INFLUÊNCIA DE CELULASE, PECTINASE E HEMICELULASE
NA TEXTURA DO PALMITO (*Euterpe edulis* Mart.)

REGINA KITAGAWA
Engenheira de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. TOBIAS J. B. de MENEZES

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Kitagawa, Regina

K62i Influência de celulase, pectinase e hemicelulase na
textura do palmito (*Euterpe edulis* Mart.). Piracicaba,
1991.
96p. ilustr.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Palmito - Tecnologia - Modelo matemático 2. Palmito -
Textura - Efeito da enzima 3. Superfície de resposta
I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 664.80461

INFLUÊNCIA DE CELULASE, PECTINASE E HEMICELULASE
NA TEXTURA DO PALMITO (*Euterpe edulis* Mart.)

REGINA KITAGAWA

Aprovada em: 18 de dezembro de 1991.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Tobias J. B. de Menezes

LCT - ESALQ

Prof. Dr. João Nunes Nogueira

LCT - ESALQ

Prof. Dr. Morris W. Montgomery

FEA - UNICAMP

Prof. Dr.

Orientador

Aos meus pais
com carinho e admiração.
Ao Nivaldo
com amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Tobias José Barreto de Menezes pela orientação.
- Ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da ESALQ e ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pela oportunidade de realizar este trabalho.
- Aos Pesquisadores Científicos do ITAL: Lutz Walter Bernhardt, Terezinha de Jesus Garcia Salva, Sonia Dedeca da Silva de Campos, Issao Shirose, pelas valiosas sugestões, apoio e sobretudo pela amizade.
- Ao Prof. Dr. Roy Edward Bruns do Departamento de Química da UNICAMP pelo valioso auxílio e atenção.
- À Valéria Reginatto, pela amizade e apoio sempre presentes.
- Ao Sr. Nivaldo Grizotto pela revisão ortográfica.
- À Profª Drª Hilary Castle de Menezes pela gentileza da tradução do resumo para o inglês.
- À Dª Maria José Neto e ao Sr. Jurandir Pereira pela "força" e carinho dados no decorrer do trabalho.
- À Bibliotecária Luzia de Fátima da Silva pela solicitude e atenção.
- Ao Dr. Fausto Coral e ao Dr. Gentil pelo fornecimento dos palmitos.
- À CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro.
- À todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	vii
SUMMARY	ix
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVO	04
3. REVISÃO DE LITERATURA	05
3.1. A exploração da palmeira para fins alimentí- cios	05
3.2. O rendimento da palmeira	07
3.3. Padrões de qualidade para o palmito industria- lizado	08
3.4. A textura do palmito	10
3.5. Modificação de alimentos de origem vegetal pe- la ação de enzimas	13
3.5.1. Composição da parede celular dos teci- dos vegetais	13
3.5.2. Enzimas que degradam substâncias pécti- cas	15
3.5.3. Enzimas que degradam celulose	17
3.6. Aplicação de enzimas celulolíticas e pectinolí- ticas como modificadores do tecido vegetal ...	20
3.7. Otimização de processos e produtos utilizando a metodologia de superfície de respostas (RMS) ..	23

	Página
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1. Matéria-prima	27
4.1.1. Definição	27
4.1.2. Processamento	28
4.1.2.1. Desbaste	28
4.1.2.2. Corte	29
4.1.2.3. Desaeração em água	29
4.1.2.4. Tratamento Térmico	30
4.1.2.5. Acondicionamento	30
4.1.2.6. Armazenamento	31
4.1.3. Determinação da textura e dos teores de fibras	31
4.1.3.1. Textura	32
4.1.3.2. Umidade	33
4.1.3.3. Fibra detergente neutro (NDF) ..	33
4.1.3.4. Fibra detergente ácido (ADF) ..	33
4.1.3.5. Celulose e lignina	33
4.1.3.6. Hemicelulose	34
4.1.3.7. Pectina	34
4.2. Enzimas	34
4.3. Determinação da atividade hidrolítica dos pre- parados enzimicos comerciais	35
4.3.1. Atividade de celulase	35
a) Em papel de filtro	35
b) Em algodão	36
c) Em CMC (CMCase)	36
4.3.2. Atividade de endopoligalacturonase	37

	Página
4.3.3. Atividade de xilanase	37
4.4. Preparo da matéria-prima para facilitar a ação das enzimas	38
4.4.1. Tolete cortado em porções	38
4.4.2. Tolete picado	38
4.4.3. Raquis de palmito	41
4.4.4. "Purê" de folíolo de palmito	41
4.5. Aplicação dos preparados enzimicos para o ama- ciamento do palmito fibroso	42
4.6. Otimização do processo de amaciamento do palmi to tratado com enzimas, empregando-se a metodo logia de superfície de respostas	43
4.6.1. Planejamento do 1º grau	44
4.6.2. Planejamento "estrela"	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1. Determinações da textura e do teor de fibras .	48
5.1.1. Em toletes comestíveis	48
5.1.2. Em toletes não comestíveis	50
5.1.3. Em folíolos dos toletes não comestíveis	54
5.2. Determinação da atividade hidrolítica dos pre- parados enzimicos comerciais	56
5.3. Ação das enzimas na textura do palmito	59
5.3.1. Tolete cortado em porções	59
5.3.2. Tolete picado	62
5.3.3. Raquis de palmito	65
5.3.4. "Purê" de folíolo	67

5.4. Otimização do processo de amaciamento empregan	
do a metodologia de superfície de respostas ..	70
6. CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Distribuição geográfica aproximada das duas principais palmeiras produtoras de palmito.	06
FIGURA 2. Esquema de uma palmeira <i>E. edulis</i> Mart., incluindo a posição do palmito (a). A região hachurada destaca o tolete fibroso usado nos tratamentos enzimáticos (b)	08
FIGURA 3. Perfil de textura dos palmitos de açaí e juçara ao longo do seu comprimento	12
FIGURA 4. Estrutura grosseira (A) e interna (B) das microfibrilas que compõem as várias camadas da parede secundária das fibras de celulose	14
FIGURA 5. Sequência da reação enzimática envolvendo a degradação da celulose nativa	18
FIGURA 6. Esquema do modelo sinérgico proposto para a hidrólise enzimática da celulose docelulase; E ₂ : exocelulase; E ₃ : celobiose (○-) Unidade de glicose; (●-) Final não redutor	19
FIGURA 7. Resultados hipotéticos da técnica de "uma variável por vez"	25

- FIGURA 8. Superfície de Respostas representando Rendi-
mento x Tempo x Temperatura de reação, mos-
trando pontos da técnica de "uma variável
por vez" 26
- FIGURA 9. Fluxograma do processamento da matéria-prima 28
- FIGURA 10. Porções macia (A), intermediária (B) e du-
ra (C) do tolete fibroso de palmito *E.edulis*
cortadas longitudinalmente ao meio (Lado I
e II) 32
- FIGURA 11. Toletes de palmito *E.edulis* fibroso acondicio-
nados em embalagens plásticas especiais
("retourt pouches") 39
- FIGURA 12. Estruturas diferenciadas, em raquis e fo-
líolos, do tolete de palmito fibroso de 16
cm de comprimento 39
- FIGURA 13. Tolete de palmito fibroso medindo 9 cm de
comprimento 40
- FIGURA 14. Tolete de palmito fibroso de 9 cm de compri-
mento cortado longitudinalmente ao meio ... 40
- FIGURA 15. "Purê" de folíolos do tolete fibroso tritu-
rados..... 42

- FIGURA 16. Representação espacial dos 19 pontos de um planejamento composto de 2º grau para as três variáveis: x_1 (concentração de enzima); x_2 (tempo de incubação) e x_3 (temperatura de incubação) 46
- FIGURA 17. Distribuição de fibras e valores de textura ao longo da palmeira *E.edulis*. As determinações foram conduzidas no 2º e no último corte comestível e no 1º corte não comestível cortado nas porções macia (A); intermediária (B) e dura (C) 51
- FIGURA 18. Efeito dos tratamentos enzimáticos na textura (em lbf/g) do tolete de palmito cortado nas porções macia (A); intermediária (B) e dura (C). As condições de incubação foram: [E] = 1,0 g enzima/100 g de palmito (peso úmido), pH 4,8; 37°C/2 h; 150 rpm 60
- FIGURA 19. Linhas de contorno para os valores de viscosidade (cP) do "purê" de folíolos tratado com celulase para os diferentes níveis das variáveis 75
- FIGURA 20. Linhas de contorno para os valores de viscosidade (cP) do "purê" de folíolos tratados com pectinase para os diferentes níveis das variáveis 78

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Quantidade e valor das exportações brasileiras de palmito em conserva	02
TABELA 2. Variáveis independentes e níveis de variação usados no planejamento estatístico	44
TABELA 3. Planejamento estatístico para a otimização do processo de amaciamento de palmito via superfície de respostas	47
TABELA 4. Determinações da textura e do teor de fibras em toletes comestíveis de palmito <i>E.edulis</i> ...	49
TABELA 5. Determinações da textura e do teor de fibras no tolete fibroso medindo 9 cm de comprimento cortado em porções: macia (A); intermediária (B) e dura (C) do palmito <i>E.edulis</i> ...	53
TABELA 6. Determinações da textura e do teor de fibras em folíolos de tolete fibroso não comestível de palmito <i>E.edulis</i>	55
TABELA 7. Determinação da atividade hidrolítica dos preparados enzimicos comerciais concentrados	58

TABELA 8.	Efeito dos tratamentos enzimicos na textura do tolete fibroso de palmito <i>E.edulis</i> cortado longitudinalmente e em fatias de 1 cm de espessura	63
TABELA 9.	Textura (lbf/g) em toletes de palmito branqueados, cortados longitudinalmente ao meio e em dois lados iguais (Lado I e Lado II) .	64
TABELA 10.	Efeito dos tratamentos enzimicos na textura dos raquis de palmito <i>E.edulis</i> fibroso cortado em quatro porções	66
TABELA 11.	Efeito dos tratamentos enzimicos na textura dos raquis de palmito <i>E.edulis</i> fibroso cortado em duas porções	68
TABELA 12.	Efeito dos tratamentos enzimicos na viscosidade do "purê" de folíolos dos toletes de palmito <i>E.edulis</i> fibroso	69
TABELA 13.	Valores de viscosidade (γ) em "purê" de folíolos tratado com celulase e pectinase ...	71
TABELA 14.	Estimativa dos coeficientes da equação de 2º grau ajustada pelos mínimos quadrados para celulase e pectinase	73
TABELA 15.	Análise de variância para a modificação da viscosidade do purê de folíolos tratado com celulase	74

TABELA 16. Análise de variância para a modificação da viscosidade do "purê" de folíolos tratados com pectinase	74
--	----

TABELA 17. Valores das variáveis otimizadas, previstas pela regressão quadrática para a modificação da viscosidade do "purê" de folíolos tratado com celulase	76
---	----

INFLUÊNCIA DE CELULASE, PECTINASE E HEMICELULASE NA TEXTURA DO PALMITO (*Euterpe edulis* Mart.)

Autora: REGINA KITAGAWA

Orientador: TOBIAS J. B. DE MENEZES

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi verificar a modificação na textura de pontas duras do palmito, consideradas não comestíveis, pela ação das enzimas celulasas, pectinases e hemicelulasas. Em geral, estas pontas duras são descartadas ou mesmo incluídas ao produto industrializado, o que configura fraude ao consumidor.

As pontas duras do palmito foram incubadas com celulase e pectinase fornecidas por diferentes laboratórios. Experimentos preliminares foram conduzidos com a matéria-prima preparada na forma de pequenos toletes (1-3 cm comprimento) e na forma de purê (folíolo triturado), incubados em agitador rotativo com controle de temperatura e agitação. A avaliação de textura foi realizada em texturômetro Texture Test System, equipado com célula padrão de compressão e cisalhamento para amostras de tolete e em viscosímetro Brookfield para amostras de purê.

Os resultados obtidos mostraram pouca ou nenhuma ação dos preparados enzimáticos sobre as amostras de toletes. Quando preparada na forma de "purê", celulase e pectinase mostram redução de 2,9 a 2,1 vezes, respectivamente, no

valor da viscosidade.

Definido o purê como a melhor forma de preparo da matéria-prima e as enzimas que apresentaram melhores resultados, foi aplicado um planejamento fatorial 2^3 para ajustar os parâmetros de concentração de enzima (0,5 a 1,0%), tempo (4 a 6h) e temperatura (40 a 50°C) de incubação e seus respectivos níveis a um modelo final de otimização via metodologia de superfície de respostas. Para celulase foi verificada uma redução em 4 vezes no valor de viscosidade, comparando-se à testemunha (sem enzima) para a dada situação ($T=50^{\circ}\text{C}$; $t=5\text{h}5\text{min}$; $[E]=0,81\%$) máx-minimizada pela superfície de respostas, enquanto que para pectinase não foram encontrados resultados satisfatórios nestas condições.

A aplicação de celulase nas pontas duras do palmito, preparada na forma de purê, representa um aumento em cerca de 8-10% no rendimento da palmeira.

INFLUENCE OF CELLULASE, PECTINASE AND HEMICELLULOSE ON THE TEXTURE OF HEARTS PALM (*Euterpe edulis* Mart.)

Author: REGINA KITAGAWA

Adviser: TOBIAS J. B. DE MENEZES

SUMMARY

The aim of this research was to verify the textural changes in the non-edible hard tips of hearts of pal caused by the action of cellulase, pectinase and hemicellulase. In general these tips are discarded or added to the industrialized canned product, which constitutes a fraud to the customers.

The hard tips of hearts of pal were incubated with cellulase and pectinase preparations supplied by different laboratories. Preliminary experiments were carried out with the raw material prepared both as stalks (1-3 cm length) and as a puree (ground foliole) and incubated in a rotatory shaker under controlled agitation and temperature. The texture was evaluated using a Texture Test System texturometer with a shear compression standard cell for the stalk samples and a Brookfield viscosimeter for the purees.

The results showed little or no activity of the enzymes preparations on the sample prepared as stalks. However, with the purees, cellulase and pectinase reduced the viscosity values by factor of 2,9 and 2,1 respectively, as compared to the control samples.

A 2^3 Factorial Design was then applied to the puree to adjust the parameters of enzyme concentration (0.5 to 1.0%), time (4 to 6h) and temperature (40 a 50°C) of incubation and their respective levels to a final optimization using Response Surface Methodology.

A 4-fold reduction in viscosity was found for the cellulase treated samples as compared to the control, using a pre-determined set of conditions ($T=50^{\circ}\text{C}$; $t=5\text{h}5\text{min}$; $[E]=0,81\%$) max-minimized by Response Surface Methodology. No satisfactory results were found with the pectinase treated samples under these conditions.

The application of cellulase to the hard tips of hearts of palm prepared as puree results in an 8 to 10% increase in the yield of the palm.

1. INTRODUÇÃO

A crescente diminuição das matas nativas da palmeira *Euterpe edulis* (também conhecida por juçara), localizada na região Sul do País é sobretudo devido ao extrativismo praticado para a obtenção da matéria-prima. Este fator, aliado ao seu longo período de crescimento (6-8 anos), tem incrementado pesquisas que visam o aumento do rendimento da palmeira e também para encontrar alternativas de espécies produtoras de palmito.

De acordo com dados da Carteira de Comércio Exterior (CACEX) do Banco do Brasil (Tabela 1), tem sido verificado um considerável volume de palmito exportado nos últimos anos, tornando-o um dos principais produtos alimentícios industrializados exportados. Em virtude do seu elevado valor comercial e a possibilidade de expansão do mercado externo deste produto devem ser tomadas medidas que assegurem o seu padrão de qualidade.

Tabela 1. Quantidade e valor das exportações brasileiras de palmito em conserva.

Ano	Peso Total (quilos)	US\$
1978	5.588.732	12.702.184
1979	6.831.679	19.224.637
1980	10.056.066	34.633.439
1981	8.282.183	23.651.965
1982	8.766.373	19.995.703
1983	10.690.852	27.020.111
1984	9.883.956	25.684.895
1985	5.136.289	10.220.290
1986	8.350.612	23.532.200
1987	9.615.078	35.539.417

FONTE: CACEX - Banco do Brasil S.A.

Vários são os defeitos que afetam a qualidade do palmito, decorrentes principalmente de falhas durante o processamento. Destes defeitos, a presença de toletes rijos e fibrosos tem sido considerada como um dos mais comuns. Em cerca de 75% das latas e vidros comercializados no mercado in terno, pelo menos um tolete de palmito fibroso foi encontrado (HALE *et alii*, 1978).

A inclusão de pontas duras ao produto acabado é considerada fraude, visto ser possível reconhecer sua textura rígida pelo tato, ou mesmo visualmente durante a operação de corte dos palmitos destinados ao enlatamento.

Como a dureza do palmito depende dos teores de seus componentes celulose, hemicelulose e lignina, supõe-se ser possível amaciá-lo, empregando-se enzimas que atuassem seletivamente sobre estes substratos. Assim, seria possível aproveitar partes semi-rígidas e, conseqüentemente, incrementar o rendimento da palmeira.

Estudou-se neste trabalho, a influência das enzimas celulase, hemicelulase e pectinase na textura de pontas duras do palmito de *Euterpe edulis*. Preliminarmente, foram selecionadas as enzimas que melhores resultados apresentaram na redução da textura, bem como, a melhor forma de preparo do tolete de palmito para facilitar o acesso da enzima ao substrato.

Em uma segunda etapa, o processo de amaciamento foi otimizado via metodologia de Superfície de Respostas. Os níveis (valores) da concentração de enzima, tempo e temperatura de incubação foram minimizados para que fornecessem valores mínimos de viscosidade em "purê" de palmito.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo verificar a influência das enzimas celulase e pectinase na textura das pontas duras do palmito de *Euterpe edulis*. O processo de amaciamento foi otimizado via Superfície de Respostas máx-minimizando os níveis (valores) das variáveis estudadas: concentração de enzima, tempo e temperatura de incubação.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A exploração da palmeira para fins alimentícios

São inúmeras as palmeiras produtoras de palmito, mas nem todas podem ser consumidas. Entre o grande número de gêneros da família *Palmae*, o principal fornecedor de palmito comestível é o gênero *Euterpe* destacando-se as espécies *oleracea* e *edulis* (LEÃO & CARDOSO, 1974; BERNHARDT, 1978).

O palmito de *Euterpe edulis* Mart., conhecido como juçara ou jicara, nativo da região Centro-Sul do País (Figura 1), teve suas reservas naturais praticamente extintas em consequência do extrativismo praticado pelas indústrias processadoras, levando-as a fecharem suas portas ou se deslocarem para a região Norte do País (Figura 1), em busca de outro tipo de palmácea comestível nativa da região, a *Euterpe oleracea* Mart., também conhecida como açaí ou açaizeiro (FERREIRA & YOKOMIZO, 1978).

Outras espécies de palmeiras que produzem palmito comestível e de boas perspectivas para industrialização são *Orbignya oleifera* Burret, conhecida como babaçu (MARTIN *et alii*, 1969/70), *Scheelea phalerata*, conhecida como bacuri (QUAST

& BERNHARDT, 1976), *Attalea dubia* conhecida como indaiã ou palmeira gigante (QUAST & BERNHARDT, 1976), *Guilielma gasipaes*, atualmente *Bactris gasipaes*, conhecida como pupunha (FERREIRA *et alii*, 1981/82a; FERREIRA *et alii*, 1981/82b). O palmito guariroba, extraído da *Syagrus oleracea* Becc., largamente consumido nos estados de Goiás e Minas Gerais, não foi aceito organolepticamente como palmito comestível em estudo conduzido no ITAL (Campinas) por causa do seu sabor amargo (FERREIRA *et alii*, 1976).

Figura 1. Distribuição geográfica aproximada das duas principais palmeiras produtoras de palmito.

FONTE: QUAST & BERNHARDT, 1978.

Uma outra espécie de palmito obtida do cruzamento de *E.edulis* com *E.oleracea* tem sido estudada no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) por BOVI (1978). O palmito hí-

brido obtido, apresentou ótima aceitação organoléptica além de apresentar vantagens em relação aos genitores, como por exemplo, o diâmetro grande do palmito juçara e a capacidade de perfilhar do palmito açai (FERREIRA *et alii*, 1981/82a; FERREIRA *et alii*, 1981/82b).

3.2. O rendimento da palmeira

QUAST & BERNHARDT (1976) observaram que a porção comestível da palmeira *E.edulis* corresponde a 1/3 da parte superior da palmeira próxima às folhas, onde se localiza o palmito (Figura 2a). Considerando que a palmeira leva de 6-8 anos para se tornar adulta e que para a extração do palmito a planta é eliminada, este rendimento é muito pequeno.

FERREIRA *et alii* (1976) e FERREIRA *et alii* (1981/82b) em estudos com *E.edulis* verificaram que para produzir uma lata de palmito de 1 Kg seriam necessários de 1,2 a 1,5 palmeiras, com um aproveitamento médio de 450 g da parte comestível por tolete de palmito. Este valor compara-se com o rendimento mínimo verificado por NOGUEIRA (1979), porém, em média, o rendimento determinado pelo pesquisador foi muito maior e em torno de 1 Kg de parte comestível por tolete de palmito.

Procurando aumentar o rendimento da palmeira, FERREIRA & YOKOMIZO (1978) investigaram a possibilidade de consumo do coração da palmeira, região localizada abaixo da gema apical do palmito (Figura 2b), não sendo constatada diferença significativa em relação ao palmito quando preparado sob a forma de um prato.

Algumas indústrias têm processado pedaços pequenos e mais fibrosos misturados com pedaços do coração da

palmeira, que é vendido para pastelarias e restaurantes. Embora seja comercializado a preços mais baixos, configura-se como fraude, visto que o produto é vendido como palmito (FERREIRA & YOKOMIZO, 1978).

Figura 2. Esquema de uma palmeira *E. edulis* Mart., incluindo a posição do palmito (a). A região hachurada destaca o tolete fibroso usado nos tratamentos enzimáticos (b).

FONTE: FERREIRA *et alii*, 1981/82a.

3.3. Padrões de qualidade para o palmito industrializado

Apesar da posição de destaque que ocupa entre os produtos exportados brasileiros, o palmito enlatado ainda é comercializado em condições precárias (TEIXEIRA, 1966; RE-NESTO & VIEIRA, 1977; QUAIST & BERNHARDT, 1978). Em estudos

preliminares, MENEZES & LEITÃO (1967/68) investigaram os níveis de qualidade em palmitos industrializados de diversas marcas, constatando inúmeras falhas de processamento.

A carência de conhecimentos tecnológicos para a produção do palmito industrializado vem sendo paulatinamente sanada com as pesquisas desenvolvidas no Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL (BERNHARDT *et alii*, 1978; MARTIN *et alii*, 1969/70; FERREIRA *et alii*, 1976; PASCHOALINO & BERNHARDT, 1978; PASCHOALINO, 1978). No entanto, os resultados não foram totalmente absorvidos pela indústria palmiteira, visto que HALE *et alii* (1978) detectaram variações na qualidade em várias marcas comercializadas no mercado interno.

Vários são os fatores que afetam a qualidade do palmito industrializado. Os defeitos mais comuns podem ser divididos em: 1) fatores que afetam a aparência do produto, como a presença de toletes com fibras denotadoras de aparência dura, cor desuniforme, defeitos mecânicos, pedaços desintegrados, desuniformidade no diâmetro e 2) quanto ao aspecto de saúde pública, ou seja, a correta acidificação do produto (SERPRO, s.d.; FERREIRA *et alii*, 1976).

Com exceção da desuniformidade no diâmetro, que é de difícil controle, os demais defeitos podem ser controlados durante o processamento (MEJIA ZAPATA & QUAST, 1975; QUAST & BERNHARDT, 1976; FERREIRA *et alii*, 1976; QUAST & BERNHARDT, 1978). No entanto, a inclusão de partes fibrosas não comestíveis ao produto acabado tem sido uma prática largamente adotada pelas indústrias (HALE *et alii*, 1978).

Recentemente a FAO/OMS (1989) publicou no Codex Alimentarius as normas para o palmito industrializado. Inserido no item "Defeitos e Tolerâncias" aparece o termo "textura defeituosa" definida como "partes duras ou fibrosas e/ou excessivamente macias, as quais afetam seriamente a comestibilidade da unidade, cuja limitação não deve exceder 10% do peso drenado da amostra".

O respeito aos padrões de qualidade estabelecidos e aceitos mundialmente, é fundamental pois facilitam as transações comerciais entre as nações, assegurando o recebimento de um produto sadio e protegido contra fraudes (FERREIRA, 1976).

3.4. A textura do palmito

O palmito é um vegetal fino, sendo consumido mais pelo sabor agradável e textura delicada do que por uma possível contribuição nutricional em uma dieta. A sua textura foi considerada o atributo organoléptico que mais influencia na qualidade do produto em conserva (FERREIRA *et alii*, 1976; HALE *et alii*, 1978; CAMPOS *et alii*, 1978). Entretanto, poucos trabalhos tratam da problemática da textura e desenhcem-se trabalhos que enfocam o aproveitamento das partes fibrosas consideradas como não comestíveis.

Em estudos conduzidos por FERREIRA¹, foi demonstrada a grande variação dos valores de textura quando se

1. FERREIRA, V.L.P. (Instituto de Tec. Alimentos, Campinas). Comunicação Pessoal, 1990.

avaliam marcas comerciais, sugerindo que a palmeira apresenta diferentes características ao longo da porção comestível.

A acentuada variabilidade do atributo textura ao longo do tolete de palmito foi também verificada por FERREIRA *et alii* (1981/82a) em estudos com palmito juçara, açaí e respectivo híbrido (obtido do cruzamento de juçara com açaí). Foi constatado para ambas as espécies que os palmitos provenientes dos primeiros cortes eram de textura mais macia, tornando-se menos macia à medida que se afastam da gema apical (Figura 2b), sendo o mesmo observado para a porção macia do estipe ou coração da palmeira (Figura 2b).

CAMPOS & PEDRASSI (1988) caracterizaram o perfil de textura ao longo da porção comestível do palmito de juçara e açaí (Figura 3). Os pesquisadores concluíram que este atributo, apesar de se comportar diferentemente para cada espécie de palmeira e nas diferentes faixas de diâmetro da secção transversal do tolete, aumenta quase linearmente até a porção central do penúltimo corte (5º ou 6º corte - Figura 3). Os valores limites para esta região varia de acordo com o diâmetro da secção transversal, cerca de 165 lbf para amostras de diâmetro pequeno e médio ($15 < D < 25$ mm) e 250 lbf para amostras de diâmetro maior ($35 < D < 50$ mm). Estas faixas de diâmetro foram definidas no Codex Alimentarius para palmito em conserva pela FAO/OMS (1989).

Figura 3. Perfil de textura dos palmitos de açaí e juçara, ao longo do seu comprimento.

FONTE: CAMPOS & PEDRASSI (1988).

A inclusão, ao produto industrializado, de partes fibrosas não comestíveis, tem sido uma prática industrial de cunho fraudulento (HALE *et alii*, 1978), visto que a textura rígida pode ser percebida pelo tato ou mesmo visualmente, durante a operação de corte dos palmitos destinados ao enlatamento (FERREIRA *et alii*, 1976).

QUAST & BERNHARDT (1978) atribuem a inclusão de partes fibrosas ao produto enlatado como resultado da falta de pessoal qualificado nas indústrias processadoras. Alguns produtores acreditam que o cozimento prolongado torna estas partes comestíveis, porém, o que realmente ocorre é um amaciamento excessivo das partes consideradas normais da matéria-prima que perdem sua textura característica.

3.5. Modificação de alimentos de origem vegetal pela ação de enzimas

Torna-se difícil estudar as enzimas envolvidas na modificação de alimentos de origem vegetal sem se referir aos substratos nos quais elas atuam. Serão examinadas, brevemente, a natureza química e as interações dos componentes celulósicos e pectínicos no tecido vegetal.

3.5.1. Composição da parede celular dos tecidos vegetais

A parede celular das plantas comestíveis constitui-se principalmente de lamela média e de parede celular primária, sendo praticamente livre de parede celular secundária (VAN BUREN, 1979).

De um modo geral, pode-se dizer que cerca de 20-30% da parede primária de frutas e vegetais é composta por celulose e glicanos de ligações β (Mc NEIL *et alii*, 1984) embora tenha sido recentemente descoberta a presença de outros componentes como xilanos (BOLWELL & NORTHCOTE, 1981; BOLWELL & NORTHCOTE, 1983), xiloglicanos (RAY, 1980), arabinanos (BOLWELL & NORTHCOTE, 1981; BOLWELL & NORTHCOTE, 1983) e arabinogalactanos (SHIBECI *et alii*, 1984). Estes componentes celulares são unidos uns aos outros através de uma argamassa intersticial de substâncias pecticas (CODNER, 1971).

Nos tecidos velhos e lenhosos, que normalmente não são considerados como alimentos, a lamela média contém ligninas associadas (CODNER, 1971), circundadas por uma

camada relativamente espessa de parede celular secundária (COWLING, 1975).

Dentro da parede secundária, a celulose e outros constituintes da parede celular são agregados em estruturas finas e longas denominadas microfibrilas. As microfibrilas são entidades distintas, nas quais as moléculas de celulose são ligadas lateralmente através de pontes de hidrogênio.

Conforme mostrado na Figura 4, as moléculas de celulose apresentam vários graus de paralelismo. As regiões onde as moléculas são altamente organizadas são denominadas cristalinas e as ordenadas ao acaso são denominadas paracristalina ou região amorfa (COWLING, 1963; CODNER, 1971).

Figura 4. Estrutura grosseira (a) e interna (b) das microfibrilas que compõem as várias camadas da parede secundária das fibras de celulose.

FONTE: COWLING (1963, p.4).

A combinação de lignina com a celulose parcialmente cristalina, que ocorre nas paredes secundárias dos tecidos lenhosos, é a principal responsável pela resistência do material aos ataques químicos e biológicos (COWLING, 1975).

As ligninas são polímeros de peso molecular extremamente variados, formadas a partir de subunidades de fenil propano (SARKANEN & LUDWIG, 1974). Visto que, contém poucas ligações hidrolisáveis, sua degradação enzimática não pode ser através de despolimerização hidrolítica produzindo fragmentos solúveis, como é o modelo de degradação da celulose ou da maioria dos outros biopolímeros (KIRK, 1975). A degradação da celulose presente nos tecidos lenhosos depende da remoção, ao menos parcial, da lignina. Os microrganismos degradadores do tecido vegetal devem ser capaz de degradar a lignina, ou pelo menos romper sua ligação com a celulose (KIRK, 1975).

3.5.2. Enzimas que degradam substâncias pécticas

As enzimas que degradam as substâncias pécticas podem ser divididas em esterases, responsáveis pela remoção dos grupos metoxilas e enzimas despolimerizantes, que rompem a cadeia polissacarídica. Neste último grupo, concentram-se as enzimas que atuam sobre as cadeias poliurônicas das substâncias pécticas. Estas enzimas são classificadas de acordo com a natureza do rompimento das ligações glicosídicas α -1-4 em hidrolases transeliminases (BATTEMAN & MILLAR,

1966). Uma outra classificação depende da posição da quebra da cadeia. Se for restrita à remoção de monômeros unitários a partir do final da cadeia, com um efeito sacarificante maior do que liquidificante, as enzimas são denominadas exoenzimas (CODNER, 1971). Por outro lado, se as enzimas promovem a quebra das ligações glicosídicas da cadeia ao acaso, no interior da molécula, resultando na rápida liquidificação do material coloidal são denominadas endoenzimas (CODNER, 1971).

Resumidamente, as enzimas que promovem a quebra do ácido pectico, preferencialmente, são denominadas exo e endopoligalacturonase, enquanto que as hidrolases de pectina ou ácido pectínico são exo e endopolimetilgalacturonase (exo e endo PMG). Por conseguinte, as transeliminases são exo e endo poligalaturonase transeliminases (exo e endo PGTE) e exo e endopectina-metil-transeliminases (exo e endo PMTE). Quando se intenciona a maceração dos tecidos vegetais, as endopoligalacturonases apresentam maiores interesses do que as polimetilgalacturonases e transeliminases (ZETELAKI-HORVÁTH & GÁTAI, 1977).

Entende-se por maceração o fenômeno de amaciamento que ocorre durante o amadurecimento e desfolhamento de vegetais, causando a desintegração dos mesmos, e em processos infecciosos causados por vários organismos fitopatogênicos (CALL *et alii*, 1985). No entanto, enzimas de maceração têm sido largamente utilizadas em processos industriais que visam modificar as características reológicas dos produtos alimentícios.

O local de ataque da endopoligalacturonase no tecido vegetal, parece ser tanto na lamela média, contendo quantidades mínimas ou mesmo livre de material celulósico, como na região entre a lamela média e a camada mais externa das fibrilas de celulose (Mc CLENDON & SOMERS, 1960; SREENATH *et alii*, 1986). O tecido se desintegra porque as pectinas de baixa esterificação presentes na lamela média são degradadas liberando células individuais (CALL *et alii*, 1985). Por outro lado, as pectinas altamente esterificadas da parede celular não são degradadas, mantendo seu conteúdo intacto, promovendo turbidez estável, que é desejado, principalmente em sucos de frutas e vegetais (ROMBOUTS & PILNIK², citado por CALL *et alii*, 1985).

3.5.3. Enzimas que degradam celulose

A degradação da celulose pode ser conseguida por meio de enzimas celulolíticas obtidas de microrganismos, plantas superiores e do trato digestivo de vários invertebrados. Destas fontes de enzimas destacam-se as microbianas, principalmente as obtidas de fungos, devido à alta atividade sobre a celulose cristalina, aliada a facilidade de produção em escala industrial.

O processo de degradação enzimática da celulose proposto inicialmente por REESE *et alii* (1950), requeria o envolvimento de pelo menos dois componentes enzimáticos: a C_1 e

2. ROMBOUTS, F.M. & PILNIK, W. Pektinotretiche Enzyme in der Fruchtsaftindustrie samall. Fluss. Obst., 38:93-98, 1971.

C_x , conforme o descrito por REESE (1956) (Figura 5). De acordo com os pesquisadores, as enzimas C_x hidrolisam ligações β -1,4 em moléculas de celulose que teriam sido previamente "ativadas" por um fator hipotético não-hidrolítico denominado C_1 . A enzima C_x referia-se às endo- β -1,4 glicanases, que atuam ao acaso e às exo- β -1,4 glicanases, que atuam a partir do final redutor (KULP, 1975). Estudos posteriores identificam o componente C_1 como sendo uma exo- β -1,4 glicanase, que remove sucessivas unidades de celobiose a partir do final não redutor (WOOD, 1969; WOOD & Mc CRAE, 1972; HALLIWELL & GRIFFIN, 1973), o que resultou em algumas confusões de nomenclatura.

WOOD & Mc CRAE (1978) sugeriram, finalmente, a utilização do termo celobiohidrolase ou exoglicanase para designar a enzima C_1 e endoglicanases ao invés de enzima C_x , de acordo com as suas atividades estabelecidas.

Figura 5. Sequência da reação enzimática envolvendo a degradação da celulose nativa.

FONTE: REESE (1956).

O modelo atualmente aceito da hidrólise enzimática da celulose, proposto por OKASAKI & MOO-YOUNG (1978) re

conhece três enzimas principais do complexo da celulase: E_1 , uma endo- β -1,4 glicanase (E.C.3.2.1.4), que hidrolisa a celulose ao acaso, produzindo glicose e celobiose como produto final (Figura 6); E_2 , uma exo- β -1,4 glicanase ou C_1 (E.C. 3.2.1.91), que atua na cadeia polimérica a partir do final não redutor produzindo principalmente celobiose (Figura 6) e E_3 , denominada celobiase ou β -glicosidade (E.C.3.2.1.21), que atada principalmente celobiose, produzindo glicose (Figura 6). Esta enzima não participa diretamente da degradação da celulose, mas exerce importante função na sacarificação, impedindo ou reduzindo a inibição da celobiohidrolase pela celobiose (DESAI *et alii*, 1983).

Figura 6. Esquema do modelo sinérgico proposto para hidrólise enzimática da celulose.

E_1 = endocelulase; E_2 = exocelulase; E_3 = celobiase.

(○) Unidade de glicose; (●) Final não redutor.

FONTE: OKASAKI & MOO-YOUNG (1978).

3.6. Aplicação de enzimas celulolíticas e pectinolíticas como modificadores do tecido vegetal

Enzimas fúngicas ricas em celulases, pectinases e xilanases obtidas de diferentes microrganismos têm sido utilizadas em processos que visam a modificação reológica de produtos alimentícios (SHARMA & JOSEPH, 1983).

Entre os vários microrganismos celulolíticos destacam-se *Trichoderma reesei* (TOYAMA, 1963; MANDELS & REESE, 1964; SREENATH *et alii*, 1986; HJORTKJAER *et alii*, 1986), *T. koningii* (WOOD, 1969; CODNER, 1971) e *Aspergillus niger* (TOYAMA, 1963; NISIZAWA, 1973; HJORTKJAER *et alii*, 1986). Os microrganismos produtores de pectinase, mais precisamente endopoligalacturonase, incluem *A. alleaceus* (SREENATH *et alii*, 1984 e SREENATH *et alii*, 1986) e *A. awamori* (ZETELAKI-HORVÁTH & GÁ-TAI, 1977; ZETELAKI-HORVÁTH, 1980). SHARMA & JOSEPH (1983) ainda incluem *Neurospora crassa* e *A. terreus* como produtores de misturas enzimáticas, ricas em celulases, pectinases e xilanases.

KIRK (1975) relata um único fungo *Polyporus resinous*, capaz de secretar um complexo enzimático rico em celulase, xilanase, mananases, lacases, amilases, entre outras, podendo também degradar a lignina.

Os preparados enzimáticos de celulases e pectinases obtidas de microrganismos disponíveis no mercado, são em geral uma mistura de várias carboidrases, tornando difícil interpretar e controlar a ação individual de cada enzima

dentro do parâmetro de maceração e liquefação (SREENATH *et alii*, 1984). No preparado comercial produzido pela Röhm GmbH (Darmstad, Alemanha Federal), rico em endopoligalacturonase foram encontradas algumas outras enzimas contaminantes, como por exemplo, celulasas, hemicelulasas, β -glicanases e proteases (GRAMPP³, citado por SREENATH *et alii*, 1984). Por outro lado, em um preparado comercial de celulasas obtido de *T. reesei* foi encontrado uma pectinase como contaminante (SREENATH *et alii*, 1984).

TOYAMA (1963) submeteu à ação de preparados comerciais ricos em celulasas, alimentos como couve, cebola, batata, batata doce, folha de chá verde, folhas de tabaco, "wakame" (*Undaria pinnatifida*), "konbu" (*Laminaria japonica*), maçã e levedura alimentícia, observando na maioria dos alimentos, um notável amaciamento e desintegração quando suavemente agitados, com exceção de suas cascas.

CASTLE (1970) verificou que celulasas comerciais podem ser utilizadas no amaciamento de cenouras, resultado da modificação na parede celular, não tendo sido descartada, porém, a possível contribuição no amaciamento por enzimas contaminantes como poligalacturonase e pectina-esterase.

Celulasas podem, ainda, ser utilizadas para facilitar o processo de secagem de pastas de alho (NOZNICK & BUNDUS, 1972), extração de óleo essencial de cascas de cítricos e extração de proteínas de torta de gergelim, torta de mos-

3. GRAMP, E. Dechema monographien, 70:175-1972.

tarda, semente de girassol, farinha de soja, algas e leveduras comestíveis (SHARMA & JOSEPH, 1983).

A aplicação de enzimas pectinolíticas, mais precisamente as endopoligalacturonases, concentra-se em processos industriais que visam produção de sucos de frutas e vegetais com turbidez estável (ZETELAKI-HORVÁTH & GÁTAI, 1977), alimentos infantis e geriátricos, sopas desidratadas e molhos (ZETELAKI-HORVÁTH & GÁTAI, 1977), bem como reduzir a polpa indesejável de alimentos fibrosos (DELLWEG⁴, citado por CALL *et alii*, 1985). A importância destas enzimas advém do fato de desintegrarem o tecido vegetal em células individuais ou aglomerados celulares (ZETELAKI-HORVÁTH & GÁTAI, 1977), sem destruição da célula, mantendo seu conteúdo intacto (MC CLENDON & SOMMERS, 1960; CODNER, 1971; CALL *et alii*, 1985).

ZETELAKI-HORVÁTH & GÁTAI (1977) aplicaram uma endopoligalacturonase de *A. awamori* para desintegração de vários tipos de vegetais e frutas com alto teor de fibras, encontrando resultados positivos para batata, cenoura, salsa, abóbora e tomate vermelho. A desintegração enzimica foi menos eficiente no caso do espinafre. Os pesquisadores também apontaram melhorias tecnológicas como aumento na condensação do suco de tomate colhido mecanicamente, redução na perda por peneiramento e aumento no rendimento da extração de sucos de frutas.

Outros vegetais macerados pela endopoligalacturonase incluem abóbora, couve de Bruxelas, aipo e pimentão

4. DELLWEG, H. Grundlagen und verfahren der biotechnologie. Vorlesungen, Berlin. 1977.

verde. Para a maioria dos vegetais testados, a concentração enzimática foi de 0,6% durante um período de 3 h à 50°C (ZETELAKI-HORVÁTH, 1980).

Muito embora a endo-PG venha sendo a principal enzima empregada no processamento de frutas e vegetais, misturas com enzimas celulolíticas e pectinolíticas têm sido usadas para promover a liquidação completa ou parcial do material (KILARA, 1982). Durante o processo de liquefação, a parede celular é degradada, resultando na liberação do conteúdo celular, que pode ser recompensado com aumento no rendimento do material tratado (SREENATH *et alii*, 1984), além de facilitar a extração de material contido na estrutura subcelular (UNDERKOFER, 1976).

3.7. Otimização de Processos e Produtos utilizando a Metodologia de Superfície de Respostas (RMS)

A metodologia de superfície de respostas foi definida por GIOVANNI (1983) como um método estatístico que usa arquivos de dados de delineamentos experimentais, para determinar e resolver simultaneamente equações multivariadas que podem ser colocadas na forma de gráficos (superfície de respostas).

O processo de otimização que tem sido utilizado, baseia-se no estudo individual de cada variável de controle (variáveis independentes), modificando-as até atingir a melhor resposta (variável dependente).

BOX *et alii* (1978) demonstraram, através de exemplos, que esta estratégia clássica de estudo de "uma va-

riável por vez" apresenta falhas quando intenciona determinar a localização, pelo menos aproximada, do ponto de máximo, porque assume que uma variável é independente da outra. As Figuras 7a e 7b mostram o comportamento de cada variável independente, tempo e temperatura de reação, sobre a variável dependente, rendimento (resposta) em um experimento hipotético. Fixando inicialmente a temperatura em 225°C , foi observado o tempo ótimo de reação de 130 min., em uma faixa que variou de 60 a 180 min. (Figura 7a). Posteriormente, foi fixado o valor ótimo do tempo de reação (130 min.) variando-se a temperatura de 210 a 250°C (Figura 7b). O rendimento máximo de 75 g foi conseguido para a seguinte condição: 225°C e 130 min. Estes gráficos mostram que, se o tempo e a temperatura aumentarem ou diminuírem individualmente a partir destas condições, a redução no rendimento irá ocorrer. Entretanto, o que não foi estabelecido é o comportamento destas variáveis caso fossem modificadas, não individualmente, mas, simultaneamente.

Com o auxílio da superfície de respostas, torna-se possível descrever como as variáveis afetam a resposta, determinar a interrelação entre as variáveis e descrever o efeito combinado de todas as variáveis na resposta. Esta dependência pode ser convenientemente representada pelas linhas de contorno da superfície de resposta (Figura 8), mostrando que o rendimento máximo real foi de aproximadamente 91 g, obtido nas condições de tempo 65 min. e temperatura 225°C . Condições estas totalmente diferentes das obtidas pelo método de "uma variável por vez".

Sendo assim, as Figuras 7 e 8 mostram que, a estratégia de mudar uma variável de cada vez foi falha neste exemplo, porque tacitamente assumiu-se que o valor ótimo de uma variável era independente de uma outra.

(a) Primeiro grupo de experimentos: rendimento x tempo. Temperatura fixa de 225°C.

(b) Segundo grupo de experimentos: rendimento x temperatura. Tempo de reação fixo em 130 minutos.

Figura 7. Resultados hipotéticos da técnica de "uma variável por vez".

FONTE: BOX *et alii*, 1978.

Figura 8. Superfície de Respostas representando Rendimento x Tempo x Temperatura de reação, mostrando pontos da técnica de "uma variável por vez".

FONTE: BOX *et alii*, 1978.

Inúmeros trabalhos têm sido publicados detalhando a aplicação desta metodologia para estudar o envolvimento na otimização de algumas características de produtos e processos alimentícios. Por exemplo, SMITH *et alii* (1977) utilizaram esta técnica para estudar a estabilidade física de gordura do leite após o processamento. CAROL *et alii* (1980), DA SILVA *et alii* (1981) e IDA *et alii* (1983) caracterizaram a farinha de soja, MUDAHAR *et alii* (1989) otimizaram o processo de desidratação de cenoura e SOLER⁵ otimizou formulações de leite de côco esterilizado.

5. SOLER, M.P. (Instituto de Tecnologia de Alimentos). Trabalho apresentado no I Simpósio sobre Hidrocolóides, Campinas, 1991.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Matéria-Prima

4.1.1. Definição

A matéria-prima utilizada nos tratamentos enzimicos, corresponde à parte do palmito considerada não comestível, localizada logo acima da região de transição entre a região comestível e não comestível, denominada aqui como tolete fibroso (Figura 2b).

Neste trabalho, utilizaram-se 175 palmeiras da espécie *Euterpe edulis*, também conhecidas como juçara ou jiçara. A grande maioria (145 palmeiras) foi adquirida de uma plantação particular localizada no município de Eldorado-SP, e o restante (30 palmeiras), adquirido de uma reserva indígena na região de Ubatuba-SP.

Os toletes protegidos pelas capas externas, medindo aproximadamente 1,2 m de comprimento, contendo a pontadura, foram armazenados no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL-Campinas), por um período não superior a 4 dias, em câmaras frias a 4°C, aguardando o momento do processamento.

4.1.2. Processamento

A matéria-prima foi processada de acordo com o fluxograma mostrado na Figura 9.

Figura 9. Fluxograma do processamento da matéria-prima.

4.1.2.1. Desbaste

O desbaste foi conduzido em duas etapas: inicialmente removeram-se as capas externas duras (aproximadamente 10 capas) com auxílio de facas de aço inoxidável e em seguida, foram retiradas as duas últimas (uma ou duas capas), expondo o palmito.

4.1.2.2. Corte

O corte dos toletes macios e dos toletes fibrosos foi feito manualmente, com auxílio de facas de aço inoxidável.

Dada à importância desta etapa na seleção da matéria-prima, ela foi realizada por uma única pessoa desde o início do trabalho. O critério para avaliação da dureza foi baseado na força requerida pelo operador da faca para efetuar o corte: quando a textura do tolete oferecia resistência à penetração da faca, este era considerado fibroso.

Primeiramente, era feito o corte dos toletes macios, que se destinavam ao enlatamento para consumo. Na região de transição entre o comestível e não comestível (Figura 2b), o operador da faca acertava o início do tolete fibroso, cortando-o inicialmente em toletes medindo 9 cm de comprimento, sendo mudado posteriormente para toletes de aproximadamente 16 cm de comprimento.

4.1.2.3. Desaeração em água

A desaeração consistiu na remoção a frio do ar ocluso nos tecidos do tolete fibroso. Foi conduzida em tacho encamisado (marca: GROEN - M.F.G.Co. - Illinois), com bomba de vácuo acoplada.

Os toletes fibrosos imersos em água potável foram submetidos ao vácuo ($P=25$ mmHg) durante 2 minutos, à temperatura ambiente. Após este tempo, liberou-se o vapor,

gradualmente, para o interior da camisa do tacho, aumentando a temperatura até a quebra total do vácuo.

4.1.2.4. Tratamento Térmico

Os toletes fibrosos mantidos dentro do tacho encamisado contendo água ligeiramente aquecida (ver item 4.1.2.3), foram submetidos à temperatura de ebulição à pressão atmosférica ($\pm 98^{\circ}\text{C}$), durante 25 minutos para os toletes de 9 cm de comprimento e 5 minutos para os toletes de 16 cm de comprimento. Nestes últimos toletes foi dado um tratamento térmico adicional em água em ebulição ($98^{\circ}\text{C}/25-35 \text{ min.}$) após terem sido devidamente acondicionados nos "retourt pouches".

4.1.2.5. Acondicionamento

Os toletes fibrosos medindo 9 cm de comprimento foram acondicionados em sacos plásticos comuns, contendo um volume de água destilada, de tal forma que ficassem totalmente submersos. Os toletes de 16 cm foram acondicionados sem adição de água em "retourt pouches", que são sacos plásticos especiais que permitem a termo-selagem e suportam temperatura de autoclavagem (110°C).

Os sacos de polietileno foram fechados manualmente com auxílio de barbantes, cuidando para se evitar a presença de bolhas de ar.

Os "retourt-pouches" foram selados a vácuo em seladora de modelo SELOCLIP B-0298246, marca Mini Vac-18. A seladora foi regulada para a temperatura de selagem entre 80-90°C, atingindo a pressão máxima no seu interior de 25-27 mmHg.

4.1.2.6. Armazenamento Refrigerado

O armazenamento foi efetuado em câmara fria a 4°C com circulação de ar. O período de armazenamento variou conforme o tipo de acondicionamento. Para os toletes com 9 cm de comprimento, o período máximo foi de 5 dias, quando então se iniciava a deterioração do material. Para os toletes com 16 cm de comprimento, o período de armazenamento foi superior a 10 dias, sem que qualquer alteração tivesse sido notada.

4.1.3. Determinação da textura e dos teores de fibras

Partindo-se da matéria-prima processada, conforme descrito no item 4.1.2, a textura e os teores de fibras foram determinados em diferentes posições ao longo da palmeira. Selecionou-se, da parte comestível, o 2º corte (Figura 2b) por apresentar menor variação na textura (CAMPOS & PEDRAS SI, 1988) e o último corte comestível, que caracteriza a região limite de transição entre o comestível e o não comestível (Figura 2b). Realizaram-se as mesmas determinações no tolete fibroso não comestível, medindo 9 cm de comprimento cortado nas porções macia, intermediária e dura. Para melhor detalhamento, as porções foram cortadas longitudinalmente ao meio, sendo cada la

do (I e II) analisados individualmente, conforme mostrado na Figura 10. Em folíolos de tolete fibroso, medindo 16 cm de comprimento (Figura 12), as determinações foram conduzidas no material cominutado e homogeneizado.

Figura 10. Porções macia (A), intermediária (B) e dura (C) do tolete fibroso de palmito *E. edulis* cortadas longitudinalmente ao meio (Lado I e II).

4.1.3.1. Textura

Foi realizada em texturômetro "Texture Test System" (modelo TP-2) da "Food Technology Co", equipado com anel de 3000 lbf e um registrador de carta móvel modelo TR-1, conforme descrito por CAMPOS *et alii* (1978).

As amostras preparadas na forma de pequenos toletes, medindo 3 cm de comprimento, previamente pesadas, foram dispostas na célula padrão de cisalhamento e compressão CS-1, de tal forma que as lâminas das células tivessem ação perpendicular às fibras. A velocidade de descida do pistão foi de 20 cm/minuto.

A força máxima de cisalhamento foi obtida da carta do registrador e dividida pelo peso da amostra. Os resultados de textura foram expressos em libra-força por grama de amostra.

Para os folíolos, utilizou-se a metodologia descrita acima, trocando-se a célula padrão pela célula de lâmina única. Não se requereu a pesagem prévia. As amostras cortadas com 2 cm de comprimento, foram cisalhadas e a força máxima, obtida em libra-força, expressou a textura.

4.1.3.2. Umidade

Secagem em estufa a vácuo ($P \leq 25$ mmHg) na temperatura de 70°C até peso constante, segundo metodologia da AOAC de referência nº 15010 (HORTWITZ, 1975).

4.1.3.3. Fibra detergente neutro (NDF)

Determinada no material seco, moído e peneirado (peneiras GRANUTEST, 50 mesh), de acordo com metodologia citada por GOLDING *et alii* (1985). A fibra detergente neutro, ou fibra total, é expressa em termos de celulose, hemicelulose e lignina.

4.1.3.4. Fibra detergente ácido (ADF)

Determinada no material seco, moído e peneirado (peneiras GRANUTEST, 50 mesh), segundo metodologia citada por VAN SOEST (1963). A fibra detergente ácido determina os teores de celulose e lignina.

4.1.3.5. Celulose e lignina

Os teores de celulose e lignina foram determinados por fracionamento do resíduo da ADF com permanganato

de potássio, de acordo com metodologia citada por VAN SOEST & WINE (1968).

4.1.3.6. Hemicelulose

Determinada por diferença entre a porcentagem de NDF e ADF (FERREIRA, 1987).

4.1.3.7. Pectina

A determinação do teor de pectina no material seco, moído e peneirado (peneiras GRANUTEST, 50 mesh) foi expressa em porcentagem de pectato de cálcio segundo metodologia descrita por CARRÉ & HAYNES⁶, citado por PEARSON (1971).

4.2. Enzimas

Foram utilizados preparados enzimicos comerciais fornecidos por diferentes laboratórios.

Foram testados preparados com alta atividade de celulase de *T.reesei* (Celluclast 1,5 L, fornecido pela Novo Industri) obtido de *A.niger* (Milezyme Cellulase AC, fornecido pelo Laboratório Miles do Brasil). Testou-se, também, um preparado enzimico com alta atividade de endopoligalacturonase (Pectinex Ultra SP, fornecido pela Novo Industri) e outro com alta atividade de hemicelulase (Hemicellulase CE-100, for

6. CARRÉ & HAYNES. *Biochemical J.* 16:60, 1922.

necido pelo Laboratório Miles do Brasil), sendo ambos obtidos de *A.niger*.

4.3. Determinação da atividade hidrolítica dos preparados enzimicos comerciais

4.3.1. Atividade de celulase

Os componentes do sistema enzimico da celulase: exoglicanase (ou C_1) e endoglicanase, foram determinados empregando-se seus substratos específicos, respectivamente, algodão e carboximetilcelulose (CMC). O efeito sinérgico destes componentes exoglicanase e endoglicanase, incluindo a β -glicosidase, foi determinada utilizando-se o papel de filtro como substrato. Esta última expressa a atividade da celulase total.

a) Em papel de filtro

Foi empregado o método descrito por MANDELS *et alii* (1976). Meio mililitro de solução enzimica diluída em tampão citrato 0,05 M, pH 4,8 e 1,0 mL do mesmo tampão foram incubados com uma fita (1 x 6 cm) de papel de filtro Whatman nº 1 (50 mg) durante 1 hora a 50°C em banho-maria. A quantidade de açúcar redutor produzido em termos de glicose, foi determinada pelo método de ácido dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959).

Uma unidade de atividade de celulase P.F. foi definida como aquela que libera 1 μmol glicose por minuto (igual a 1 Unidade Internacional - UI).

b) Em algodão

Foi determinada de acordo com método descrito por MANDELS (1974). A mistura reativa contendo 1,0 ml de enzima diluída em tampão citrato 0,05 M, pH 4,8, 1,0 ml do mesmo tampão e 50 mg de algodão desengordurado foi incubada a 50°C por 24 horas. A quantidade de açúcar redutor produzida foi determinada em alíquotas de 1,0 ml da mistura reativa pelo método de DNS (MILLER, 1959).

Uma unidade de atividade de celulase em algodão foi definida como sendo aquela que libera 1 μmol de glicose por minuto, nas condições de ensaio (igual a 1 UI)

c) Em carboximetilcelulose (CMCase)

Foi determinada segundo metodologia citada por MANDELS (1974). Meio mililitro de solução de carboximetilcelulose 1% (CMC, sal de sódio, DS 0,7-0,8) diluída em tampão citrato 0,05 M, pH 4,8 e 0,5 ml de enzima diluída no mesmo tampão foram incubados em banho-maria a 50°C durante 30 minutos. A quantidade de açúcar redutor produzida foi determinada pelo método DNS (MILLER, 1959).

Uma unidade de atividade CMCase foi definida como aquela que libera 1 μmol de glicose por minuto (igual a 1 UI).

4.3.2. Atividade de endopoligalacturonase (Endo PG)

Neste caso, empregou-se o método descrito por THIBAUT & MERCIER (1978). A mistura reativa contendo 2,0 ml de solução de ácido poligalacturônico 0,5% (SIGMA-Co., com 89% de pureza), neutralizado com NaOH até 4,2, 2 ml de tampão acetato 0,1 M, pH 4,2 e 1,0 ml de enzima diluída no mesmo tampão, foram incubados a 30°C em banho-maria por 15 minutos. A quantidade de açúcar redutor foi determinada pelo método DNS (MILLER, 1959). A atividade de endo-PG foi expressa em U.I., onde 1 unidade de atividade é definida como sendo aquela que libera 1 μ mol de ácido galacturônico por minuto a 30°C.

4.3.3. Atividade de Xilanase

A atividade de xilanase foi determinada conforme descrito por MENEZES *et alii* (1976). A mistura reativa composta de 2,5 ml de solução de xilano de madeira 1% (Larch wood da N.B.C.), 2,5 ml de tampão acetato 0,066 M, pH 4,0 e 1,0 ml de enzima diluída no mesmo tampão, foi incubada a 50°C durante 15 minutos.

A quantidade de açúcar redutor no tempo zero e após 15 minutos de reação, foi determinado pelo método DNS (MILLER, 1959). O aumento em açúcar redutor durante os 15 minutos de incubação forneceu a medida da atividade do preparado enzimático em degradar xilano em xilose. Uma unidade de xilanase expressas em U.I. foi definida como sendo aquela que produz 1 mg de xilose em 15 minutos a 50°C (igual a 1 U.I.).

4.4. Preparo da matéria-prima para facilitar a ação das enzimas

Partindo-se dos toletes fibrosos processados, conforme Figura 11, seis experimentos foram conduzidos para o estabelecimento da forma de preparo da matéria-prima mais adequada para a ação enzimica. As modificações no preparo, conforme descrito abaixo, foram feitas também a fim de se contornar a grande heterogeneidade da matéria-prima, com relação à textura e estruturas diferenciadas em raquis⁷ e folíolos⁷ (Figura 12).

4.4.1. Tolete cortado em porções

Os toletes de palmito medindo 9 cm de comprimento (Figura 13), foram cortados em 3 porções de 3 cm. Cada porção denominada como A, B e C, respectivamente, macia, intermediária e dura, foram incubadas com os preparados enzimicos separadamente, a fim de se verificar a extensão do amaciamento. A testemunha (sem enzima) foi conduzida em palmito preparado da mesma maneira.

4.4.2. Tolete picado

Os toletes de 9 cm de comprimento foram cortados longitudinalmente em 2 partes iguais: Lado I e Lado II (Figura 14) e seccionados em fatias de 1 cm. O tratamento en

7. BOVI, M.L. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1990. Comunicação pessoal.

Figura 11. Toletes de palmito *Euterpe edulis* fibroso acondicionados em embalagens plásticas especiais ("re-tourt pouches").

Figura 12. Estruturas diferenciadas em raquis e folíolo do tolete de palmito fibroso de 16 cm de comprimento.

Figura 13. Tolete de palmito fibroso medindo 9 cm de comprimento.

Figura 14. Tolete de palmito fibroso de 9 cm de comprimento cortado longitudinalmente ao meio.

zímico e a testemunha (sem enzima) foram aplicados no mesmo tolete, porém, em lados diferentes.

4.4.3. Raquis de palmito

As capas externas do tolete fibroso foram descartadas obtendo-se assim, o raquis principal, que corresponde a estrutura fibrosa facilmente identificada (Figura 12), precursora do pecíolo da folha da palmeira (FERREIRA *et alli*, 1976). Esta estrutura medindo 8 cm de comprimento foi cortada em 4 porções de 2 cm. Cada porção foi estudada separadamente, a fim de se verificar a extensão do amaciamento.

4.4.4. "Purê" de folíolo de palmito

Para obtenção do "purê" foram descartadas as capas externas e o raquis medindo 16 cm de comprimento de tolete, sendo aproveitados somente os folíolos (Figura 12). Os folíolos foram picados com auxílio de facas de aço inox em fatias de 1-2 cm e triturados em Multi-Processador (Arno) até obter uma pasta homogênea (Figura 15).

Figura 15. "Purê" de folíolos do tolete fibroso triturados.

4.5. Aplicação dos preparados enzimáticos para o amaciamento do palmito fibroso

Os experimentos foram conduzidos em frascos erlenmeyer de 300 ou 500 ml para amostras com peso inferior ou igual a 100 g (peso úmido), respectivamente.

A mistura reativa continha, para 100 g de palmito, 200 ml de tampão citrato 0,05 M, pH 4,8 e preparado enzimático na concentração de 0,2 ou 1,0% (peso enzima/peso úmido de palmito).

A incubação foi conduzida a 37°C por 2 horas, a 40°C por 3 horas, 50°C por 2 horas e 50°C por 3 horas, em agitador rotativo (Allentown, P.A.) a 150 rpm. As testemunhas foram incubadas da mesma forma, mas sem enzima.

Após a incubação, a reação foi interrompida por aquecimento em banho de água em ebulição durante 5 minutos e o palmito (exceto para o "purê" de folíolos), foi recuperado em papel de filtro Whatman nº 1, resfriado e pesado. Em seguida, foi determinada a textura do material (lbf/g), conforme descrito no item 4.1.3.1.

No caso do "purê" de folíolos, depois de interrompida a reação, transferiu-se todo o material para copos de corpo alto (600 ml) e determinou-se a viscosidade (em cP) do "purê" acrescido de 100 ml de água destilada. A leitura de viscosidade em viscosímetro BROOKFIELD modelo Br RVT foi feita a 20°C, com auxílio dos "spindles" # 1 e # 2, girando à velocidade de 10 rpm.

4.6. Otimização do processo de amaciamento do palmito tratado com enzimas, empregando-se a Metodologia de Superfície de Respostas

O processo de amaciamento do palmito foi otimizado pela metodologia de superfície de respostas descrita por BOX *et alii* (1978).

Esta metodologia consiste de um conjunto de técnicas matemáticas e estatísticas, que permitem a análise de problemas onde variáveis independentes influenciam uma variável dependente ou resposta. No estágio de otimização propriamente dito, foi selecionada a combinação de níveis (valores) das variáveis que fizeram com que a resposta obtida fosse a ótima para a dada situação.

Foi utilizado um pacote de programas em micro computador pessoal PC, entre os quais os programas TREND, que executa regressão linear múltipla, permitindo a confecção de gráficos de superfície de respostas em procedimentos de otimização e programa REGERR, que fornece a matriz inversa para o cálculo do erro padrão dos coeficientes da função quadrática (SCARMINIO & BRUNS, 1989).

4.6.1. Planejamento do 1º grau

O início do planejamento estatístico escolhido foi o fatorial 2^n , para $n=3$ (onde 2 corresponde ao número de níveis e n é o número de variáveis independentes).

Foram fixados os níveis (valores) inferior (1-) e superior (1+) para cada uma das três variáveis estudadas: concentração de enzima [E], tempo (t) e temperatura (T) de reação, conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2. Variáveis independentes e níveis de variação usados no planejamento estatístico.

Variáveis	Código	Níveis		
		1-	0	1+
Concentração de enzima [E]	x_1	0,5	0,75	1,0
Tempo de incubação (t)	x_2	4,0	5,0	6,0
Temperatura de incubação (T)	x_3	40,0	45,0	50,0

Os níveis das variáveis foram codificados subtraindo-se do valor da variável, os valores da média para este grupo de experiência e dividindo-se pela metade do intervalo da variável usada.

Então,

$$x_1 = \frac{[E] - 0,75}{0,25} \quad (\text{equação 1})$$

$$x_2 = \frac{t - 5}{1,0} \quad (\text{equação 2})$$

$$x_3 = \frac{T - 45}{5} \quad (\text{equação 3})$$

Os experimentos de 1 a 8 do planejamento de 1º grau foram conduzidos, conforme mostrado na Tabela 3.

4.6.2. Planejamento "estrela"

O planejamento fatorial 2^3 foi acrescido de mais 6 pontos axiais a uma distância de $\sqrt{3}$ (exceto para a temperatura que foi de uma unidade) do ponto central, correspondentes aos experimentos de 9 a 14, conforme mostrado na Tabela 13. Formou-se o planejamento "central composto", ou seja, o fatorial 2^3 mais o planejamento de "estrela" (Figura 16).

A expansão do planejamento fatorial permitiu a avaliação de um modelo do 2º grau que poderia ser mais adequado do que uma aproximação do 1º grau.

Utilizou-se de uma equação do 2º grau (equação 4) avaliada com base nos resultados dos 19 experimentos do planejamento (Tabela 3).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 \beta_{ij} x_i x_j + E \quad (\text{equação 4})$$

Os coeficientes β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} são constantes estimados pela técnica dos mínimos quadrados. Esta técnica estabelece que a soma dos quadrados da diferença entre o valor real e o teórico deve dar um valor mínimo (BENDER *et alii*, 1976). Foram calculados os erros padrões dos coeficientes do modelo (equação 5), multiplicando-se os valores dos coeficientes de erro fornecidos pelo programa REGERR (SCARMINIO & BRUNS, 1989), pela estimativa da variância na medida de viscosidade (s^2), conforme mostrado abaixo (equação 5).

$$\text{ERRO}^2 = \text{coef. erro} \times s^2 \quad (\text{equação 5})$$

$$\text{onde } s^2 = \frac{\sum_{i=1}^3 (Y_i)^2 - (\sum_{i=1}^3 Y_i)^2 / n}{n - 1}, \text{ para } n=5 \text{ (rep. no ponto central)}$$

Também foi feita uma análise de variância (teste F) para testar a validade dos resultados das regressões.

Figura 16. Representação espacial dos 19 pontos de um planejamento composto de 2º grau para as três variáveis: x_1 (concentração de enzima), x_2 (tempo de incubação) e x_3 (temperatura de incubação).

Tabela 3. Planejamento estatístico para a otimização do processo de amaciamento de palmito via Superfície de Respostas.

EXPERI- MENTO	Variáveis em Uni- dades Originais		Variáveis em Uni- dades Codificadas			RESPOSTA: Viscosidade (Y) em cP
	[E]	t	T	x1	x2	x3
1	0,5	4	40	-1	-1	-1
2	1,0	4	40	+1	-1	-1
3	0,5	6	40	-1	+1	-1
4	1,0	6	40	+1	+1	-1
5	0,5	4	50	-1	-1	+1
6	1,0	4	50	+1	-1	+1
7	0,5	6	50	-1	+1	+1
8	1,0	6	50	+1	+1	+1
9	0,3	5	45	$-\sqrt{3}$	0	0
10	1,2	5	45	$+\sqrt{3}$	0	0
11	0,75	3,26	45	0	$-\sqrt{3}$	0
12	0,75	6,73	45	0	$+\sqrt{3}$	0
13	0,75	5	40	0	0	-1
14	0,75	5	50	0	0	+1
15	0,75	5	45	0	0	0
16	0,75	5	45	0	0	0
17	0,75	5	45	0	0	0
18	0,75	5	45	0	0	0
19	0,75	5	45	0	0	0

Planejamento fatorial 2³: experimentos de 1 a 8; planejamento "estrela": experimentos de 9 a 14; Ponto central: experimentos de 15 a 19.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinações da textura e do teor de fibras

Os resultados das determinações da textura e do teor de fibras em cortes de palmito comestíveis e em cortes não comestíveis são mostrados nas Tabelas 4, 5 e 6. A Figura 17 ilustra o aumento nos componentes de fibras e o aumento na textura à medida que se aproxima do ápice da palmeira.

5.1.1. Em toletes comestíveis

Verificou-se que a textura dos cortes de palmito comestíveis (Tabela 4), selecionados para a condução das determinações físicas e químicas, apresentaram valores dentro da faixa considerada como comestível por PASCHOALINO *et alii* (1989), que é de 1,5 a 2,5 lbf/g. No último corte comestível, a textura ficou muito próxima ao do limite superior, o que foi extremamente desejado, visto que, este corte representou a região de transição entre o comestível e não comestível.

Tabela 4. Determinações da textura e do teor de fibras em toletes comestíveis de palmito *E.edulis*.

Determinações	2º Corte (m ± e.p.)	Último Corte (m ± e.p.)
Textura (lbf/g)	1,4 ± 0,1	2,4 ± 0,5
Umidade (% b.s.)	91,9 ± 0,2	91,0 ± 0,2
ADF (% b.s.) (celulose e lignina)	12,3 ± 0,9	14,0 ± 1,2
NDF (% b.s.) (celulose, hemicelulose e lignina)	16,0 ± 1,5	23,3 ± 1,3
Celulose (% b.s.)	6,6 ± 0,2	8,5 ± 0,9
Hemicelulose (% b.s.)	3,7 ± 0,7	9,3 ± 0,7
Lignina (% b.s.)	traços	5,0*
Pectina (% b.s.)	7,1*	5,2 ± 0,3

NOTA: (m ± e.p.) = média de 3 repetições e erro padrão

$$\text{onde, } e.p. = \frac{s}{\sqrt{n}}, \quad s^2 = \left(\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n-1} \right) \quad \text{e } n = \text{nº de repetições}$$

* Dados de 1 determinação.

A variação na textura quando passou do 2º corte para o último corte comestível, pode ser explicada com base no aumento do teor de lignina. Embora este resultado não possa ser considerado significativo, por não ter sido possível repetir esta determinação, há concordância com o previamente descrito por CAMPOS & PEDRASSI (1988). Estes autores constataram que, com a aproximação da região não comestível, houve maior diferenciação entre as estruturas do tecido do palmito, apresentando-se mais lignificadas e, consequentemente, mais duras.

Os teores de celulose e hemicelulose também contribuíram para a variação na textura, com aumento de 1,5 e 2,5 vezes nos seus teores, respectivamente. O inverso ocorreu com a pectina, pois, conforme aumentou a fibrosidade do material, percebeu-se uma redução da sua concentração.

O teor de umidade manteve-se ao redor de 91% (Tabela 4), valor este também encontrado para palmito comestível por outros pesquisadores (FERREIRA *et alii*, 1981/82a).

5.1.2. Em toletes não comestíveis

Como pode ser observado na Figura 17, verificou-se um aumento exponencial da textura a partir da porção macia (porção A) do tolete não comestível, comportamento este assemelhando-se ao descrito por CAMPOS & PEDRASSI (1988) para o mesmo tipo de palmito (palmito juçara). Este aumento relaciona-se principalmente com o aumento de celulose e lig-

Figura 17. Distribuição de fibras e valores de textura ao longo da palmeira *E.edulis*. As determinações foram conduzidas no 2º e no último corte comestível e no 1º corte não comestível, cortado nas porções macia (A); intermediária (B) e dura (C).

nina (ADF), visto que o teor de hemicelulose manteve-se praticamente constante.

Devido à falta de material, as determinações individuais de celulose, lignina e pectina foram realizadas sem repetições. Embora considerada não conclusiva, a distribuição porcentual em fibras nas porções do tolete fibroso, mostrou que a celulose é o seu principal componente e a pectina seu componente de menor concentração (Tabela 5). Baseado na crescente diminuição do teor de pectina e somando-se ao aumento considerável do teor de ADF observados ao longo da palmeira (Figura 17), supõe-se que haja, eventualmente, deposição de parede secundária no palmito fibroso. Esta suposição é corroborada pela variação dos principais componentes (α -celulose, hemicelulose, substâncias pécnicas e ligninas) da lamela média e paredes primária e secundária verificada em vegetais, conforme descrito por NORTHCOTE (1958), STERLING (1963) e VAN BUREN (1979).

Os teores de fibra detergente ácido, fibra de detergente neutro, celulose, hemicelulose e lignina determinados no palmito fibroso (Tabela 5), foram muito próximos ao encontrado para o feijão verde (*Phaseolus vulgaris* Savi) por HERRANS *et alii* (1981). Sabe-se que o feijão torna-se comestível após o cozimento (QUAST & SILVA, 1977). O palmito fibroso, por sua vez, mesmo que submetido a um cozimento adicional, não ocorre amolecimento das fibras (QUAST & BERNHARDT, 1978). Supõe-se que a comestibilidade do palmito fibroso, avaliada pela textura, não se relaciona apenas com

Tabela 5. Determinações da textura e do teor de fibras no tolete fibroso medindo 9 cm de comprimento cortado em porções: macia (A); intermediária (B) e dura (C) do palmito *E.edulis*.

Determinações	Porção A (m ± e.p.)		Porção B (m ± e.p.)		Porção C (m ± e.p.)	
	Lado I	Lado II	Lado I	Lado II	Lado I	Lado II
Textura (lbf/g)	9,9 ± 1,5	10,5 ± 3,1	16,9 ± 2,4	17,3 ± 3,5	29,8 ± 2,4	30,5 ± 4,7
Umidade (% b.s.)	91,0 ± 0,3	91,0 ± 0,6	90,0 ± 0,9	90,5 ± 0,8	89,9 ± 1,0	90,2 ± 1,1
ADF (% b.s.) (celulose e lignina)	25,0 ± 1,4	24,0 ± 2,1	28,0 ± 2,0	31,0 ± 1,0	30,0 ± 4,0	34,0 ± 2,0
NDF (% b.s.) (celulose, hemicelulose e lignina)	34,7 ± 1,8	34,7 ± 1,3	37,3 ± 0,7	38,8 ± 1,2	42,0 ± 1,2	44,0 ± 2,0
Celulose (% b.s.) [*]	16,0	16,0	16,0	16,0	22,0	20,0
Hemicelulose (% b.s.)	10,0 ± 5,9	10,0 ± 3,9	9,0 ± 1,0	7,0 ± 3,0	11,0 ± 5,0	9,0 ± 1,0
Lignina (% b.s.) [*]	8,0	8,0	8,0	12,0	10,0	8,0
Pectina (% b.s.) [*]	3,3	3,2	3,1	3,0	3,2	2,9

NOTA: (m ± e.p.) = média de três repetições e erro-padrão.

^{*} Dados de uma determinação.

a composição da parede celular, embora seja considerada como um dos principais fatores por STERLING (1963) e VAN BUREN (1979).

Conforme opina CODNER (1971), existe um outro fator que é o grau de organização à nível submolecular e molecular dos constituintes químicos da parede celular, que são complexos e variáveis, sendo necessários estudos mais aprofundados neste sentido.

5.1.3. Em folíolos dos toletes não comestíveis

Os resultados das determinações conduzidas nos folíolos são mostrados na Tabela 6.

Conforme descrito anteriormente, o folíolo responde a uma das estruturas do tolete fibroso -se o raquis (ver Figura 12). A remoção do raquis afetou principalmente o teor de lignina, uma vez que a celulose manteve-se como o principal componente e em níveis próximos aos determinados nas duas primeiras porções do tolete fibroso inteiro (Tabela 5).

O teor de hemicelulose determinado nos folíolos foi praticamente igual ao encontrado para o tolete fibroso inteiro (Tabela 5) e para o último corte comestível (Tabela 4), reforçando a idéia de que a hemicelulose e a celulose concentram-se principalmente no folíolo e que o raquis não contribui grandemente nestes casos.

Tabela 6. Determinações da textura e do teor de fibras em folíolos de tolete fibroso não comestível de palmito *E.edulis*.

Determinações	Folíolo (m $\pm$ e.p.)
Textura (lbf)	202 $\pm$ 21,0
Umidade (% b.s.)	88,4 $\pm$ 0,5
ADF (% b.s.) (celulose e lignina)	22,7 $\pm$ 1,3
NDF (% b.s.) (celulose, hemicelulose e lignina)	32,7 $\pm$ 1,3
Celulose (% b.s.)	17,3 $\pm$ 1,2
Hemicelulose (% b.s.)	10,0 $\pm$ 0,0
Lignina (% b.s.)	5,0 $\pm$ 0,0
Pectina (% b.s.)	2,3 $\pm$ 0,3

NOTA: (m $\pm$ e.p.) = média de 3 repetições e erro-padrão.

Os teores de ADF e NDF determinados no folíolo foram bastante próximos ao encontrado por FERREIRA (1987) para a porção apical do broto de bambu, que é aproveitada para o consumo humano.

A textura determinada em folíolos atingiu um valor em torno de 200 lbf (Tabela 6). Embora este valor pudesse classificá-lo como um produto comestível, esta determinação não foi suficiente para considerá-lo como tal, visto não ter sido possível determinar um diâmetro de referência para o material, devido a sua forma geométrica indefinida. De acordo com CAMPOS & PEDRASSI (1988), existe uma variação da força requerida para o cisalhamento em função do diâmetro da secção transversal do palmito, sendo observado valores de 165 lbf para amostras de diâmetro pequeno e médio ($15 < D < 25$ mm) e 250 lbf para amostras de maior diâmetro ($35 < D < 50$ mm).

O aproveitamento dos folíolos retirados do tolete fibroso medindo 16 cm de comprimento, representa um acréscimo em torno de 8 a 10% no rendimento da parte comestível das palmeiras. Esta porcentagem foi obtida das 175 palmeiras analisadas, dividindo-se o peso dos folíolos pelo peso da parte comestível e multiplicadas por cem.

5.2. Determinação da atividade hidrolítica dos preparados enzimicos comerciais

As determinações das frações celulolíticas, da xilanase e da endopoligalacturonase nos preparados enzimicos

comerciais, mostraram que a atividade de celulase em papel de filtro geralmente utilizada como referência quando se deseja a degradação de componentes celulósicos, foi notadamente superior para celulase fornecida pela Novo (Tabela 7). Este preparado enzimico também apresentou alta atividade nas demais frações da celulase (C_1 e CMCase) e xilanase, sendo inferior somente em atividade de endo-PG, cujo valor máximo foi encontrado no preparado comercial de pectinase (Tabela 7).

No preparado comercial de celulase fornecido pelo laboratório Miles, determinou-se somente celulase em papel de filtro e xilanase, tendo sido encontrado valores baixos em ambas as atividades (Tabela 7). Ao contrário do que se esperava, a hemicelulase fornecida pela Miles, apresentou baixa atividade de xilanase, embora o substrato utilizado (xilano de madeira) tenha sido um composto polimérico contendo na sua maioria unidades de pentose. Esta enzima também apresentou pouca força hidrolítica na degradação dos demais substratos (papel de filtro, algodão, CMC e ácido poligalacturônico).

Além da atividade hidrolítica, outros fatores como a solubilidade e a cor foram considerados para a escolha dos preparados enzimicos que seriam utilizados no amaciamento do palmito fibroso.

A celulase e pectinase fornecidas pela Novo Industri, apresentados na forma de um líquido viscoso, mostraram pronta solubilização em água, enquanto que para a celulase e hemicelulase fornecidas pela Miles, apresentadas na forma de um pó, a solubilidade foi menor.

A solubilização dos preparados enzimicos parece ser essencial para que o processo enzimico seja efetivo, conforme demonstrado por CASTLE (1970), que verificou a maior eficiência de uma celulase (Celulase I) no processo de amaciamento de cenouras do que uma outra celulase virtualmente insolúvel (Celulase N.B.C.), ambas na mesma concentração (0,02 mg/ml).

Tabela 7. Determinação da atividade hidrolítica dos preparados enzimicos comerciais com centrados.

	UI/ml			
	Celulase (Novo)	Pectinase (Novo)	Hemicelulase (Miles)	Celulase (Miles)
Celulase em papel de filtro	150	8	26	77
Celulase em algodão (C ₁)	34	3	16	n.d.
CMCase	247	23	183	n.d.
Xilanase	379	56	24	169
Endo P.G.	480	2081	707	n.d.

* Uma unidade de atividade foi definida como sendo a que libera 1 uMol de produto (açúcar redutor) por minuto.
n.d. = Não determinada.

A cor dos preparados enzimicos não apresentou grande importância neste trabalho, isto porque as baixas concentrações de enzima utilizadas (0,2 a 1,0 g/100 g palmito) e o curto período de incubação (2 a 3 horas), não foram suficientes para descolorir o palmito. Em períodos longos de incubação (24 h ou mais), a cor apresenta fundamental importância (CASTLE, 1970).

5.3. Ação das enzimas na textura do palmito

Neste item foram selecionadas a forma mais adequada de preparo do palmito fibroso e as enzimas que apresentaram resultados satisfatórios no amolecimento do material, tendo sido preparados para facilitar o acesso das enzimas ao seu substrato.

5.3.1. Tolete cortado em porções

O efeito das enzimas na textura do palmito fibroso cortado em pequenas porções de 3 cm de comprimento (ver item 4.4.1) não pode ser comprovado estatisticamente, visto que os tratamentos não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%. Os gráficos apresentados na Figura 18 mostraram que a textura do material tratado com enzimas, foram superiores ao da testemunha nas porções intermediárias (B) e dura (C), para a maioria dos tratamentos. Somente na porção macia (A), os valores de textura foram iguais ou infe

Figura 18. Efeito dos tratamentos enzimáticos na textura (em lbf/g) do tolete de palmito cortado nas porções macia (A); intermediária (B) e dura (C). As condições de incubação foram: $[E]=1,0$ g enzima/100 g palmito (peso úmido); $pH=4,8$; $37^{\circ}C/2$ horas; 150 rpm.

riores ao da testemunha, o que possibilitaria um aproveitamento muito pequeno, ou seja, apenas 3 cm do tolete fibroso. A textura desta porção se manteve muito acima da considerada comestível (1,5 a 2,5 lbf/g) determinada por CAMPOS *et alii* (1978). O tratamento do tolete fibroso com a hemicelulase indicou um "amaciamento", mesmo na sua porção mais dura (Figura 18c). Misturando-se hemicelulase e pectinase, também foi verificado um "amaciamento" do palmito fibroso, porém, os valores encontrados foram muito próximos ao da testemunha (Figura 18f) e para ambos os tratamentos, à níveis não comestíveis.

Uma explicação para o "amaciamento" da porção macia (A) baseia-se na presença da celulose na forma mais acessível à hidrólise enzimica e teores relativamente mais baixos de lignina (Tabela 5). Nas porções intermediárias (B) e dura (C) a eventual presença de parede secundária e o maior teor da lignina (Tabela 5), aumentaram sobremaneira a resistência ao ataque enzimico, permitindo apenas a solubilização das partes macias, e como consequência, aumento da textura.

O sucesso do amaciamento de cenouras com auxílio de celulase de *T.reesei* e *A.niger* relatados, respectivamente por TOYAMA (1963) e CASTLE (1970) deram-se, provavelmente, ao baixo teor de fibras (HERRANZ *et alii*, 1981) e à presença quase exclusiva da lamela média e parede primária (SREENATH *et alii*, 1984).

O grau de amaciamento foi tão mais efetivo quanto mais cominutado o material. A cominutação também foi considerada como um ponto crítico no processo de amaciamento enzimico de aipo e cenoura, conforme o descrito por SREENATH

et alii (1986). Os pesquisadores verificaram que para o amolecimento do aipo, o tamanho máximo dos cubos foi de 3x3x3 mm, resultando em uma área superficial de 162 mm²/g. O decréscimo do tamanho dos cubos de aipo promoveu um aumento no número de células removidas da superfície do material tratado com endopoligalacturonase de *A.alleaceus*.

5.3.2. Tolete picado

Cominutando-se o palmito fibroso em fatias de 1,0 cm (ver item 4.4.2) e tratando-os com enzimas, verificou-se que a textura do material tratado foi notadamente superior ao determinado para a testemunha, exceção feita ao tratamento composto de pectinase e hemicelulase (PN + HM), conforme mostrado na Tabela 8. Cabe ressaltar que se utilizou o mesmo tolete, porém, em lados diferentes, para o tratamento enzimico e testemunha. O maior valor da textura determinado no material tratado com enzimas, foi decorrente da solubilização dos compostos mais macios. O fato de ter sido constatado o turvamento da solução de maceração deste palmito cominutado, explicaria o aumento na textura, relacionando-se com a solubilização das partes macias, restando principalmente as fibras não acessíveis à hidrólise enzimica.

Um dos maiores obstáculos para a avaliação precisa do efeito das enzimas no amaciamento do palmito fibroso cortado em fatias, foi a textura heterogênea dos toletes fibrosos. Dos cinco toletes analisados (Tabela 9), verificou-se que o coeficiente de variação (C.V.) obtido da dife

Tabela 8. Efeito dos tratamentos enzimáticos na textura do tolete fibroso de palmito. *E. edulis* cortado longitudinalmente e em fatias de 1 cm de espessura.

Textura (lbf/g) ¹						
Tratamentos ²						
	C N	P N	H M	CM + PM	CM + HM	HM + PN
Com enzima	36,65	8,67	3,88	7,27	8,22	7,12
Testemunha	12,56	7,53	3,42	1,45	6,73	7,70

¹ Valores de uma determinação.

² CN = celulase Novo; PN = pectinase Novo; HM = hemicelulase Miles.

Tolete fibroso medindo 9 cm de comprimento cominutados em fatias de 1 cm de espessura e enzimas foram incubados na proporção de 1 g por 100 g de palmito (peso úmido), pH 4,8, 37°C/2 h, 150 rpm.
Tratamento enzimico e testemunha foram aplicados no mesmo tolete, porém, em lados diferentes.

Tabela 9. Textura (lbf/g) em toletes de palmito branqueados, cortados longitudinalmente ao meio e em dois lados iguais (Lado I e Lado II).

Palmito	Lado I	Lado II	Lado I + Lado II		Lado I - Lado II
			2		
1	13,36	9,14	11,25		4,22
2	14,66	8,60	11,63		6,06
3	11,26	17,42	14,34		6,16
4	15,69	20,94	18,32		5,25
5	12,16	21,95	17,05		9,79
$\bar{M}$	13,43	15,61	14,52		6,30
S	-	-	3,16		2,10
C.V.	-	-	21,75%		33,42%

rença de textura entre os dois lados de um mesmo tolete (Lado I - Lado II), foi maior do que a diferença entre os toletes fibrosos ($\frac{\text{Lado I} + \text{Lado II}}{2}$). Entretanto, vários trabalhos têm relatado valores relativamente altos para os coeficientes de variação (8 - 49%) da medida de textura, mesmo quando se analisam as porções macias e comestíveis do palmito *E. edulis* (FERREIRA *et alii*, 1976; CAMPOS *et alii*, 1978; FERREIRA *et alii*, 1981/82b; PASCHOALINO *et alii*, 1989). De acordo com estes pesquisadores, a variação da textura pode ser explicada pela desuniformidade natural do palmito.

Procurando contornar esta dificuldade, investigou-se os efeitos das enzimas, separadamente, nos raquis e nos folíolos, que são estruturas diferenciadas, facilmente reconhecidas no tolete fibroso (ver Figura 12).

5.3.3. Raquis de palmito

Inicialmente tentou-se amaciar, com auxílio de enzimas, somente os raquis cortados em quatro porções de 2 cm cada, conforme descrito no item 4.4.3. O experimento foi conduzido com auxílio do delineamento estatístico Quadrado Latino (Tabela 10). A análise de variância (teste F) dos resultados mostrou que não existe diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade. Confirmou-se que existe diferença ao nível de 1% entre as porções I, II, III e IV, resultado provavelmente da variação natural entre as amostras, que é mais acentuada na região próxima ao ápice da palmeira (CAMPOS & PEDRASSI, 1988).

Tabela 10. Efeito dos tratamentos enzimáticos na textura dos raquis de palmito *E. edulis* fibroso cortado em quatro porções.

Porções	Textura (lbf/g) *			
	1	2	3	4
				Total
I	78 (A)	126 (B)	129 (C)	147 (C)
				480,0
II	111 (B)	207 (C)	198 (D)	213 (A)
				729,0
III	198 (C)	198 (D)	219 (A)	204 (B)
				819,0
IV	192 (D)	210 (A)	189 (B)	198 (C)
				789,0
Total	579,0	741,0	735,0	762,0
				2.817,0

* Média de quatro repetições.

OBS.: A = celulase Novo; B = pectinase Novo; C = hemicelulase Novo; D = testemunha.

Raquis de palmito fibroso cortado em porções (medindo 2 cm de comprimento) e enzimas foram incubados na proporção de 0,2 g de enzima para 100 g de palmito, pH 4,8, 50°C/3 h, sem agitação.

Conduziu-se um outro experimento tentando-se amaciar somente as duas primeiras porções (I e II) dos raquis. Novamente nenhum resultado satisfatório foi conseguido (Tabela 11), mesmo com uma concentração de enzima superior a do experimento anterior (Tabela 10).

5.3.4. "Purê de folíolo"

Com base nos resultados obtidos (Tabela 12), verificou-se que a celulase e a pectinase apresentaram maior influência na redução do valor de viscosidade em "purê" de folíolos (ver item 4.4.4), com uma diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 1% de probabilidade.

Verificou-se que o tratamento do "purê" de folíolos com celulase e pectinase reduziu em 2,9 e 2,1 vezes, respectivamente, o valor da viscosidade, quando comparado com o "purê" sem tratamento.

Os resultados favoráveis obtidos com o purê de folíolos, deveu-se ao maior acesso da enzima ao substrato promovido pela trituração. Segundo COWLING (1963), o contato físico entre a enzima e o substrato é considerado como pré-requisito para que ocorra a hidrólise enzimica. Observou-se que a remoção do raquis favoreceu o amaciamento do folíolo, visto que, esta estrutura mostrou-se pouco susceptível ao ataque enzimico devido a maior concentração de material lignificado (Tabela 10 e Tabela 11).

Tabela 11. Efeito dos tratamentos enzimáticos na textura dos raquis de palmito *E.edulis* fibroso, cortado em duas porções.

Textura (lbf/g)				
Porções	Tratamentos (m ± 3.p.) *			
	Celulase Novo	Pectinase Novo	Hemicelulase Miles	Testemunha
I	132,7 ± 24,3 ^a	161,3 ± 10,9 ^a	104,5 ± 17,4 ^a	113,3 ± 17,8 ^a
II	146,3 ± 31,8 ^a	183,0 ± 3,7 ^a	130,5 ± 11,7 ^a	146,3 ± 14,1 ^a

* ($\bar{M} \pm e.p.$) = média de 4 repetições e erro-padrão

$$\text{onde } e.p. = \frac{s}{\sqrt{N}} \quad , \quad s = \left(\frac{\sum x^2}{n} - \frac{(\sum x)^2}{n^2} \right)^{1/2} \quad \text{e } N \text{ é o nº de repetições.}$$

OBS.: As médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente entre si ao nível de 5%.

Porções do raquis de palmito fibroso (medindo 2 cm de comprimento) e enzimas foram incubadas na proporção de 1 g de enzima para 100 g de palmito, pH 4,8, 50°C/2h, sem agitação.

Tabela 12. Efeito dos tratamentos enzimáticos na viscosidade do purê de folíolos do toleite de palmito *E. edulis* fibroso.

Viscosidade (cP)			
Tratamentos ($\bar{m} + e.p.$) *			
Celulase Novo	Pectinase Novo	Hemicelulase Miles	Testemunha
225,0 + 22,6 ^a	311,7 + 33,7 ^a	625,0 + 61,4 ^b	663,3 + 23,3 ^b

* $\bar{M} \pm e.p.$ = média de 3 repetições e erro-padrão.

NOTA: Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5%.

Médias seguidas de letras diferentes diferem-se ao nível de 1%.

"Purê" de folíolos e enzimas foram incubados na proporção de 1 g de enzima por 100 g de palmito (peso úmido), pH 4,8, 40°C/3 h, 150 rpm.

5.4. Otimização do processo de amaciamento empregando a metodologia de superfície de respostas

A Tabela 13 mostra os resultados experimentais da viscosidade (γ) a partir da combinação dos tratamentos previstos pelo planejamento estatístico escolhido.

Inicialmente foi feita uma tentativa de representar estes dados de viscosidade por modelos lineares, com a concentração de enzima, tempo e temperatura de incubação. Entretanto, os testes F da análise estatística mostraram que as regressões lineares não foram significativas.

O modelo matemático do 2º grau obtido com os valores de viscosidade resultante da ação da celulase (equação 6) e da pectinase (equação 7) foram as seguintes:

$$\begin{aligned} \gamma = & 69,24 - 13,31 x_1 - 11,47 x_2 - 2,39 x_3 + 12,8 x_1^2 + \\ & + 12,19 x_2^2 + 13,38 x_3^2 + 3,41 x_1 x_2 + 8,39 x_2 x_3 + \\ & + 18,54 x_2 x_3 \end{aligned} \quad (\text{equação 6})$$

$$\begin{aligned} \gamma = & 87,65 - 12,80 x_1 - 7,66 x_2 + 12,74 x_3 - 2,74 x_1^2 + \\ & + 0,79 x_2^2 + 37,41 x_3^2 - 11,7 x_1 x_2 - 2,6 x_1 x_3 - \\ & - 12,85 x_2 x_3 \end{aligned} \quad (\text{equação 7})$$

onde as variáveis independentes codificadas na região experimental correspondem a:

Tabela 13. Valores de viscosidade (γ) em "purê" de folíolos tratado com celulase e pectinase.

EXPERI- MENTO	Variáveis em Unidades Originais			Viscosidade (γ)	
	[E]	t	T	Celulase	Pectinase
1	0,5	4	40	160,0	131,8
2	1,0	4	40	91,5	120,0
3	0,5	6	40	66,6	110,6
4	1,0	6	40	55,0	75,0
5	0,5	4	50	77,3	130,8
6	1,0	4	50	85,6	141,6
7	0,5	6	50	101,3	184,0
8	1,0	6	50	80,0	115,0
9	0,3	5	45	136,6	103,3
10	1,2	5	45	82,3	55,0
11	0,75	3,26	45	121,6	105,0
12	0,75	6,73	45	93,3	71,7
13	0,75	5	40	68,3	128,3
14	0,75	5	50	73,3	117,7
15	0,75	5	45	69,9	90,0
16	0,75	5	45	63,3	95,0
17	0,75	5	45	75,0	89,2
18	0,75	5	45	65,0	80,0
19	0,75	5	45	67,3	90,8

1 ml de celulase (pectinase) na concentração de 1 g de enzima por 100 g de palmito contém as seguintes frações: 0,75 (0,04) UI Pa-
pel de Filtro; 0,04 (0,02) UI Algodão; 1,24 (0,12) UI C_x; 1,9 (0,12) UI xilanase; 2,4(10,4) endo P.G.

x_1 = concentração de enzima (0,5 a 1,0%)

x_2 = tempo de incubação (4 a 6h)

x_3 = temperatura de incubação (40 a 50°C)

Os coeficientes da equação de regressão e respectivos erros padrões são mostrados na Tabela 14, para ambas as enzimas. Para os parâmetros b_0 , b_1 , b_2 , b_3 , b_{12} , b_{13} e b_{23} que podem ser simplesmente calculados usando médias, o erro padrão foi dado pela fórmula: erro padrão = $\frac{s}{\sqrt{n}}$, onde s =desvio padrão da viscosidade e n =número de repetições na determinação do parâmetro. Os erros padrões para b_{11} , b_{22} e b_{33} envolveram cálculos mais complicados.

A análise de variância da modificação na viscosidade do "purê" de folíolos (Tabelas 15 e 16) indicou que os modelos quadráticos desenvolvidos para a celulase e para a pectinase foram adequados. A soma dos quadrados das variações explicadas pelas regressões (11.947,33 para celulase e 13.869,28 para pectinase) foram significativamente maiores do que as somas dos quadrados dos desvios (1327,29 para celulase e 1910,54 para pectinase). Somando-se a isto, os coeficientes de correlação para os valores de viscosidade previstos pelos modelos e os valores experimentais foram altos (0,9487 para celulase e 0,9375 para pectinase).

As linhas de contorno obtidas para a superfície de respostas do "purê" de folíolos tratado com celulase (Figura 19), mostram como a resposta da viscosidade varia de acordo com as condições experimentais. A superfície mostra

Tabela 14. Estimativa dos coeficientes da equação de 2º grau ajustada pelos mínimos quadrados para celulase e pectinase.

Coefi- cientes	Estimativa dos coeficientes + erro padrão	
	Celulase	Pectinase
b_0	$69,24 \pm 1,9$	$87,65 \pm 2,3$
b_1	$-13,37 \pm 1,2$	$-12,80 \pm 1,5$
b_2	$-11,47 \pm 1,4$	$- 7,66 \pm 1,5$
b_3	$- 2,39 \pm 1,4$	$12,44 \pm 1,7$
b_{11}	$12,87 \pm 1,2$	$- 2,74 \pm 1,4$
b_{22}	$12,19 \pm 1,2$	$0,79 \pm 1,4$
b_{33}	$13,38 \pm 2,1$	$37,41 \pm 2,5$
b_{12}	$3,41 \pm 1,6$	$-11,7 \pm 1,9$
b_{13}	$8,39 \pm 1,6$	$- 2,6 \pm 1,9$
b_{23}	$18,54 \pm 1,6$	$-12,85 \pm 1,9$

Tabela 15. Análise de variância para a modificação da viscosidade do "purê" de folíolos tratado com celulase.

Fonte de variação	G.L.	SQ	SQM	F _{calculado}	F _{tabelado} *
Regressão quadrática	9	11947,33	1327,48	9,0013*	3,18
Desvio	9	1327,29	147,48		
Total variação	18	13274,62			
Coeficiente correlação (R) 0,9487					

* Significante ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 16. Análise de variância para a modificação da viscosidade do "purê" de folíolos tratado com pectinase.

Fonte de variação	G.L.	SQ	SQM	F _{calculado}	F _{tabelado} *
Regressão quadrática	9	13869,28	1541,03	7,2593*	3,18
Desvio	9	1910,54	212,28		
Total variação	18	15779,83			
Coeficiente correlação (R) 0,9375					

* Significante ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 19. Linhas de contorno para os valores de viscosidade (CP) do "puré" de folíolos tratados com celulase para os diferentes níveis das variáveis.

um mínimo simples, conforme descrito por BOX *et alii* (1978) dentro da região experimental investigada.

Na Tabela 17 estão listados os valores de concentração de enzima e tempo de incubação que correspondem aos valores mínimos de viscosidade para as temperaturas de 40°, 45° e 50°C. Para confirmar as previsões do modelo para a celulase, foi realizado um novo experimento usando as condições experimentais de 0,81% de celulase e 5h5min de incubação, que corresponderam ao mínimo para o valor previsto de viscosidade na temperatura de 50°C. O valor obtido de 65 cP mostrou-se em excelente concordância com o valor de 62 cP previsto pelo modelo, representando uma redução em 4 vezes o valor da viscosidade quando comparado com a testemunha. O valor de 65 cP obtido experimentalmente, equivale a viscosidade do "purê" de palmito comestível, que foi determinado neste trabalho, como sendo de 68 cP.

Tabela 17. Valores das variáveis otimizadas, previstas pela regressão quadrática para a modificação da viscosidade do "purê" de folíolo tratado com celulase.

Concentração de enzima (x_1)	Tempo de incubação (x_2)	Temperatura de incubação (x_3)	Viscosidade calculada (cP)
0,92%	6h8min	40°C	44 cP
0,87%	5h25min	45°C	67 cP
0,81%	5h5min	50°C	62 cP

Os termos lineares da equação 6 indicam que aumentos na concentração de celulase e tempo, resultam em contribuições negativas para a viscosidade do "purê" tratado com a enzima. Por outro lado, os coeficientes positivos dos termos quadráticos da concentração de celulase e tempo, contri-

buem no sentido oposto e são responsáveis pela nítida ocorrência da região do mínimo. Além disso, existem termos cruzados significativos no modelo.

Para pectinase, a viscosidade apresentou uma dependência com a concentração de enzima, tempo e temperatura de incubação, representada por uma superfície em forma de ponto de sela (BOX *et alii*, 1978), conforme mostrado na Figura 20. No ponto de sela, poder-se-iam determinar os conjuntos de valores da concentração de enzima e tempo, que tenderiam à maximização da resposta de viscosidade para as temperaturas de 40°, 45° e 50°C. Entretanto, a maximização da viscosidade não se insere dentro do objetivo deste trabalho.

As linhas de contorno obtidas para a superfície de respostas do "purê" de folíolos tratados com pectinase (Figura 20), mostram que a diminuição da viscosidade dá-se com o aumento da concentração de enzima e tempo, para as temperaturas de 40°, 45° e 50°C. O modelo para a pectinase, indica que a região de viscosidade mínima podem estar localizadas ao longo de uma reta perpendicular às linhas de contorno, também conhecida como caminho de descendência máxima, fora da região experimental investigada, conforme o sugerido por BRUNS⁸.

Da mesma maneira para celulase, os termos lineares da equação 7 indicam que aumentos na concentração de pectinase e tempo resultam em contriuições negativas para a

8. BRUNS, R.E. (Instituto de Química - UNICAMP, Campinas). Comunicação Pessoal. 1991.

Figura 20. Linhas de contorno para os valores de viscosidade (CP) do "purrê" de folíolos tratados com pectinase para os diferentes níveis das variáveis.

viscosidade do "purê" tratado com a enzima. Entretanto, o termo linear para a temperatura contribuiu positivamente no valor de viscosidade, enquanto que esta contribuição foi desprezível para a celulose. Dos termos quadráticos aquele para a temperatura com coeficiente positivo, foi o mais significativo. Também os termos cruzados entre concentração-tempo e tempo-temperatura foram bem significativos e com coeficientes negativos. Isto implica que aumentos simultâneos em concentração e tempo ou tempo e temperatura tendem a diminuir a viscosidade.

A minimização da viscosidade do "purê" de folíolos tratado com a celulase, dentro da região experimental investigada, pode ser atribuída à alta atividade das frações de celulase e de xilanase determinadas no preparado enzimico, possibilitando a hidrólise dos substratos presentes nos folíolos e em altas concentração, como a celulose (17% b.s.) e a hemicelulose (10% b.s.). O teor relativamente baixo de lignina (5% b.s.), também contribuiu para a minimização da viscosidade do "purê" de folíolo tratado com a celulase.

Cabe ressaltar que para a pectina, embora não se tenha chegado a um ponto de mínimo, há grandes indicações de que o mínimo esteja dentro da região de concentração entre 0,93 e 1,17% e tempo entre 5,7 e 6,7 h, para as temperaturas de 40°, 45° e 50°C de incubação. Este preparado enzimico apresentou alta atividade de endopoligalacturonase e baixa atividade das frações de celulase e de xilanase, o que justificaria a necessidade de aumentar a sua concentração pa

ra se obter a intensidade de hidrólise das fibras presentes nos folíolos, aos moldes do conseguido para a celulase. Assim, os preparados comerciais de celulase e de pectinase podem reduzir a consistência do palmito desde que preparado na forma de "purê" de folíolos.

Para averiguar a exequibilidade econômica da aplicação deste processo, haverá necessidade de estudos econômicos que compreendam custo do processo (enzima, energia elétrica, vapor, equipamentos, etc) e o preço de venda do produto a ser comercializado.

CONCLUSÕES

- A grosso modo, o aumento da textura na região de transição entre comestível e não comestível pode ser relacionada com o aumento do teor de fibra detergente ácido (celulose e lignina) e o decréscimo do teor de pectina.

- A textura do tolete fibroso medindo 9 cm de comprimento varia tanto quando se comparam os cortes correspondentes e oriundos de árvores diferentes, como quando se comparam entre os lados opostos provenientes de um mesmo tolete.

- A ação dos preparados enzimáticos na textura do palmito fibroso cortado em porções de 3 cm de comprimento, resultou em um aumento na textura do material tratado, provavelmente devido à hidrólise enzimática das partes macias do palmito fibroso, permanecendo as fibras duras e resistentes.

- O tratamento do palmito fibroso cortado em porções de 3 cm de comprimento com a hemicelulase (Miles) e com a mistura de pectinase (Novo), promoveram um ligeiro amaciamento do referido material, porém os valores encontrados a níveis não comestíveis sugerem estudos mais detalhados com estas enzimas.

- Cominutando-se o palmito fibroso (9 cm comprimento) em fatias de 1 cm de espessura e tratando-os com os preparados enzimáticos, também foi verificado um aumento na textura, da mesma maneira que o observado para o tolete fibroso cortado em porções.

- O raquis do tolete fibroso (9 cm comprimento) cortado em porções de 2 cm, também não apresentou suscetibilidade à ação dos preparados enzimáticos, devido ao seu elevado teor de lignina e provavelmente à presença de celulose na forma cristalina.

- O "purê" obtido da trituração do folíolo do tolete fibroso medindo 16 cm de comprimento, foi a forma de preparo que permitiu o melhor acesso da enzima ao substrato, havendo uma redução em 2,9 e 2,1 vezes no valor de viscosidade do "purê" tratado com celulase e pectinase, respectivamente.

- Empregando-se a metodologia de superfície de respostas para a otimização do processo de amaciamento do "purê" de folíolos tratado com celulase, chegaram-se a três pontos experimentais para as temperaturas de 40°, 45° e 50°C, que minimizaram a viscosidade. Os valores estimados das variáveis independentes e respectivos valores de viscosidade para cada um dos três pontos foram os seguintes:

Concentração de enzima (x ₁)	Tempo de incubação (x ₂)	Temperatura de incubação (x ₃)	Viscosidade estimado (γ)
0,92%	6h8min	40°C	44 cP
0,87%	5h25min	45°C	67 cP
0,81%	5h5min	50°C	62 cP

- Experimentalmente, verificou-se para o "purê" de folíolos tratados com celulase, uma redução em 4 vezes no valor de viscosidade, comparando-se com a testemunha (sem enzimas), para a dada situação:

[E] = 0,81% (g enzima/100 g palmito), $t = 5h5min$, $T = 50^{\circ}C$

- Para a pectinase, as curvas de contorno da superfície de respostas em forma de ponto de sela, mostraram que os valores das variáveis que minimizariam a viscosidade, localizaram-se fora da região experimental. Sugerem-se estudos em outras regiões experimentais, com aumentos simultâneos de concentração-tempo e tempo-temperatura, cuidando-se para que se mantenha a temperatura dentro dos níveis estudados (40 a $50^{\circ}C$).

- O aproveitamento do "purê" de folíolos do tolete fibroso (16 cm comprimento) tratado com celulase, representa um aumento em 8-10% no rendimento da palmeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATEMAN, D.F. & MILLAR, R.L. Pectic enzymes in tissue degradation. *Ann. Rev. Phytopath.*, Palo Alto, **4**:119-146, 1966.
- BENDER, F.E.; KRAMER, A.; KARAN, G. *Systems analysis for the food industry*. Westport, The AVI Pu. Co., 1976. cap. 5, 1. 176.
- BERNHARDT, L.W. Processamento de palmito. In: Curso sobre a industrialização do palmito. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1978. p. 25-33.
- BERNHARDT, L.W.; LIMA, C.D. de; YANG, J.F.; SOARES, G.J.D. Melhoria das técnicas de processamento do palmito enlatado. *Coletânea do ITAL*, Campinas, **9**:43-62, 1978.
- BOLWELL, G.P. & NORTHCOTE, D.H. Control of hemicelullose and pectin synthesis during differentiation of vascular tissue on bean (*Phaseolus vulgaris*) callus and in bean hypocotyl. *Planta*, **152**:225, 1981.
- BOLWELL, G.P. & NORTHCOTE, D.H. Arabin synthase and xylan synthase activities of *Phaseolus vulgaris*. *Biochem.J.*, London, **210**(2):497, 1983.

- BOVI, M.L.A. Cultivo do palmitreiro. In: *Curso sobre a industrialização do palmito*. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1978. p. 1-9.
- BOX, G.E.P.; HUNTER, H.G.; HUNTER, J.S. *Statistics for experiments*. New York, John Wiley Co., 1978. p. 306-351, 510-539.
- CALL, H.P.; WALTER, J.; EMEIS, C.C. Maceration activity of and endo poligalacturonase from *Candida macedoniensis*. *J. of Food Biochem.* Westport, **9**(4):325-348, 1985.
- CAMPOS, S.D. da S.; CIAMPI, C.M.; PASCHOALINO, J.E. Influência do tempo de cozimento na textura do palmito. *Boletim do ITAL*, Campinas, **57**:141-159, 1978.
- CAMPOS, S.D. da S. & PEDRASSI, C.A. Perfil de textura dos palmitos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e de juçara (*Euterpe edulis* Mart.). *Coletânea do ITAL*, **18**(2):161-170, 1988.
- CAROL, L.L.; CHERYAN, M.; DEVOR, R.E. A Response Surface Methodology approach to the optimization of whipping properties of an ultrafiltered soy product. *J. Food Sci.*, **45**(6):1720, 1980.
- CASTLE, H. The Enzymic Modification of Carrot tissue using commercial cellulase preparations. Ithaca, 1970. 88 p. (Mestrado - Conerll University).
- CODNER, R.C. Pectinolytic and cellulolytic enzymes in the microbial modification of plant tissue. *J. Appl. Bact.*, London, **34**(1):147-160, 1971.

- COWLING, E.B. Structural Features of Cellulose that influence its susceptibility to Enzymatic Hydrolysis. In: REESE, E.T. (ed.). *Enzymic Hydrolysis of Cellulose and Related Materials*, Oxford, Pergamon Press, 1963. p. 1-32.
- COWLING, E.B. Physical and Chemical Constraints in the Hydrolysis of Cellulose and Lignocellulosic Materials. In: WILKIE, C.R. (ed.) *Cellulose as a Chemical and Energy Resource*, New York, John Wiley & Son, 1975. p. 163-181. (Biotechnology and Bioengineering Symposium, nº 5).
- DA SILVA, R.S.F.; IDA, E.I.; PERRE DA SILVA, M.A.; FABRE-SANCHES, S. Aplicação da metodologia da Superfície de Respostas para previsão da remoção de oligossacarídeos da soja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas 1(2):107-122, 1981.
- DESAI, J.D.; RAY, R.M.; PATEL, N.P. Purification and Properties of Extracellular beta-glucoside from *Scytalidium lignicola*. *Biotechnol. Bioeng.*, New York, 25(1):307, 1983.
- FAO/OMS. Norma del Codex para palmito em conserva. CODEX STAN 1989. Roma, 1989. 14p. (volume II, Suplemento I).
- FERREIRA, V.L.P. Matéria-prima e demonstração sobre controle de qualidade. In: *Primeiro Seminário sobre Processamento de Palmito*. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1976. p. 7-12.

FERREIRA, V.L.P. Aproveitamento Tecnológico do broto de bambu *Dendrocalamus giganteus* Munro. Campinas, 1987. 91p. (Doutorado - UNICAMP).

FERREIRA, V.L.P.; GRANER, M.; BOVI, M.L.A.; DRAETTA, I. dos S.; PASCHOALINO, J.E.; SHIROSE, I. Comparison between palm hearts from *Guilielma gasipaes* and *Euterpe edulis*. I. Physical, organoleptic and biochemical characteristics. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 12:255-272, 1981/82(a).

FERREIRA, V.L.P.; GRANER, M.; BOVI, M.L.A.; FIGUEIREDO, I.B.; ANGELUCCI, E.; YOKOMIZO, Y. Comparison between palm hearts from *Guilielma gasipaes* and *Euterpe edulis*. II. Physical and chemical evaluation. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 12:273-282, 1981/82(b).

FERREIRA, V.L.P.; MIYA, E.E.M.; SHIROSE, I.; ARANHA, C.; SILVA, E.A.M. da; HIGHLANDS, M.E. Comparação físico-químico-organoléptica do palmito enlatado de três espécies de palmeira. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 7:389-416, 1976.

FERREIRA, V.L.P. & YOKOMIZO, Y. O aproveitamento do coração da palmeira juçara na alimentação humana. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 9:27-41, 1978.

GIOVANI, M. Response Surface Methodology and Product Optimization. *Food Technology*, Chicago, 37(11):41, 1983.

- GOLDING, E.J.; CARTER, M.F.; MOORE, J.E. Modification of the Neutral Detergent Fiber Procedure for Hays. *J. Dairy Sci.*, Champaign, **68**(10):2732-2736, 1985.
- HALE, J.F.; FERREIRA, V.L.P.; MADI, L.F.C. Determinação dos atributos de qualidade do palmito acondicionado em latas e vidros. *Boletim do ITAL*, Campinas, **56**:99-115, 1978.
- HALLIWELL, G. & GRIFFIN, M. The nature of mode of action of the cellulolytic component C₁ of *Trich. koninguii* on native cellulose. *Biochem. J.*, London, **135**(4):587-594, 1973.
- HERRANZ, J.; VIDAL-VALVERDE, C.; ROJAS-HIDALGO, E. Cellulose, Hemicellulose and Lignin Content of Raw and Cooked Spanish Vegetables. *J. of Food Sci.*, Chicago, **46**(6):1927-33, 1981.
- HJORTKJAER, R.K.; BILLE-HANSEN, V.; HAZELOEN, K.P.; Mc CONVILLE, M.; Mc GREGOR, D.B.; CHAPMAN, E.; GARDNER, J.R.; ASHBY, R. Safety Evaluation of Celluclast an acid Cellulase Derived from *Trichoderma reesei*. *Food. Chem. Toxic.* London, **24**(1):55-63, 1986.
- HORWITZ, N. (ed.) *Official Methods of Analysis*. The Association of Official Agricultural Chemists. 12^a ed. Washington, D.C., Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), 1975, 1094p.

- IDA, E.I.; da SILVA, R.S.F.; FABRE-SANCHES, S.; PERRE DA SILVA, M.A.; RAO, C.S. Aplicação da metodologia de Superfície de Respostas na caracterização de farinha de soja integral de baixo teor de oligossacarídeos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 3(1):92, 1983.
- KILARA, A. Enzymes and their in the Processed Apple Industri. A Review. *Process Biochem.*, Watford, 17(4):35, 1982.
- KIRK, T.K. Lignin-degrading enzyme system. In: WILKE, C.R. (ed.). *Cellulose as a chemical and energy resource*, New York, John Wiley & Sons, 1975. p. 139-150. (Biotechnology and Bioengineering Symposium, nº 5).
- KULP, K. Carbohydrases. In: KEED, G. *Enzymes in Food Processing*. 2ª ed. New York, Academic Press, 1975. cap. 6, p. 97-122. (Food Science and Technology, A series of Monographs).
- LEÃO, M. & CARDOSO, M. Instruções para a cultura do palmitero (*Euterpe edulis* Mart.). *Boletim do IAC*, Campinas, 1974, 18p.
- MANDELS, M. *Production and Application of Cellulase*. U.S.A. Laboratory Procedures. U.S. Army Natick Laboratories. 1974. 22p.
- MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.; ROCHE, C. Measurement of saccharifying cellulase. In: GARDEN, Jr. E.L. et alii. *Enzymatic conversion of cellulosic materials: technology and applications*, New York, John Wiley & Sons, 1976. p. 21-33. (Biotechnology and Bioengineering Symposium, nº 6).

- MANDELS, M. & REESE, E.T. Fungal Cellulases and the Microbial Decomposition of Cellulosic Fabric. *Dev. Ind. Microbiol.* Amsterdam, 5(1):5-20, 1964.
- MARTIN, Z.J. de; TEIXEIRA, C.G.; BLEINROTH, E.W.; SGARBIERI, V.C.; MENEZES, T.J.B. de; NERY, J.P. Estudo preliminar sobre o processamento do palmito da palmeira babaçu (*Orbignya oleifera* Burret). *Coletânea do ITAL, Campinas*, 3:435-452, 1969/70.
- Mc CLENDON, J.H. & SOMERS, G.F. The enzymatic of plant tissues. Observations using a new method of measurement. *American Journal of Botany, Canadá*, 47(1):1-7, 1960.
- Mc NEIL, M.; DARVILL, A.G.; FRY, S.C.; ALBEISHEIM, P. Structure and function of the primary cell walls of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, Palo Alto, 53:625, 1984.
- MEJIA-ZAPATA, M. & QUAST, D.G. Curva de titulação do palmito doce (*Euterpe edulis* Mart.). *Coletânea do ITAL, Campinas*, 6:167-187, 1975.
- MENEZES, H.C. de; BEBER, J.E.; PEREIRA, W.A. O uso de Resíduos na Produção de Xilitol. I. A produção de Xilose. *Coletânea do ITAL, Campinas*, 7:439-443, 1976.
- MENEZES, T.J.B. & LEITÃO, M.F.F. Estudo comparativo do palmito enlatado. *Coletânea do ITAL, Campinas*, 2:11-22, 1967/68.

- MILLER, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, Washington, 31(3):426-428, 1959.
- MUDAHAR, G.S.; TOLEDO, R.T.; FLOROS, J.D.; JEN, J.J. Optimization of carrot dehydration process using Response Surface Methodology. *J. Food Sci.*, Chicago, 54(3):714-719, 1989.
- NISIZAWA, K. Mode of the action of cellulases. *J. Ferment. Technology*, Osaka, 51(4):301, 1973.
- NOGUEIRA, J.N. Estudo sobre o processamento do palmito (*Euterpe edulis* Mart.) por apertização. Piracicaba, 1979. 141p. (Tese de Livre Docência).
- NORTHCOTE, D.H. The cell wall of higher plants. Their composition, structure and growth. *Biol. Rev.*, Czechoslovakia, 33:53-109, 1958.
- NOZNICK, P.P. & BUNDUS, R.H. Lower viscosity in Garlic Process. In: WIELAND, H. *Enzyme in Food Processing and Products*, New Jersey, Noyes Data Co., 1972. p. 21-23. (Food Processing nº 23).
- OKAZAKI, M. & MOO-YOUNG, M. Kinetics of enzymatic hydrolysis of cellulose; Analytical description of a mechanistic model. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, 20(5):639, 1978.
- PASCHOALINO, J.E. Aspectos sobre o escurecimento do palmito durante o processamento. *Boletim do ITAL*, Campinas, 56:175-181, 1978.

- PASCHOALINO, J.E. & BERNHARDT, L.W. Influência dos métodos de exaustão sobre a qualidade do palmito enlatado. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 9:15-25, 1978.
- PASCHOALINO, J.E.; CAMPOS, S.D. da; LEITÃO, M.F.F. Cinética do amolecimento térmico do palmito (*E.edulis* Mart.). *Coletânea do ITAL*, Campinas, 19(2):144-153, 1989.
- PEARSON, D. The Chemical Analysis of Foods. 6th ed. London, J. & A. CHURCHILL, 1971. p. 228-229.
- QUAST, D.G. & BERNHARDT, L.W. Curvas de titulação do palmito de cinco espécies de palmeiras. *Coletânea do ITAL*, Campinas, 7:241-263, 1976.
- QUAST, D.G. & BERNHARDT, L.W. Progress in palmito (Heart-of-Palm) processing research. *J. Food Protection*, Ames, 41(8): 667-674, 1978.
- QUAST, D.C. & SILVA, S.D. da. Temperature dependence of the cooking rate of dry legumes. *J. of Food Science*, Chicago, 42(2):370-374, 1977.
- RAY, P.M. Cooperative action of β -glucan synthetase and UDP-xylose xylosil transferase of Golgi membranes in the synthesis of xyloglucan-like polysaccharide. *Biochim. Biophys. Acta*, Amsterdam, 629:431, 1980.
- REESE, E.T. Enzymatic hydrolysis of Cellulose. *Applied Microbiology*, Washington, 4(1):39-45, 1956.

- REESE, E.T.; SIU, R.G.H.; LEVIN, H.S. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolisis. *J.Bacteriol.* Baltimore, **59**:485, 1950.
- RENESTO, O.V. & VIEIRA, L.F. Análise econômica da produção e processamento do palmito em conserva nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. *Estudos Econômicos - Alimentos Processados*, Campinas, (6):1-39, 1977.
- SARKANEN, K.V. & LUDWIG, C.H. (eds.) *Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions*. New York, Wiley-Interscience, 1974. p. 135.
- SCARMINIO, I.S. & BRUNS, R.E. An: Adaptation of ARTHUR for microcomputers. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, **8**(9):326-327, 1989.
- SCHIBECI, A.; PINJAK, A.; FINCHER, G.B. Biosynthesis of arabinogalactan-protein in *Lolium multiflorum* endosperm cells. *Biochem. J.*, London, **218**:633, 1984.
- SERPRO. *Exportações para os Estados Unidos*. New York, Serviço de Propaganda e Expansão Comercial "s.d." (Estudos de Mercado, 13).
- SHARMA, A. & JOSEPH, R. Studies on the Application of Plant Cell wall Degrading Enzymes from *Aspergillus terreus* and *Neurospora crassa*. *Biotechnology Letters*, Londo, **5**(7):481-486, 1983.

- SMITH, L.M.; CARTER, M.B.; DAIRIKI, T.; ACUNA-BONILLA, A.; WILLIAMS, W. Physical Stability of Milk fat Emulsions after Processing as Evaluated by Response Surface Methodology. *J. Agric. Food Chemistry*, Washington, 25(3):647-653, 1977.
- SREENATH, H.K.; FREY, M.D.; RADOLA, B.J. Degradation of a washed carrot preparations by cellulase and pectinases. *Biotechnology and Bioengineering*, New York, 26(7):788-796, 1984.
- SREENATH, H.K.; KOGEL, F.; RADOLA, B.J. Macerating Properties of a Commercial Pectinase on Carrot and Celery. *J. of Fermentation Technology*, Osaka, 64(1):37-44, 1986.
- STERLING, C. Texture and Cell Wall Polysaccharides in Foods. In: LEITCH, J.M. & RHODES, D.N. (eds.) *Recent Advances in Food Science*, London, Butterworths, 1963. p. 259-281.
- TEIXEIRA, C.G. Palmito, fino alimento brasileiro é industrializado em condições precárias. *Alimentos e Bebidas*, São Paulo, 2(3):12-13, 1966.
- THIBAUT, J.F. & MERCIER, C. *Aspergillus niger* Endo-poligalacturonase: 2. Characterization and Some Properties. *J. of Food Biochemistry*, Westport, 2(4):379-395, 1978.
- TOYAMA, N. Degradation of Foodstuffs by cellulase and Related Enzymes. In: REESE, E.T. *Enzymic Hydrolysis of Cellulose and Related Materials*. New York, Pergamon Press, 1963. p. 235-253.

- UNDERKOFER, L.A. Microbial Enzymes. In: MILLER, B.M. & LITSKY, W. (eds.). *Industrial Microbiology*. New York, McGraw-Hill, 1976, p. 128.
- VAN BUREN, J.P. the chemistry of texture in fruit and vegetables. *Journal of Texture Studies*, Westport, 10(1):1-23, 1979.
- VAN SOEST, P.J. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. I. Preparation of Fiber Residues of low Nitrogen Content. *J. of the A.O.A.C.*, Washington D.C., 46(5):825-835, 1963.
- VAN SOEST, P.J. & WINE, R.H. Determination of lignin and Cellulose in Acid-Detergent Fiber with Permanganate. *J. of the A.O.A.C.*, Washington D.C., 51(4):780-785, 1968.
- ZETELAKI-HORVÁTH, K. Desintegration of vegetable tissue as a Function of Polygalacturonase Concentration and Incubation period. *Acta Alimentaria*, Budapest, 9(4):367-382, 1980.
- ZETELAKI-HORVÁTH, K. & GÁTAI, K. Application of Endo-Polylacturonase to vegetables and fruits. *Acta Alimentaria*, Budapest, 6(4):355-376, 1977.
- WOOD, T.M. The cellulase of *Fusarium solani*. Resolution of the enzyme complex. *Biochem. J.*, London, 115(3):457-464, 1969.

WOOD, T.M. & Mc CRAE, S.I. The purification and Properties of the C₁ component of *Trich. koningii* cellulase. *Biochem. J.*, London, 128(5):1183-1192, 1972.

WOOD, T.M. & Mc CRAE, S.I. The cellulase of *Trich. koningii* purification and properties of some endo-glucanase components with special reference to their action on cellulose when acting alone and in synergins with cellobiohydrolase. *Biochem. J.*, London, 171(1):61-72, 1978.