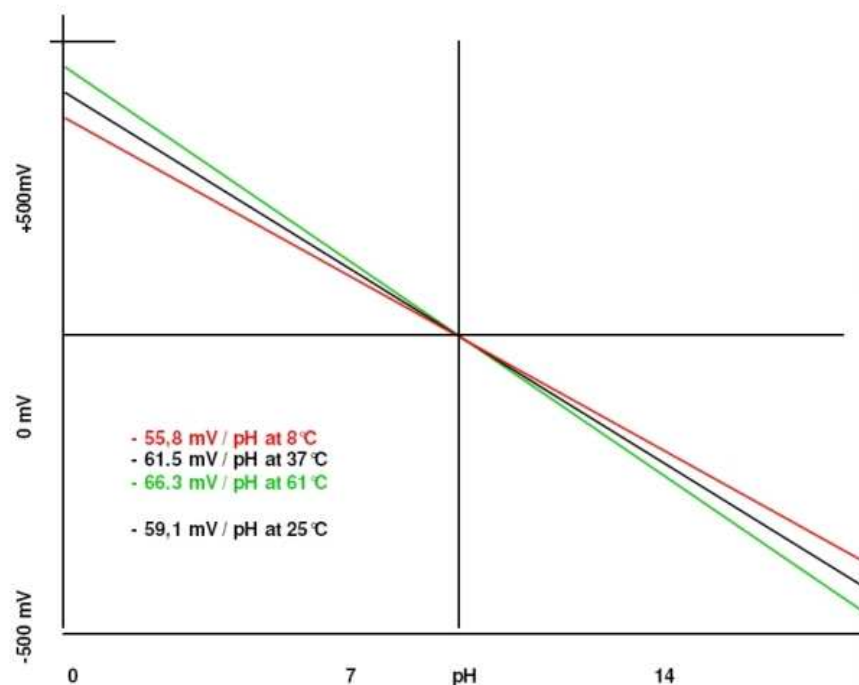
T = temperatura absoluta,

F = constante de Faraday,

H^+ = atividade de íons H^+ ,

N = carga do íon ($H^+=1$).

Um exemplo esquemático da leitura do pH utilizando-se um sensor ISFET de Ta_2O_5 é mostrado na Figura 6 (FREUNDENBERGER, 2006).



**Figura 6: Leitura de potencial elétrico para fornecer pH da solução
(Fonte: FREUNDENBERGER, 2006)**

O sensor ISFET foi utilizado no presente trabalho por causa da sua resistência mecânica e suas pequenas dimensões, que possibilita a leitura no interior do tecido vegetal diretamente, sem muitos danos e conseqüentemente sem interferências nos valores de leitura do pH.

2.5 Importância do conhecimento do tempo para a acidificação de alimentos

A acidificação somente, não é a condição suficiente para se evitar o crescimento microbiológico, sendo também necessária a aplicação de um tratamento térmico adequado, de forma a assegurar que todas as partes do alimento atinjam pelo menos 80°C, temperatura esta suficiente para eliminar micro-organismos capazes de causar alterações em alimentos ácidos (BALL & OLSON, 1957). Para o palmito acondicionado em vidro, o tempo total de exposição ao tratamento térmico, incluindo a exaustão, praticado nas agroindústrias se situa entre um mínimo de 35 minutos e um máximo de 40 minutos. Almeida e Maranhão (1996) aplicaram ao palmito (*B. gasipaes*) envasado em vidro, diversos tempos de tratamento térmico. Os tempos em fervura de 38 minutos em fogão semi-industrial e de 40 minutos em fogão comum produziram uma textura que agradou a maioria dos provadores (BELLEGARD et al., 2005). As temperaturas internas do produto não foram avaliadas. Para a garantia da estabilidade microbiológica de alimentos com atividade de água $> 0,85$, é importante garantir o tratamento térmico adequado em todos os pontos do produto. A solução de enchimento aquece-se rapidamente por estar em contato com as paredes da embalagem e no caso de soluções com baixa viscosidade, o aquecimento é acelerado pela convecção interna do líquido. No caso de alimentos particulados, o "ponto frio" (local onde o aquecimento ocorre mais lentamente) é o centro geométrico da partícula (THE FOOD PROCESSORS INSTITUTE, 1990). A avaliação do tratamento térmico no centro do tolete de palmito foi realizada no presente trabalho.

No entanto, Quast et al. (1975) relatam que a lenta acidificação das partes centrais dos toletes de palmito poderia permitir o desenvolvimento do *C. botulinum*. Nesse contexto, Quast & Bernhardt (1978) realizaram curvas de titulação utilizando diferentes ácidos e cultivares de palmito, também sendo observadas diferenças significativas nos tipos de ácidos utilizados para a acidificação.

A técnica de aplicação de vácuo é bastante utilizada para diminuir o tempo necessário para impregnação de açúcar em tecidos porosos de frutas, acelerando os processos de transferência de massa (ZHAO & XIE, 2004). Esta técnica pode ser avaliada para diminuir o tempo necessário para a acidificação de vegetais, sendo relatada a modelagem matemática da acidificação de vegetais cortados "in natura", cujo processo de difusão segue modelo de Arrhenius e pode ser descrito pela Lei de Fick (AZEVEDO & OLIVEIRA, 1995). No caso da acidificação, a diminuição do tempo para atingir o equilíbrio da acidez pode evitar a formação de toxina no alimento processado.

Sabe-se que a difusão é um fenômeno de transferência de massa muitas vezes lento. Assim como o ácido tem que penetrar no interior do tecido vegetal, os esporos bacterianos devem seguir o mesmo caminho para atingir um local onde o pH não impeça o seu desenvolvimento. No entanto, somente a difusão do ácido pode não ser o suficiente para causar o abaixamento do pH, visto que o ácido pode interagir com substratos do alimento capazes de inibir sua difusão ou neutralizá-lo.

O objetivo do presente trabalho foi conhecer os parâmetros principais envolvidos na cinética de abaixamento do pH no palmito, com foco na segurança microbiológica dessas conservas armazenadas à temperatura ambiente. Não há comprovação de que a toxina botulínica não possa ser formada durante o intervalo de tempo entre a produção do palmito em conserva e o tempo para a acidificação completa do palmito, até que se atinja pH abaixo de 4,7 uniformemente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Matéria prima

Foram utilizados lotes de 20 hastes do palmito pupunha com idade média de 6 anos, adquiridas de produtores da região de Atibaia – SP, devido à qualidade e proximidade do local de processamento.

Para a escolha dos palmitos a serem utilizados foi demarcada uma área com os mesmos tratos culturais agrícolas e plantas com a mesma idade. Diferenças sutis de iluminação, umidade, adubação ou tipo de solo pode afetar de forma significativa o crescimento e o rendimento do palmito (BOVI et al., 2004). As hastes de palmito pupunha foram colhidas do mesmo produtor e no mesmo local para cada lote de experimentos a fim de diminuir as diferenças da matéria prima.

A remoção das cascas externas foi realizada no campo, conforme instrução do curso de processamento de palmito, descrito por Bernhardt (PASCHOALINO et al., 1997). Esta remoção visou diminuir a quantidade de matéria orgânica a ser transportada, diminuindo dessa forma, o volume e o peso de material a ser transportado, otimizando o transporte e diminuindo o consumo de combustível e gerando menor impacto na destinação desse material no local de processamento. As folhas externas foram picadas e deixadas no local do plantio, onde naturalmente volta a se incorporar ao solo. Foram deixadas duas bainhas de folhas nas hastes para proporcionar proteção mecânica contra quebras e diminuir a perda de umidade da matéria prima desde o corte até o seu processamento.

A cultivar selecionada para o experimento foi de pupunha sem espinho, cujo cultivo comercial é o recomendado, em detrimento de cultivares com espinho. A Figura 7 mostra o palmito pupunha no local de cultivo e a

importância do perfilhamento para a extração contínua do palmito. Enquanto uma haste já apresenta tamanho comercial para seu corte, existem outras hastes em diferentes etapas de crescimento. Dessa forma, se o palmito leva 2 anos para atingir seu ponto de corte, já existem algumas hastes com idades intermediárias, diminuindo o tempo necessário ao novo corte do palmito. A haste aproveitada para o processamento do palmito é retirada do interior da parte entre o caule e as folhas, no local destacado na Figura 7(a).



(a) Pupunha no campo



(b) Perfilhamento de pupunha

Figura 7: (a) Palmito pupunha no campo e (b) Corte de palmito pupunha com idade comercial

O transporte da matéria prima ao local de armazenamento e processamento foi realizado em 1 hora, protegido contra vento e sol direto. As hastes permaneceram armazenadas em câmara fria a 5 °C por 2 a 3 dias antes da retirada das últimas cascas para evitar fissuras do tolete de palmito. Cada haste forneceu de 2 a 4 toletes de palmito, sendo normalmente aproveitados

de 1 a 3 toletes de cada haste. Devido à retirada das camadas externas conforme estas apresentam fibras duras, notadas durante o corte dos toletes no sentido apical, o tolete apresenta uma diminuição do diâmetro com a aproximação da parte próxima às folhas.

A Figura 8 mostra a haste de palmito pupunha somente com as duas bainhas externas, da forma como foram transportadas e preparadas para o processamento. Na parte esquerda (parte basal da haste) localiza-se o “coração” do palmito, que se desenvolverá em caule da palmeira. O tolete localiza-se na parte superior do palmito e dará origem às folhas.



Figura 8: Recebimento das hastes de palmito pupunha

As duas cascas externas foram retiradas logo antes do processamento, para proteção mecânica e minimizar a perda de água por evaporação durante a estocagem.

3.1.2 Corte e processamento de toletes

Para o corte e o processamento do palmito, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Facas e luvas de proteção;

- Gabarito para corte de toletes com 9 cm de comprimento, régua e paquímetro;

- Balança semi-analítica MICRONAL, modelo B4000;

- Medidor de pH SCIENTIFIC INSTRUMENTS, modelo IQ150 e sensor ISFET, modelo PH47-SS;

- Ácido cítrico comercial, grau alimentício, marca CARGILL;

- Vidrarias de laboratório: bureta de 50 mL, béquer de 150 mL e balão volumétrico de 250 mL para realização das curvas de titulação.

Embalagens: potes de vidro de 600 mL, com tampa metálica com diâmetro 85 mm;

Liquidificador doméstico;

Agitador magnético;

Tacho encamisado, com vácuo, marca GROEN;

Fogão industrial;

Câmara refrigerada, com temperatura controlada para 5 °C.

Os toletes foram recebidos com duas folhas de proteção, que foram retiradas com o auxílio de um facão. A retirada da folha externa foi sempre realizada a partir da parte apical da haste, somente uma folha por vez.

Primeiramente o facão era encostado na parte superior da haste, no local mostrado na Figura 9. A linha contínua mostra a localização do primeiro corte ao longo do comprimento, para retirada da primeira bainha externa. A linha tracejada mostra a localização para o posicionamento do facão para a retirada da segunda bainha, após a retirada da camada anterior.

O facão deve se localizar na parte mais espessa da folha, de modo a dividir o tecido em duas partes com menor espessura que, após este procedimento com o facão, pudessem ser retiradas manualmente sem dificuldades e sem perigo de quebra do tolete.

Esta etapa foi realizada com a utilização de luvas de proteção, pois embora a cultivar de palmito fosse sem espinho, era possível a presença esporádica de espinhos, que permanecem voltados para a parte apical, oposta ao sentido do facão, além de se evitar cortes devido ao uso do facão.

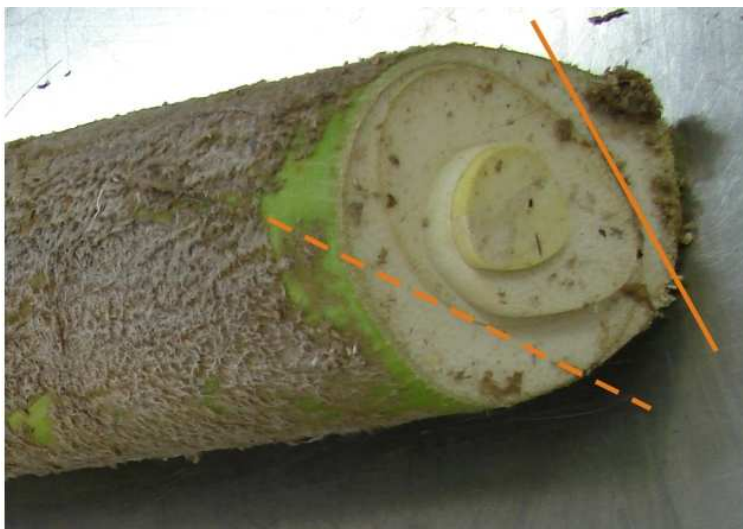


Figura 9: Localização dos cortes para retirada das folhas externas da haste de palmito

O corte dos toletes foi realizado sempre a partir da parte basal no sentido apical. Quanto mais o corte evolui no sentido apical, maior a chance do tecido externo do tolete desenvolver dureza, em virtude do aumento de fibras, na formação de folhas da palmeira. Na constatação de tecido externo com dureza acima do aceitável (BRASIL, 1999), foi retirada uma casca externa e continuou-se o corte em toletes com tamanhos de 9 cm, ou valores pré-estabelecidos para as avaliações específicas.

O tecido fibroso é segregado, pois o seu cozimento não acarreta no amaciamento, mas a perda da consistência dos tecidos macios, o que é indesejado. Na prática industrial, partes não fibrosas que não constituem um tolete são aproveitados em pequenos pedaços e comercializados na forma de picados ou cubos, mas não é objeto do presente estudo

A Figura 10 mostra a região de transição dos tecidos da parte basal fibrosa, do "coração" e do início do tolete. Pode-se observar que o diâmetro do "coração" de palmito é superior ao do tolete, pois para o aproveitamento do tolete, é necessária a retirada das camadas externas fibrosas.



Figura 10: Base do tolete

A Figura 11 mostra a região apical onde cessa a possibilidade do corte de toletes de palmito, pois o tecido externo não envolve mais os internos. Existe uma região entre o tolete e as fibras das folhas em que o tecido é macio, podendo ser aproveitado na forma de picados.



Figura 11: Região de término do corte dos toletes de palmito

A legislação brasileira estabelece que o comprimento dos toletes não seja superior a 95 mm (BRASIL, 1999). A cada lote, foram cortadas 10 hastes de palmito antes da pesagem. Após a retirada das cascas externas, os toletes foram cortados no comprimento pré-determinado ao estudo e deixados imersos em água por no máximo 30 minutos.

Para a pesagem do palmito nos potes, é necessário se ter uma diversidade de diâmetros de toletes, que implicarão em diferentes pesos. No caso do palmito nacional, onde a diferença do diâmetro do tolete próximo à parte apical é significativamente menor que o diâmetro próximo à parte basal, este fato deve ser levado em conta, para se conseguir um enchimento adequado do pote. Em palmeiras jovens, o tolete possui diâmetro menor, com menor variação. A importância de se padronizar a faixa de peso drenado de palmito visa atender à legislação (limite mínimo de produto) e à segurança microbiológica (pH de equilíbrio $\leq 4,5$). Na primeira parte do trabalho

trabalhou-se com 200 g de palmito, para minimizar a diluição da salmoura ácida. Nos testes finais, com pH próximo a 4,5, foram pesados de 310 a 330 g de palmito em cada pote.

Para cada lote recebido foram realizadas curvas de titulação em duplicata, conforme procedimento descrito por Zapata & Quast (1975) para caracterização da matéria prima, verificar se houve alteração significativa entre os lotes e preparo da concentração de ácido na salmoura.

Após o preparo da salmoura, esta foi adicionada fria ao produto. Existem vantagens na adição da salmoura previamente aquecida, com diminuição do tempo no tacho de cozimento e minimização do perigo de choque térmico, quando se trabalha com potes de vidro. No presente trabalho, foi avaliado o pior caso, onde o tempo de cozimento é maior.

Após o enchimento com a salmoura ácida até 1 a 2 mm da borda, os potes foram fechados com tampas metálicas de modo a permitir a saída de ar durante o cozimento do produto e garantir a vedação durante o resfriamento, quando ocorre a formação de vácuo parcial no interior da embalagem.

3.2 Estudos preliminares

3.2.1 Avaliação da aplicação de vácuo

A aplicação de vácuo é uma técnica bastante utilizada para aumentar a velocidade de penetração de xaropes na elaboração de frutas cristalizadas ou impregnação de substâncias presentes na solução. O objetivo desta etapa foi avaliar se existia aumento significativo da taxa de transferência de massa com a aplicação de vácuo no produto não cozido. Esta avaliação foi realizada em tacho encamisado GROEN, com capacidade para 30 litros.

A Figura 12 mostra os pontos onde o pH foi avaliado após a aplicação de vácuo, com os toletes de palmito com diâmetro 3 cm e comprimento 9 cm imersos em solução com 2% de ácido cítrico.

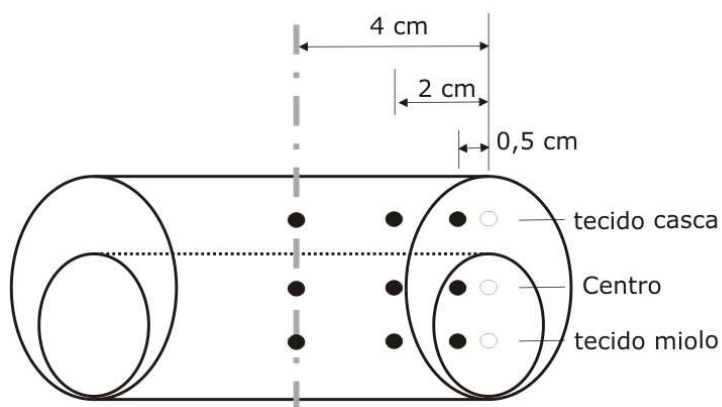


Figura 12: Identificação de pontos para leitura de pH após aplicação de vácuo

Um vácuo de 0,80 bar foi aplicado por 1 minuto nos primeiros experimentos.

No segundo experimento, toletes não cozidos foram submetidos a 10 repetições de pulsos de vácuo de 0,80 bar, atingido após 5 segundos, permanecendo por mais 5 segundos nesta condição, seguida de quebra do vácuo por 5 segundos.

A água utilizada foi previamente desaerada por aquecimento até ebulição, seguido de resfriamento em repouso e utilização imediatamente em seguida.

O volume de ar ocluído no interior dos tecidos foi medido com o auxílio de um funil de vidro e uma proveta, que foram fixadas acima dos toletes, para coleta do ar durante a aplicação do vácuo.

3.2.2 Cinética acelerada com solução a 2% de ácido cítrico

Com o objetivo de facilitar o entendimento do fenômeno de transferência de massa durante a acidificação do tolete, foram realizadas avaliações aceleradas da cinética de acidificação de toletes com 9 cm de comprimento, utilizando-se solução com 2% de ácido cítrico. A utilização de uma pequena quantidade de produto e uma elevada concentração de ácido na solução objetivou evitar a alteração significativa do pH da solução durante a acidificação do tolete, pois neste caso, a quantidade de ácido é muito superior

ao poder tamponante do vegetal, permitindo dessa forma, retirar a variação do pH da solução nesta etapa do estudo.

Foi realizado planejamento composto completo 2^3 , com 4 repetições no ponto central, onde os parâmetros estudados foram: comprimento de leitura (axial), diâmetro de leitura (comprimento radial) e diâmetro do tolete, conforme apresentada na Tabela 1. O comprimento de leitura foi definido como a distância a partir do centro do tolete; o diâmetro de leitura foi definido como apresentado na Figura 13.

Tabela 1: Variáveis utilizadas no planejamento experimental

Variáveis controladas	- α	- 1	0	+ 1	+ α
Comprimento de leitura (cm)	0	0,8	2	3,2	4
Diâmetro de leitura (cm)	-1,1	-0,65	0	0,65	1,1
Diâmetro do tolete (cm)	2,2	2,44	2,8	3,16	3,4

Foi adicionado, em cada frasco de processamento, 1 tolete com comprimento de 9 cm e com os diâmetros pré-definidos, em solução 2% de ácido cítrico. As leituras foram realizadas logo após o processamento e a cada semana por 4 semanas após o processamento. No total foram processados 90 frascos.

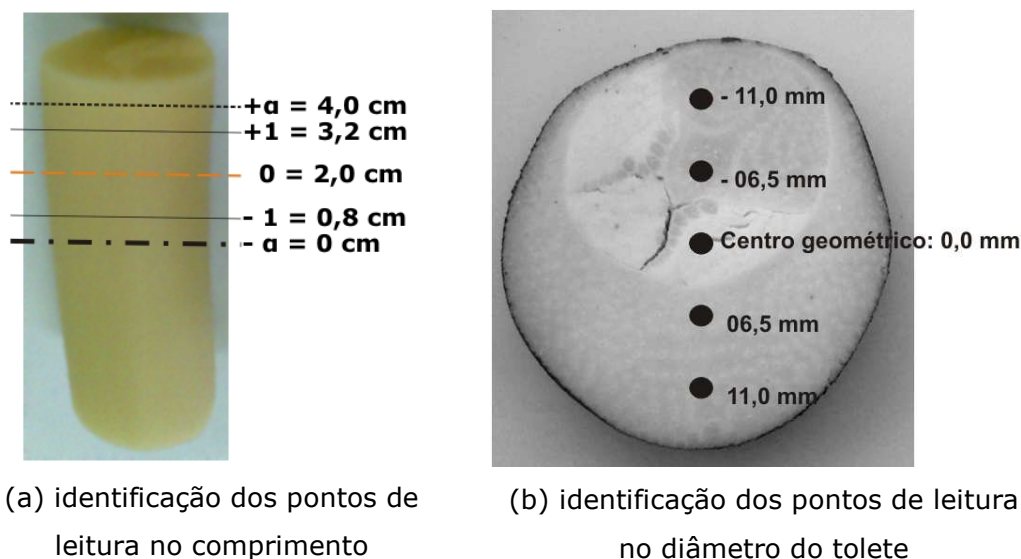


Figura 13: Identificação dos pontos de leitura do pH (a) no comprimento e (b) no diâmetro dos toletes

A codificação foi utilizada para montar uma superfície de resposta com o objetivo de determinar qual o ponto de menor taxa de acidificação e se existem diferenças significativas das velocidades de acidificação nos diferentes pontos do tolete.

O planejamento experimental completo é mostrado na Tabela 2 e as análises foram realizadas em ordem aleatória, nos tempos: 1 dia; 1 semana; 2 semanas; 3 semanas e 4 semanas após o processamento.

Tabela 2: Delineamento composto central, tendo-se como resposta o pH nos pontos pré-definidos de leitura e tempos de armazenamento

Variáveis codificadas			Variáveis não codificadas		
Comprimento de leitura	Diâmetro de leitura	Diâmetro do tolete	Comprimento de leitura	Diâmetro de leitura	Diâmetro do tolete
- 1	- 1	- 1	0,80	-0,65	2,64
+ 1	- 1	- 1	3,20	-0,65	2,64
- 1	+ 1	- 1	0,80	0,65	2,64
+ 1	+ 1	- 1	3,20	0,65	2,64
- 1	- 1	+ 1	0,80	-0,65	3,36
+ 1	- 1	+ 1	3,20	-0,65	3,36
- 1	+ 1	+ 1	0,80	0,65	3,36
+ 1	+ 1	+ 1	3,20	0,65	3,36
- α	0	0	0,00	0,00	3,00
+ α	0	0	4,00	0,00	3,00
0	- α	0	2,00	-1,10	3,00
0	+ α	0	2,00	1,10	3,00
0	0	- α	2,00	0,00	2,40
0	0	+ α	2,00	0,00	3,60
0	0	0	2,00	0,00	3,00
0	0	0	2,00	0,00	3,00
0	0	0	2,00	0,00	3,00
0	0	0	2,00	0,00	3,00

Para verificar se existe diferença da difusividade entre os tecidos, foram realizadas análises de pH em 5 pontos pré-determinados, mostrados na Figura 14 nos 4 toletes com as repetições no ponto central.

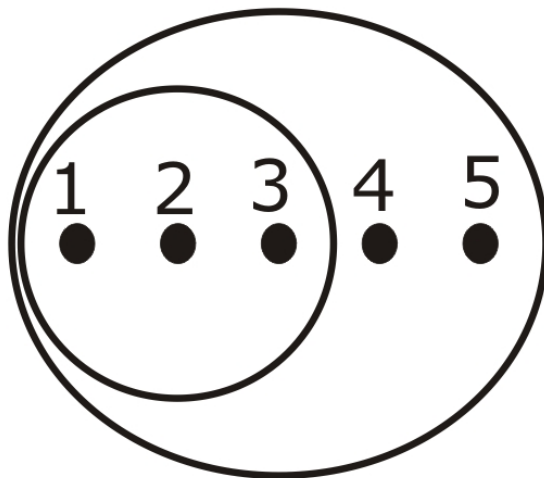


Figura 14: Identificação dos pontos de leitura do pH nos toletes em solução 2% ácido cítrico

A diferença significativa do pH em cada período foi comparado através do teste de Tukey a 95%, utilizando-se programa Statistica® versão 5.5.

3.2.3 Estudo do poder tamponante dos tecidos constituintes do tolete

Com o objetivo de verificar se existia diferença no poder tamponante das diferentes partes do palmito, foram realizadas curvas de titulação com porções diferentes do tolete e verificada se as quantidades de ácido necessária para o abaixamento do pH são diferentes entre si.

Para isso, foram separados toletes superiores, na extremidade apical e toletes inferiores, na extremidade basal. Os tecidos foram separados em: miolo e folha externa. Para cada curva de titulação, foram utilizados 3 toletes.

A massa dos 3 toletes foi anotada, adicionada o dobro da massa de água destilada e em seguida triturado no liquidificador. Em seguida, uma amostra de 100 gramas foi utilizada para titulação com solução de NaOH 5%. O volume de

solução utilizado e o pH foi anotado desde o valor inicial até pH 3,8. Foram realizadas 7 repetições para cada curva de titulação.

As análises da variância foram realizadas utilizando programa Statistica® versão 5.5 e as diferenças dos resultados de pH foram analisadas de acordo com Tukey a 95%.

3.2.4 Cinética de acidificação do tolete nos sentidos axial e radial

Para o estudo da cinética de acidificação nos sentidos axial e radial, os toletes foram separados em parte superiores (apical) e inferiores (basal) para diminuir a diferença da composição dos tecidos.

O tecido externo, que envolve as folhas internas, foi separado do tecido interno, com o objetivo de avaliar a cinética de acidificação nessas duas camadas que se diferenciam em sua estrutura e composição.

Para a avaliação da cinética de acidificação no sentido radial, as extremidades foram impermeabilizadas para se isolar as difusões no sentido axial. Em diferentes toletes, foram utilizados dois tipos de material impermeabilizante: esmalte incolor para unhas, marca Colorama; adesivo de silicone RTV para altas temperaturas, marca Loctite.

A aplicação do esmalte foi feita à temperatura ambiente, após a secagem superficial do tolete utilizando papel absorvente, sem aplicação de pressão. Após a aplicação de uma única camada de esmalte, o tolete foi deixado secar em temperatura ambiente sem ventilação por 30 minutos antes da imersão em solução.

A aplicação do silicone foi realizada de forma semelhante à aplicação do esmalte, sendo necessário aguardar 2 horas antes de sua imersão em solução.

O pH foi analisado após os tecidos permanecerem imersos em solução 10% ácido cítrico por 4 horas. Estudos preliminares mostraram que a imersão em solução 10% ácido cítrico por 4 horas o pH encontra-se no meio da curva

de acidificação, tendo apresentado decréscimo significativo do pH, estar em equilíbrio com o meio.

Para a avaliação da difusão do ácido no sentido radial, foi utilizada a convenção mostrada na Figura 15.

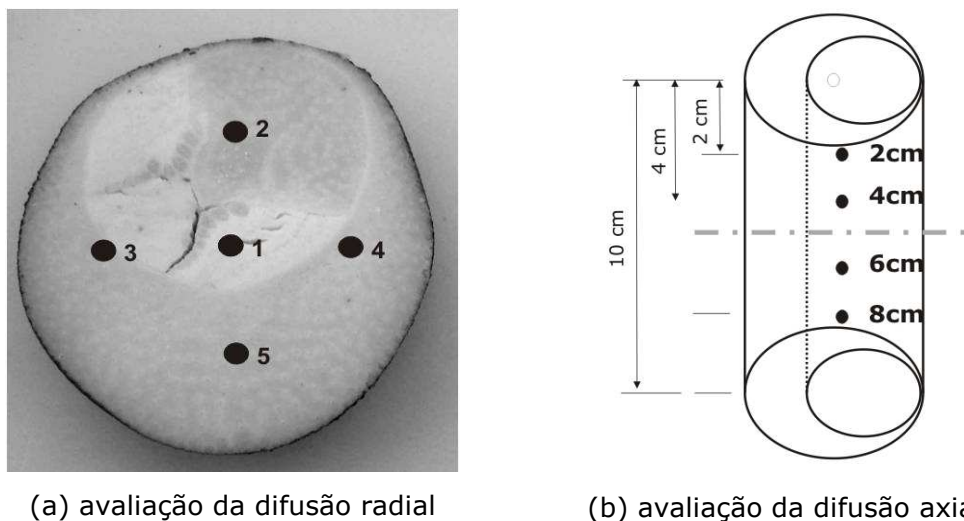


Figura 15: Identificação dos pontos utilizados para avaliação da difusão nos sentidos axial e radial

Para a avaliação da cinética de acidificação no sentido axial, as laterais dos tecidos foram impermeabilizadas seguindo o mesmo procedimento aplicado à vedação das extremidades. Os valores de pH foram medidos no eixo central do tolete com comprimento de 10 cm (ponto 1 da Figura 15a), nos pontos: 2, 4, 6 e 8 cm a partir da extremidade superior do tolete.

3.3 Tratamento térmico

Para avaliação do tratamento térmico no produto, foram utilizadas 3 termopares tipo T, com ponta metálica, transmitindo continuamente por cabo a temperatura para um coletor de dados ELLAB A/S Krondalvej 9, DK-2610 Roedovre, Denmark, modelo TM 9616, utilizando software E-ValTM Versão 2.00.

Um dos termopares foi imerso na água do tacho, para monitorar a temperatura da água de aquecimento. Outro termopar foi mergulhado na salmoura, no interior do pote.

O terceiro termopar foi espetado até que a ponta ficasse localizada no centro geométrico do tolete, onde, no caso de alimentos sólidos, é onde se localiza o “ponto frio” do produto, onde o tempo necessário para a transmissão de calor é máximo.

Os dados de temperatura foram exportados a cada 30 segundos para planilha de Microsoft® Office Excel 2003 e compilação dos resultados na forma gráfica.

3.4 Avaliação da difusão de corante

O objetivo desta etapa foi visualizar a difusão do corante no tecido vegetal, para um melhor entendimento dos fenômenos de transporte que ocorrem no palmito cortado em toletes. Esta avaliação foi auxiliada com o uso de uma câmera digital Sony DSC-H2 sem uso de flash, sob condições controladas de iluminação. As fotos foram exportadas para computador, onde as fotos puderam ser ampliadas de modo a permitir uma melhor visualização dos detalhes.

Corante vermelho Bordeaux foi utilizado na quantidade de 100 ppm. Este foi pesado e adicionado diretamente à solução e apresentou facilidade para sua dissolução.

Nas avaliações de penetração do corante em vidros de palmito já processados, adquiridos no mercado, foi adicionado conservador (natamicina – 200 ppm) para inibir o crescimento microbiológico. Os toletes foram retirados depois de transcorridos períodos pré-determinados de tempo (2 horas, 3, 5, 10, 14, 21 e 31 dias) e cortados no sentido axial e radial para avaliação da penetração do ácido no interior dos toletes.

O corte para a avaliação da difusão de ácido no sentido radial foi realizado em discos de tolete, cortados transversalmente com 5 milímetros de espessura.

A Figura 16 apresenta o aspecto inicial dos toletes imersos em salmoura e adicionado corante para avaliação da velocidade de penetração do corante nos toletes.



Figura 16: Aspecto inicial da adição de corante na salmoura contendo toletes de palmito

3.5 Cinética de acidificação para pH de equilíbrio de 4,5

3.5.1 Acidificação de toletes

Para as análises de pH na solução e no interior dos toletes, foram utilizados:

Facas e luvas de proteção;

Régua e paquímetro;

Medidor de pH SCIENTIFIC INSTRUMENTS, modelo IQ150 e sensor ISFET, modelo PH47-SS.

Para avaliação do pH, não foram adicionados corante, que poderia interagir de alguma forma com o ácido. A presença de sal pode afetar a

medida do pH, por isso não foi utilizado. Comercialmente se utiliza até 2% de sal na salmoura ácida, mas com objetivo único de conferir sabor agradável.

O pH foi medido diretamente no tolete. O sensor de pH, em inox, formato de agulha, possui diâmetro de 3,5 mm e foi imerso 6,0 mm para leitura do pH nas amostras.

Primeiramente foram realizadas curvas de titulação para verificar a concentração de ácido necessária na solução para se obter um pH final de equilíbrio 4,3.

Em tempos pré-determinados, até 30 dias, o pH foi analisado em 6 pontos, mostrados na Figura 17. Foram analisados 6 toletes diferentes em cada momento e as diferenças foram analisadas conforme Tukey a 95% para verificar se eram significativas entre si.

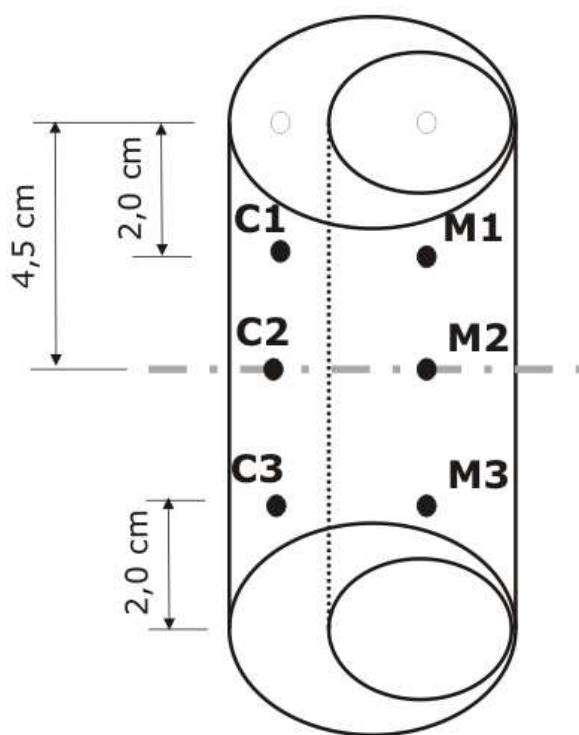


Figura 17: Identificação dos pontos de leitura do pH na cinética de acidificação a pH de equilíbrio 4,5

Os pontos de leitura foram identificados como:

C = casca, tecido externo que envolve as folhas internas;

M = miolo, tecido interno constituído pelas folhas internas em desenvolvimento;

1 = porção localizada a 2 cm da extremidade superior do tolete;

2 = porção localizada no centro do tolete a 4,5 cm das extremidades;

3 = porção localizada a 2 cm da extremidade inferior do tolete.

3.5.2 Acidificação do tecido homogêneo ("coração")

Para a avaliação da penetração do ácido em um tecido vegetal homogêneo, o coração do palmito (parte inferior ao tolete) foi cortado em cubos de 4 cm de arestas. Foram colocados 2 cubos em cada vidro e adicionado solução contendo ácido em quantidade suficiente para garantir um pH final de equilíbrio de 4,5.

O acompanhamento do pH foi realizado em tempos pré-determinados, nos pontos identificados conforme ilustrado na Figura 18.

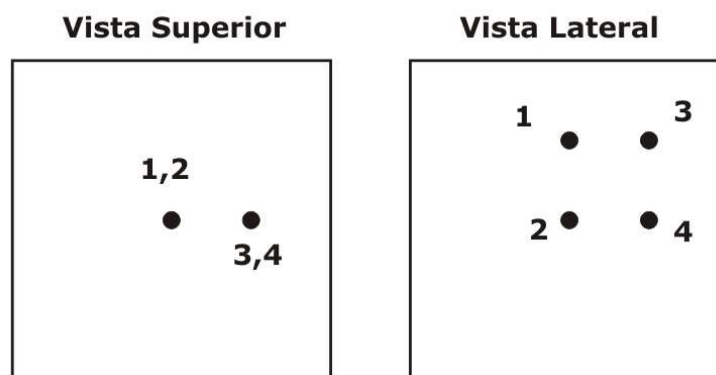


Figura 18: Identificação dos pontos de leitura do pH em cubos de "coração de palmito"

Os dados foram compilados em planilha eletrônica do programa Microsoft® Office Excel, versão 2003 e as curvas de acidificação foram comparadas às curvas obtidas na acidificação dos toletes.

3.6 Avaliação microbiológica

Para a validação microbiológica dos resultados obtidos, foram utilizados esporos de *Clostridium sporogenes* (cepa da referência PA 3679, mantida pela Unidade Laboratorial de Microbiologia, CCQA-ITAL), que possui resistência térmica e condições para o crescimento semelhante ao *Clostridium botulinum*. Porém, os micro-organismos utilizados somente produzem gás, o que pode ser facilmente medido ou observado, sem o perigo da geração de toxinas.

Os esporos foram produzidos em meio contendo duas fases, uma fase inferior sólida constituída de meio de carne cozida em concentração dupla (300 mL), ágar (4,5 g) e glicose (0,3 g) e uma fase superior líquida, constituída de 40 mL de água destilada estéril, pré-reduzida (PECK et al., 1992).

Após a produção de esporos de PA 3679, estes foram mantidos em suspensão em ambiente refrigerado para utilização ao longo do trabalho.

3.6.1 Diferentes comprimentos de toletes

Toletes foram cortados com diferentes comprimentos, de 2 a 9 cm. Após a pesagem, estes foram acondicionados em vidro, adicionada água contendo suspensão de esporos de PA 3679 previamente purificados, com concentração pré-definida de 10^3 UFC/mL, mantidos por 6 horas sem agitação para permitir a penetração passiva de esporos no interior do tolete.

Em seguida, essa suspensão foi drenada em balde metálico para posterior esterilização em autoclave e substituída por solução contendo ácido na concentração calculada pela curva de titulação, para um pH de equilíbrio entre 4,3 e 4,5. Os potes foram então fechados e pasteurizados segundo as práticas normais de processamento de palmito comercial (Paschoalino et al., 1997; BRASIL, 2003). O cozimento foi realizado em tacho aberto em ebulição. Como se trabalhou com salmoura à temperatura ambiente, a temperatura inicial da água de aquecimento não ultrapassou 40 °C, para evitar trincas dos potes de vidro por choque térmico. A temperatura da água do tacho aumentou

aproximadamente 4 °C/minuto, até ebulição. Os potes foram mantidos totalmente imersos por 40 minutos, a contar do início da ebulição da água de aquecimento. Durante o tratamento térmico, ocorreu a ativação dos esporos e crescimento vegetativo, no caso de não haver inibição pelo ácido.

Decorrido o tempo de processamento térmico, foi adicionado água a temperatura ambiente pelas laterais internas do tacho, para uma redução da temperatura da água a aproximadamente 5 °C/minuto. Os potes foram mantidos imersos em água corrente por mais 1 hora depois de atingida temperatura ambiente.

Após o resfriamento, os vidros foram secos e colocados em estufa com temperatura controlada a 35 °C por até 10 dias, sendo observados diariamente quanto à formação de bolhas no interior do vidro ou quebra do vácuo ao final deste período.

3.6.2 Avaliação do pH de inibição

Para avaliação do pH de inibição para o desenvolvimento de esporos de PA 3679, foram triturados toletes de palmito e adicionado ácido até atingir pH de 4,4 a 5,2. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada pH: 4,4; 4,6; 4,8; 5,0 e 5,2. Além das diferentes quantidades de ácido adicionadas, adicionaram-se esporos na mesma proporção em um vidro sem adição de ácido, como referência.

Foram adicionados aos potes aproximadamente 400 mL de palmito triturado com água, previamente acidificado com ácido cítrico. Em seguida, foram adicionados aproximadamente 100 mL de suspensão contendo 10^3 UFC/mL de esporos de PA 3679, completados com água até a borda do pote e logo em seguida fechados e pasteurizados.

Após o resfriamento, os vidros codificados foram deixados em estufa a 35 °C por até 15 dias, para verificar a formação de gás, que indicaria o desenvolvimento do esporo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Preparo da matéria prima

O palmito pupunha não escurece rapidamente por ação enzimática como outras palmeiras, mas logo após o corte dos toletes, estes foram mantidos imersos em água para evitar contato com o ar.

O rendimento médio foi de 2 a 3 toletes de 9 cm por haste de pupunha. Em massa, correspondeu a aproximadamente 300 g de tolete (incluindo picados) e 350 g de tecido homogêneo.

4.2 Estudos preliminares

4.2.1 Avaliação da aplicação de vácuo

A Figura 19 apresenta os resultados preliminares da aplicação de vácuo como alternativa para aumentar a velocidade de acidificação do tolete de palmito. Os resultados apresentados referem-se à medida do pH em diferentes tecidos e distâncias da extremidade. Observa-se o abaixamento do pH somente a 0,5 cm da extremidade do tolete.

Foram avaliadas duas formas distintas de aplicação de vácuo: vácuo contínuo de 0,80 bar por 60 segundos; vácuo em pulsos de 10 segundos, com 10 repetições.

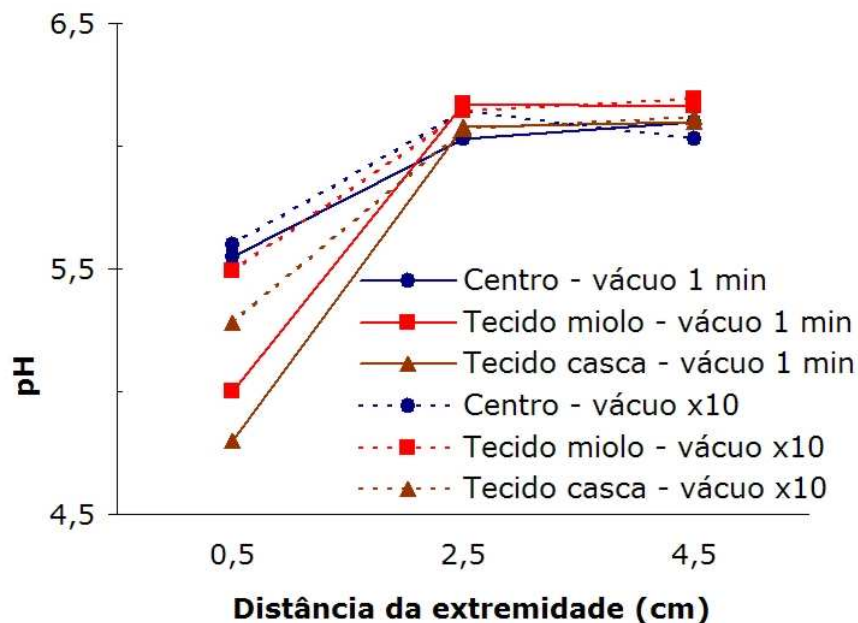


Figura 19: Abaixamento do pH em diferentes distâncias e tecidos de palmito "in natura", após aplicação de vácuo

Observa-se que houve uma diminuição do pH somente na região próxima às extremidades do tolete. A uma distância de 2,5 cm da extremidade, a aplicação de vácuo mostrou-se totalmente ineficaz para aumentar a velocidade de acidificação.

Na aplicação de vácuo, o ar retirado do interior dos tecidos dos toletes de palmito pupunha foi de 5,8%. Este valor encontra-se abaixo dos dados relatados por Paschoalino et al. (1978), que obtiveram 8% de ar no interior dos tecidos. Com estas informações, pode-se prever que a exaustão com aplicação de 10 repetições de vácuo por 10 segundos, com intervalos de 5 segundos, ou de vácuo por 1 minuto não devem ter retirado todo o ar do interior dos tecidos, como ocorre durante o processamento térmico, no caso de vidros com tampa de rosca, que aliviam a pressão durante o cozimento.

A Figura 20 mostra a lenta penetração do corante somente com a utilização de vácuo por 1 minuto em toletes de palmito "in natura". O corante apresentou comportamento semelhante às análises de pH. No interior dos toletes não houve indícios da penetração do corante.

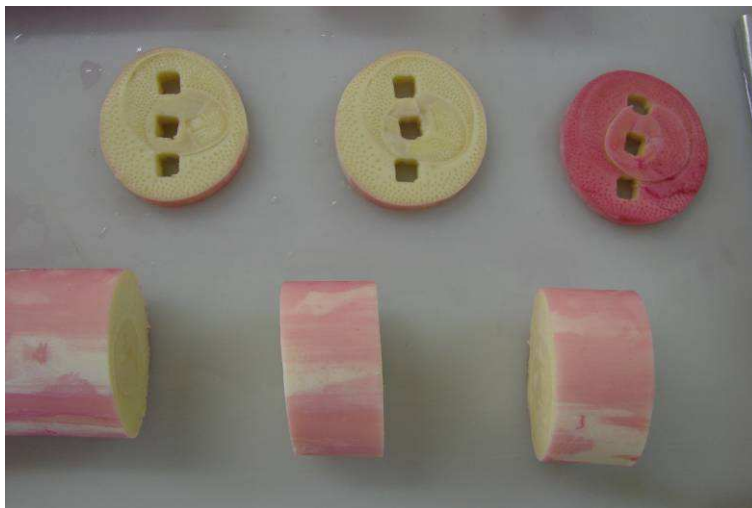


Figura 20: Coloração de cortes de palmito “in natura” após aplicação de vácuo

Observa-se que a utilização de vácuo resultou no decréscimo do pH somente nas extremidades dos toletes. Esta desaeração ocorre normalmente durante a pasteurização do palmito. No entanto, a desaeração durante o processamento térmico, apresenta o inconveniente da saída de solução contendo ácido e sal do interior dos vidros para o banho. Esta mistura ácida e salgada submetida a temperaturas de ebulição acelera a corrosão de tubulações e equipamentos e geração de efluentes que acarretam em custos econômicos ou ambientais.

A aplicação do vácuo é realizada durante um período curto de tempo, porém, requer um significativo investimento. Avaliando-se o custo para a aquisição e manutenção de equipamentos para a aplicação de vácuo em comparação com os custos para o tratamento dos efluentes contendo sal e ácido e manutenção dos tanques de cozimento, a aplicação de vácuo foi retirada do estudo.

4.2.2 Cinética acelerada com solução a 2% de ácido cítrico

Os resultados do abaixamento do pH são apresentados na Tabela 3. As leituras foram realizadas de forma aleatória, identificados pelos números sobrescritos.

Tabela 3: Delineamento composto central, tendo-se como respostas o pH nos pontos pré-definidos de leitura e tempos de armazenamento.

Variáveis não codificadas			Respostas				
Comprimento de leitura	Diâmetro de leitura	Diâmetro tolete	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
0,80	-0,65	2,64	3,93 ¹⁶	3,13 ¹³	2,95 ¹²	3,16 ¹	3,07 ¹¹
3,20	-0,65	2,64	3,41 ⁴	3,06 ¹¹	3,02 ¹	2,98 ¹³	3,10 ¹⁰
0,80	0,65	2,64	3,45 ¹⁵	3,31 ¹²	3,11 ⁵	3,03 ¹⁶	3,03 ¹⁴
3,20	0,65	2,64	3,36 ⁹	3,21 ⁷	2,91 ¹³	3,04 ⁵	3,12 ¹
0,80	-0,65	3,36	4,73 ⁶	3,51 ³	3,06 ⁹	3,04 ¹²	3,12 ³
3,20	-0,65	3,36	3,46 ⁵	3,08 ¹⁸	3,00 ¹⁴	3,12 ¹⁰	3,18 ⁸
0,80	0,65	3,36	3,55 ¹⁸	3,27 ⁶	3,06 ¹⁶	3,10 ⁴	3,22 ⁶
3,20	0,65	3,36	3,29 ⁸	3,46 ²	2,96 ¹¹	3,14 ¹¹	3,15 ⁷
0,00	0,00	3,00	4,83 ⁷	3,31 ¹⁴	3,00 ¹⁷	3,19 ¹⁷	3,01 ²
4,00	0,00	3,00	3,92 ¹⁷	3,19 ¹	3,04 ⁸	3,24 ⁹	3,03 ¹²
2,00	-1,10	3,00	3,54 ¹²	3,27 ⁵	3,05 ⁶	3,32 ¹⁴	3,16 ¹⁷
2,00	1,10	3,00	3,32 ¹¹	3,05 ¹⁰	3,08 ³	3,14 ⁸	3,09 ⁵
2,00	0,00	2,40	4,26 ¹⁰	3,11 ⁸	2,91 ⁷	2,97 ⁷	3,02 ⁴
2,00	0,00	3,60	3,61 ²	2,99 ¹⁷	3,05 ³	3,22 ³	3,17 ¹⁵
2,00	0,00	3,00	3,74 ¹	3,53 ⁴	3,05 ¹⁸	3,06 ¹⁸	3,13 ¹⁸
2,00	0,00	3,00	3,84 ¹⁴	3,11 ¹⁵	3,09 ⁶	3,16 ⁶	2,99 ¹⁶
2,00	0,00	3,00	5,60 ³	3,03 ¹⁶	3,06 ¹⁵	3,04 ¹⁵	3,16 ¹³
2,00	0,00	3,00	3,40 ¹³	3,60 ⁹	3,11 ²	3,16 ²	3,20 ⁹

A Tabela 4 apresenta os resultados da Análise de Variância (ANOVA) das respostas do delineamento experimental utilizado, logo após o tratamento térmico e resfriamento. Não foi possível continuar as análises pois as variações

dos resultados em virtude dos erros aleatórios ou não controlados foram superiores aos parâmetros, nos limites estudados. Comprova-se isto pelo fato de o valor de F_{tabelado} ser superior ao $F_{\text{calculado}}$.

Tabela 4: ANOVA dos resultados do delineamento composto central 2^3 , logo após o processamento térmico

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado
Regressão Linear	3,2260	9	0,3584	0,80	2,99
Resíduos	3,5781	8	0,4473	7,52	
Erro Puro	2,9291	3	0,9764		
Falta de Ajuste	0,6490	5	0,1298		
Total	6,7752	17			

A Análise de Variância foi realizada para os outros tempos. No entanto, observou-se que existem variações não controladas da matéria prima que exercem influência mais significativa que os parâmetros estudados. Após 1 semana em solução 2% ácido cítrico, o pH no interior dos toletes praticamente entrou em equilíbrio com o pH da solução.

Na avaliação da difusividade do ácido na distância 4,5 cm das extremidades, em palmitos com diâmetro 3,0 cm obtiveram-se os resultados apresentados na Figura 21. Observa-se uma tendência ao maior abaixamento do pH no tecido externo, onde se localizam os pontos 4 e 5, quando comparados aos pontos 1 e 2, igualmente distantes das laterais do tolete. Porém, esta diferença não foi diferente estatisticamente ao nível 90%.

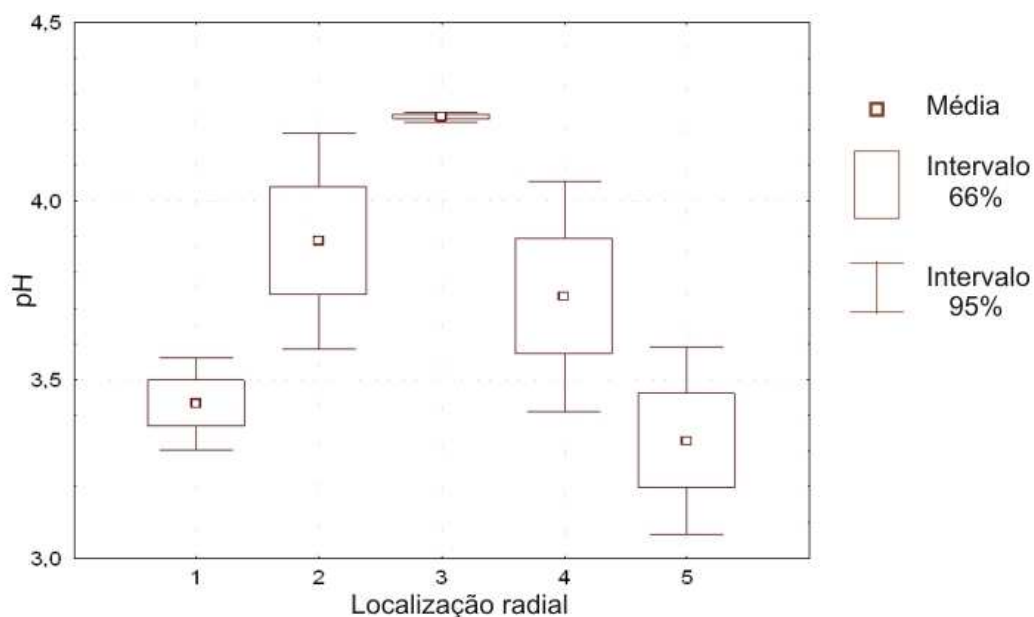


Figura 21: Diferença de pH nos tecidos logo após o processamento, em solução 2% ácido cítrico

Após 1 semana de armazenamento da data de processamento utilizando solução 2% ácido cítrico, não se observou diferença do pH entre os pontos, indicando que provavelmente o equilíbrio já tenha sido atingido neste período com esta concentração de ácido. Os resultados das análises do pH após 1 semana podem ser observados na Figura 22. As análises realizadas nos tempos posteriores apresentaram os mesmos resultados.

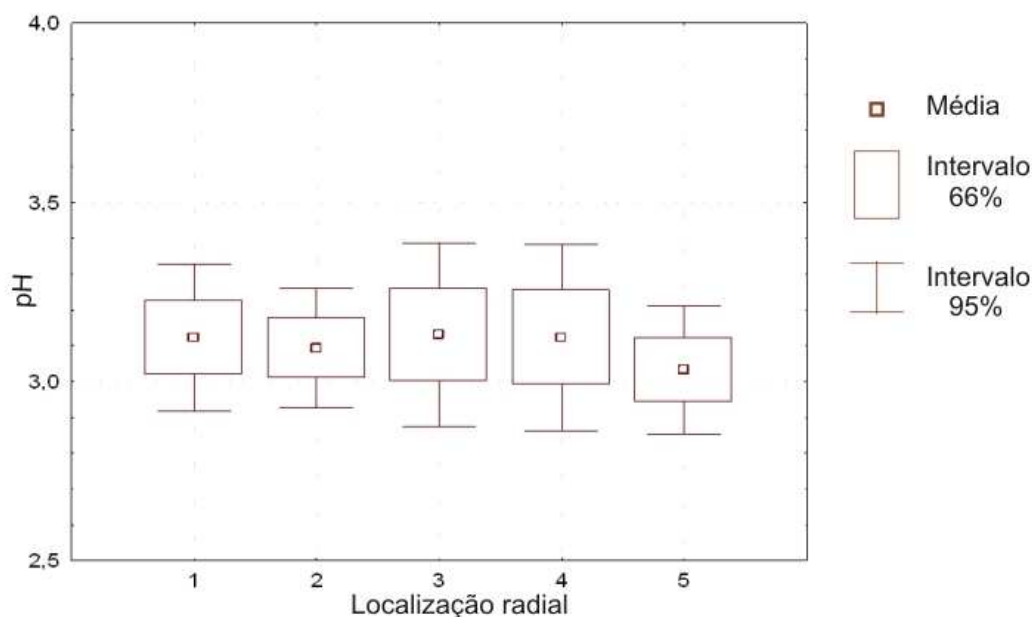


Figura 22: Diferença de pH nos tecidos 1 semana após o processamento, em solução 2% ácido cítrico

Por causa da grande variação encontrada na matéria prima, aprofundaram-se os estudos nas características de cada tecido e de sua localização na haste do palmito: próximo à parte basal ou na parte apical.

Os resultados são apresentados a seguir.

4.2.3 Estudo do poder tamponante dos tecidos constituintes do tolete

Com base nos resultados da cinética de acidificação acelerada, foram realizados estudos mais aprofundados sobre a difusão do ácido cítrico nos tecidos constituintes do palmito, com o objetivo de buscar conhecimentos sobre as variações inerentes à matéria prima estudada.

A diferença do poder tamponante dos tecidos do tolete foi avaliado utilizando teste de Tukey ao nível de 95% de confiança. Os resultados das análises são apresentados na Tabela 5, que compara a quantidade de ácido necessária para o abaixamento do pH do palmito "in natura" para pH 4,5.

Tabela 5: Comparação do poder tamponante dos tecidos de toletes de palmito, avaliado por Tukey a 95%

	Miolo Superior	Miolo Inferior	Casca Superior	Casca Inferior	Meio
g ácido/ 100 g palmito	0,5341	0,6277	0,3157	0,3797	0,4143
Miolo Superior	---	0,4289	0,0031	0,0553	0,2338
Miolo Inferior			0,0002	0,0008	0,0058
Casca Superior				0,7594	0,4177
Casca Inferior					0,9713

Os resultados da Tabela 5 mostram que não existem diferenças significativas entre o poder tamponante dos mesmos tecidos do tolete. A capacidade tamponante dos tecidos do miolo variou de 0,53 a 0,63 gramas de ácido por 100 gramas de palmito. O poder tamponante do tecido externo do tolete foi menor, variando de 0,31 a 0,38 gramas de ácido por 100 gramas de palmito.

Foi observado um maior poder tamponante dos toletes próximos à parte basal do palmito, mas a diferença do poder tamponante destes tecidos e os tecidos próximos à parte apical não apresentaram diferença significativa ao nível 95%.

4.2.4 Cinética de acidificação do tolete nos sentidos axial e radial

A Tabela 6 mostra os resultados do pH médio e a avaliação da diferença, utilizando Tukey 5%. A codificação utilizada foi apresentada na Figura 15. Nota-se que não existe diferença significativa entre os pontos 1 e 2, localizados no tecido do “miolo” do tolete. Porém, o pH no centro do tolete (ponto 1) é significativamente superior ao pH medido no tecido externo do tolete.

A diferença significativa do pH dos diferentes tecidos do tolete sugere que as cinéticas sejam realizadas separadamente para cada tecido, não somente pela sua média. Estes resultados são coerentes com as avaliações

preliminares, utilizando corante para visualização do fenômeno de transferência de massa.

Tabela 6: Análises de pH na difusão radial

		Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5
	pH	5,710	5,443	4,510	4,735	4,637
Ponto 1	5,710	---	0,911	0,011	0,041	0,035
Ponto 2	5,443			0,052	0,181	0,142
Ponto 3	4,510				0,918	0,992
Ponto 4	4,735					0,997

No corte de 4 cm, foi possível observar uma difusão mais acelerada no tecido externo do tolete do que no sentido axial. Porém, existe uma película de barreira à difusão entre os tecidos internos e o tecido externo, evidenciado no corte transversal a 0,5 cm da extremidade do tolete. Estes resultados são similares aos observados na difusão de corante nos ensaios iniciais.

Os resultados mostrados na Tabela 7 mostram que não existe diferença significativa do pH ao longo do comprimento do tolete. Embora não tenha sido observada uma diferença significativa, observou-se uma maior velocidade de acidificação na parte superior do tolete em todas as análises realizadas.

Tabela 7: Difusão axial em toletes de palmito pupunha

		2 cm	4 cm	6 cm	8 cm
	pH	5,125	5,600	5,613	5,500
2 cm	5,125	---	0,276	0,256	0,423
4 cm	5,600			1,000	0,974
6 cm	5,613				0,964

A avaliação da cinética de acidificação dos tecidos interno e externo, mostraram que o tecido externo apresenta rápido decréscimo do pH, em

comparação com o tecido interno. Foi observado um maior acréscimo do pH da solução na parte inferior do recipiente, junto com aumento de 2 °Brix da solução na parte inferior.

4.3 Tratamento térmico

O abaixamento do pH para valores inferiores a 4,7 inibe o desenvolvimento de esporos de bactérias (FDA, 2009), que são destruídos somente pela esterilização do alimento. Porém, somente o abaixamento do pH não é suficiente para garantir a estabilidade do palmito, pois podem ocorrer reações bioquímicas do tecido vegetal ou o crescimento de micro-organismos, que podem alterar diretamente a qualidade do produto, ou metabolizar o ácido, gerando outros compostos e propiciando o aumento do pH, o que pode permitir o desenvolvimento de esporos que estejam presentes no alimento.

A Figura 23 mostra as curvas de aquecimento da água no tacho de aquecimento, da salmoura e da temperatura no centro geométrico de toletes de palmito pupunha com 9 cm de comprimento e 3,2 cm de diâmetro.

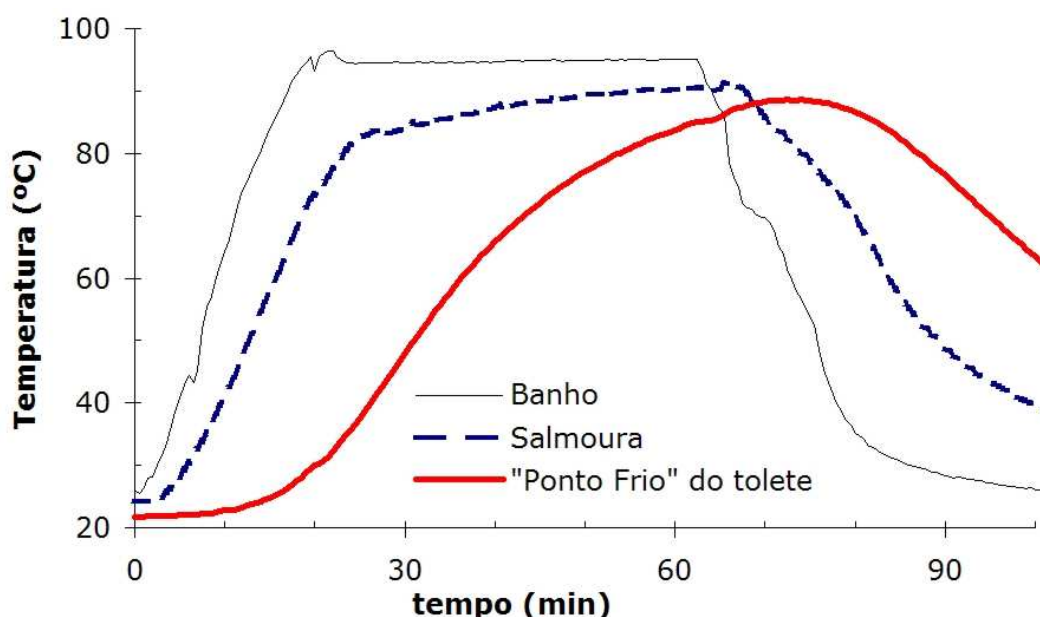


Figura 23: Penetração de calor durante a pasteurização de toletes de palmito pupunha

O levantamento da curva de penetração de calor durante o processamento térmico permitiu o acompanhamento da temperatura no “ponto frio” do produto. No caso de tolete de palmito, que é um produto sólido, este ponto se localiza no centro geométrico do tolete. Isto significa que todas as regiões do produto possuem uma temperatura igual ou superior à do “ponto frio”. Com esse tipo de avaliação, é possível avaliar o tratamento térmico, de modo a permitir a otimização do tratamento térmico, minimizando-se alterações indesejadas na matéria prima.

No processamento térmico do palmito em vidros é comum a utilização do tempo de 30 a 40 minutos após o início da fervura da água do banho. Na Figura 23 observa-se que este início da fervura ocorre 20 minutos após o início do aquecimento. Após 30 minutos de fervura da água do banho, a temperatura da salmoura atinge 90 °C. Neste momento, a temperatura no centro do tolete é de aproximadamente 77 °C. Aos 40 minutos de fervura do banho, a temperatura da salmoura permanece em 90 °C e a temperatura no centro do tolete aumenta para 84 °C. Mesmo após o início do resfriamento do vidro, a temperatura no interior do tolete continua a aumentar por aproximadamente 10 minutos, o que confere segurança quanto à eliminação das formas vegetativas de micro-organismos no produto. Este fato indica a necessidade de se monitorar todo o processo, incluindo a fase de resfriamento para evitar cozimento excessivo do produto.

A letalidade, ou valor F , é uma grandeza utilizada para a representação do efeito do tratamento térmico sobre os alimentos. Esta grandeza indica a intensidade de um tratamento térmico, sendo expressa em minutos e definida a uma temperatura de referência. O valor de F (min) é dado pela Equação 11:

$$F = \int_t^{t_0} 10^{\left(\frac{T-T_{\text{ref}}}{Z}\right)} dt \quad \text{Equação 11}$$

onde: T (°C) é a temperatura do produto no instante t (min);

Para alimentos acidificados, ($\text{pH} \leq 4,5$), o alvo do tratamento térmico são bactérias mesófilas não-esporuladas, como *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli*, leveduras e bolores. Levando-se em conta os micro-organismos mais resistentes relatados por Stumbo (1973), os parâmetros de tratamento térmico a serem adotados na Equação 11 são: temperatura de referência de $65,6\text{ }^{\circ}\text{C}$; $z = 6,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $D_{65,6^{\circ}\text{C}} = 3,0$ minutos.

Dessa forma, para um tratamento 6D, são necessários o equivalente a 18 minutos a $65,6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Conforme mostrado no Anexo A – Cálculo da letalidade no processamento térmico de palmito, após 25 minutos de fervura da água, já se atinge a letalidade necessária para um tratamento 6D de bactérias, bolores e leveduras não esporuladas. Visto que após o resfriamento da água do tacho a temperatura no interior do palmito continua se elevando durante um tempo até o resfriamento da salmoura, nota-se que, nas condições estudadas, 25 minutos após a fervura já garante a eliminação das formas vegetativas de micro-organismos.

O cozimento excessivo pode causar perda nutricional e de textura, além de causar alteração da cor do produto e perda de produtividade.

4.4 Avaliação da difusão de corante

Logo após o processamento, não se observou a penetração do corante de forma significativa no interior do tolete. A Figura 24 apresenta o corte longitudinal e cortes transversais, com espessura de 5 mm para permitir a visualização da difusão do corante no tolete. No corte longitudinal observa-se a penetração do corante ao longo de uma fresta da fibra do tolete. No corte transversal, nota-se que esta fresta localiza-se na parte onde o tecido externo é mais estreito, provavelmente devido a uma rachadura desse tecido.



Figura 24: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 2 horas

Após 3 dias imersos em corante, os toletes apresentaram uma forte coloração nas extremidades. Porém, não se observa uma rápida difusão axial, como era esperado. Notou-se também, que a difusão radial de corante no tecido externo parece ser mais rápida, comparada com a difusão nos tecidos internos.

As rodela com 5 mm de espessura tiveram todas as mesmas coloração, exceto a extremidade do tolete. Isto é um indício de que a difusão radial pode ter uma contribuição significativa no fenômeno global de transferência de massa. A Figura 25 mostra um corte longitudinal junto com uma rodela cortada transversalmente na parte central do tolete. O corte mostrado a 5 mm da extremidade não apresenta mudanças significativas, quando comparado com o corte na parte central do tolete.

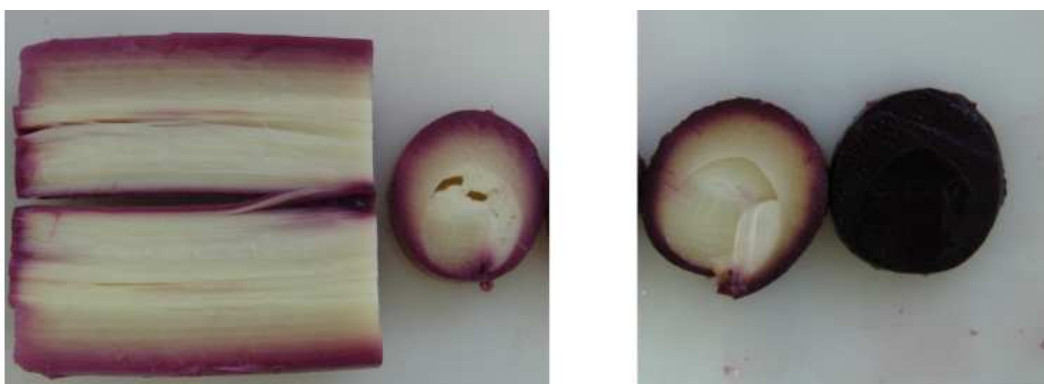


Figura 25: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 3 dias

Após a imersão dos toletes em corante por 5 dias, nota-se (Figura 26) a mudança de cor na fatia a 5 mm da extremidade do tolete, especialmente no tecido externo. A difusão é mais significativa nas bordas laterais e extremidades do tolete, mas observa-se uma significativa alteração da cor do tecido externo, visualizando-se uma nítida fronteira com os tecidos internos. Não se observou a penetração rápida do corante no sentido longitudinal.



Figura 26: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 5 dias

Após 10 dias de imersão dos toletes em solução contendo corante, observa-se uma maior contribuição da difusão radial, comparado com a difusão axial. Isto pode ser observado na Figura 27, no corte longitudinal do tolete.

Nos cortes transversais, nota-se uma diferenciação no comportamento do corante nos tecidos internos do tolete, que parece ser formado por 3 tecidos diferentes, sendo que um deles apresenta uma lenta difusão do corante, enquanto os outros dois tecidos permanecem com a cor totalmente inalterada.



Figura 27: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 10 dias

Após a imersão em corante por 14 dias, nota-se nitidamente os diferentes tecidos internos na parte central do tolete. O tecido próximo à menor espessura do tecido externo tem a sua coloração alterada, mas o mesmo não é percebido nos outros tecidos internos.

No corte longitudinal, observa-se que a difusão radial não é igual para os tecidos internos e externos. A mudança na cor no tecido externo é mais intensa que no tecido interno.



Figura 28: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 14 dias

Após a imersão dos toletes por 21 dias em solução com corante, não se observou alterações visuais, comparado com o período de 14 dias. O tolete observado possuía somente 2 folhas internas no tecido interno, diferença comumente encontrada no processamento do palmito, em virtude do desenvolvimento da planta ou localização do corte na haste (mais próximo da base ou da parte apical). Na separação dos tecidos internos, na Figura 29, pode-se observar que na interface das folhas em formação, existe uma barreira à difusão do corante.

No pedaço destacado para observação da interface dos tecidos internos, observa-se a coloração praticamente inalterada após 21 dias.



Figura 29: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 21 dias

Na Figura 30 observa-se uma faixa branca no interior do tolete, ao longo do comprimento, após a difusão axial até 1 cm das extremidades do tolete após 31 dias imersos em solução com corante. Este tecido com a coloração inalterada refere-se ao tecido em formação das folhas internas.

Não foi observada mudança de cor na interface dos tecidos, como poderia se esperar com a penetração de corante por interfaces ou fissuras, em geral com maior taxa de transferência de massa, quando comparada à difusão.

Este fato foi observado na Figura 28, mas trata-se de uma ocorrência isolada. Neste caso, provavelmente tenha sofrido choque mecânico que causou uma maior separação dos tecidos internos, facilitando a penetração do corante.



Figura 30: Coloração de tolete de pupunha após imersão em corante por 31 dias

Haviam indícios de que a difusão do corante pudesse ser dificultada por alguma barreira na interface dos tecidos internos do tolete de palmito, visto no seu desenvolvimento, formarão as folhas da palmeira, que possui uma proteção externa diferenciada.

Porém, o peso molecular da molécula de corante (607 g/mol) é maior, comparado ao ácido cítrico (92 g/mol), podendo este apresentar um menor volume e uma maior difusividade.

Com a preocupação de se evitar uma interação entre o ácido e o corante, este foi só utilizado nos ensaios iniciais. Os ensaios finais e a modelagem matemática foram realizados utilizando somente o ácido cítrico.

4.5 Cinética de acidificação para pH de equilíbrio de 4,5

4.5.1 Acidificação de toletes

Foi observado que após 15 dias do processamento de palmito para um pH de equilíbrio 4,3 não existe diferença significativa de pH nos tecidos interno e externo do tolete.

Porém, a Tabela 8 mostra que as velocidades de acidificação dos tecidos do miolo e do tecido externo do tolete são significativamente diferentes. O pH de equilíbrio foi de 4,11. Cada valor de pH apresentado na Tabela 8 se refere à média de 8 análises, a diferença foi avaliada nas linhas, utilizando Tukey a 95%.

Tabela 8: variação do pH em tolete de palmito pupunha durante o armazenamento.

	2h	14h	25h	39h	88h
C1	5,32 ^{A,a}	4,76 ^{B,bc}	4,43 ^{BC,b}	4,37 ^{BC,c}	3,96 ^{C,c}
C2	5,37 ^{A,ab}	4,77 ^{B,bc}	4,57 ^{BC,b}	4,36 ^{C,c}	4,10 ^{C,bc}
C3	5,40 ^{A,ab}	4,83 ^{B,bc}	4,60 ^{BC,b}	4,45 ^{BC,bc}	4,24 ^{C,bc}
M1	5,81 ^{A,ab}	5,59 ^{AB,ab}	5,58 ^{AB,a}	5,18 ^{AB,abc}	4,55 ^{B,ab}
M2	5,91 ^{A,b}	5,76 ^{A,ab}	5,92 ^{A,a}	5,23 ^{AB,ab}	4,81 ^{B,a}
M3	5,85 ^{A,ab}	5,32 ^{A,ab}	5,80 ^{A,a}	5,54 ^{A,a}	4,95 ^{A,a}
salmoura	3,26	3,54	3,61	3,65	3,90

As letras maiúsculas se referem à análise de Tukey 5% na linha (diferença no mesmo tecido ao longo do período de armazenamento). As letras minúsculas se referem à análise de Tukey 5% na coluna (diferença no mesmo período, comparando-se diferentes partes do tolete). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os valores.

A codificação utilizada para a identificação dos pontos para análise do pH nos toletes de palmito pupunha foram:

- Ponto 1 = 2 cm acima do ponto central do tolete;
- Ponto 2 = centro do tolete;
- Ponto 3 = 2 cm abaixo do ponto central do tolete;
- Ponto M = tecido do miolo do tolete (tecido interno);
- Ponto C = tecido externo do tolete ("casca" comestível).

Os valores de pH dos tecidos interno e externo do tolete de palmito pupunha apresentaram valores significativamente diferentes após 25 horas,

sendo que no tecido externo, o abaixamento do pH é mais rápido. Após 4 dias de armazenamento, o pH do tecido interno ainda apresenta valores de pH que permitem o desenvolvimento de esporos de *Clostridium botulinum*, caso estejam presentes nesta região do palmito.

A Figura 31 apresenta a variação da concentração de ácido cítrico na salmoura e nos diferentes tecidos do tolete de palmito pupunha. Cada medida se refere à média de 8 análises. Os valores foram transformados de pH para concentração de ácido cítrico utilizando o programa CurTiPot, versão 3.4.1 (Nov/2008) para MS-Excel® (GUTZ, 2009).

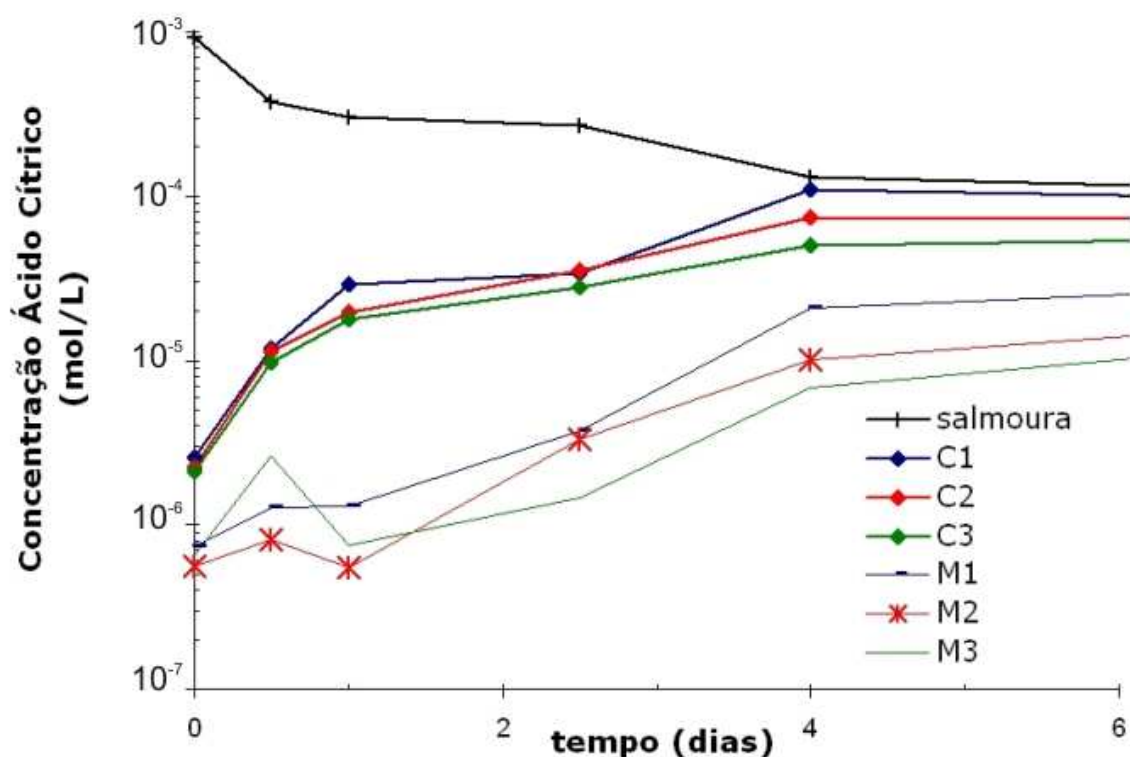


Figura 31: Cinética de acidificação em tolete de palmito pupunha.

Pode-se observar na Figura 31 que as curvas de acidificação do tecido externo apresentam menores diferenças entre si, quando comparadas com as curvas de acidificação do tecido interno, embora não existe diferença significativa entre os valores de pH dos mesmos tecidos, como apresentada na Tabela 8.

A maior dispersão dos valores para o tecido externo do tolete é devido à variação decorrente de rachaduras, muitas vezes imperceptíveis, mas que ficam evidenciadas com o uso de corante para observação do fenômeno de transferência de massa.

Embora não tenha apresentado diferença estatística, durante todas as análises de pH observou-se que a parte superior do tolete (ponto 1) sempre apresentou menores valores de pH e a parte inferior (ponto 3), valores mais elevados de pH.

A Figura 32 apresenta os valores médios na parte C2 do tolete (ponto central, tecido externo) e o intervalo de confiança de 95%, representadas pelas curvas LI e LS (limite inferior e limite superior, respectivamente), obtidos por 1,96 vezes o desvio padrão em cada momento. A curva de melhor ajuste foi obtida automaticamente utilizando-se o programa Microsoft® Office Excel, versão 2003.

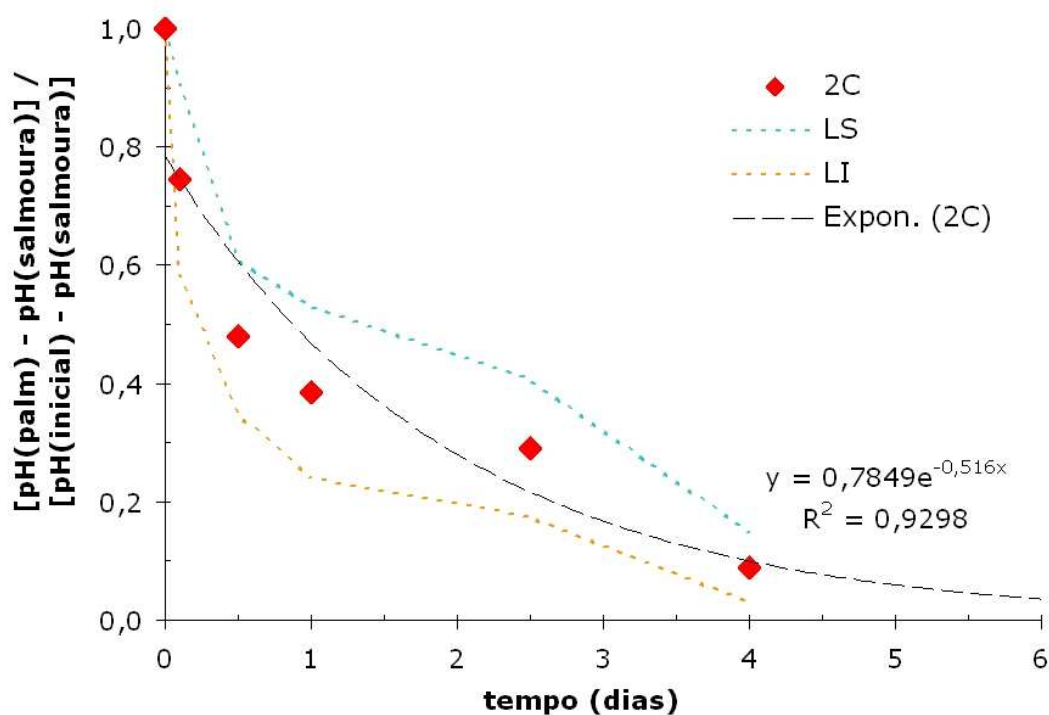


Figura 32: representação da curva de acidificação no tecido externo do tolete de palmito pupunha

O melhor ajuste da curva foi obtido retirando-se a origem a partir do ponto 1. Isto indica que existe um decréscimo do pH mais acentuado durante o período inicial, provavelmente durante o processamento, quando ocorre a desaeração e a entrada do ácido simultaneamente.

Os resultados apresentados no gráfico apresentado na Figura 32 permitem obter a Equação 12, que permite estimar o abaixamento do pH no tecido externo do tolete de palmito pupunha.

$$\frac{pH_{palm} - pH_{salmoura}}{pH_{inicial} - pH_{salmoura}} = 0,7849 \times e^{-0,516 \times tempo(dias)} \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

pH_{palm} = pH do tecido do tolete no instante t;

$pH_{inicial}$ = pH inicial do tolete, pH=6,1;

$pH_{salmoura}$ = pH da salmoura no instante t;

tempo = instante de tempo, expresso em dias.

A linearização da Equação 12 permite obter a Equação 13, que pode ser representada graficamente pela Figura 33.

$$tempo(dias) = - \frac{\ln\left[\frac{pH_{palm} - pH_{salmoura}}{pH_{inicial} - pH_{salmoura}}\right]}{0,516} \quad \text{Equação 13}$$

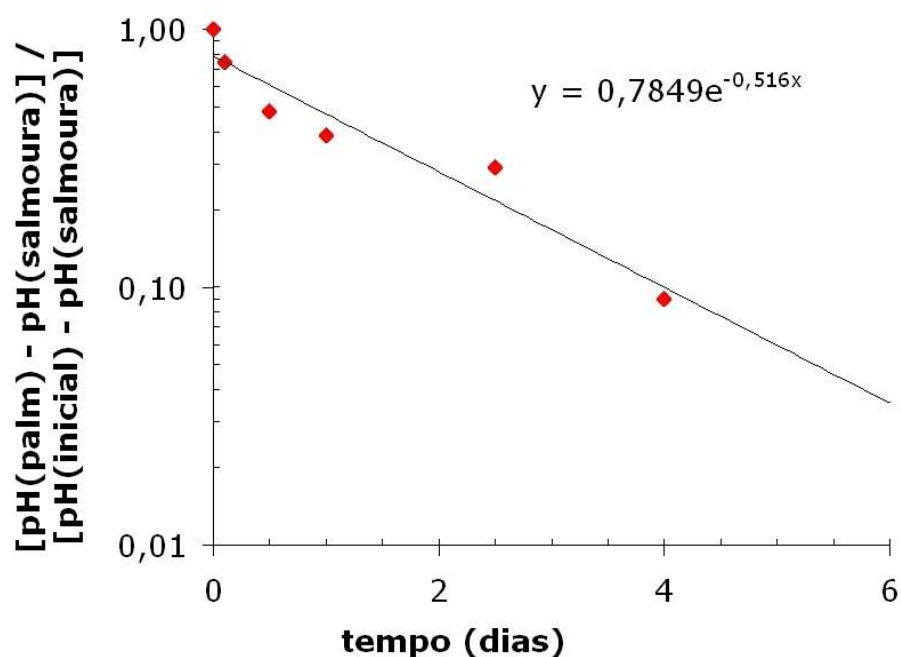


Figura 33: Linearização da cinética de abaixamento do pH no tecido externo do tolete

Como o pH da salmoura não é constante durante a acidificação do palmito, se faz necessária a elaboração de um modelo que possa prever a cinética do aumento de pH da salmoura, mostrada na Figura 34.

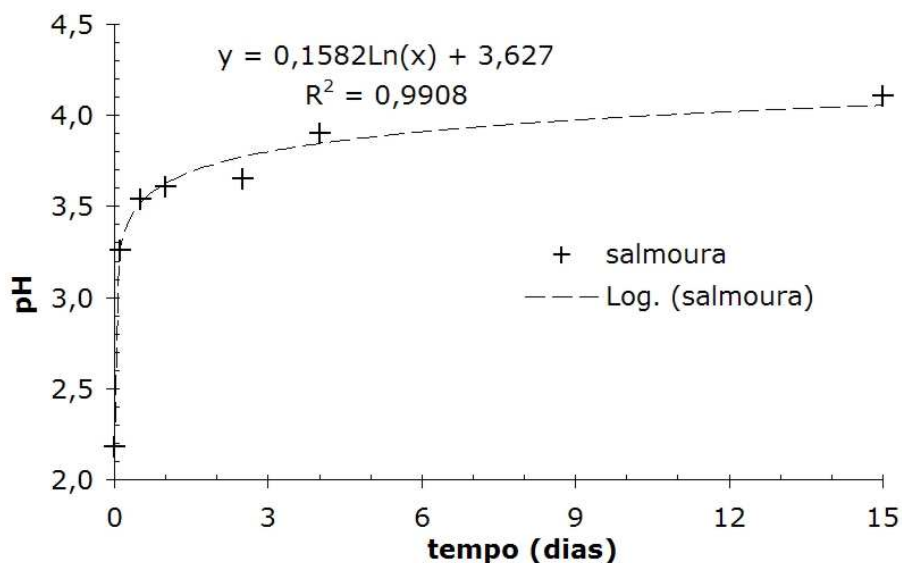


Figura 34: Cinética de aumento do pH na salmoura

Com posse das informações sobre a cinética de aumento do pH da salmoura e da linearização mostrada na Figura 33 em função do tempo, é possível obter o pH do tolete no mesmo instante. A modelagem é mostrada na Figura 35.

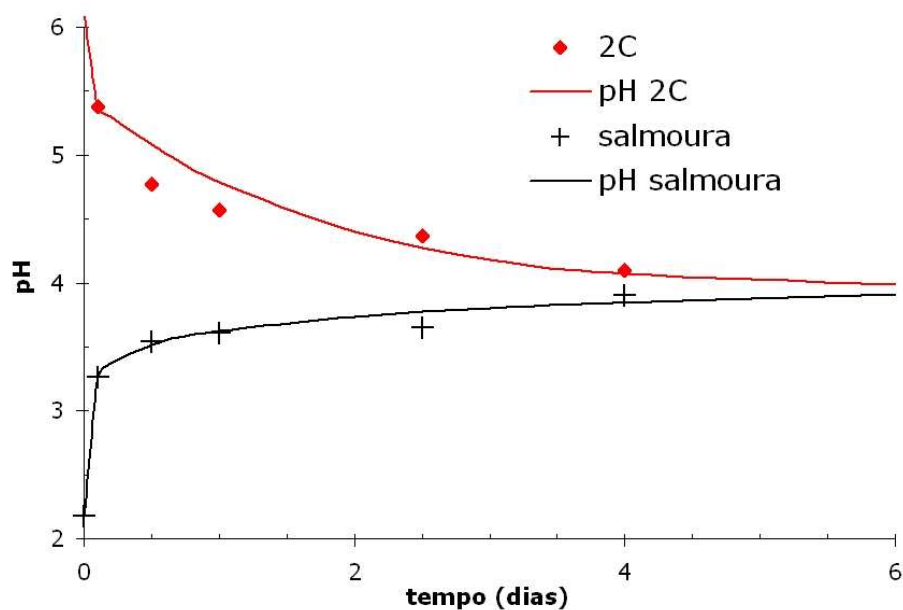


Figura 35: Modelagem da cinética de acidificação do tecido externo do tolete

A mesma abordagem foi utilizada para modelar a cinética de acidificação do tecido interno (miolo) do tolete de palmito pupunha.

A partir das análises no ponto 2M (centro do tolete, tecido interno), foi elaborado o gráfico apresentado na Figura 36.

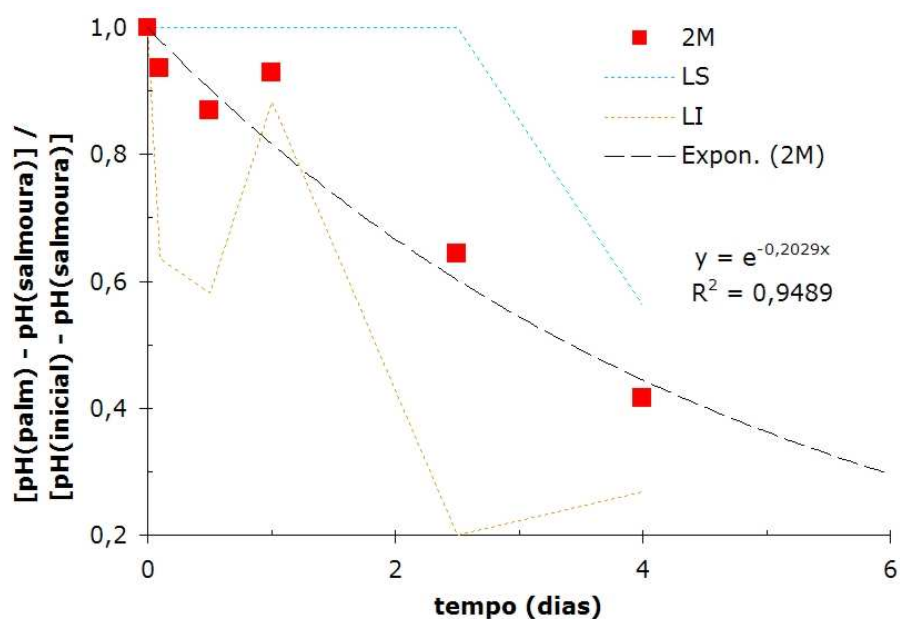


Figura 36: Curva de ajuste do abaixamento do pH nos tecidos internos do tolete

Linearizando o gráfico mostrado na Figura 36, obtém-se a Figura 37.

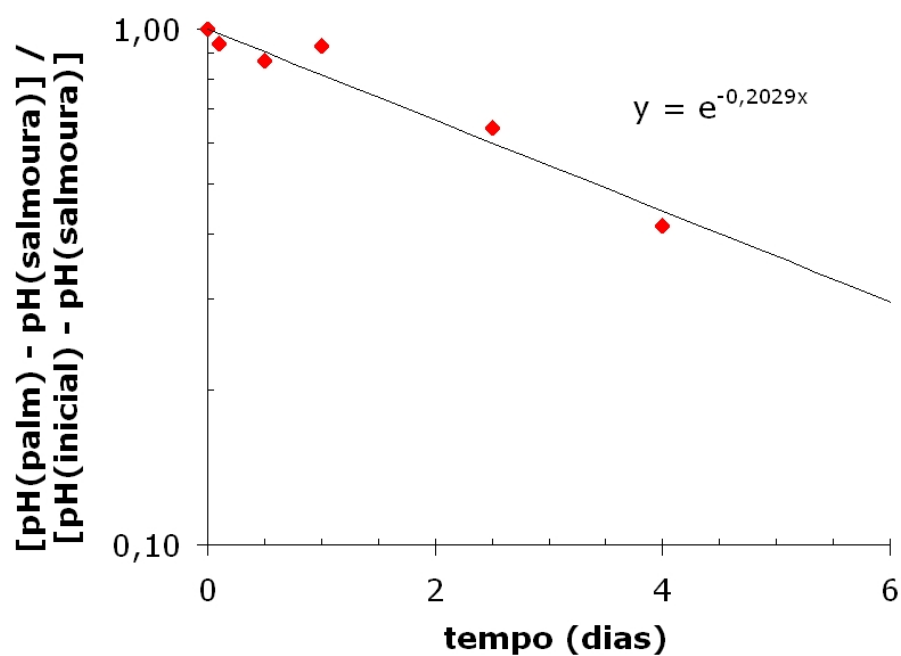


Figura 37: Linearização da cinética de acidificação dos tecidos internos do tolete

Com base na modelagem do aumento do pH da salmoura com o tempo, apresentada na Figura 34, é possível modelar a cinética de acidificação do tecido interno do tolete, apresentada na Figura 38.

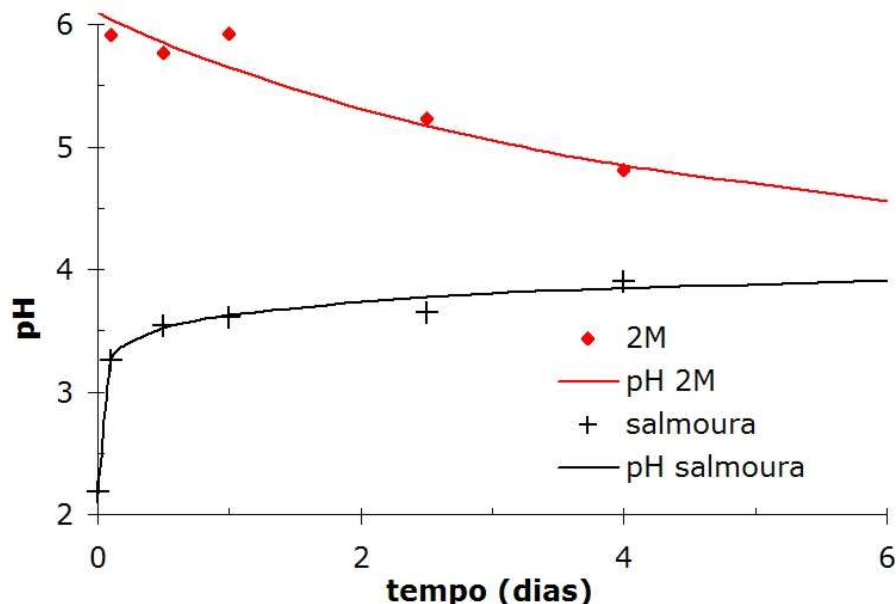


Figura 38: Modelagem da cinética de acidificação dos tecidos internos do tolete

Comparando-se os resultados apresentados pela Figura 35 com a modelagem mostrada na Figura 38, é possível notar um abaixamento mais lento do pH nos tecidos internos do tolete (Figura 38), evidenciada pela maior distância da curva de abaixamento do pH no tecido e a curva de elevação do pH na solução do meio.

Com o objetivo de aumentar a velocidade de acidificação na parte interna do tolete, estes foram perfurados com agulha de 0,5 mm de diâmetro, na lateral até o centro do tolete, na parte de menor espessura do tecido externo comestível. Os resultados das cinéticas nos toletes perfurados foram idênticos aos valores encontrados para os toletes não perfurados.

Aumentando-se a proporção de palmito:solução para: 300 a 330 gramas de palmito e 300 mL de solução, os resultados são apresentados a seguir. A codificação utilizada para a leitura do pH nos toletes foi a mesma mostrada na

Figura 17. Observou-se uma alteração do pH da solução, então optou-se por fazer leituras em 5 alturas diferentes:

- Ponto 1 S = 0,5 cm de imersão do sensor de pH;
- Ponto 1,5 S = imersão de 2,5 cm do sensor de pH;
- Ponto 2 S = 4,5 cm de imersão do sensor de pH;
- Ponto 2,5 S = imersão de 6,5 cm do sensor de pH;
- Ponto 3 S = imersão de 9 cm do sensor de pH.

Observou-se um aumento gradual do pH da solução com a maior profundidade. Embora a diferença de pH a 0,5 cm da parte superior e a 0,5 do fundo não seja estatisticamente significativa, foi consistente em todas as análises realizadas e ultrapassou 0,2 pH.

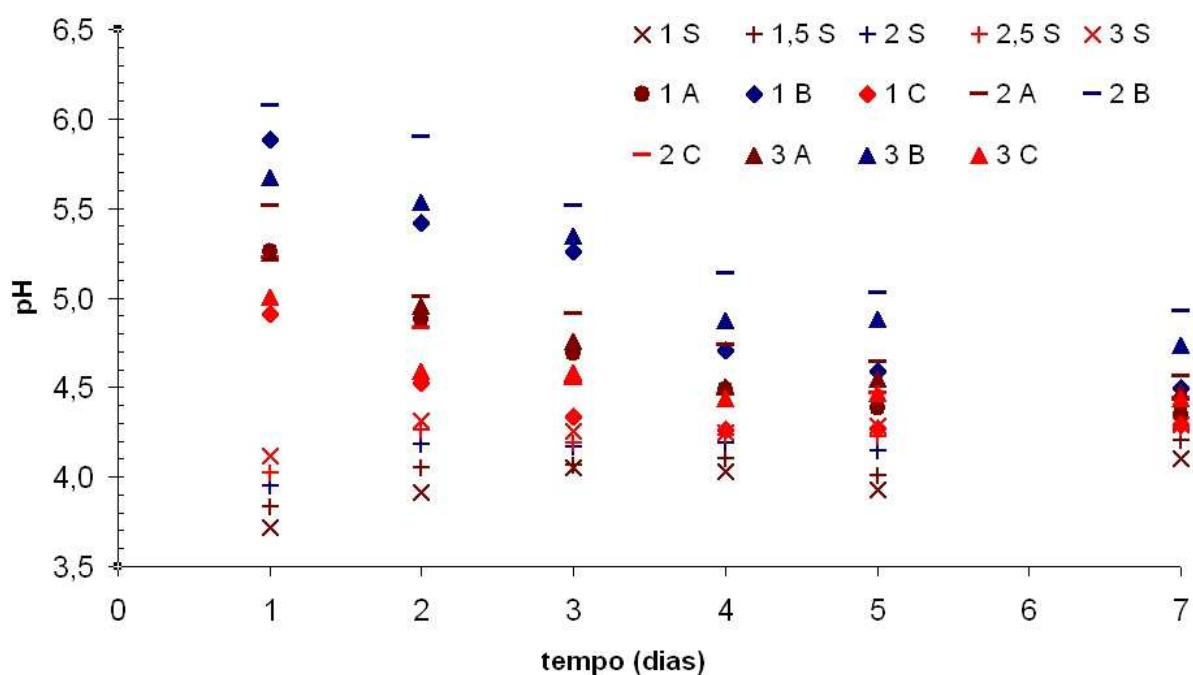


Figura 39: Cinética de acidificação de toletes com 9 cm de comprimento

Nota-se na Figura 39 que o ponto 2B (centro geométrico do tolete) possui maior pH, comparado aos demais pontos. Dessa forma, a modelagem foi concentrada nas análises deste ponto.

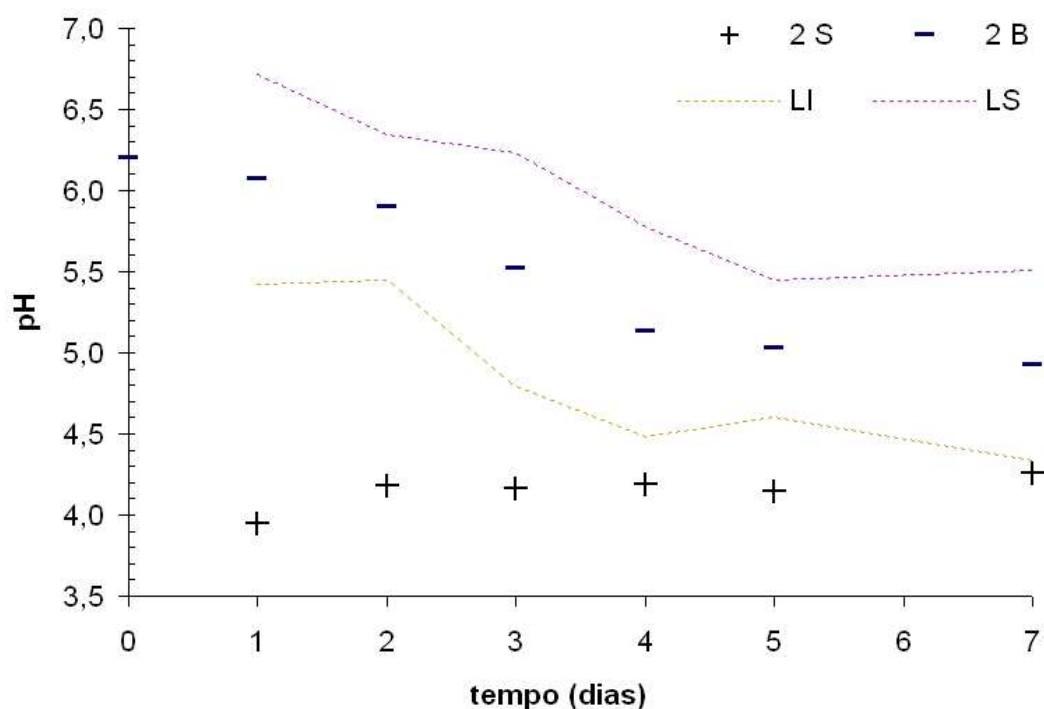


Figura 40: Cinética de acidificação no centro geométrico de tolete com 9 cm de comprimento

Após 7 dias, o centro geométrico do tolete permanece com pH superior a 5. Além disso, 3 dias após o processamento, o pH sofre uma redução para um valor de 5,5 o que é bastante elevado e permite o desenvolvimento de esporos de *Clostridium botulinum*.

As linhas LI e LS representam, respectivamente: o limite inferior e limite superior, obtidas pela média mais ou menos 1,96 o desvio padrão das análises.

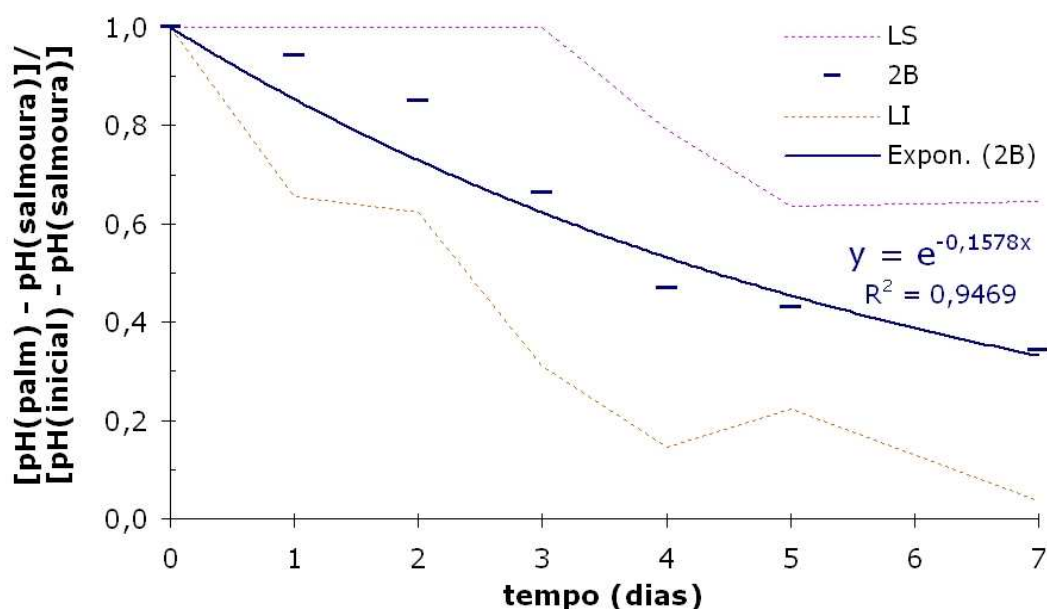


Figura 41: Modelagem da acidificação no centro geométrico de um tolete com 9 cm de comprimento

Nota-se que a inclinação da curva obtida na Figura 41 é muito baixa, o que é coerente com a lenta acidificação neste ponto do tolete. O coeficiente de correlação obtido foi bastante elevado, o que aumenta a confiabilidade dos resultados obtidos com 8 repetições em cada dia.

Comparando-se a Figura 36 com a Figura 41, observa-se uma menor inclinação nesta última. Este resultado em pode parecer contraditório pelo fato de ter se utilizado uma maior quantidade de palmito neste último experimento. No entanto, o pH de equilíbrio deste foi de 4,41 enquanto que a Figura 36 refere-se a um experimento para um pH de equilíbrio 4,11. É provável que o aumento da concentração de ácido na solução, para um pH de equilíbrio mais baixo tenha influência significativa na velocidade de acidificação do produto.

O modelo matemático para o aumento do pH da solução é mostrada na Figura 42. Nota-se que o pH da solução no fundo do vidro apresenta um aumento durante o processamento, acarretando na diminuição da diferença de pH com o alimento. Esta diminuição da força motriz da transferência de massa (diferença de concentração, ou de pH) diminui a cinética de acidificação,

podendo acarretar no aumento do tempo necessário para a acidificação das partes inferiores do produto no vidro.

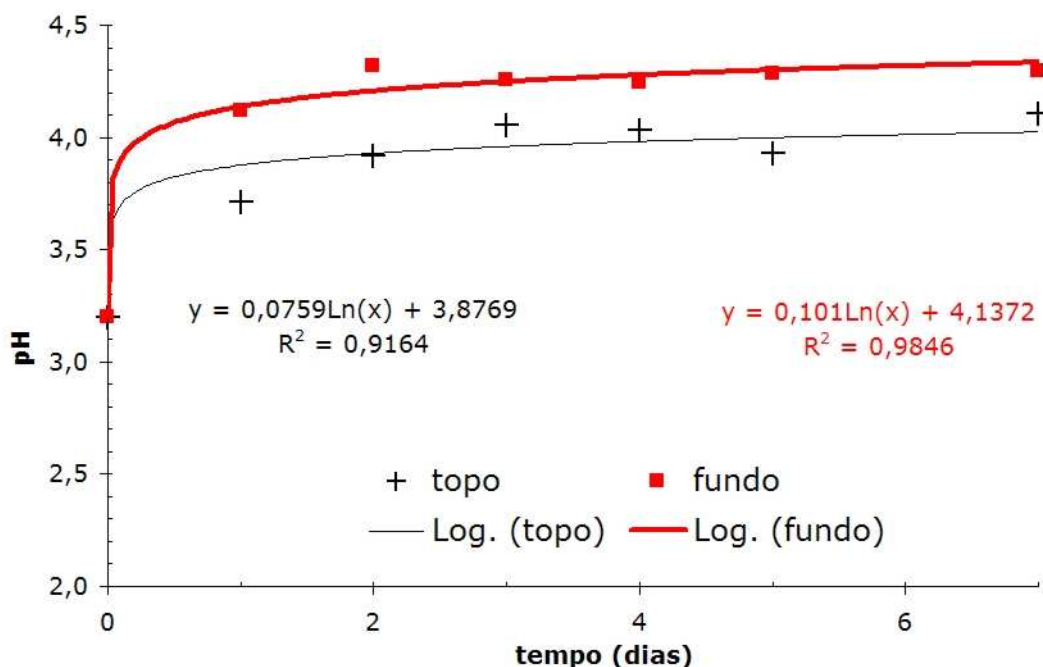


Figura 42: Aumento do pH da solução durante a acidificação de toletes de palmito pupunha

As análises de pH foram realizadas de forma aleatória e apresentaram sempre valores maiores no fundo e de forma linear com a altura, diminuindo o pH até o topo da solução.

A inversão dos vidros possibilita a uniformização do pH da solução. Porém, esta homogeneização do pH da solução não é fato determinante para a garantia da segurança microbiológica, como observado nos testes finais, de avaliação microbiológica com inoculação de PA3679.

4.5.2 Acidificação do tecido homogêneo ("coração")

As curvas de acidificação do tecido homogêneo da parte basal do palmito pupunha são mostradas na Figura 43. As análises foram realizadas em duplicata, mas não se observou grande variação dos resultados, comparado com as análises nos toletes. Os únicos valores de pH que diferiram

estatisticamente utilizando Tukey a 90% foram os pontos 2 e 3, conforme codificação apresentada na Figura 18.

Os dados das médias do pH no tecido homogêneo nos pontos 1 e 2 durante 5 dias são mostrados na Figura 43. Nota-se que após 5 dias o pH do tecido homogêneo já se encontra em equilíbrio com o pH da solução.

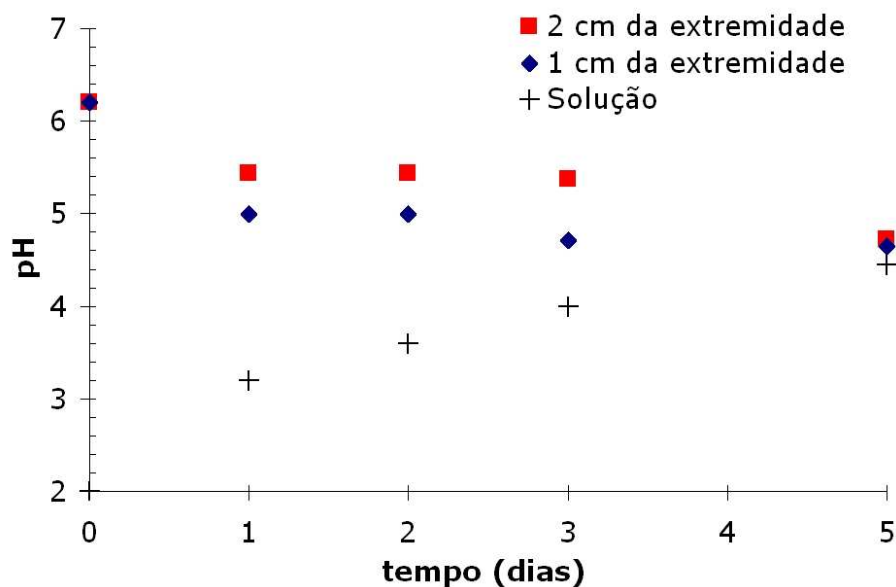


Figura 43: Modelagem de acidificação no tecido homogêneo do palmito

As pequenas diferenças de pH pode ser decorrente da baixa repetição das análises ou da pequena diferença da difusividade do ácido no tecido que forma o "coração" do palmito.

A pequena diferença entre a velocidade a 1 cm e a 2 cm da extremidade indica que a velocidade de penetração do ácido deve ser relativamente elevada, caso contrário o pH próximo à solução iria apresentar uma redução muito mais rápida.

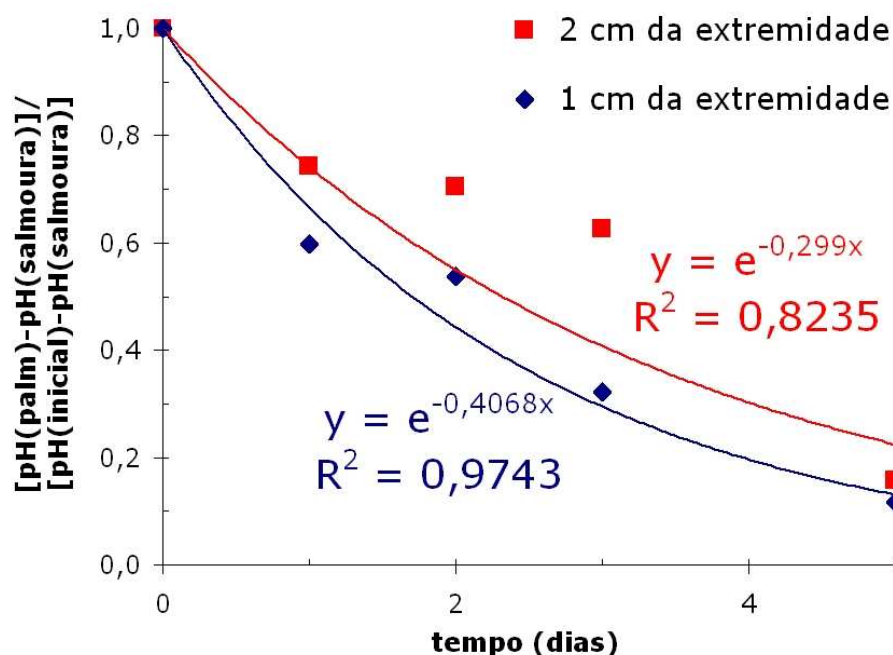


Figura 44: Linearização da cinética de acidificação dos tecidos homogêneo de palmito

Embora a velocidade de acidificação do “coração” de palmito seja menor do que aquela apresentada pelo tecido externo do tolete, neste último, a distância entre o ponto de análise do pH e a solução é muito menor (aproximadamente 5 milímetros) do que as leituras realizadas no tecido homogêneo.

Os resultados foram coerentes com os valores esperados, pois a uma distância maior da extremidade, o tecido apresentou menor taxa de acidificação. Isto pode ser observado no gráfico apresentado na Figura 44, onde a curva de acidificação do tecido a 2 cm da extremidade possui uma inclinação menor, quando comparada à curva de acidificação do tecido a 1 cm da extremidade.

4.6 Avaliação microbiológica

4.6.1 Diferentes comprimentos de toletes

Conforme mostrado no cálculo da letalidade, após o processamento térmico por 40 minutos após o início de fervura da água do tacho, todas as formas vegetativas de micro-organismos foram eliminadas. Observou-se a formação de gás em todos os vidros com toletes de 3 cm de comprimento ou maiores.

Em todas as avaliações, o pH de equilíbrio analisado foi de 4,41.

Os vidros com toletes de 3 e 4 cm apresentaram formação de gás a partir do quinto dia, a 35 °C.

Isto mostra que os esporos bacterianos são capazes de penetrar nos tecidos do palmito caso haja contato do tecido vegetal com meio aquoso contaminado com esporos provenientes do solo, de sedimentos aquáticos ou em suspensão na água.

Para toletes com 5 cm de comprimento ou maiores, a formação de gás foi visível a partir do terceiro dia, não sendo necessária a avaliação do vácuo. A Figura 45 mostra a formação de gás, visível a partir do terceiro dia de incubação a 35 °C.

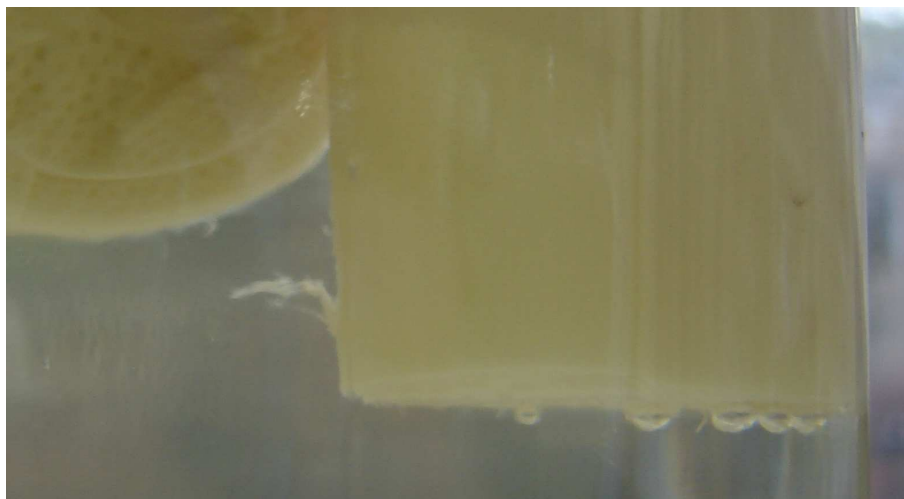


Figura 45: Formação de gás durante a acidificação de toletes de palmito

Caso as Boas Práticas de Fabricação sejam seguidas, a probabilidade de esporos bacterianos penetrarem nos tecidos do vegetal estudado é mínima. No entanto, se o transporte das hastes for realizado de forma inadequada, em contato direto com o leito do rio, por exemplo, a acidificação não poderá garantir a segurança de toletes com tamanho superiores a 2 cm. A mesma observação se aplica a hastes deitadas diretamente sobre o solo, onde em contato com a chuva, pode propiciar a entrada de esporos no interior do tecido vegetal, podendo causar botulismo, caso o esporo pertença à bactéria *C. botulinum*, mesmo se corretamente acidificado.

Foram inoculados esporos de PA3679 em cubos de “coração de palmito” com arestas de 4 cm. Estas dimensões são maiores que o diâmetro dos toletes estudados. Mesmo assim, não foi observada formação de gás ou quebra de vácuo após 10 dias em estufa a 35 °C. Isto sugere que o esporo possui maior dificuldade de entrar no tecido homogêneo ou que a diminuição do pH ocorre a uma velocidade rápida o suficiente para inibir o crescimento de esporos no tecido homogêneo.

4.6.2 Avaliação do pH de inibição

Não foi observada a formação de gás nos vidros com palmito triturado, em pH abaixo de 5,2. Isto indica que nessa condição o desenvolvimento de esporos de PA3679 já está sendo inibido. Isso não ocorre em toletes com comprimento igual ou superior a 3 cm, onde o pH no interior do produto após 5 dias ainda não atingiu valor igual ou inferior a 5,2.

4.7 Resumo dos resultados

As equações obtidas para a modelagem da acidificação de toletes de palmito pupunha com 9 cm são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9: Equações obtidas nas cinéticas de acidificação de palmito

Tecido ou salmoura	Equação	Referência
Tecido externo para pH 4,11	$y=0,7849\exp(-0,516x)$	Figura 32
Tecidos internos para pH 4,11	$Y=\exp(-0,2029x)$	Figura 36
Tecidos internos para pH 4,41	$Y=\exp(-0,1578x)$	Figura 41
Tecido homogêneo profundidade 1 cm	$Y=\exp(-0,4068x)$	Figura 44
Tecido homogêneo profundidade 2 cm	$Y=\exp(-0,299x)$	Figura 44
Salmoura para pH 4,11	$pH=0,1582\ln(x) + 3,6270$	Figura 34
Salmoura para pH 4,41 – topo	$pH=0,0759\ln(x) + 3,8769$	Figura 42
Salmoura para pH 4,41 – fundo	$pH=0,1010\ln(x) + 4,1372$	Figura 42

As equações foram compiladas na Tabela 9 de modo a facilitar as discussões a seguir.

A avaliação do pH de inibição de esporos de PA3679 forneceu valores superiores aos relatados na literatura. Isto é possível porque o palmito não é um meio de cultura rico em nutrientes, por isso o micro-organismo necessita de melhores condições ambientais para o seu desenvolvimento.

Supondo que o pH para a inibição do crescimento de esporos de *Clostridium botulinum* seja de 5,2 em palmito acidificado e considerando-se as modelagens matemáticas apresentadas no presente trabalho, é possível reunir as informações conforme apresentada na Tabela 10.

Tabela 10: Tempos necessários para acidificação de palmito

Tecido ou salmoura	Tempo para pH 5,2	Tempo para pH 4,6
Tecido externo para pH 4,11	1 dia	2 dias
Tecidos internos para pH 4,11	3 dias	6 dias
Tecidos internos para pH 4,41	4 dias	8 dias
Tecido homogêneo profundidade 1 cm	2 dias	3 dias
Tecido homogêneo profundidade 2 cm	2 dias	4 dias
<i>*Tecido externo para pH 4,11</i>	<i>1 dia</i>	<i>3 dias</i>
<i>*Tecidos internos para pH 4,11</i>	<i>4 dias</i>	<i>12 dias</i>
<i>*Tecidos internos para pH 4,41</i>	<i>5 dias</i>	<i>16 dias</i>
<i>*Tecido homogêneo profundidade 1 cm</i>	<i>2 dias</i>	<i>5 dias</i>
<i>*Tecido homogêneo profundidade 2 cm</i>	<i>3 dias</i>	<i>8 dias</i>

* Refere-se à modelagem utilizando a equação para o aumento do pH da solução no fundo do vidro: $\text{pH} = 0,1010 \ln(x) + 4,1372$

Observa-se nos resultados apresentados na Tabela 10 que para os tecidos internos, mesmo considerando-se pH de inibição ao desenvolvimento dos esporos igual a 5,2, o tecido leva 5 dias para abaixar o pH nas partes inferiores do vidro, onde é mais crítica a transferência de massa.

Para um pH de segurança de 4,6 seriam necessários 16 dias no caso de menor taxa de acidificação, até a obtenção do pH na condição mais crítica.

Foram realizados experimentos sobre a influência da temperatura (6 e 24 °C) na cinética de acidificação em toletes de palmito. A influência do abaixamento da temperatura não foi significativa na velocidade de acidificação, por isso o resfriamento pode ser utilizado como alternativa no controle do desenvolvimento de esporos durante o período enquanto o interior do produto não atinge pH necessário à inibição de esporos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Conclusões

Com base nos resultados, foi possível estudar a cinética de acidificação dos tecidos que formam o palmito, prever o tempo necessário para o abaixamento do pH até valores seguros e propor medidas para garantir a segurança microbiológica do produto.

Devido às diferenças intrínsecas do palmito, estudos mais aprofundados sobre a interação do ácido com o tecido vegetal estudado tiveram que ser realizados. Verificou-se uma diferença significativa da cinética de acidificação dos tecidos internos e externo que compõem o tolete de palmito pupunha.

A cinética de acidificação do tecido externo do palmito pupunha possui comportamento similar ao tecido homogêneo, parte entre o tolete e o caule, comercialmente chamado “coração de palmito”. A velocidade de acidificação é bastante elevada neste tecido, o que impede o desenvolvimento de esporos que porventura se encontrem nesse tecido, pelo abaixamento do pH a valores seguros em um intervalo inferior a 3 dias.

A taxa de acidificação nos tecidos internos é significativamente mais lenta, fato comprovado com avaliações microbiológicas com a prévia imersão de toletes em solução contendo esporos de *Clostridium sporogenes* (PA 3679), onde observou-se formação de gás em vidros contendo toletes com comprimento maiores que 3 cm.

As Boas Práticas Agrícolas devem ser seguidas para evitar a contaminação por esporos de *Clostridium botulinum* no tecido vegetal, pois somente a acidificação não é condição suficiente para garantir a segurança microbiológica do produto.

5.2 Trabalhos futuros

Visando garantir a segurança microbiológica de alimentos particulados, a metodologia utilizada no presente trabalho pode ser utilizada para avaliar a segurança de outros produtos acidificados, onde não se conhece o tempo necessário para sua acidificação.

Futuramente pode-se estudar a interação do ácido e outras substâncias que possuem capacidade de dificultar o desenvolvimento de micro-organismos, de modo a estabelecer uma combinação que garanta segurança ao consumo de alimentos submetidos a um tratamento térmico brando ou até mesmo, sem a necessidade de tratamento térmico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALADI. Latin American Integration Association. Export data. Disponível em: <<http://www.aladi.org>>. Acesso em 02 abr 2009.

ALMEIDA, R.A.C.; MARANHO, R.A. Processamento artesanal da pupunha. In: SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS APLICADAS DA FAEF, 1., 1996, Garça, SP. Anais. Garça, SP: FAEF, 1996. p. 177-179.

ANEFALOS, L.C.; TUCCI, M.L.S.; MODOLO, V.A. Uma visão sobre a pupunheira no contexto do Mercado de palmito. Instituto de Economia Agrícola, Análises e Indicadores do Agronegócio, v.2, n.7, p.1-6, 2007.

AZEVEDO, I.C.A.; OLIVEIRA, F.A.R. A model food system for mass transfer in the acidification of cut root vegetables. International Journal of Food Science & Technology, v.30, n.4, p.473-483, 1995.

BAER, B.; BERGER, J.; HUTCHESON, H. Pineapples and hearts of palm. Costa Rica Study Tour 2005. Disponível em: <http://www.foodscience.psu.edu/costa_rica/pineapples_and_palms.pdf>. Acesso em: 24 mar 2008.

BALL, C.O.; OLSON, F.C.W. Sterilization in food technology. McGraw-Hill Series in Food Technology, 1.ed., 1957, 654p.

BELLEARD, C.R.G.; RAUPP, D.S.; CHAIMSOHN, F.P.; BORSATO, A.V. Avaliação de procedimentos de acidificação de conservas de palmito foliar de pupunha (*Bactris gasipaes*). Maringá, Acta Sci. Agron., v.27, n.2, p.247-254, 2005.

BERBARI, S.A.G.; PRATI, P.; JUNQUEIRA, V.C.A. Qualidade do palmito da palmeira real em conserva. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.28(supl.), p.135-141, 2008. ISSN 0101-2061.

BOVI, M.L.A.; SPIERING, S.H.; SAES, L.A. Peach palm growth and heart-of-palm yield responses to liming. Revista Brasileira de Ciência do Solo, vol.28, p.1005-1012, 2004.

BRASIL. Resolução RDC nº 17. Define a identidade e as características mínimas de qualidade a que se deve obedecer o palmito em conserva. Diário Oficial da União, Brasília, 19 nov. 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº 352. Regulamento técnico de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de frutas ou hortaliças em conserva. Diário Oficial da União, Brasília, 08 jan. 2003.

CARLIN, F.; PECK, M.W. Growth of and Toxin Production by Nonproteolytic *Clostridium botulinum* in Cooked Puréed Vegetables at Refrigeration Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, n.8, p.3069-3072, 1996.

CINTRA, R.F.; VITTI, A.; BOTEON, M. Análise dos impactos da certificação das frutas brasileiras para o mercado externo. In: Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, 2003, Juiz de Fora. XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2003.

CLEMENT, C.R.; MANSHARDT, R.M.; DE FRANK, J.; ZEE, F.; ITO, P. Introduction and evaluation of pejibaye (*Bactris gasipaes*) for palm heart production in Hawaii. Em: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*, Wiley, New York, p.465-472, 1993.

EDUARDO, M.B.P.; SIKUSAWA, S. O botulismo no Estado de São Paulo – construindo uma série histórica e documentando os casos, de 1979 a 2001. *Revista NET-DTA*, n.5, p.85-105, 2002.

EDUARDO, M.B.P.; MADALOSSO, G.; PAIVA, O.R.; BRITO, S N.; ARAÚJO, E.S.; BANDEIRA, C.R.S.; ROWLANDS, R.E.G.; RISTON, C.A.; JAKABI, M. Botulismo tipo A e B causado por torta comercial de frango com palmito e ervilhas no município de São Paulo, SP – Janeiro de 2007. *Boletim Epidemiológico Paulista*, v.4, n.38, ISSN 1806-4272, p.2-7. Fev. 2007.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Sistema de produção do açaí. *Sistemas de Produção* 4, 2.Ed., ISSN 1809-4325, Versão Eletrônica, dez. 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/mercado.htm>. Acesso em: 24 mar 2008.

EQUADOR. Product Profile Heart of Palm (palmito). Expansion of Ecuador's Export Commodities. Ecuador, set 2001. Disponível em: <<http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/CORPEI/palmito.pdf>>. Acesso em: 24 mar 2008.

FDA (Food and Drug Administration). Title 21, CFR (Code of General Regulations) Part 114, Subpart A: General Provisions, e-CFR data current as October 21, 2009. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Product-SpecificInformation/AcidifiedLow-AcidCannedFoods/Regulations/default.htm>>. Acesso em: 23 out 2009.

FENNEMA, O.R. Principles of Food Science. Part II: Physical principles of food preservation. Marcel Dekker Inc., 1975, 474p.

FOLHA DE SÃO PAULO. São Paulo, 02 jul. 2007. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff0207200724.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2007.

FREUNDENBERGER, M. Tophit sensors. 2006. Disponível em: <[http://www.endress.com/eh/sc/america/mx/es/home.nsf/imgref/F1E330D9B4BBA4AAC12571FE005EA1B9/\\$FILE/02FundamentosISFET.pdf](http://www.endress.com/eh/sc/america/mx/es/home.nsf/imgref/F1E330D9B4BBA4AAC12571FE005EA1B9/$FILE/02FundamentosISFET.pdf)>. Acesso em: 30 jun. 2009.

GELLI, D.S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). Rev. Inst. Med. Trop., v.44, n.6, p.321-324, 2002.

GOMES, M.; VALLE, J.; RAUPP, D.S.; CHAIMSOHN, F.P.; BORSATO, A.V. Processamento de conservas de palmito caulinar de pupunha contendo diferentes graus de acidez. Ciênc. Agrotec., v.30, n.3, p.569-574, 2006.

GUTZ, I.G.R. Programa CurTiPot. Curvas de Titulação Potenciométrica, cálculos de pH e equilíbrios ácido-base. USP, Instituto de Química, 2009. Copyright 1992-2008. Disponível em: <<http://www2.iq.usp.br/docente/gutz/Curtipot.html>>. Acesso em 23 de maio de 2009.

LUND, B.M.; PECK, M.W. Evaluation of the risk of growth and toxin production by *Clostridium botulinum* in selected new products of concern. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. Institute of Food Research, Norwich Research Park, Conely, Norwich, 2000, 60p.

LUND, B.; BAIRD-PARKER, A.C.; GOULD, G.W. Microbiological Safety and Quality of Food. Springer, 2000, 2080p. ISBN:978-0-8342-1323-4.

MAGALHÃES, C.M. Sensor de acidez em meio não aquoso: desenvolvimento e aplicação de um dispositivo bipotenciométrico diferencial. Dissertação de Mestrado, USP, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2000. 101p.

MATOS, D.M.S.; BOVI, M.L.A. Understanding the threats to biological diversity in southeastern Brazil. Biodiversity and Conservation, Ed. Springer Netherlands, v.11, n.10, p.1747-1758, 2002.

MICHIGAN DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Guidance for Food Processing/ Packaging in Michigan Food Service Establishments, 2005, 18p.

NOGUEIRA, O.L.; CONCEIÇÃO, H.E.O. Análise de crescimento de açaizeiros em áreas de várzea do estuário amazônico. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.35, n.11, p.2167-2173, nov 2000.

PASCHOALINO, J.E.; BERNHARDT, L.W.; BOVI, M.L.A.; BERBARI, S.A.G.; FERREIRA, V.L.P. Industrialização do palmito pupunha – Manual técnico nº15 – ITAL, Campinas, 1997.

PECK, M.W.; FAIRBAIRN, D.A.; LUND, B.M. The effect of recovery medium on the estimated heat-inactivation of spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum*. Letters in Applied Microbiology, v.15, p.146-151, 1992.

PECK, M.W. Clostridia and food-borne disease. Microbiology Today, v.29, p.9-12, 2002.

PECK, M.W. The good, the bad and the ugly. Microbiologist, p.26-30, march 2004.

PIZO, M.A.; VIEIRA, E.M. Palm harvesting affects seed predation of *Euterpe edulis*, a threatened palm of the Brazilian Atlantic forest. Braz. J. Biol., v.64, n.3B, p.669-676, 2004.

PROCOMER. Promotora del comercio exterior de Costa Rica. Export data. Disponível em: <http://www.procomer.com/Espanol/Estadisticas-04/anuario-04-01/est_anuario-04-01-01.html>. Acesso em 02 abr 2009.

QUAST, D.G.; BERHARDT, L.W. Progress in palmito (heart-of-palm) processing research. *Journal of Food Protection*, v.41, n.8, p.667-674, 1978.

QUAST, D.G.; ZAPATA, M.M.; BERNHARDT, L.W. Estudos preliminares sobre a penetração da acidez no palmito enlatado. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v.6, p.341-349, 1975.

RADIOMETER ANALYTICAL SAS. Guide to Reliable pH, Ion and Conductivity Measurements. Hach Company. Disponível em: <<http://www.radiometer-analytical.com>>. Acesso em 11 mai. 2007.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. Ed. Casa do Pão, Campinas, 2005, 326p.

NETO, S.C. Desenvolvimento e aplicações de sensores bipotenciométricos em índices oleoquímicos. Dissertação de Mestrado. USP, Instituto de Física e Química de São Carlos, São Carlos, 1991. 165p.

SANTOS, A.M. Oxidação de ligas metálicas especiais e o comportamento do filme de metal/óxido de metal como sensor de pH. Tese de Doutorado. USP, Instituto de Física e Química de São Carlos, São Carlos, 1991. 218p.

SKAFF, R. Caracterização elétrica de dispositivos tipo ISFET com estrutura Si/SiO₂/Si₃N₄ para medição de pH utilizando pseudoeletrodos de PT, Ag e Au. Dissertação de Mestrado. USP, Departamento de Engenharia Elétrica, São Paulo, 2008. 151p.

SOUZA, J.L. A porta de entrada para os negócios da alimentação. *Alimentos & Tecnologia*, n.100, Brazil Trade Shows, ISSN 0102-6682, p.50-61. 2009.

STUMBO, C.R. Thermobacteriology in food processing. 2nd Ed, Academic Press, New York, 1973, 329p.

THE FOOD PROCESSORS INSTITUTE. Canned Foods – Principles of thermal process control, acidification and container closure evaluation. 5th. Ed,

2nd Printing, Washington, DC, 1989. Traduzido por membros do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 4^a ed., 239p, Campinas, SP, 1990.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. pH Control – Why the Concern? 1996. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ph-cntrl.html>>. Acesso em 23 mai. 2007.

VILLAR, R.G.; SHAPIRO, R.L.; BUSTO, S.; RIVE-POSSE, C.; VERDEJO, G.; FARACE, M.I.; ROSETTI, F.; SAN JUAN, J.A.; JULIA, C.M.; BECHER, J.; MASLANKA, S.E.; SWERDLOW, D. Botulism in Argentina. U.S.Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia, 2002, 32p.

ZAPATA, M.M.; QUAST, D.G. Curvas de titulação do palmito-doce (*Euterpe edulis* Mart.). Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, v.6, p.167-187, 1975.

ZHAO, Y.Y.; XIE, J. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. Trends in Food Science & Technology, v.15, n.9, p.434-451, 2004.

ANEXO A – CÁLCULO DA LETALIDADE NO PROCESSAMENTO TÉRMICO DE PALMITO

A Tabela 11 mostra a letalidade no “ponto frio” do palmito, contado a partir do início da ebulição da água do tachó.

**Tabela 11: Cálculo da letalidade de bactérias, bolores e leveduras
não esporuladas**

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
0,0	77,6	32,2	96,5		
0,5	78,4	33	95,5	0,0	0,0
1,0	79,3	34	94,9	0,0	0,0
1,5	80,5	34,9	94,5	0,0	0,0
2,0	81,2	35,7	94,5	0,0	0,0
2,5	81,7	36,7	94,4	0,0	0,0
3,0	82,4	37,6	94,5	0,0	0,0
3,5	82,7	38,6	94,5	0,0	0,0
4,0	83	39,5	94,5	0,0	0,0
4,5	83,6	40,6	94,5	0,0	0,0
5,0	83,7	41,7	94,5	0,0	0,0
5,5	83,7	42,7	94,5	0,0	0,0
6,0	83,4	43,6	94,5	0,0	0,0
6,5	83,2	44,6	94,6	0,0	0,0
7,0	83,5	45,7	94,7	0,0	0,0
7,5	83,8	46,8	94,5	0,0	0,0
8,0	84	47,9	94,5	0,0	0,0
8,5	84,2	48,9	94,6	0,0	0,0
9,0	84,8	49,9	94,6	0,0	0,0

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
9,5	84,5	50,9	94,7	0,0	0,0
10,0	84,6	51,9	94,6	0,0	0,0
10,5	84,9	53	94,6	0,0	0,0
11,0	85,2	53,8	94,7	0,0	0,0
11,5	85,2	54,9	94,5	0,0	0,0
12,0	85,6	55,8	94,5	0,0	0,1
12,5	85,5	56,8	94,6	0,0	0,1
13,0	85,7	57,7	94,7	0,1	0,1
13,5	85,7	58,7	94,6	0,1	0,2
14,0	85,9	59,5	94,6	0,1	0,2
14,5	86,2	60,4	94,6	0,2	0,3
15,0	86,2	61,2	94,7	0,2	0,4
15,5	86,2	62	94,7	0,3	0,6
16,0	86,5	62,9	94,6	0,4	0,8
16,5	87	63,6	94,7	0,5	1,0
17,0	86,9	64,3	94,7	0,6	1,3
17,5	87	65,1	94,6	0,8	1,8
18,0	87,3	65,9	94,7	1,1	2,3
18,5	87,7	66,5	94,7	1,4	3,0
19,0	87,2	67	94,7	1,6	3,8
19,5	87,5	67,8	94,9	2,1	4,9
20,0	87,6	68,5	94,9	2,7	6,2
20,5	87,9	69,1	94,8	3,3	7,9
21,0	87,9	69,7	94,7	4,1	9,9
21,5	88	70,3	94,8	5,0	12,4
22,0	88,1	70,9	94,8	6,2	15,5
22,5	88,1	71,5	94,8	7,6	19,3
23,0	88,5	72,1	94,8	9,3	24,0

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
23,5	88,2	72,7	94,8	11,5	29,7
24,0	88,4	73,3	94,9	14,1	36,8
24,5	89	73,8	95	16,7	45,2
25,0	88,6	74,3	94,9	19,9	55,1
25,5	88,7	74,8	94,7	23,6	66,9
26,0	88,9	75,2	94,9	27,1	80,5
26,5	88,9	75,7	94,8	32,2	96,5
27,0	89	76,1	94,8	36,9	115,0
27,5	89,1	76,7	94,8	45,4	137,7
28,0	89,5	77,1	94,9	52,0	163,7
28,5	89,5	77,5	94,8	59,7	193,6
29,0	89,4	77,9	94,8	68,5	227,8
29,5	89,4	78,3	94,9	78,6	267,1
30,0	89,5	78,6	94,9	87,2	310,7
30,5	89,4	79,1	95	103,5	362,5
31,0	89,5	79,6	94,9	122,9	423,9
31,5	89,8	79,9	94,9	136,2	492,0
32,0	89,6	80	95	141,0	562,5
32,5	89,7	80,5	94,9	167,4	646,3
33,0	89,8	80,8	95	185,6	739,1
33,5	89,9	81,3	95	220,4	849,3
34,0	89,9	81,4	95	228,1	963,4
34,5	90,2	81,8	95,1	261,8	1.094,3
35,0	90,2	82,3	94,9	310,8	1.249,7
35,5	90,1	82,5	94,9	333,0	1.416,1
36,0	90,3	82,8	94,9	369,1	1.600,7
36,5	90,1	83	95	395,4	1.798,4
37,0	90	83,2	95	423,5	2.010,2

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
37,5	90,1	83,4	95	453,6	2.237,0
38,0	90,1	83,8	95	520,5	2.497,2
38,5	90,1	84	95	557,5	2.776,0
39,0	90,4	84,4	95,1	639,7	3.095,8
39,5	90,3	84,7	95	709,2	3.450,4
40,0	90,4	84,8	95	734,0	3.817,4
40,5	90,5	85	95,1	786,2	4.210,5
41,0	90,5	85,1	93,5	813,7	4.617,3
41,5	90,2	85,2	91,2	842,1	5.038,4
42,0	90,1	85,3	90,1	871,6	5.474,2
42,5	89,9	85,5	88,6	933,6	5.941,0
43,0	90,4	85,9	87,2	1.071,2	6.476,5
43,5	91,2	86,2	86,2	1.187,5	7.070,3
44,0	91,3	86,7	78,4	1.410,1	7.775,3
44,5	91,2	87,1	76,2	1.617,9	8.584,3
45,0	90,8	87,3	74,7	1.733,0	9.450,8
45,5	90,4	87,4	72	1.793,6	10.347,6
46,0	89,6	87,8	71,2	2.057,9	11.376,6
46,5	88,9	87,9	71	2.129,9	12.441,5
47,0	87,7	88,1	70,1	2.281,4	13.582,2
47,5	86,5	88,1	69,8	2.281,4	14.723,0
48,0	85,9	88,3	69,8	2.443,8	15.944,8
48,5	84,9	88,4	69	2.529,2	17.209,5
49,0	84,4	88,4	67,6	2.529,2	18.474,1
49,5	83,7	88,5	65,1	2.617,6	19.782,9
50,0	83,1	88,5	63,8	2.617,6	21.091,7
50,5	82,4	88,6	61,5	2.709,2	22.446,3
51,0	81,8	88,5	59,7	2.617,6	23.755,1

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
51,5	81,1	88,5	57,8	2.617,6	25.063,9
52,0	80,1	88,6	56,6	2.709,2	26.418,5
52,5	79,5	88,5	55,2	2.617,6	27.727,3
53,0	78,7	88,4	53,5	2.529,2	28.991,9
53,5	77,8	88,3	52,5	2.443,8	30.213,8
54,0	76,9	88,2	48,5	2.361,2	31.394,4
54,5	76	88,1	45,3	2.281,4	32.535,1
55,0	75,2	88	43,3	2.204,4	33.637,3
55,5	74,5	87,8	41,4	2.057,9	34.666,3
56,0	73,8	87,7	39,8	1.988,4	35.660,5
56,5	73	87,4	38,8	1.793,6	36.557,3
57,0	71,9	87,2	37,2	1.674,5	37.394,6
57,5	70,8	86,9	36,4	1.510,4	38.149,8
58,0	69,7	86,6	35,1	1.362,5	38.831,0
58,5	68,5	86,3	34,7	1.229,0	39.445,5
59,0	67,2	86	34,2	1.108,6	39.999,8
59,5	66	85,6	33,1	966,2	40.482,9
60,0	64,8	85,3	32,8	871,6	40.918,7
60,5	63,5	84,9	32,2	759,6	41.298,5
61,0	62,1	84,5	31,9	662,1	41.629,5
61,5	60,6	84	31,5	557,5	41.908,3
62,0	59,4	83,5	31,1	469,5	42.143,1
62,5	58,2	82,9	30,9	382,0	42.334,1
63,0	57	82,3	30,6	310,8	42.489,5
63,5	56	81,8	30,3	261,8	42.620,4
64,0	55,1	81,2	30,1	213,0	42.726,9
64,5	54,2	80,6	29,9	173,3	42.813,5
65,0	53,3	80	29,6	141,0	42.884,0

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
65,5	52,4	79,5	29,4	118,7	42.943,4
66,0	51,7	78,9	29,2	96,6	42.991,7
66,5	51	78,3	28,9	78,6	43.031,0
67,0	50,4	77,7	28,8	64,0	43.063,0
67,5	49,6	77,1	28,6	52,0	43.089,0
68,0	48,8	76,5	28,4	42,4	43.110,2
68,5	48,2	75,8	28,2	33,3	43.126,9
69,0	47,7	75,2	28	27,1	43.140,4
69,5	47	74,5	28,1	21,3	43.151,1
70,0	46,5	73,9	27,9	17,3	43.159,7
70,5	45,9	73,2	27,7	13,6	43.166,5
71,0	45,3	72,5	27,7	10,7	43.171,9
71,5	44,8	71,9	27,6	8,7	43.176,2
72,0	44,4	71,2	27,5	6,9	43.179,7
72,5	44,1	70,5	27,2	5,4	43.182,4
73,0	43,5	69,9	27,1	4,4	43.184,6
73,5	43,1	69,2	27	3,4	43.186,3
74,0	42,7	68,6	26,9	2,8	43.187,7
74,5	42,3	67,9	26,9	2,2	43.188,8
75,0	41,9	67,2	26,7	1,7	43.189,7
75,5	41,5	66,6	26,7	1,4	43.190,4
76,0	41	65,9	26,5	1,1	43.190,9
76,5	40,7	65,3	26,4	0,9	43.191,4
77,0	40,4	64,7	26,3	0,7	43.191,7
77,5	40	64,1	26,4	0,6	43.192,0
78,0	39,7	63,5	26,1	0,5	43.192,3
78,5	39,3	62,8	26,1	0,4	43.192,5
79,0	39	62,2	26	0,3	43.192,6

tempo (min)	T Salmoura (°C)	T tolete (°C)	Banho (°C)	TL	F _{65,6°C} (min)
79,5	38,7	61,6	25,9	0,3	43.192,7
80,0	38,4	61	25,7	0,2	43.192,8

F_{65,6°C} (min) Os dados da letalidade no “ponto frio” do palmito podem ser apresentados na forma gráfica, como mostrada na Figura 46.

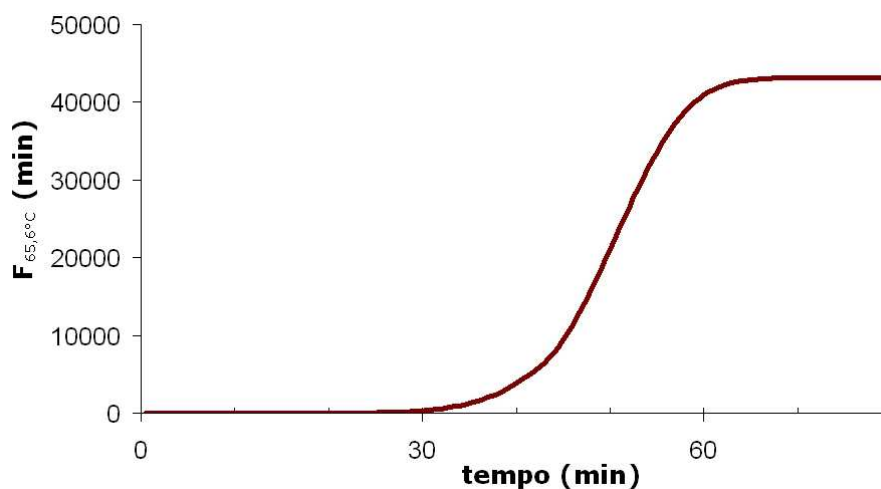


Figura 46: Letalidade no “ponto frio” do tolete