

Lenilton Santos Soares

**PRÉ-SOLUBILIZAÇÃO DE CO₂ EM OSTRAS (*Crassostrea gigas*):
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ABSORÇÃO E DESSORÇÃO
DO GÁS NO PRODUTO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr^a. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz.

Coorientador: Dr. Lindomar Alberto Lerin.

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Soares, Lenilton Santos

PRÉ-SOLUBILIZAÇÃO DE CO₂ EM OSTRAS (*Crassostrea gigas*):
: AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE ABSORÇÃO E DESSORÇÃO DO GÁS NO
PRODUTO / Lenilton Santos Soares ; orientadora, Alcilene
Rodrigues Monteiro Fritz ; co-orientador, Lindomar Alberto
Lerin. - Florianópolis, SC, 2013.

79 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

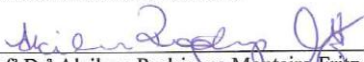
1. Engenharia de Alimentos. 2. Pré-Solubilização. 3.
Crassostrea gigas. I. Fritz, Alcilene Rodrigues Monteiro.
II. Lerin, Lindomar Alberto. III. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos. IV. Título.

**“PRÉ-SOLUBILIZAÇÃO DE CO₂ EM OSTRAS
(Crassostrea gigas): AVALIAÇÃO DO PROCESSO
DE ABSORÇÃO E DESSORÇÃO DO GÁS NO
PRODUTO”**

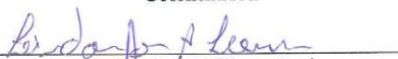
Por

Lenilton Santos Soares


Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



Prof^a Dr^a Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Orientadora

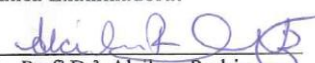


Dr. Lindomar Alberto Lerin
Coorientador



Prof. Dr. João Borges Laurindo
Coordenador

Banca Examinadora:




Prof^a Dr^a Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz



Dr^a Carmen Maria Olivera Müller



Dr^a Sibeles Recco Rosso Comim



Prof. Dr. José Vladimir de Oliveira

Florianópolis, 25 de março de 2013.

Este trabalho é dedicado ao amigo Pedro
Travassos de Aragão *in memoriam*.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em nome do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, por oferecer a estrutura necessária para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dr^a. Alcilene Monteiro e ao Dr. Lindomar Lerin pela orientação e paciência durante o período do mestrado.

Aos meus pais José Luiz e Terezinha Soares por toda assistência, dedicação e carinho prestado.

Ao Dr. Artur Smânia Jr e a Dr^a. Elza Smânia por ceder o laboratório para realização das análises microbiológicas.

À Marieli de Lima pela amizade e toda ajuda prestada até aqui, ao Juliano Tosati por toda ajuda na modelagem, a Monique Souza, Natália Buratto, Gabriela Zanghelini e Everton Grassi por toda dedicação durante os experimentos.

Aos meus amigos Leonardo Bernhardt, Marco Toledo, Silvana Aurich, Mateus Furtado, Fernanda Rosa, Willian Steffen, Caroline Alamino, Paulo Motta, Marcelo Carnelossi e em especial Priscilla Niskier pela força durante este importante período.

À todos que fazem parte do PROFI, em especial Jhony Teleken, Jaqueline Moraes, Luiz Gustavo, Daniel Longhi e Marta Zotarelli por fazerem cada um dos meus dias único e especial.

Aos colegas da pós-graduação Daniela Remonato, Pedro Henrique, Glaucia Medeiros e Sara Antunes.

À Dr^a Débora de Oliveira pela assistência prestada.

À Janaina de Oliveira que independente da distância faz-se presente com todo seu carinho, apoio e sabedoria, sempre tornando meus dias melhores.

À CAPES e ao CNPQ pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

À todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

“Sempre é hora de fazer o que é certo.”
(Martin Luther King)

RESUMO

O efeito da pré-solubilização de CO₂ tem sido estudado como melhoria dos processos com aplicação de atmosfera modificada. Este trabalho teve como objetivo estudar a pré-solubilização de CO₂ em ostras, avaliando o efeito da pressão, temperatura e relação gás/produto. Ostras frescas foram submetidas à limpeza, cozimento por 10 minutos a 100 °C para abertura das conchas, resfriamento por 20 minutos a 10 °C e então submetidas ao processo de pré-solubilização em diferentes pressões, temperaturas e relação gás/produto sendo tratadas por um planejamento experimental do tipo 2³ com triplicata no ponto central. Foram determinadas as taxas de absorção e dessorção do CO₂ através do ajuste de equações aos dados experimentais. O processo realizado em condição de maior pressão (600 kPa), maior relação gás/produto (5:1) e menor temperatura (0 °C) resultou em uma maior concentração de CO₂ dissolvido nas ostras (21008,45 PPM), com alta taxa de absorção de CO₂ (728,24 PPM). Menor taxa de dessorção ocorreu utilizando menor pressão (200 kPa), menor relação gás/produto (1:1) e menor temperatura (0 °C). Foi observado que a maior dessorção do CO₂ ocorre nos 10 minutos após o fim do processo de pré-solubilização. Após o período de 20 minutos a taxa de dessorção de CO₂ se aproxima de zero em todas as condições estudadas. Foi avaliada a influência do CO₂ solubilizado nas características físico-químicas e microbiológicas das ostras pré-cozidas armazenadas a 3 °C. Após o processamento, 150 gramas de ostras foram acondicionadas em embalagem flexível com atmosfera modificada composta de uma mistura de 50% de CO₂ e 50% de N₂ e armazenadas a 3 °C por 31 dias. Durante o armazenamento, as ostras foram avaliadas quanto ao pH, umidade, atividade de água, firmeza, contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos totais, psicotróficos totais e vibrios totais. A contagem de vibrios totais durante o armazenamento foi abaixo de 1 ciclo logarítmico. A contagem de aeróbios mesófilos totais e psicotróficos totais mantiveram-se abaixo do valor máximo recomendado pela legislação brasileira durante o armazenamento. Portanto, o uso de atmosfera modificada associada à refrigeração mantém as características físico-químicas e microbiológicas de ostras por 31 dias.

Palavras-chave: Ostra, pré-solubilização, CO₂.

ABSTRACT

The effect of CO₂ soluble gas stabilization has been studied as an improvement of the processes with application in modified atmosphere. The objective of this work was to study the soluble gas stabilization of CO₂ in oysters, evaluating the effect of pressure, temperature and gas to product ratio. Fresh oysters were submitted to cleaning, cooking during 10 min at 100 °C for opening the shells, cooling for 20 min at 10 °C and then submitted to soluble gas stabilization to different pressures, temperatures and gas to product ratio by means an 2³ experimental design, with triplicate of the central point. The rates of absorption and desorption of CO₂ were determined through fit equations to the experimental data. The results of the process performed under conditions of higher pressure (600 kPa), higher gas to product ratio (5:1) and lowest temperature (0 °C) gave a higher concentration of dissolved CO₂ in oysters (21008.45 ppm) and rates of CO₂ absorption (728.24 ppm). Lowest rates of desorption occurred using lower pressure (200 kPa), lower gas to product ratio (1:1) and lower temperature (0 °C). It was observed that higher desorption of CO₂ occurs within 10 minutes after the end of soluble gas stabilization process and after the period of 20 minutes the CO₂ desorption rate approaches zero under all conditions studied. It was evaluated the influence of CO₂ in the physical-chemical and microbiological characteristics of pre-cooked oysters stored at 3 °C. After the processing, 150 g of oysters were packed in a flexible package with a mixture of 50% CO₂ and 50% N₂ and stored at 3 °C for 31 days. During the storage the oysters were evaluated in relation to pH, moisture content, water activity, firmness and microbiological counting, for total aerobic mesophilic, total psychrotrophic and total Vibrio. Total Vibrio counting during the storage was below 1 log cycle. Total aerobic mesophilic and total psychrotrophic remained below the maximum value recommended by Brazilian Legislation during storage. Therefore, the use of modified atmosphere associated with cooling maintains the physical-chemical and microbiological characteristics of oysters for 31 days.

Keywords: Oyster, soluble gas stabilization, CO₂.

Lista de Tabelas

Tabela 4.1 - Matriz do planejamento de experimentos para avaliar as variáveis independentes na dissolução de CO ₂ em ostra.....	43
Tabela 5.1 - Valores de médias e desvios padrão obtidos no teste de vedação do sistema em um período de 24h.....	49
Tabela 5.2 - Constantes de Henry (Pa PPM ⁻¹) do CO ₂ em água obtida através dos dados experimentais e dos cálculos baseados na solubilidade para a validação do aparato experimental com água destilada.	51
Tabela 5.3 - Matriz do planejamento experimental com as respostas em termos de CO ₂ dissolvido.	53
Tabela 5.4 - ANOVA para validação do modelo matemático empírico que descreve a concentração de CO ₂ no equilíbrio.....	54
Tabela 5.5 - Taxas de absorção (durante as primeiras 24 horas de processo) e dessorção (após 5 minutos de exposição à atmosfera normal) de CO ₂	59
Tabela 5.6 - Constante de Henry do CO ₂ em ostras em diferentes pressões, relações gás/produto e temperaturas.	62
Tabela 5.7 - Umidade e teor de lipídeos em alimentos que não respiram.	63
Tabela 5.8 - Perda de massa após o processo de pré-solubilização em ostras... ..	63
Tabela 5.9 - pH de ostras no tempo inicial e com processo de pré-solubilização sob diferentes pressões, relações gás/produto e temperaturas.	65
Tabela 5.10 - Análises Físico-Químicas de Ostras em Atmosfera Modificada.	66
Tabela 5.11 - Contagem microbiológica no armazenamento (Log UFC/ g).	68

Lista de Figuras

Figura 3.1 - Sistema de pré-solubilização à volume constante.	30
Figura 3.2 - Representação do sistema de pré-solubilização.....	31
Figura 3.3 - Ilustração do tratamento SGS seguido de embalagem em atmosfera modificada.	32
Figura 4.1 - Fluxograma do processamento de ostras, seguido do processo pré-solubilização em CO ₂	34
Figura 4.2 - Esquema representativo do aparato experimental para pré-solubilização do CO ₂	35
Figura 4.3 - Fluxograma para determinação da constante de Henry e da concentração de CO ₂ para as condições experimentais testadas.....	42
Figura 4.4 - Fluxograma do processamento de ostras, seguido do armazenamento refrigerado.	46
Figura 5.1 - Constante de Henry do CO ₂ em água destilada à 3°C, G/P = 3:1 em diferentes pressões.	50
Figura 5.2 - Concentração de CO ₂ dissolvido em ostras, no equilíbrio, a temperatura de 3 °C.....	52
Figura 5.3 - Superfície de resposta (A) e curva de contorno (B) para a concentração de CO ₂ dissolvido em função da pressão e da relação gás/produto.	55
Figura 5.4 - Superfície de resposta (A1) e (A2) e curva de contorno (B1) e (B2) para a Concentração de CO ₂ dissolvido em função da pressão e da temperatura; e da relação gás/produto e da temperatura respectivamente.	56
Figura 5.5 - Taxa de absorção de CO ₂ em ostras.	58
Figura 5.6 - Taxa de dessorção de CO ₂ em ostras.....	60
Figura 5.7 – Análise de Pareto para perda de massa no processo de pré-solubilização.	64

Nomenclatura

a	Volume molecular
b	Interações moleculares
aw	Atividade de água
$C_{CO_2}^{t=\infty}$	Concentração de CO ₂ no equilíbrio (PPM)
$C_{CO_2}^i$	Concentração de CO ₂ inicial (PPM)
$\frac{dCO_2}{dt}$	Variação da concentração de CO ₂ com o tempo (PPM h ⁻¹)
g/p	Razão volumétrica gás/produto (m ³ m ⁻³)
H	Constante de Henry (Pa PPM ⁻¹)
$H_{CO_2,a}$	Constante de Henry do CO ₂ no alimento (Pa PPM ⁻¹)
M	Massa molar (g mol ⁻¹)
M_{CO_2}	Massa molar de CO ₂ (g mol ⁻¹)
m_p	Massa do produto (kg)
M_{H_2O}	Massa molar de água (g mol ⁻¹)
n_i	Número de mols inicial do componente (mol)
n_f	Número de mols final do componente (mol)
$n_{CO_2}^{t=0}$	Número de mols de CO ₂ inicial (mol)
$n_{CO_2}^{t=\infty}$	Número de mols de CO ₂ final (mol)
$n_{CO_2}^L$	Número de mols de CO ₂ dissolvida na fase líquida (mol)
$n_{CO_2}^i$	Número de mols de CO ₂ no início do processo (mol)
$n_{CO_2}^f$	Número de mols de CO ₂ no final do processo (mol)
P	Pressão (kPa)
P_c	Pressão crítica do CO ₂ (kPa)
p^{sat}	Pressão de saturação da água (kPa)
$P_{CO_2}^{t=0}$	Pressão parcial de CO ₂ inicial (kPa)
$P_{CO_2}^{t=\infty}$	Pressão parcial de CO ₂ no equilíbrio (kPa)

P_t	Pressão total (kPa)
$P_{corrigida}$	Pressão corrigida (kPa)
P_{medida}	Pressão medida (kPa)
PPM	Partes por milhão (mg CO ₂ /kg de produto)
φ^V	Coeficiente de fugacidade na fase vapor.
R	Constante universal dos gases (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
R_{CO_2abs}	Taxa de absorção de CO ₂ (PPM h ⁻¹)
R_{CO_2des}	Taxa de dessorção de CO ₂ (PPM min ⁻¹)
SGS	<i>Soluble Gas Stabilization</i>
T	Temperatura (°C)
T_c	Temperatura crítica (°C)
T_r	Temperatura reduzida (°C)
t	Tempo (min, h)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
V	Volume (m ³)
V_L	Volume livre do aparato (m ³)
V_P	Volume de produto (m ³)
V_g	Volume do gás (m ³)
X_{BU}	Umidade em base úmida (%)
X_2	Fração molar de CO ₂ dissolvido em água
ρ_p	Massa específica aparente do produto (kg m ⁻³)
ρ_{CO_2}	Massa específica do CO ₂ (kg m ⁻³)
ρ_{H_2O}	Massa específica da água (kg m ⁻³)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo Geral	25
2.2. Objetivos Específicos	25
3. REVISÃO DA LITERATURA	26
3.1. Moluscos Bivalves	26
3.2. Microbiologia de Moluscos Bivalves	26
3.3. Atmosfera Modificada	27
3.4. Pré-solubilização de CO₂ (SGS)	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1. Amostras	34
4.2. Processamento das Ostras	34
4.3. Determinação da solubilidade do CO₂	35
4.4. Pré-solubilização de CO₂	43
4.4.1. Dessorção do CO₂	43
4.4.2. Avaliação do Mecanismo de Absorção e Dessorção no Sistema SGS	44
4.5. Acondicionamento das Ostras em Atmosfera Modificada	45
4.5.1. Avaliação Físico-Química	46
4.5.2. Avaliação Microbiológica	48
4.6. Análise Estatística	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1. Validação do Aparato Experimental	49

5.2. Comportamento do CO₂ em Ostras.....	51
5.2.1. Influência da Pressão, da Relação Gás/Produto e Temperatura na Quantidade de CO₂ Dissolvido em Ostras.....	53
5.2.2. Absorção e Dessorção de CO₂ em Ostras.....	58
5.2.3. Constante de Henry do CO₂ em Ostras.....	61
5.3. Perda de Massa.....	63
5.4. pH.....	65
5.5. Armazenamento de Ostras Desconchadas em Atmosfera Modificada.....	66
5.5.1. Análises Físico-Químicas de Ostras em Atmosfera Modificada.....	66
5.5.2. Análises Microbiológicas de Ostras em Atmosfera Modificada.....	67
6. CONCLUSÕES.....	70
7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	72
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura e a produção mundial de pescado atingiram, em 2006, aproximadamente 144 milhões de toneladas, dos quais 110 milhões foram destinados ao consumo humano. Pescados são uma importante fonte de proteína animal em varias regiões do mundo. De acordo, com a Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO, 2010), a oferta de pescado para a alimentação humana aumentou de 27,6 milhões de toneladas, em 1961, para mais de 93 milhões de toneladas até o final do século XX.

Dentro da aquicultura, a maricultura (produção de moluscos) merece especial destaque, considerando que o cultivo de ostras superou a produção de peixes e crustáceos, no período de 1998 a 2005, sendo *Crassostrea gigas* a espécie de ostra mais cultivada em todo o mundo (LEAL et al., 2008).

No Brasil, a região sul é a maior produtora de ostras, tendo como destaque o estado de Santa Catarina. A produção de ostras, seja através da sua extração em bancos naturais ou da implantação de estruturas de cultivo, é uma fonte de renda importante para a economia de muitas comunidades pesqueiras espalhadas ao longo da costa brasileira (OSTRENSKY et al., 2008).

A produção total de moluscos comercializados em Santa Catarina foi de 15.635 toneladas em 2010, representando um aumento de 25,5% em relação a 2009 e a maior produção já registrada para o estado. A comercialização de ostras (*Crassostrea gigas*) na safra 2010 foi de 1.908 toneladas (t), representando um aumento de 6,49% em relação a safra 2009 (1.792 t) (EPAGRI, 2012).

O aumento do consumo e, por consequência, da produção de moluscos bivalves no Brasil depende de investimento em controle higiênico-sanitário (LIMA, 2010) e do desenvolvimento de novas tecnologias de produção. O uso da atmosfera modificada é uma técnica bastante utilizada para estender o tempo de vida de prateleira e manter a qualidade de produtos perecíveis (ESMER et al., 2011).

Essa técnica, em conjunto com a refrigeração, vem sendo aplicada com maior intensidade nos últimos dez anos como um método de conservação de alimentos a fim de assegurar a manutenção da qualidade com um mínimo de perdas (ASHIE et al., 1996).

Uma alternativa ao acondicionamento sob atmosfera modificada, é a pré-solubilização do CO₂ no produto antes do seu acondicionamento

denominado SGS (*Soluble Gas Stabilization*) (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2004; SIVERTSVIK et al., 2004a).

Esse sistema busca uma alternativa para reduzir o tamanho de embalagens usadas para acondicionar produtos em atmosfera modificada pela dissolução do CO₂ no produto antes de embalar (SIVERTSVIK; BIKERLAND, 2006).

O tratamento SGS tem potencial para prevenir o colapso na embalagem, sem comprometer a qualidade do alimento, melhorando a eficiência da atmosfera modificada (AL-NEHLAWI et al., 2013).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem por objetivo estudar o comportamento do CO₂ pré-solubilizado em ostras (*Crassostrea gigas*) pré-cozidas.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar as condições operacionais da pré-solubilização de CO₂ (pressão, relação gás/produto e temperatura) que resulte em alta taxa de absorção do CO₂;
- Determinar a taxa de dessorção do CO₂ em atmosfera normal.
- Avaliar a influência da temperatura, pressão e relação gás/produto na solubilidade do CO₂ em ostras.
- Avaliar o comportamento das ostras acondicionadas sob atmosfera modificada ativa quanto as suas características físico-químicas e microbiológicas, em embalagem flexível.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Moluscos Bivalves

Ostras do gênero *Crassostrea* são moluscos bivalves pertencentes à família Ostreidae (RIOS, 1994). Possuem o corpo envolvido por duas conchas ou valvas articuladas em sua porção dorsal por um ligamento córneo. O corpo é composto por: conchas, músculo adutor, brânquias, manto, sistema digestivo, sistema circulatório e sistema nervoso. Possuem conchas de formato variável, usualmente alongada. A valva inferior ou esquerda é côncava, funda e encaixada sob a articulação, enquanto a valva superior ou direita é plana. A cicatriz muscular é deslocada em direção dorsolateral. As conchas são espessas, calcárias e frágeis (NETO, 2011). Alimentam-se de matéria orgânica e inorgânica, fitoplâncton e partículas em suspensão presentes na água por meio de filtração branquial.

Ostras são geralmente consumidas cruas, e após desconchados, são ingeridos como um todo, podendo provocar assim a transmissão de doenças ao consumidor através de micro-organismos patogênicos, especialmente quando estes moluscos sejam originários de áreas contaminadas ou são manipulados em condições de higiene precárias (PEREIRA, 2006).

3.2. Microbiologia de Moluscos Bivalves

A Resolução RDC n. 12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), define os critérios e padrões microbiológicos para alimentos expostos à venda. Os itens 7, 20 e 22 dessa Resolução abordam o pescado e os produtos derivados da pesca, bem como os limites bacteriológicos permitidos para sua comercialização. A presente legislação estabelece valores de contagem microbiológica limites para moluscos bivalves *in natura*, resfriados ou congelados, não consumidos crus. Porém sabe-se que grande parte do consumo de ostras se dá na forma fresca com o animal ainda vivo. E neste sentido a legislação mostra-se interpretativa e incompleta, evidenciando a necessidade de maiores estudos na área (FARIAS, 2008).

A microbiota das ostras é influenciada pelo seu hábitat, sendo um dos principais fatores de seleção a temperatura, uma vez que ela

raramente ultrapassa 20 °C ao longo do ano. Por isso, as condições mais favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota psicrotrófica do que a uma estritamente mesófila. A composição química também influencia o desenvolvimento microbiano. Verifica-se, neste alimento, o desenvolvimento de micro-organismos capazes de utilizar substâncias nitrogenadas, proteicas ou não (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os moluscos (ostras, mariscos, lulas) apresentam em sua carne alto teor de carboidratos, quando comparados aos pescados e crustáceos, e menor teor de nitrogênio total. Os gêneros isolados de ostras deterioradas são: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Clostridium*, *Shewanella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Favlobacterium*, entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Segundo o *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986), a ostra pode filtrar até 10 litros de água por hora. Vibrios predominam na microbiota das ostras, sendo sua contagem maior no verão. São originários de habitats marinhos e aparecem em grandes concentrações em temperaturas de 17-20 °C e, em baixas temperaturas, permanecem nos sedimentos do fundo do mar, em concentração insuficiente para causar infecções. Sua concentração aumenta nos meses mais quentes, devido às condições ecológicas favoráveis e ao plâncton, aumentando seu acúmulo por organismos filtradores (PEREIRA, 2004).

Os principais vibrios patogênicos são: *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. vulnificus*. *V. parahaemolyticus* não se reproduz em temperatura abaixo de 10 °C (HOFER; SILVA, 1986; PEREIRA, 2004).

3.3. Atmosfera Modificada

Atmosfera modificada envolve a remoção do ar da embalagem e sua substituição por um único gás ou uma mistura de gases. A mistura de gases utilizada depende do tipo de produto. Quando uma atmosfera modificada é aplicada na embalagem, as concentrações de gás inicial mudam durante o armazenamento. A composição da atmosfera é dinâmica e alterações podem ocorrer devido à respiração muscular, metabolismo microbiano, absorção do gás no produto e permeabilidade do material de embalagem (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002).

O dióxido de carbono (CO₂) é o gás mais importante usado em embalagens de alimentos com atmosfera modificada, devido ao seu efeito inibidor sobre grande parte dos micro-organismos comuns que causam a deterioração dos alimentos (SIVERTSVIK, 2004b),

geralmente é combinado com um gás de enchimento para estabilizar a embalagem, e seu efeito bacteriostático está bem documentado (GILL 1988; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002; SIVERTSVIK, 2004a). No entanto, a quantidade necessária de CO₂ ainda não está bem definida, tanto que a quantidade de CO₂ utilizada geralmente está relacionada ao volume livre da embalagem e com as características do produto (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2006).

Este gás é altamente solúvel em músculo e tecido adiposo (GILL, 1988; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002), sendo mais solúvel em água que o oxigênio (O₂ – 25 a 35 vezes menos solúvel) ou nitrogênio (N₂ – 50 a 70 vezes menos solúvel) (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2006). Mais do que 98-99% do CO₂ dissolvido em água pura é sob a forma gasosa e apenas uma pequena fração está presente na forma de ácido carbônico (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2006). Parte do CO₂ pode também ser solubilizado em gordura, e de acordo com Cruz-Romero et al. (2008) ostras possuem alta umidade e baixo teor de lipídeos (77% de umidade e 1,95% de lipídeos).

Quando altas concentrações de CO₂ são utilizadas, a absorção do gás pode causar um colapso na embalagem. A capacidade de absorção do CO₂ por produtos cárneos depende de fatores intrínsecos, tais como, pH, quantidade de água, teor de lipídeos, e de fatores extrínsecos como, temperatura, pressão parcial de CO₂ e volume livre da embalagem (GILL 1988; ZHAO et al. 1995; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002). A quantidade de CO₂ absorvida pelos produtos cárneos depende destes fatores e variam entre 0 e 1,79 L CO₂/Kg de carne para uma temperatura de 13 °C, pressão de 155 kPa após 12 horas de solubilização (ZHAO et al., 1995).

Um dos maiores desafios para as indústrias de alimentos é utilizar um maior grau de enchimento na embalagem, sem que a qualidade e a vida de prateleira dos seus produtos sejam reduzidas. Zhao e Wells (1995) desenvolveram o método para solubilizar CO₂ em carnes. Este método tornou-se mais conhecido posteriormente, após Sivertsvik et al. (2004a) desenvolver um sistema para pré-solubilizar o CO₂ em produtos que não respiram, seguindo os mesmos princípios e equações citadas por Zhao e Wells (1995), e a partir deste, vários trabalhos (SIVERTSVIK; BIKERLAND, 2006; ROTABAKK et al., 2006; MENDES et al., 2011; CABRAL, 2011) têm estudado a influência do processo em diferentes produtos.

Dentre os fatores mais importantes a serem observados está a relação entre o volume do gás e o volume do produto na embalagem, conhecida por razão g/p. Normalmente é recomendada uma razão g/p entre dois e três para evitar o colapso da embalagem e transferir ao alimento uma quantidade de CO₂ suficiente para alcançar o efeito bacteriostático (SIVERTSVIK; BIKERLAND, 2006), ou seja, o produto deve ocupar de 25% a 33% do volume total da embalagem. O colapso da embalagem ocorre devido à grande solubilidade do CO₂ na fase aquosa e lipídica dos alimentos, acarretando uma diminuição do volume da fase gasosa no interior da embalagem (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2004; SIVERTSVIK et al., 2004a), podendo levar à rejeição do produto pelo consumidor.

Poucos trabalhos citam as relações gás/produto utilizados nas embalagens, dificultando assim a reprodutibilidade dos experimentos. Sivertsvik e Jensen (2005) utilizaram variações na relação g/p entre 1,7 a 3,9 para determinar a solubilidade do CO₂ em salsicha e presunto. Mendes et al. (2011) utilizou uma relação g/p em torno de 4 para estudar a influência da pré-solubilização de CO₂ na vida de prateleira de polvo *Octopus vulgaris*.

3.4. Pré-solubilização de CO₂ (SGS)

A pré-solubilização de CO₂ (SGS) em produtos que não respiram é um método recente de embalagem ativa, proposto por Sivertsvik (2004a) para prolongar a vida de prateleira de produtos cárneos.

Neste processo, o CO₂ é dissolvido no produto a baixas temperaturas e pressões acima de 200 kPa, podendo em seguida ser acondicionado em embalagens com atmosfera modificada (MENDES et al., 2011), com finalidade de aumentar a vida de prateleira. Este comportamento foi relatado por Sivertsvik et al. (2004b), em um estudo com filés de peixe seguido de um estudo com produtos cárneos cozidos (SIVERTSVIK; JENSEN, 2005). A Figura 3.1 mostra o equipamento para aplicação do processo SGS, utilizado por Pestana (2007).

Figura 3.1 - Sistema de pré-solubilização à volume constante.



Fonte: Pestana, 2007

A lei dos gases ideais é utilizada como base teórica para a construção de aparatos experimentais impermeáveis com volume constante, onde a quantidade de CO₂ dissolvido no alimento pode ser calculada pela variação da pressão total do sistema, assumindo que toda variação da pressão total é resultado da variação da pressão parcial de CO₂ (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2002; CABRAL, 2011).

Em um recipiente fechado com temperatura e volume constante, o volume de CO₂ muda com o tempo podendo ser relacionada diretamente com a mudança de pressão:

$$\frac{dn_{\text{CO}_2}}{dt} = \frac{V_g}{RT} \frac{dP_{\text{CO}_2}}{dt} = \frac{V_g}{RT} \frac{dP}{dt} \quad (3.1)$$

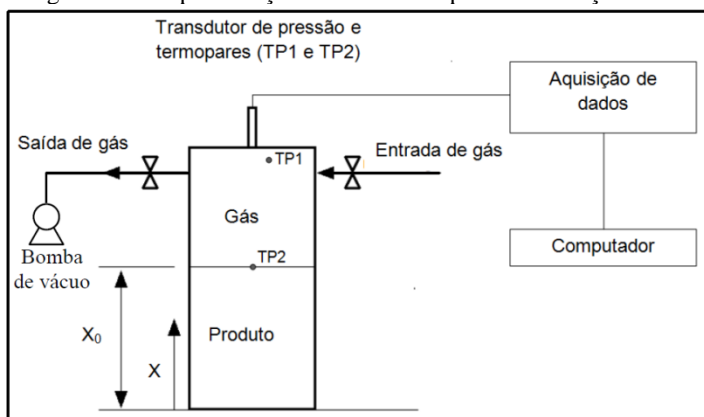
Em que: $\frac{dn_{\text{CO}_2}}{dt}$ é a variação do número de mols do CO₂ com o tempo, P é a pressão absoluta do gás (kPa), P_{CO₂} é a pressão parcial de CO₂ (kPa), V_g é o volume de gás (m³), n é a quantidade do gás (mol), T é a temperatura do gás (K), e R é a constante universal dos gases (8,3143 J.mol⁻¹.K⁻¹).

Apresentando as seguintes premissas simplificadoras (SIVERTSVIK et al., 2004a), sendo representadas de acordo com a Figura 3.2:

✓ O sistema segue a lei dos gases ideais, ou seja, o fator de compressibilidade é 1;

- ✓ A dissolução do CO_2 é o fenômeno dominante que ocorre no interior do sistema, negligenciando alterações na pressão parcial de N_2 e O_2 (60 e 30 vezes menos solúvel que o CO_2 (SIVERTSVIK, 2004a), respectivamente, e de qualquer consumo de gás ou de produção, devido às reações microbianas ou bioquímicas;
- ✓ A pressão de vapor de água é suficientemente baixa a temperaturas refrigeradas para não influenciar no resultado.

Figura 3.2 - Representação do sistema de pré-solubilização.



Fonte: Cabral, 2011.

Sivertsvik et al. (2004a) consideraram que a variação de pressão é devido à solubilização do CO_2 , a quantidade de gás absorvida pelo produto em PPM ($\text{mg CO}_2/\text{kg H}_2\text{O}$) pode ser expressa como:

$$C_{\text{CO}_2}^{t=\infty} = \frac{1000(n_{\text{CO}_2}^{t=0} - n_{\text{CO}_2}^{t=\infty})M_{\text{CO}_2}}{m_p} \quad (3.2)$$

Em que: $C_{\text{CO}_2}^{t=\infty}$ é a concentração de CO_2 (PPM) no produto, M_{CO_2} é o peso molecular de CO_2 ($44,01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) e m_p é o peso do produto (kg), desde:

$$g/p = \frac{V_g}{V_p} = \frac{1000 V_g \rho_p}{m_p} \quad (3.3)$$

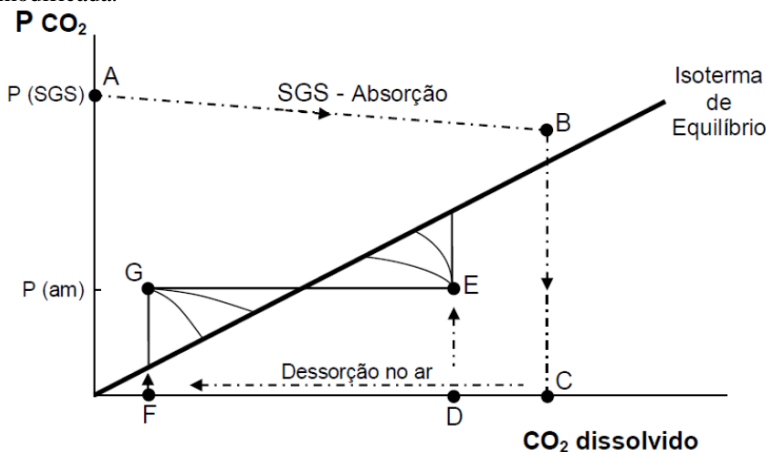
Em que: V_g e V_p representam o volume do gás e o volume de produto, respectivamente no sistema (m^3), ρ_p é a densidade aparente do produto (kg/dm^3) e g/p é a relação entre o volume de gás e o volume de produto. Substituindo as equações (3.1) e (3.3), na equação (3.2), temos:

$$C_{\text{CO}_2}^{t=\infty} = \frac{g/p (P_{\text{CO}_2}^{t=0} - P_{\text{CO}_2}^{t=\infty}) M_{\text{CO}_2}}{RT\rho_p} \quad (3.4)$$

A partir da equação (3.4), identifica-se que a concentração de CO_2 dissolvida no produto depende da relação g/p, da densidade aparente do produto e da diferença de pressão durante o processo. Estes parâmetros devem ser levados em consideração para desenvolver sistemas que utilizem atmosfera modificada (CABRAL, 2011).

A Figura 3.3 esboça o comportamento do tratamento SGS com redução da pressão, seguido de embalagem em atmosfera modificada em condições isotérmicas.

Figura 3.3 - Ilustração do tratamento SGS seguido de embalagem em atmosfera modificada.



Fonte: Cabral, 2011.

De acordo com Cabral (2011), as etapas dos processos de pré-tratamento até a embalagem final são representadas pelas letras A, B, C, D, E, F e G, descritas a seguir. O ponto A representa o início da pré-solubilização do CO_2 no alimento (SGS). A taxa de solubilização é determinada pelo coeficiente de difusão efetivo do gás no alimento, pelo gradiente entre a pressão parcial de CO_2 durante o tratamento e a pressão de CO_2 de equilíbrio e pela área de transferência de massa.

O fim do processo SGS é o estado B, o qual não se encontra no equilíbrio termodinâmico do sistema. Atingir o equilíbrio durante o SGS não é necessário, nem viável, devido ao longo tempo de processo necessário. A concentração alcançada no estado B deve ser estabelecida levando-se em conta o efeito microbiológico e mudanças em propriedades físico-químicas e organolépticas como cor, exsudação, pH, etc.

O estado C representa o momento em que o alimento é retirado do sistema SGS e submetido à atmosfera normal, na qual a pressão parcial de CO₂ pode ser considerada zero (= 0,0003 atm), sendo este fenômeno conhecido por dessorção. Nesse momento, o alimento está supersaturado e ocorre liberação do gás do alimento para a atmosfera. O grau de dessorção é, evidentemente, influenciado pelo tempo e temperatura de exposição à atmosfera normal (ROTABAKK et al., 2010; JAKOBSEN; BERTELSEN, 2006). Poucos estudos na literatura apresentam os fundamentos da dessorção do CO₂, sendo que os trabalhos publicados apresentam divergências quanto à ocorrência desse mecanismo após o tratamento SGS (ROTABAKK et. al., 2006). Ela ocorre a partir do momento em que o produto é retirado do sistema SGS e exposto ao ambiente.

Os estados D e F representam o produto antes de ser embalado definitivamente, sendo maior a dessorção no estado F. Quando o produto no estado D é embalado em atmosfera modificada com determinada pressão parcial de CO₂ (estado E) ele continua supersaturado e, portanto, ainda irá liberar CO₂. Nesse caso pode ocorrer um inchamento de embalagens flexíveis (JAKOBSEN; RISBO, 2009). O trajeto até o equilíbrio é influenciado pela razão g/p da embalagem. O trajeto vertical até o equilíbrio é observado quando o grau de enchimento da embalagem tende a 100% (g/p tende a zero) e o trajeto horizontal quando o grau de enchimento da embalagem tende a 0% (g/p tende a infinito).

O estado G representa o produto embalado em atmosfera modificada (mesma pressão parcial de CO₂ que o estado E após maior dessorção em atmosfera normal). Observa-se na Figura 3.3 que o produto absorverá CO₂ até o equilíbrio, mesmo que esta quantidade seja muito pequena. É possível utilizar uma embalagem com alto grau de enchimento (baixo g/p) e altas concentrações de CO₂. Aqui se pode aproveitar o colapso da embalagem para promover um aspecto de vácuo (JAKOBSEN; RISBO, 2009). Igualmente ao estado E, o trajeto até o equilíbrio é condicionado ao grau de enchimento da embalagem.

4. MATERIAL E MÉTODOS

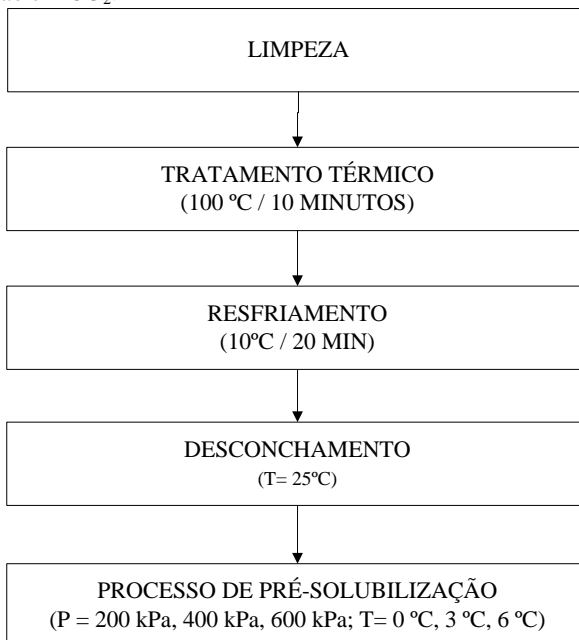
4.1. Amostras

As ostras *in natura* utilizadas neste estudo foram cultivadas na região da grande Florianópolis-SC e adquiridas no mercado público de Florianópolis.

4.2. Processamento das Ostras

As ostras foram escovadas em água corrente para retirada das sujidades presentes na superfície das conchas. Em seguida, cinco dúzias de ostras foram submetidas a um tratamento térmico em vapor a 100 °C por 10 minutos, para facilitar a abertura das conchas e reduzir a microbiota presente, de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Fluxograma do processamento de ostras, seguido do processo pré-solubilização em CO₂.

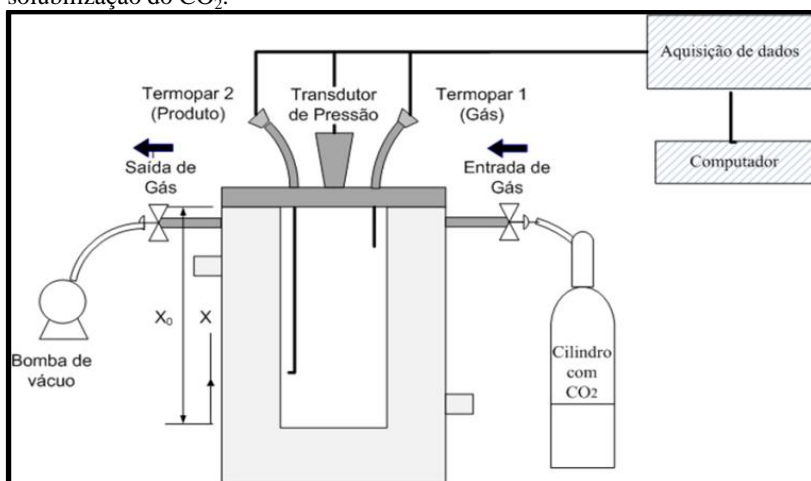


4.3. Determinação da solubilidade do CO₂

✓ *Aparato Experimental*

Para determinar a solubilidade do CO₂ em produtos cárneos e taxa de dissolução do CO₂, Cabral (2011) montou um aparato experimental baseado no modelo desenvolvido por Sivertsvik (2004a) de acordo com a Figura 4.2.

Figura 4.2 - Esquema representativo do aparato experimental para pré-solubilização do CO₂.



A unidade experimental foi construída em um recipiente cilíndrico encamisado em aço inoxidável (526 cm³), com dimensões internas de 0,057 m de diâmetro e 0,205 m de altura. A temperatura do sistema foi mantida constante pela passagem de água pela camisa conectada a um banho termostático com circulação externa (Quimis, 6214m2, Brasil). O sistema é constituído de um transdutor de pressão (Warme WTP-4010, 0V a 10V, Brasil), duas válvulas tipo agulha (Swagelok), dois termopares do tipo J (Salvi Casagrande – Brasil) calibrados. A válvula de entrada é ligada a um cilindro de CO₂ (Linde, 99,9% de pureza, Brasil) e a de saída pode ser ligada a uma bomba de vácuo, a ser usada no início da operação do sistema para retirada do ar atmosférico, a um analisador de gás (Checkmate II, PBI-Dansensor, Dinamarca) para medir a concentração gasosa durante a desorção, ou pode ser utilizada para aliviar a pressão do sistema. Os termopares e o

transdutor de pressão foram conectados a um sistema de aquisição de dados (Agilent, Data Acquisition 34970A, EUA), conectado ao computador com o software Benchlink Data Logger 3.0 (Agilent, 2009).

O fechamento hermético do aparato foi verificado com a realização de testes de vedação em condições isotérmicas, onde o CO₂ foi injetado no recipiente vazio e mantido por aproximadamente 24 horas com diversas pressões de teste (400 kPa, 560 kPa, 800 kPa e 900 kPa).

✓ *Determinação da Solubilidade e Absorção do CO₂ na Água e no Produto*

Baseado na dependência da solubilidade dos gases com a temperatura, um modelo teórico para determinar a constante de Henry na água foi descrito por Carroll et al. (1991) e utilizado por Sivertsvik et al. (2004a) para validar um sistema semelhante conforme a Equação 4.1.

$$\ln H = \sum_{i=0}^n A_i (1000/T)^i \quad (4.1)$$

Em que: H é a constante de Henry (Pa.ppm⁻¹) e T é a temperatura (K).

Os coeficientes para o cálculo da constante de Henry do CO₂ em água são: A₀ = -7,72781, A₁ = 12,817, A₂ = -3,7668 e A₃ = 0,2997 e só podem ser utilizados para pressões abaixo de 1000 kPa e temperaturas até 80 °C (Sivertsvik et. al., 2004a).

A quantidade de CO₂ dissolvido no equilíbrio pode ser expressa pela lei de Henry (SCHUMPE; QUICKER; DECKWER, 1982; SIVERTSVIK et al.2004a):

$$P_{CO_2}^{t=\infty} = H_{CO_2,a} \cdot C_{CO_2}^{t=\infty} \quad (4.2)$$

Em que: $P_{CO_2}^{t=\infty}$ é a pressão parcial de CO₂ no volume livre do aparato, e $H_{CO_2,a}$ é a constante de Henry do CO₂ no alimento.

As condições operacionais consideradas são:

- a) O sistema é hermeticamente fechado com volume e temperatura constante.

b) A dissolução do CO_2 é o fenômeno dominante (dissolução de N_2 e O_2 são desprezadas, assim como consumo ou produção de gases por reações bioquímicas e microbiológicas) e ocorre exclusivamente na fase líquida do alimento.

c) A pressão de vapor de água é baixa em temperaturas de refrigeração, e pode ser desprezada.

A quantidade de CO_2 foi obtida a partir da quantidade de CO_2 em mols disponível no sistema. A partir da equação 4.3 é possível obter o número de mols de CO_2 disponível dentro do sistema, no início do processo, e os mols de CO_2 que foram dissolvidos na água, através do seguinte balanço de massa, mostrado pela Equação 4.4.

$$PV_G = Zn_{\text{CO}_2}RT \quad (4.3)$$

$$n_{\text{CO}_2}^L = n_{\text{CO}_2}^i - n_{\text{CO}_2}^f \quad (4.4)$$

Em que: P é a pressão do CO_2 (kPa), V_G é o volume do gás em m^3 , Z é o fator de compressibilidade (adimensional), n_{CO_2} é o número do mols do CO_2 , R é a constante universal dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e T é a temperatura do sistema em K.

A variável $n_{\text{CO}_2}^L$ corresponde ao número de mols de CO_2 dissolvido na fase líquida, obtida pela diferença dos mols de CO_2 no início do processo ($n_{\text{CO}_2}^i$) e pelos mols de CO_2 que permanecem dentro do sistema no final do processo ($n_{\text{CO}_2}^f$).

Utilizando a equação 4.3, é possível encontrar $n_{\text{CO}_2}^i$ e $n_{\text{CO}_2}^f$, a partir dos dados de pressão registrados pelo sistema de aquisição de dados durante o período de processo.

O cálculo de n_{CO_2} pode ou não envolver a consideração da faixa da idealidade. Para sistemas que seguem a Lei dos Gases Ideais, o valor de Z é igual a 1 (SMITH; VAN NESS, 2004). Porém, quando o sistema operar em pressões mais elevadas, Z será diferente de 1.

Neste caso, a quantidade de CO_2 solubilizada em água será expressa em termos de fração molar do gás na fase líquida e na fase vapor dentro do sistema, conforme calculado pela Equação 4.5, que assume a validade da Lei de Henry para a solubilidade em um sistema de equilíbrio binário gás-líquido para o componente mais leve, e permite o uso de correlação dos estados correspondentes ou equações de estado para descrever esse comportamento.

$$y_2 \phi^V P = x_2 H \quad (4.5)$$

Em que: ϕ^V representa o coeficiente de fugacidade na fase de vapor dos componentes na solução, y e x são, respectivamente, as frações molares do CO_2 na fase líquida, P (Pa) é a pressão e H (Pa/PPM) é a constante de Henry.

Para a determinação da quantidade de CO_2 dissolvido na água pura para validação do sistema foi desenvolvido um programa iterativo, a partir da necessidade de se estimar o coeficiente de fugacidade da equação 4.5, para os sistemas binários, baseado em Dalmolin et al. (2006). O programa iterativo consiste de uma rotina para o cálculo da fração de CO_2 na fase líquida (x_2), e a solubilidade do CO_2 , com base no comportamento da solubilidade de gases em líquidos explicados pela Lei de Henry, de maneira que a constante de Henry para a água pura e para fase líquida das as ostras também foram determinados.

Os cálculos foram realizados através da determinação do volume parcial molar do CO_2 em uma diluição infinita em água, bem como as constantes de Antoine para o cálculo da pressão de saturação da água. Com esses parâmetros determinados, os dados de pressão inicial e final do processo foram inseridos no programa iterativo para a obtenção dos dados de solubilidade do CO_2 . Foi necessário realizar uma correção nos dados de pressão inicial do sistema, de acordo com o proposto por Cabral (2011), devido ao aumento de temperatura que ocorre no meio pelo aumento da pressão no sistema nos primeiros instantes da injeção gasosa, a fim de evitar que o gás dissolvido seja superestimado devido ao rápido declínio de pressão, conforme a equação 4.6.

$$P_{\text{corrigida}} = \frac{T_p}{T_g} \times P_{\text{medida}} \quad (4.6)$$

Para as determinações da solubilidade do CO_2 , foi utilizada a equação dos gases ideais (Equação 3.1) e a equação de estado de Peng-Robinson (Peng; Robinson, 1975), para contemplar a faixa fora da idealidade, em pressões mais elevadas, resolvendo assim a Equação (4.5).

$$P = \frac{RT}{V - b} - \frac{a(T)}{V(V + b) + b(V - b)} \quad (4.7)$$

Em que:

$$a(T) = a(T_c) \propto (T_r, w) \quad (4.7.1)$$

$$a(T_c) = 0,45724 \frac{R^2 T_c^2}{P_c} \quad (4.8)$$

$$b = 0,0778 \frac{R T_c}{P_c} \quad (4.9)$$

$$\alpha = \left(1 + m \left(1 + T_r^{1/2} \right) \right)^2 \quad (4.10)$$

$$m = 0,37464 + 1,5422\omega - 0,26992\omega^2 \quad (4.11)$$

Em que ω é o fator acêntrico. O sub-índice C se refere ao ponto crítico e o sub-índice R se refere à condição de propriedade reduzida. Neste caso, a temperatura reduzida que é a razão entre a temperatura e a temperatura crítica. A equação não é explícita em relação a V. Neste caso ela se transforma numa equação polinomial do terceiro grau:

$$Z^3 - (1 - B)Z^2 + (A - 3B^2 - 2B)Z - AB - B^2 - B^3 = 0 \quad (4.12)$$

Em que, A, B e Z são:

$$A = \frac{aP}{R^2 T^2}; B = \frac{BP}{RT}; Z = \frac{PV}{RT}; \quad (4.13)$$

A regra de mistura de Van der Waals é apresentada a seguir:

$$a = \sum_i \sum_j x_i x_j a_{ij} \quad (4.14)$$

$$a_{ij} = (1 - \delta_{ij})a_i^{1/2}a_j^{1/2} \quad (4.15)$$

$$b = \sum_i x_i b_i \quad (4.16)$$

A equação de Peng Robinson tem aplicabilidade para cálculo do equilíbrio líquido-vapor de misturas.

✓ *Determinação da Concentração de CO₂ Dissolvido em Ostras*

Para determinar o número de mols inicial e final temos que:

$$n_i = \frac{V_G}{V_{m_i}} \quad (4.18)$$

$$n_f = \frac{V_G}{V_{m_f}} \quad (4.19)$$

Em que: n_i e n_f são os números de mol inicial e final, V_G é o volume de gás no sistema, V_{m_i} e V_{m_f} são os volumes molares, inicial e final, obtidos através da Equação (4.7).

Considerando que o CO₂ é solubilizado na fase líquida presente na ostra, o número de mols da água é:

$$n_{H_2O} = \frac{m_{H_2O}}{M_{H_2O}} \quad (4.20)$$

Sendo:

$$m_{H_2O} = \rho_p V_p x_{b_u} \quad (4.21)$$

Em que: n_{H_2O} é o número de mols de água, M_{H_2O} (kg/mol) é a massa molecular da água, m_{H_2O} (kg) é a massa de água, ρ_p (kg/m³) é a

massa específica da ostra, V_p (m^3) é o volume de ostra e x_{bu} (g H_2O / g sólido úmido) é a umidade da ostra.

A fração molar dos componentes na fase vapor é dada por:

$$y_2 = \frac{P_{CO_2}^{t=\infty} - P^{sat}}{P_{CO_2}^{t=\infty}} \quad (4.22)$$

$$y_1 = 1 - y_2 \quad (4.23)$$

Em que: $P_{CO_2}^{t=\infty}$ (Pa) é a pressão do CO_2 no equilíbrio e P^{sat} (Pa) é a pressão de saturação da água, determinada pela equação de Antoine, y_1 e y_2 são as frações molares da água e do CO_2 na fase vapor, respectivamente (SMITH; VAN NESS, 2004).

Em seguida foi determinado o número de mols do CO_2 e da água ao final do processo, a fim de determinar a fração molar do CO_2 dissolvido na água.

$$n_{CO_2} = n_i - y_2 n_f \quad (4.24)$$

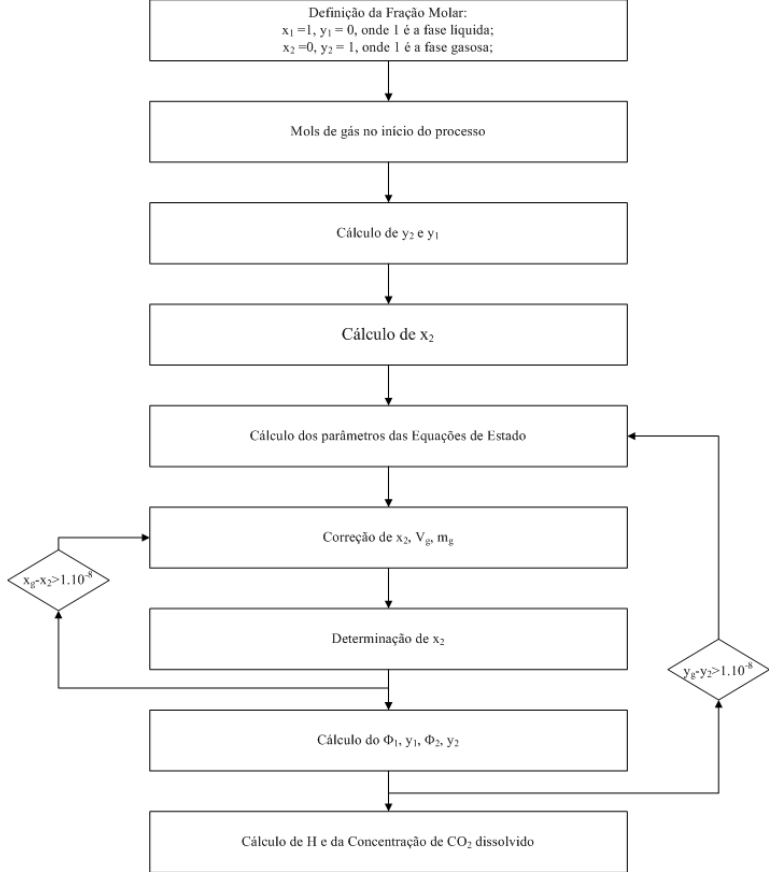
$$n_{H_2O} = n_i - y_1 n_f \quad (4.25)$$

$$x_{CO_2} = \frac{n_{CO_2}}{n_{CO_2} + n_{H_2O}} \quad (4.26)$$

Em que: x_{CO_2} é a fração molar de CO_2 solubilizado no produto, n_i é o número de mols inicial do componente e n_f é o número de mols final do componente.

A resolução das equações cúbicas, determinação da concentração de CO_2 dissolvido e solubilidade envolvem um cálculo iterativo a partir de programas computacionais, e são usados para obter as raízes da equação cúbica. As raízes foram encontradas a partir do *software* Matlab (R2011b, MathWorks Inc, MA, USA), de acordo com a Figura 4.3.

Figura 4.3 - Fluxograma para determinação da constante de Henry e da concentração de CO₂ para as condições experimentais testadas.



A fim de confirmar a validação do comportamento do CO₂ em água através da constante de Henry, o erro percentual foi estimado a partir dos dados calculados pela equação (4.1) e os valores preditos através da equação (4.5), expressa pela equação (4.27):

$$e(\%) = 100. \left| \frac{Var_{Calc} - Var_{predito}}{Var_{Calc}} \right| \quad (4.27)$$

Em que: e (%) é o erro percentual, Var_{calc} é a variável calculada e $Var_{predito}$ é a variável predita, de interesse.

4.4. Pré-solubilização de CO₂

Para definição das condições de operação do sistema de pré-solubilização foi adotado um planejamento experimental do tipo 2^k com 3 pontos centrais a fim de determinar a influência da relação gás/produto, pressão e temperatura na concentração de CO₂ dissolvido em ostras por um período de 65 horas atingindo assim o equilíbrio. Os níveis de pressão, temperatura e relação gás/produto estão representados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Matriz do planejamento de experimentos para avaliar as variáveis independentes na dissolução de CO₂ em ostra.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Temperatura (°C)	0	3	6
Pressão (kPa)	200	400	600
Relação gás/produto (g/p)	1:1	3:1	5:1

4.4.1. Dessorção do CO₂

A análise da composição gasosa presente no volume livre do aparato experimental contendo as ostras foi realizada mediante a leitura da concentração de CO₂ utilizando analisador de gases (CheckMate II, PBI Dansensor). Após o alívio da pressão pela válvula de saída, foi conectado a válvula de entrada um cilindro contendo ar sintético (80% N₂ e 20% O₂, White Martins) lavando o sistema por 30 segundos, a fim de garantir condições de atmosfera normal dentro do aparato. Em seguida o analisador de gás foi conectado a válvula de saída, ao mesmo tempo em que a válvula de entrada foi fechada e assim foi determinada a mudança na concentração dos gases na atmosfera dentro do aparato. As determinações foram feitas a cada 60 segundos durante a primeira hora. Assim, caracteriza-se uma cinética de comportamento da dessorção do CO₂ presente na ostra.

4.4.2. Avaliação do Mecanismo de Absorção e Dessorção no Sistema SGS

As taxas de absorção e desorção de CO_2 na ostra foram calculadas a partir da diferença de concentração gasosa, massa de ostra e volume livre do aparato experimental na temperatura de processo, conforme as equações a seguir (TORRIERI et al., 2009):

$$R_{CO_2_{abs}} = \frac{dCO_2}{dt} \quad (4.28)$$

$$R_{CO_2_{des}} = \frac{V_L \rho_{CO_2}}{100m_p} \frac{dCO_2}{dt} \quad (4.29)$$

Em que: $R_{CO_2_{abs}}$ e $R_{CO_2_{des}}$ são as taxas de absorção e desorção de CO_2 (PPM.h⁻¹, PPM.min⁻¹), respectivamente; $\frac{dCO_2}{dt}$ é a variação da concentração de CO_2 com o tempo (PPM.h⁻¹, PPM.min⁻¹); V_L é o volume livre do aparato experimental (m³), ρ_{CO_2} é a massa específica do CO_2 (kg.m⁻³) e m_p é a massa de ostra no aparato (Kg).

Equações de ajuste em relação aos dados experimentais foram utilizadas para determinar o comportamento da absorção e desorção de CO_2 , e calcular as respectivas taxas:

$$[CO_2] = \frac{t}{at + b} \quad (4.30)$$

Em que: P (kPa) é a pressão a cada ponto; t (h) é o tempo a cada ponto; $[CO_2]$ é a concentração de CO_2 (%) e, a e b são os parâmetros de ajuste.

Derivando a equação (4.30), em relação ao tempo, temos que:

$$\frac{dCO_2}{dt} = \frac{b}{(at + b)^2} \quad (4.31)$$

Substituindo a equação (4.31), nas equações (4.28) e (4.29) é possível determinar as taxas de absorção e desorção de CO_2 na ostra.

Outro parâmetro de importância no processo SGS é o cálculo do tempo necessário para a concentração do CO_2 dissolvido atingir 50%. Rearranjando a Equação (4.30) e considerando que $[\text{CO}_2] = 0,5 C_{\text{CO}_2}^{t=\infty}$, temos que:

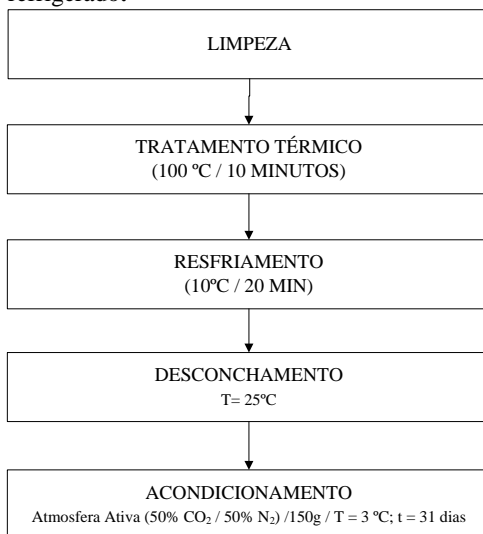
$$t = \frac{0,5 b C_{\text{CO}_2}^{t=\infty}}{1 - 0,5 a C_{\text{CO}_2}^{t=\infty}} \quad (4.23)$$

A rotina computacional foi desenvolvida para o *software* Matlab (R2011b, MathWorks Inc, MA, USA), ajustando as Equações (4.30) e (4.31) aos dados experimentais através do método de regressão não-linear da função *nlinfit*.

4.5. Acondicionamento das Ostras em Atmosfera Modificada

As ostras foram tratadas como descritas no item 4.2. 150g de ostras desconchadas e resfriadas foram acondicionada sob atmosfera modificada com 50% de CO_2 e 50% de N_2 , em embalagem flexível multicamada constituída de uma mistura de PEBD (Polietileno de baixa densidade) e PEL (Polietileno aditivados) e poliamida, da empresa CELOFIX (Cambé - PR), com permeabilidades ao oxigênio (TPO_2) 55 ($\text{cm}^3/\text{m}^2 \text{ dia}$) e ao vapor d'água (TPVA) 62 ($\text{g}/\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \text{ dia}$), respectivamente. As amostras foram armazenadas em câmara com controle de temperatura a 3°C por 31 dias. A Figura 4.4 mostra o fluxograma do processamento.

Figura 4.4 - Fluxograma do processamento de ostras, seguido do armazenamento refrigerado.



4.5.1. Avaliação Físico-Química

As avaliações físico-químicas foram realizadas no produto *in natura*, após o cozimento, resfriamento (Figura 4.4) e durante o período de armazenamento (0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 23, 31 dias) no laboratório de propriedades físicas de alimentos PROFI/UFSC.

✓ Umidade

A determinação do teor de umidade para a ostra foi realizada conforme o método 925.09 da AOAC (2005) para as amostras submetidas a 105 °C.

Amostras de $4 \pm 0,5$ g de ostra foram colocadas em cápsulas de porcelana taradas, previamente aquecidas em estufa a 105 °C por 1 h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas em balança analítica (Marte, Modelo Ay220). Posteriormente, as amostras foram colocadas em estufa a 105 °C por 8 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente, e novamente pesadas até peso

constante. Para o cálculo do teor de umidade, foi utilizada a Equação 4.1:

$$X_{bu} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (4.32)$$

Em que: m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra (g) e X_{bu} (g de água/g de sólido úmido) é a umidade em base úmida. A determinação de umidade da ostra foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

✓ pH

O pH das amostras foi medido diretamente no alimento com um phmetro de sólidos (Testo 205) composto por uma sonda para medição de pH e temperatura. As leituras foram realizadas em triplicata.

✓ Atividade de Água

A atividade de água das ostras foi determinada no equipamento Aqualab, da Decagon Devices. Após a calibração do equipamento, $4 \pm 0,5$ g de amostra triturada foi colocada no aparelho e a leitura realizada automaticamente.

✓ Determinação da Massa Específica Aparente (ρ_a)

A massa específica aparente das ostras foi determinada por meio da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações e o volume de água destilada deslocada em uma proveta graduada.

✓ Firmeza

A firmeza foi medida através da força máxima de cisalhamento, utilizando uma célula de Kramer (KSC) acoplada ao texturômetro (Stable Micro System, modelo TA.XT₂i, Inglaterra) com célula de carga de 500 N. Aproximadamente 50g de ostras foram colocadas dentro do suporte para amostra da KSC e submetidos ao ensaio numa velocidade de 3 mm.s^{-1} . Os resultados foram expressos em firmeza do produto em N.g^{-1} , sendo consideradas a média das duplicatas para a análise estatística.

4.5.2. Avaliação Microbiológica

As avaliações microbiológicas foram realizadas no produto *in natura*, após o cozimento, resfriamento e durante o período de armazenamento (0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 23, 31 dias). Os métodos utilizados para os ensaios microbiológicos são descritos conforme A.P.H.A. – *American Public Health Association* (2001).

✓ *Contagem Total de Aeróbios Mesófilos Totais e Psicotróficos Totais*

Para a determinação de bactérias mesófilas e psicotróficas o meio de cultura utilizado foi o Plate Count Agar (PCA) ou Agar Padrão para contagem e o sistema foi o espalhamento em superfície.

Em torno de 25 g (± 2 g) de ostra foi adicionado em 225 mL de água peptonada 0,1% e agitado durante 1 minuto. Em seguida 100 μ L das diferentes diluições semeadas em placas com cerca de 15 a 20 ml de meio PCA . As placas foram incubadas invertidas a 36 ± 1 °C por 24 horas para contagem de total de aeróbios mesofilos e a 7 ± 1 °C por 10 dias para contagem total de psicotróficos.

✓ *Contagem Total de Vibrio spp.*

Cerca de 50 g (± 2 g) de ostra foi adicionado em 450 mL de água peptonada 0,1% com 3% de NaCl e agitados durante 1 minuto. Em seguida 100 μ L das diferentes diluições foram inoculadas em placas com cerca de 15 a 20 mL de meio TCBS (ágar de tiosulfato, citrato, bÍlis e sacarose) , sendo espalhadas até secar no meio. As placas foram incubadas invertidas a 36 ± 1 °C por 24 horas e após realizada a contagem.

4.6. Análise Estatística

As médias, desvio padrão, análise de variância (ANOVA) (5 % de significância), teste de Tukey e planejamento experimental foram calculados através do *software* STATISTICA versão 8.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Validação do Aparato Experimental

De acordo com a Tabela 5.1 os testes de vedação para diferentes pressões de operação indicam a eliminação total de pontos de vazamento. Esse é um dado importante, pois válida uma das principais premissas deste sistema, que toda diferença de pressão ocorrida será através da solubilização do gás no produto.

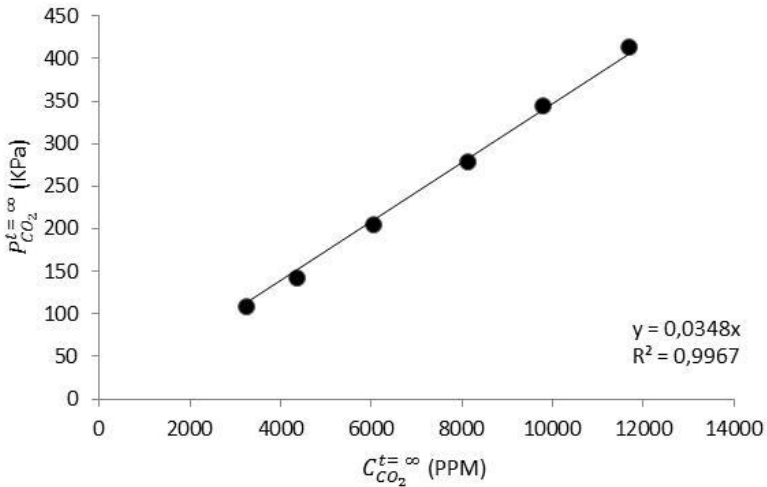
Tabela 5.1 - Valores de médias e desvios padrão obtidos no teste de vedação do sistema em um período de 24h.

Pressão (kPa)		Pressão (V) *	
Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
401,77	0,34	1,8763	0,0016
562,73	1,72	2,6786	0,0082
831,91	2,07	3,9100	0,0097
894,54	2,02	4,2580	0,0096

*A medida em V(volts) é a diferença de potencial dada pelo transdutor de pressão conectado ao sistema de aquisição de dados.

A validação do sistema com água destilada foi determinada através do cálculo da constante de Henry, baseada na evolução dos dados de pressão (150kPa – 600kPa) com o tempo em uma temperatura de $3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e relação g/p de 3:1. A constante de Henry calculada pela Equação (4.2) foi de $33,85\text{ Pa.PPM}^{-1}$, enquanto a constante de Henry calculada através da Equação 4.5 foi de $34,8\text{ Pa.PPM}^{-1}$ para faixa de pressão de 200 a 600 kPa, conforme apresentado na Figura 5.1.

Figura 5.1 - Constante de Henry do CO_2 em água destilada à 3°C , G/P = 3:1 em diferentes pressões.



O erro relativo calculado foi de 2,81%, validando assim o aparato experimental para estudos com alimentos. Cabral (2011) encontrou erros relativos entre 0,24 – 0,87 com pressões de 201,7 kPa e 78,9 kPa, temperatura de $2,2^\circ\text{C}$ e relação g/p de 1:1. Essa diferença pode ser explicada, pelas condições de processos utilizadas, como pressões mais elevadas. Outras equações de estado foram consideradas para a validação do aparato, mostradas na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Constantes de Henry (Pa PPM⁻¹) do CO₂ em água obtida através dos dados experimentais e dos cálculos baseados na solubilidade para a validação do aparato experimental com água destilada.

Parâmetro	H	Van der Waals	Sivertsvik et al. (2004a)	Soave-Redlich-Kwong	Peng Robinson	Carrol et al. (1991)
150 kPa 3 °C	H _{exp}	32,68	34,15	32,80	32,74	33,36
	Var ¹	2,02	2,38	1,67	1,86	0
200 kPa 3 °C	H _{exp}	31,97	33,63	32,13	32,06	33,27
	Var ¹	3,92	1,09	3,42	3,65	0
300 kPa 3 °C	H _{exp}	32,84	35,10	33,10	32,99	33,44
	Var ¹	1,80	4,98	1,01	1,32	0
400 kPa 3 °C	H _{exp}	32,72	35,68	33,08	32,96	33,38
	Var ¹	1,98	6,89	0,89	1,26	0
500 kPa 3 °C	H _{exp}	33,49	37,28	33,94	33,80	34,52
	Var ¹	2,97	7,99	1,69	2,10	0
600 kPa 3 °C	H _{exp}	33,49	38,02	34,03	33,88	33,90
	Var ¹	1,20	12,14	0,39	0,05	0

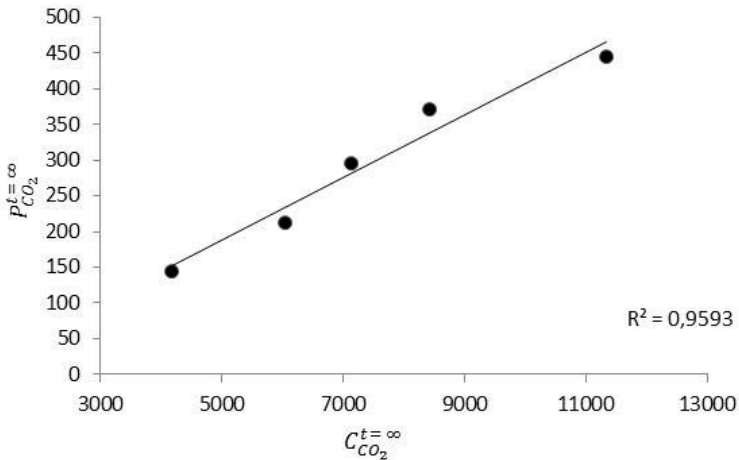
¹Variação percentual calculada com referência no valor obtido pela Equação 4.1 (Carrol, et al., 1991)

A partir dos resultados apresentados na Tabela 5.2, a equação de Peng-Robinson foi escolhida para estudo em alimentos devido aos baixos erros apresentados no cálculo da solubilidade do CO₂ em água destilada em pressões de até 600 kPa.

5.2. Comportamento do CO₂ em Ostras

O comportamento do CO₂ em ostra foi analisado para pressões iniciais de 200 kPa, 300 kPa, 400 kPa, 500kPa e 600 kPa, temperatura de 3,0 ± 0,50 °C e g/p de 3:1, conforme Figura 5.2.

Figura 5.2 - Concentração de CO_2 dissolvido em ostras, no equilíbrio, a temperatura de 3 °C.



A relação de equilíbrio termodinâmico do CO_2 entre um alimento e a fase gasosa pode ser descrito por uma relação linear tipo a lei de Henry (JAKOBSEN; RISBO, 2009; SIVERTSVIK et al., 2004a, 2004b, 2005;).

A partir da análise da Figura 5.2, pode ser observado que o comportamento do CO_2 em ostras segue a lei de Henry (Equação 4.2), sendo esta uma relação linear entre a pressão do CO_2 do sistema no equilíbrio e a concentração do CO_2 dissolvida no produto no equilíbrio. O coeficiente de correlação ($R^2 = 0,9593$) apresentado na Figura 5.2 mostra um bom ajuste da Equação (4.2) aos dados experimentais. O desvio da linearidade pode ser atribuído aos desvios de temperatura que ocorrem nas condições de processo estudadas.

Os trabalhos realizados até o presente momento (AL-NEHLAWI et al., 2013; MENDES et al., 2011; ROTABAKK et al., 2010; SIVERTSVIK et al., 2005) realizam o processo de pré solubilização a pressões até 200 kPa, considerando a idealidade dos gases e que o CO_2 em seus produtos seguem a lei de Henry devido a utilização de baixas pressões. Neste trabalho foram consideradas pressões até 600 kPa, sendo utilizada a equação de Peng-Robinson (Equação 4.7) para corrigir os desvios na idealidade, portanto, de acordo com a Figura 5.2 o estudo da

solubilidade do CO₂ em ostras até uma pressão de 600 kPa, pode ser realizado com base na lei de Henry.

5.2.1. Influência da Pressão, da Relação Gás/Produto e Temperatura na Quantidade de CO₂ Dissolvido em Ostras.

O planejamento experimental do tipo 2³ com triplicata no ponto central mostrou o efeito das condições operacionais do processo (pressão, relação gás/produto e temperatura) na quantidade de CO₂ dissolvido, no equilíbrio, em ostras.

A Tabela 5.3 apresenta a matriz do planejamento de experimentos com os valores codificados, reais, as respostas sobre a influência no CO₂ dissolvido.

Tabela 5.3 - Matriz do planejamento experimental com as respostas em termos de CO₂ dissolvido.

Ensaio	P (kPa)	g/p (v/v)	T (°C)	[CO ₂] (PPM)	[CO ₂] Predito (PPM)	50% (h)* *	Erro Relativo * (%)
1	-1 (200)	-1 (1:1)	-1 (0)	3380,52	2977,58	1,32	15,02
2	1 (600)	-1 (1:1)	1 (0)	8105,25	8627,02	2,24	1,84
3	-1 (200)	1 (5:1)	1 (0)	6164,14	6685,10	1,65	2,43
4	1 (600)	1 (5:1)	1 (0)	21008,45	20604,70	2,70	1,76
5	-1 (200)	-1 (1:1)	1 (6)	2814,39	3335,36	1,41	5,33
6	1 (600)	-1 (1:1)	1 (6)	7147,43	6743,68	2,04	5,15
7	-1 (200)	1 (5:1)	1 (6)	4757,40	4354,48	1,66	7,86
8	1 (600)	1 (5:1)	1 (6)	15511,19	16032,96	2,77	0,88
9	0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	8947,26	8670,11	2,21	2,33
10	0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	8838,70	8670,11	1,14	0,77
11	0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	8696,2	8670,11	1,45	0,66

*Erro calculado a partir da equação (4.27). **Tempo para atingir 50% da concentração de CO₂.

Os resultados obtidos na Tabela 5.3 foram tratados estatisticamente e permitiram a construção de um modelo empírico

codificado para a concentração de CO₂ dissolvido em função da pressão, temperatura e relação gás/produto. O modelo foi validado pela análise de variância (ANOVA), apresentada na Tabela 5.4. O valor do coeficiente de correlação (R²), F-teste calculado e F-teste tabelado para a regressão mostrou que o modelo (Equação 5.1) foi capaz de prever os dados experimentais da concentração de CO₂ dissolvido na ostra no intervalo dos fatores investigados, permitindo assim a construção da superfície de resposta e da curva de contorno apresentadas na Figura 5.3. Isso implica uma representação satisfatória do processo pelo modelo empírico, conforme ilustrado pela concentração de CO₂ predita e o erro relativo (Tabela 5.3).

Tabela 5.4 - ANOVA para validação do modelo matemático empírico que descreve a concentração de CO₂ no equilíbrio.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	Fcalc
Regressão	283793006	6	47298834	102,60
Resíduo	1843961	4	460990,28	
Total	285636967	10		

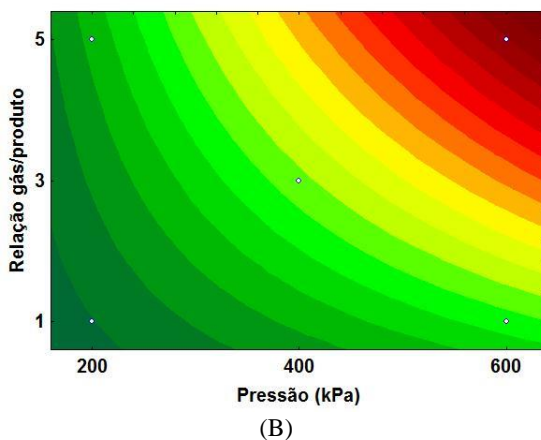
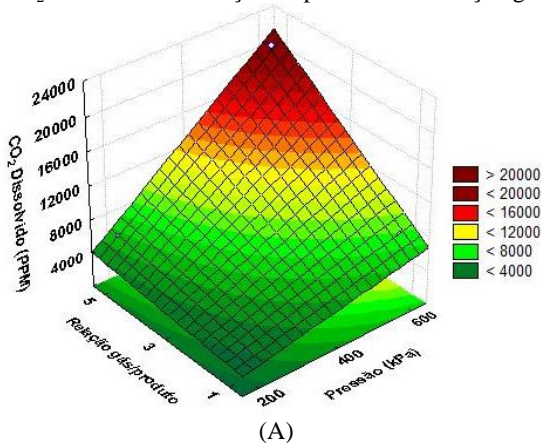
$$R^2=0,99354; f_{\text{tabelado}}(0,95\%)=6,16$$

$$\begin{aligned}
 CO_2^{t=\infty} = & 8670,11 + (4331,98 \times P) + (3249,20 \times \frac{g}{p}) \\
 & - (1053,49 \times T) + (2067,54 \times P \times \frac{g}{p}) \\
 & - (560,281 \times P \times T) - (672,51 \times \frac{g}{p} \times T)
 \end{aligned} \quad (5.1)$$

Em que: $CO_2^{t=\infty}$ é a concentração de CO₂ dissolvido no equilíbrio, P é a pressão codificada, $\frac{g}{p}$ é a relação gás/produto codificada e T é a temperatura codificada.

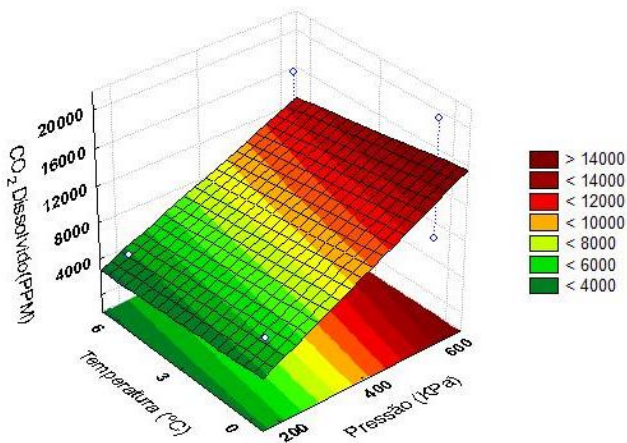
As variáveis pressão e relação gás/produto apresentaram um efeito significativo positivo ($p < 0,05$) bem como a interação dessas variáveis com relação à concentração de CO₂ dissolvido. Utilizando pressões e relação gás/produto maiores é possível obter uma quantidade maior de CO₂ dissolvido nas ostras como mostrado nos tratamentos 4 e 8 (Tabela 5.3), sendo observado mais claramente na Figura 5.3.

Figura 5.3 - Superfície de resposta (A) e curva de contorno (B) para a concentração de CO₂ dissolvido em função da pressão e da relação gás/produto.

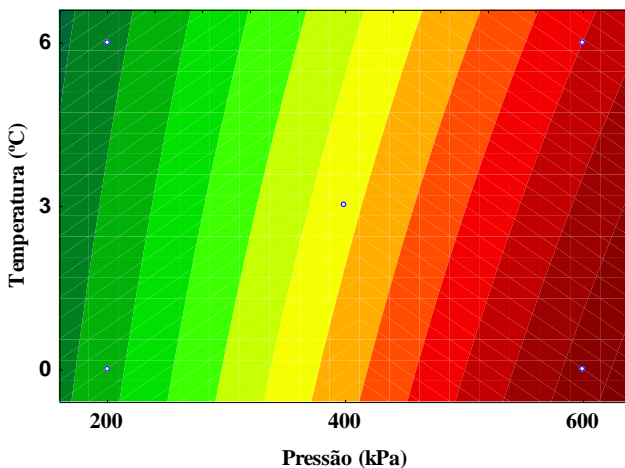


A variável temperatura apresentou um efeito negativo significativo ($p < 0,05$) e também foi a variável com menor influência dentre as estudadas, o que também pode ser comprovado pelos tratamentos 4 e 8 (Tabela 5.3), que apresentaram as maiores concentrações de CO₂ dissolvido, ambas com pressão de 600 kPa, g/p de 5 e temperaturas de 0 °C e 6 °C, respectivamente. Apesar de uma menor influência em relação às outras variáveis, quanto menor for a temperatura do processo, maior será a concentração de CO₂ dissolvida na ostra, de acordo com a Figura 5.4.

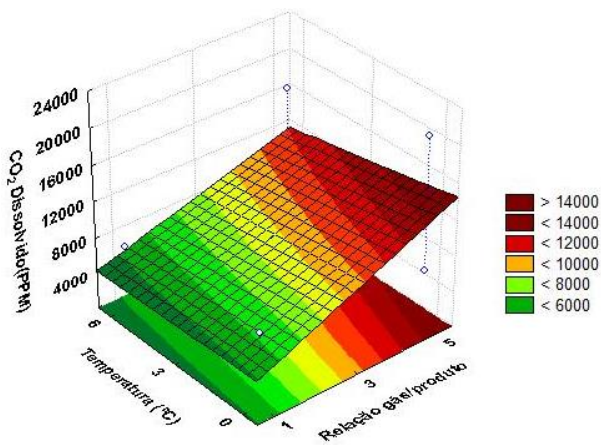
Figura 5.4 - Superfície de resposta (A1) e (A2) e curva de contorno (B1) e (B2) para a Concentração de CO_2 dissolvido em função da pressão e da temperatura; e da relação gás/produto e da temperatura respectivamente.



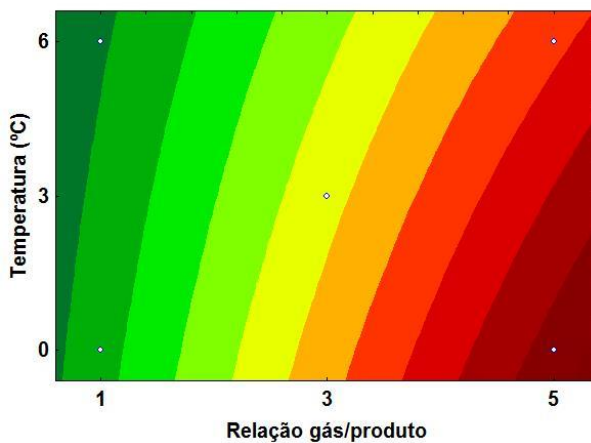
(A1)



(B1)



(A2)



(B2)

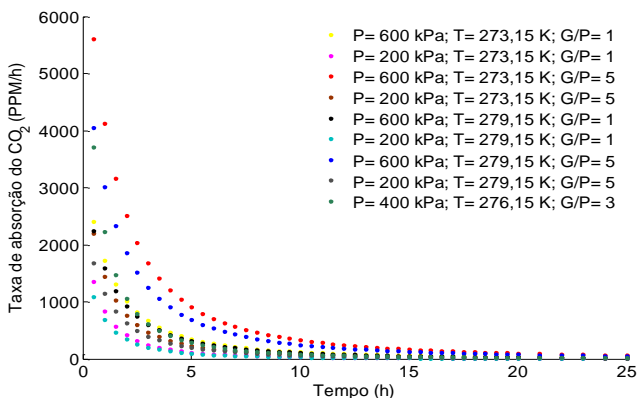
O tempo necessário para solubilizar 50% da concentração de CO_2 dissolvido (Tabela 5.3) variou entre 1,32 horas ($P=200$ kPa, $g/p=1:1$, $T=0$ °C) e 2,77 horas ($P=600$ kPa, $g/p=5:1$, $T=6$ °C), sendo a condição operacional que ao final do processo apresentou menor dissolução de CO_2 (2977,58 PPM) ocorreu em menor tempo (1,32 h) em relação aos que apresentaram maior concentração de CO_2 dissolvido. Sivertsvik (2005) mostra que o tempo necessário para solubilizar 50% de CO_2 em presunto foi de 4,6 horas;. Para queijo tipo Minas Frescal, Cabral (2011)

reportou o tempo de 6,8 horas a 4 °C a 7 °C e 7,7 horas a 10 °C. De acordo com Sivertsvik (2004b), um filé de peixe exposto por 4,6 horas a CO₂ puro tem a mesma quantidade de CO₂ dissolvido que um exposto a 50% de CO₂ durante 3 dias

5.2.2. Absorção e Dessorção de CO₂ em Ostras

O processo de absorção do CO₂ ocorre devido a diferença de pressão em um determinado tempo, sendo a pressão do processo, relação gás/produto e temperatura os parâmetros que influenciam na taxa de absorção. A Figura 5.5 representa o comportamento da taxa de absorção, em diferentes combinações de pressão, temperatura e relação gás/produto, no processo de pré-solubilização.

Figura 5.5 - Taxa de absorção de CO₂ em ostras.



A solubilização foi realizada durante 65 horas para garantir que a absorção do CO₂ atingisse o equilíbrio em todas as condições experimentais. A Figura 5.5 mostra que o equilíbrio foi alcançado entre 20 e 25 horas de processo, pois nesse período a taxa de absorção se aproxima de zero em todas as condições estudadas. Sivertsvik et al. (2004b) determinou que 97% do CO₂ é dissolvido em filés de peixe após 24h de processo. O equilíbrio é atingido em torno de 12 horas para carne suína (JAKOBSEN; BERTELSEN, 2004), 68,9 horas para filé de peixe (SIVERTSVIK et al. 2004b) 68,9 horas para presunto cozido e 76,1 horas para linguiça de carne (SIVERTSVIK et al. 2005). De acordo

com Cabral (2011), o tempo para atingir o equilíbrio é influenciado pela área de exposição à atmosfera modificada. Nos estudos citados anteriormente a relação gás/produto durante o processo não é informada e a pressão máxima utilizada no processo de pré-solubilização é de 200 kPa, podendo a relação entre esses fatores justificar a diferença nos resultados obtidos entre os trabalhos, além da matéria-prima utilizada.

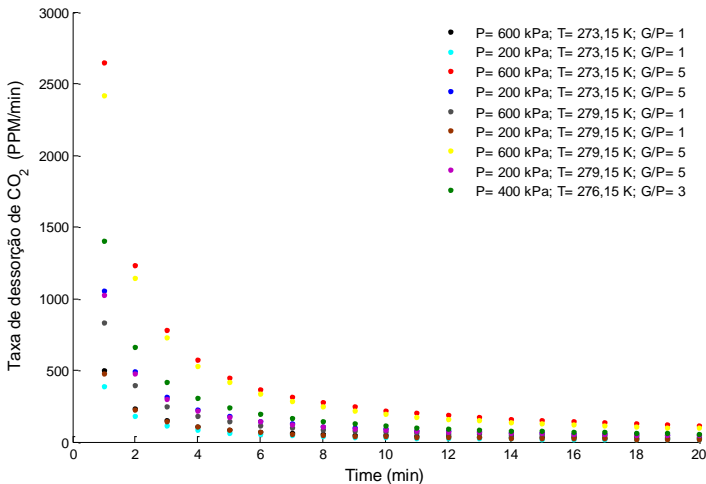
A taxa de absorção foi calculada pela Equação (4.28) e apresentou um coeficiente de correlação (R^2) acima de 0,95 para em todas as condições estudadas, ajustando-se bem aos dados experimentais. A taxa média de absorção também foi calculada para todas as condições operacionais, de acordo com a Tabela 5.5.

Tabela 5.5 - Taxas de absorção (durante as primeiras 24 horas de processo) e dessorção (após 5 minutos de exposição à atmosfera normal) de CO_2 .

P (kPa)	g/p (v/v)	T (°C)	Taxa Média de Absorção (PPM/h)	Taxa Média de Dessorção (PPM/min)
1 (200)	-1 (1:1)	-1 (0)	119,93	123,45
1 (600)	-1 (1:1)	-1 (0)	292,76	164,87
-1 (200)	1 (5:1)	-1 (0)	218,13	336,22
1 (600)	1 (5:1)	-1 (0)	728,24	843,01
-1 (200)	-1 (1:1)	1 (6)	98,76	151,63
1 (600)	-1 (1:1)	1 (6)	266,10	264,24
-1 (200)	1 (5:1)	1 (6)	180,18	327,48
1 (600)	1 (5:1)	1 (6)	541,64	766,03
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	329,40	444,03
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	306,92	464,32
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	316,87	496,19

As taxas médias de absorção foram mais altas quanto maior a pressão e menor quantidade de produto (maior relação gás/produto), indicando que para elevadas pressões e baixas quantidades de produto, o equilíbrio é atingido mais rapidamente.

Outro fenômeno importante neste estudo é a dessorção do CO_2 após o processo. A Figura 5.6 mostra a taxa de dessorção de CO_2 .

Figura 5.6 - Taxa de dessorção de CO₂ em ostras.

A partir da Figura 5.6, identificou-se que a dessorção ocorre de maneira mais crítica nos primeiros 10 minutos após o fim do processo com exposição do produto a atmosfera normal.

A Tabela 5.5 informa as taxas médias de dessorção nos primeiros 5 minutos após a exposição, apresentadas na Figura 5.6, onde a velocidade de dessorção é mais acentuada, diminuindo gradativamente com tempo. Processos com maior quantidade de produto (g/p =1:1) e temperatura mais baixa (T=0 °C) apresentaram menores taxas de dessorção (123,45 PPM). Jakobsen e Bertelsen (2006) investigaram a solubilidade do dióxido de carbono na gordura e tecido muscular, e concluíram que a dessorção de CO₂ foi um processo rápido. Os autores relataram que após a solubilização de CO₂ em carne de porco, até o equilíbrio, a dessorção ocorreu rapidamente a 23 °C e a quantidade absorvida de CO₂ foi reduzida a metade, depois de trinta minutos de exposição ao ar atmosférico.

Em 2010, Rotabakk et al. concluíram que mais da metade do CO₂ dissolvido permaneceram em filés de frango depois de 3 horas de dessorção a 2 °C em amostras que passaram por 2 horas de processo SGS. Para filés de frango que foram submetidos ao SGS durante 6 horas, seguido por 3 horas de dessorção manteve 62 (ml. 100 ml⁻¹) do

CO₂ dissolvido nos filés, mostrando que a dessorção diminui com o aumento do tempo de processo. Mendes et al (2011) e Al-Nehlawi et al (2013) em estudos com polvo e coxas de frango, respectivamente, minimizam este efeito embalando seus produtos em até 1 minuto após o processo. Devido à dessorção ocorrer de maneira mais acentuada nos primeiros minutos após o contato do produto com a atmosfera, estudos complementares de aplicação de um processo contínuo são necessários para avaliação da aplicabilidade industrial desta técnica.

De acordo com a Tabela 5.3 e com a Tabela 5.5 pode-se observar que tratamentos com maiores pressões, maiores relações g/p e menores temperaturas apresentaram maiores taxas de absorção de CO₂, mas também altas taxas de dessorção. Altas taxas de absorção são interessantes para indústrias de alimentos, porém altas taxas de dessorção são um problema a ser combatido. Condições que envolvam menores relações g/p também são de grande interesse para o processo SGS, portanto os tratamentos 2 (600 kPa, g/p=1:1, 0 °C) e 6 (600 kPa, g/p=1:1, 6 °C) são recomendados por apresentarem taxas de dessorção baixa, quando comparadas com as demais condições experimentais e maior quantidade de produto com relação a produtos com atmosfera modificada disponível no mercado (g/p = 3:1).

5.2.3. Constante de Henry do CO₂ em Ostras

A Tabela 5.6 apresenta os valores da constante de Henry de CO₂ em ostras determinada pela pressão de CO₂ após 65 horas (equilíbrio) de processo e a concentração de CO₂ dissolvido nas amostras, calculada pela Equação (4.5). Menores valores para constante de Henry foram observados para ostras submetidas a pressões mais elevadas, temperatura e relações gás/produto menores.

Tabela 5.6 - Constante de Henry do CO₂ em ostras em diferentes pressões, relações gás/produto e temperaturas.

P (kPa)	g/p (v/v)	T (°C)	H (Pa PPM ⁻¹)
-1 (200)	-1 (1:1)	-1 (0)	30,34
1 (600)	-1 (1:1)	-1 (0)	33,76
-1 (200)	1 (5:1)	-1 (0)	25,08
1 (600)	1 (5:1)	-1 (0)	21,10
-1 (200)	-1 (1:1)	1 (6)	34,45
1 (600)	-1 (1:1)	1 (6)	41,43
-1 (200)	1 (5:1)	1 (6)	36,34
1 (600)	1 (5:1)	1 (6)	29,70
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	32,66
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	33,74
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	32,27

Foram determinados valores de constante de Henry em torno de 44,5 Pa/PPM para carne ovina (Gill, 1988), 29 Pa/PPM para pescada (SIMPSON et al., 2001), 48,9 Pa/PPM para peixe lobo e 46,3 Pa/PPM para atum (SIVERTSVIK et al., 2004b), 42,8 Pa/PPM para filé de frango (ROTABAKK et al., 2010), 53,4 Pa/PPM a 4°C para queijo tipo Minas Frescal (CABRAL, 2011). As constantes de Henry presentes na literatura foram determinadas em pressões abaixo de 200 kPa e uma temperatura fixa, sendo que no presente trabalho a partir da equação nota-se uma maior influência da pressão e da relação gás/produto. Nas mesmas condições de pressão e relação gás/produto a constante de Henry foi menor em temperaturas mais baixas. A diferença entre as constantes de Henry pode ser explicada pelas diferenças entre a umidade e o teor de lipídeos de alimentos que não respiram como mostrado na Tabela 5.7. As variações nos valores das constantes de Henry em condições com diferentes relações gás/produto podem ser devido à porosidade do alimento, podendo indicar a existência do fenômeno de impregnação do CO₂ aliado à solubilidade termodinâmica.

Tabela 5.7 - Umidade e teor de lipídeos em alimentos que não respiram.

Produto	Umidade (%)	Lipídeos (%)	Referência
Ostra	84,70	2,00	Cruz Romero et al. (2007)
Atum	74,00	0,20	Sivertsvik et al. (2004b)
Filé de Frango	78,00	-	Rotabakk et al. (2010)
Peixe Lobo	77,60	2,50	Sivertsvik et al. (2004b)
Queijo Minas Frescal	54,21	22,20	Cabral (2011)
Carne Ovina	72,69	6,93	Madruaga, et al (2005)

5.3. Perda de Massa

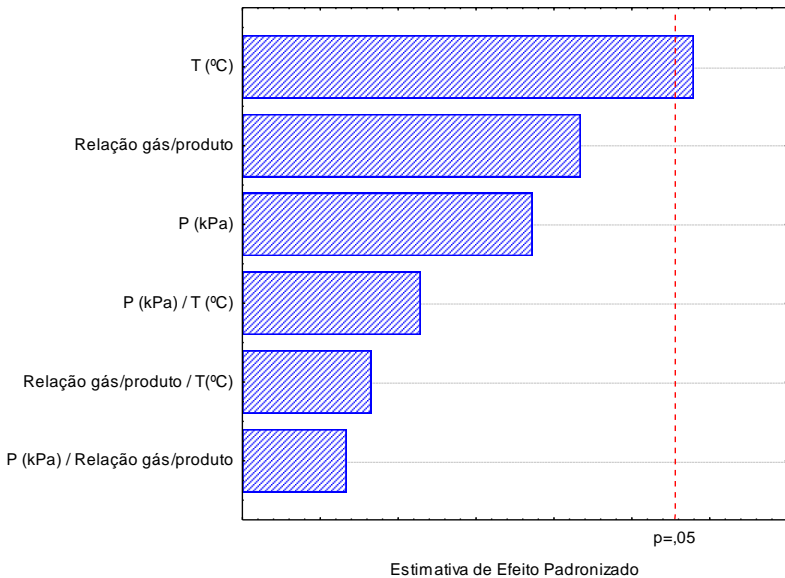
A aplicação de CO₂ em alimentos pode causar o fenômeno conhecido com exsudação, que é a perda de parte da água presente no alimento. A perda de massa foi determinada durante o processo de solubilização e esta mostrada na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 - Perda de massa após o processo de pré-solubilização em ostras.

P (kPa)	g/p (v/v)	T (°C)	Perda de Massa (%)
-1 (200)	-1 (1:1)	-1 (0)	3,39
1 (600)	-1 (1:1)	-1 (0)	2,08
-1 (200)	1 (5:1)	-1 (0)	4,96
1 (600)	1 (5:1)	-1 (0)	2,29
-1 (200)	-1 (1:1)	1 (6)	4,24
1 (600)	-1 (1:1)	1 (6)	3,97
-1 (200)	1 (5:1)	1 (6)	6,43
1 (600)	1 (5:1)	1 (6)	5,75
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	4,46
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	5,71
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	3,19

A temperatura apresentou um efeito significativo positivo, enquanto as demais variáveis e suas interações apresentaram efeito negativo (Figura 7), indicando que maiores perdas de massa foram observadas para condições de maior temperatura.

Figura 7 – Análise de Pareto para perda de massa no processo de pré-solubilização.



Baixos valores para exsudação em camarão (cerca de 2%) foram encontrados por Sivertsvik et al. (2006), onde essa perda foi devido menores concentrações de CO_2 dissolvido. No presente estudo as maiores perdas aconteceram nas amostras contendo menor quantidade de produto ($g/p = 1$) e maior temperatura ($6\text{ }^\circ\text{C}$). Em 2007, Sivertsvik et al. encontraram perdas de massa semelhantes, entre 6% e 7%, para bacalhau. Al-Nehlawi et al (2013) verificaram perda de massa de 1% em coxas de frangos que passaram pelo processo SGS.

5.4. pH

A aplicação de CO₂ tende a uma redução de pH nos produtos. A Tabela 5.9 mostra os valores de pH das ostras com e sem tratamento com CO₂.

Tabela 5.9 - pH de ostras no tempo inicial e com processo de pré-solubilização sob diferentes pressões, relações gás/produto e temperaturas.

P (kPa)	g/p (v/v)	T (°C)	Varição do pH
-1 (200)	-1 (1:1)	-1 (0)	0,51
1 (600)	-1 (1:1)	-1 (0)	0,53
-1 (200)	1 (5:1)	-1 (0)	0,71
1 (600)	1 (5:1)	-1 (0)	0,40
-1 (200)	-1 (1:1)	1 (6)	0,51
1 (600)	-1 (1:1)	1 (6)	0,55
-1 (200)	1 (5:1)	1 (6)	0,84
1 (600)	1 (5:1)	1 (6)	0,77
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	0,72
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	0,82
0 (400)	0 (3:1)	0 (3)	0,61

O pH médio das ostras antes do processo foi de $6,50 \pm 0,13$ e de $5,86 \pm 0,10$ após tratamento de pré-solubilização. Al-Nehlawi et al. (2013) observou reduções de 6,50 para valores próximos a 6,10, Mendes et al. (2011) observou um decréscimo de 1,13 unidades no pH em polvo e Sivertsvik et al. (2005) verificaram uma redução de 6,50 para 5,9 em salsichas, sendo que para esses processos o tempo máximo de processo foi de 2h. O pH pode indicar uma acidificação no produto, podendo modificar seu sabor, sendo necessário testes de aceitação sensorial em produtos submetidos a este processo. Essa redução é explicada pela presença de CO₂ na embalagem o qual solubiliza na água do alimento onde uma pequena parte reage e se transforma em ácido carbônico, o restante fica solubilizado na forma de gás.

5.5. Armazenamento de Ostras Desconchadas em Atmosfera Modificada

Caracterização das amostras

A densidade aparente da ostra foi de 1,0272 g/cm³. A densidade aparente é necessária para determinar o volume que o produto ocupa na embalagem, sendo um importante fator para determinar a relação gás/produto no sistema.

5.5.1. Análises Físico-Químicas de Ostras em Atmosfera Modificada

Os resultados de pH, umidade e textura são mostrados pela Tabela 5.10. Observa-se que houve variação nos valores de pH ($p < 0,05$) e firmeza entre as amostras durante o período de armazenamento ($p < 0,05$). O pH inicial das ostras foi de 6,71 e, no terceiro dia foi observado uma redução para 6,19. Para os demais períodos de armazenamento os valores mantiveram-se estáveis, até o final do armazenamento.

Tabela 5.10 - Análises Físico-Químicas de Ostras em Atmosfera Modificada.

t(dias)	Umidade (g H ₂ O/g sólido úmido)	pH	aw	Firmeza (N.g ⁻¹)
0	0,712 ± 0,013 ^a	6,71 ± 0,12 ^c	0,990 ± 0,004 ^d	2,78 ± 0,05 ^{ab}
3	0,763 ± 0,005 ^c	6,19 ± 0,04 ^{a,b}	0,981 ± 0,003 ^{a,b}	2,00 ± 0,61 ^a
7	0,752 ± 0,011 ^{b,c}	6,10 ± 0,02 ^a	0,987 ± 0,001 ^{b,c,d}	1,82 ± 0,25 ^a
10	0,728 ± 0,012 ^{a,b}	6,15 ± 0,01 ^{a,b}	0,986 ± 0,002 ^{a,b,c,d}	4,04 ± 1,18 ^b
14	0,733 ± 0,008 ^{a,b}	6,13 ± 0,04 ^a	0,988 ± 0,003 ^{c,d}	1,98 ± 0,28 ^a
17	0,730 ± 0,005 ^{a,b}	6,12 ± 0,03 ^a	0,984 ± 0,001 ^{a,b,c}	2,16 ± 0,00 ^{ab}
21	0,736 ± 0,008 ^{a,b}	6,14 ± 0,03 ^{a,b}	0,987 ± 0,002 ^{a,b,c,d}	2,02 ± 0,29 ^a
23	0,726 ± 0,007 ^a	6,21 ± 0,03 ^{a,b}	0,986 ± 0,001 ^{a,b,c,d}	2,50 ± 0,64 ^{ab}
28	0,732 ± 0,010 ^{a,b}	6,26 ± 0,01 ^b	0,981 ± 0,003 ^a	1,73 ± 0,34 ^a
31	0,736 ± 0,003 ^{a,b}	6,19 ± 0,02 ^{a,b}	0,984 ± 0,001 ^{a,b,c,d}	1,76 ± 0,05 ^a

Os valores que apresentam a mesma letra não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1980) os limites máximos para o pH do pescado fresco é de 6,5 na parte interna e de 6,8 na parte externa. Como não há legislação específica para os valores de pH dos ostras, estes limites podem ser indicativos. Sivertsvik et al. (2004b), encontraram valores de pH para salmão 6,3 para salmão e Cruz Romero et al. (2008), encontraram valores em torno de 6,45 para ostras *in natura*. Portanto, os valores encontrados estão em conformidade com os apresentados na literatura.

A firmeza não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento, com exceção do 10º dia. Cavalheiro (2011) reportou um valor médio de $5,1 \text{ Ng}^{-1}$ para mexilhões cozidos em vapor.

Os teores de umidade e atividade de água apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento. A umidade apresentou valor médio $0,73 \text{ g H}_2\text{O/g}$ sólido úmido e a atividade de água de $0,986$, durante todo o armazenamento, podendo influenciar na dissolução do CO_2 no produto. De acordo com Cruz Romero et al. (2008) foram encontrados valores de umidade próximos a $0,84 \text{ g H}_2\text{O/g}$ sólido úmido e atividade de água $0,988$. As diferenças entre os valores do teor de umidade reportados na literatura e nos estudos realizados se devem à variabilidade da amostra.

5.5.2. Análises Microbiológicas de Ostras em Atmosfera Modificada

As ostras armazenadas em atmosfera modificada com 50% de CO_2 e 50% de N_2 foram submetidas à análise microbiológica. Antes do tratamento térmico as ostras apresentaram contagens de $3,92 \text{ Log UFC/g}$ para micro-organismos aeróbios mesófilos totais; $3,99 \text{ Log UFC/g}$ para psicrotróficos e $4,17 \text{ Log UFC/g}$ para vibrios. O tratamento térmico inativou os vibrios e reduziu a quantidade de mesófilos totais e psicrotróficos, de acordo com a Tabela 5.11.

Tabela 5.11 - Contagem microbiológica no armazenamento (Log UFC/ g).

Tempo	Mesófilos Totais	Vibrios	Psicrotróficos
In Natura	3,92	4,17	3,99
0	1,40	<1	1,40
3	<1	<1	<1
7	2,86	<1	<1
10	2,87	<1	<1
14	2,74	<1	<1
17	<1	<1	3,24
21	<1	<1	3,89
23	2,34	<1	4,14
31	<1	<1	4,62

Durante o armazenamento não houve crescimento de *Vibrios spp.*, a quantidade de mesófilos não ultrapassou 3 ciclos logarítmicos até o final do armazenamento e psicrotróficos começaram a se desenvolver após o décimo quarto dia, mas não ultrapassou 5 ciclos como mostrado na Tabela 5.11. Houve também redução na contagem dos microorganismos aeróbios mesófilos totais, psicrotróficos, bem como a inativação dos vibrios presentes na ostra, após as etapas de processamento.

Sivertsvik e Bikerland (2006) concluíram que para camarões armazenados sob atmosfera modificada com diferentes misturas de CO₂/N₂ (70/30; 60/40 %), somente o tempo de armazenamento apresentou efeito significativo nas características microbiológicas dos produtos, não havendo influência das diferentes composições gasosas sobre os tratamentos.

No tratamento térmico de 100 °C por 10 minutos, aplicados em mexilhões, houve redução de 4 para 1 ciclo logarítmico para psicrotróficos e menor que 1 ciclo para *Vibrio spp.* (Cordeiro et al., 2007). Segundo a legislação (BRASIL, 2001) é permitida uma contagem total de vibrios de até 3 ciclos logarítmicos (10³ UFC/g) em pescados indicando que não é recomendado consumir ostras que não tenham passado pelo devido tratamento térmico.

Cavalheiro (2011) verificou a redução de 1 ciclo logarítmico em mexilhões, após um cozimento em vapor a 100°C por 5 minutos, para os mesmos grupos de micro-organismos estudados. A deterioração dos produtos cárneos tem seu início quando as contagens estão na faixa de 6 ciclos logarítmicos com descoloração da superfície. Entre 7 e 8 ciclos, surgem odores estranhos, entre 8 e 9 ciclos, acontecem alterações indesejáveis de sabor; e em contagens por volta de 9 ciclos, aparece a limosidade superficial (ROÇA; SERRANO, 1995; FRANÇA FILHO et al., 2006).

De acordo com Pigott e Tucker (1990), os micro-organismos patogênicos são destruídos a temperaturas abaixo de 100°C, sendo que, o efeito de aumentar a temperatura interna dos alimentos para 66°C é suficiente para tornar o alimento seguro para o consumo.

6. CONCLUSÕES

A solubilidade de CO₂ em ostras pode ser determinada pela lei de Henry para pressões até 600 kPa utilizando as equações de estado a fim de corrigir os desvios da idealidade dos gases.

Os parâmetros pressão e relação gás/produto tiveram maior influência que a temperatura na quantidade de CO₂ dissolvido, sendo que com maiores pressões, menores relações gás/produto são possíveis obter uma maior concentração de CO₂ dissolvido.

Os processos com mesma pressão e mesma relação gás/produto em diferentes temperaturas (0°C e 6°C) obtiveram concentrações de CO₂ dissolvido semelhantes, possibilitando realizar o processo de pré-solubilização a temperaturas de 6°C.

Processos com maiores pressões e menores quantidades de produto apresentaram altas taxas de absorção de CO₂.

Na maior parte dos processos de absorção 50% do CO₂ foi solubilizado em menos de 2 horas de processo, menor que o informado para outros produtos da literatura onde os processos variam entre 2 e 3 horas.

Durante o processo de pré-solubilização as perdas de massa ficaram abaixo de 6,5% indicando uma baixa exsudação causada pela interação do CO₂ com a água presente no alimento e ocorreu uma redução de pH de 0,84 unidades para os após chegarem no equilíbrio.

O equilíbrio foi considerado atingido após 24 horas de processo, pois nesse período a taxa de absorção era zero ou próxima à zero neste tempo.

A dessorção foi considerada um processo rápido ocorrendo com maior velocidade nos primeiros 5 minutos ao final do processo. Processos com relações gás/produto mais baixas apresentaram menores taxas de dessorção, sendo uma alternativa atrativa já que se pode aplicar um volume maior de produto na embalagem com atmosfera modificada, pois esse é uma das grandes desvantagens desta técnica.

Os tratamentos com 600 kPa, g/p=1, 0 °C e 600 kPa, g/p=1, 6 °C são recomendados por apresentarem taxas de dessorção baixas, quando comparadas com as demais condições, apresentando também altas taxas de absorção.

As variações de umidade, pH, atividade de água e textura ocorreram entre o primeiro e o terceiro dia de armazenamento, mantendo-se constantes até o fim dos 31 dias de armazenamento, sendo

as oscilações durante este armazenamento atribuídas a heterogeneidade das amostras.

O tratamento térmico foi considerado fundamental para eliminar a quantidade de *Vibrios* presentes nas amostras (apresentaram-se maiores que o permitido na legislação) e aliado a refrigeração manteve as contagens de aeróbios mesófilos totais e psicrotróficos totais abaixo de 5 ciclos logarítmicos durante todo o armazenamento.

7. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Aplicação de um processo contínuo que envolva solubilização do CO₂ e acondicionamento rápido para relações gás/produto mais baixas.

Avaliação de estudos de análise sensorial nos processos com maior CO₂ solubilizado a fim de avaliar sua na acidificação do produto e determinar um melhor binômio Concentração de CO₂ dissolvido/Tempo.

Avaliar alta pressão para abertura das conchas e no efeito bacteriostático da ostra in natura como alternativa para o tratamento térmico.

Determinar a concentração de gás no interior das embalagens com produto submetido à atmosfera modificada.

Avaliar a microestrutura dos moluscos quando submetidos a processos de solubilização do CO₂.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.P.H.A. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF). Baltimore: Maryland, 2001.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 th Edition, 4 th Revision, Gaithersburg, 1998.

AL-NEHLAWIA, A.; SALDOB, J.; VEGAA, L.F.; GURIA, S. Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks. **Meat Science**. v.94. p. 1–8, 2013.

ASHIE, I.N.A., SMITH, J.P. & SIMPSON, B.K. Spoilage and self-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Reviews Food Science and Nutrition**, 36, 87–121, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal RIISPOA. Brasília, DF, 1980. 165 p. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14013>> Acesso em: 12 nov. 2012.

BRASIL. Resolução RDC, nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Publicada no **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 de janeiro de 2001. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 12 nov. 2012.

CABRAL, G. J. **Determinação Experimental da Solubilidade e do Coeficiente de Difusão Efetivo do CO₂ em Queijo Tipo Minas Frescal e Simulação de Embalagem sob Atmosfera Modificada**. Florianópolis – SC, 2011. 90p. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

CARROLL, J.; SLUPSKY, J.; MATHER, A. The solubility of carbon dioxide in water at low pressure. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 20(6), p. 1201-1209, 1991.

CAVALHEIRO, D. **ESTUDO DE ALTERNATIVAS PARA O PROCESSAMENTO DE MEXILHÕES (*Perna perna*)**. 2011. 212 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2011.

CORDEIRO, D.; LOPES, T.G.G; OETTERER, M.; PORTO, E.; GALVÃO, J.A. Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção, congelamento e armazenamento. **Boletim do CEPPA**. Curitiba, v. 25, n. 1, p. 165 –179, 2007.

CRUZ-ROMERO, M.C.; KERRY, J.P.; KELLY, A.L. Fatty Acids, Volatile Compounds and Colour Changes in High-Pressure-Treated Oysters (*Crassostrea gigas*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.9, p. 54-61, 2008.

DALMOLIN, I., SKOVROINSKI, E., BIASI, A. “Solubility of Carbon Dioxide in Binary and Ternary Mixtures with Ethanol and Water”, **Fluid Phase Equilibria**, v.245, pp.193-200, 2006.

EPAGRI. Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S. A. Síntese Informativa da Maricultura 2010. Disponível em: <http://cedap.epagri.sc.gov.br/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=357&tmpl=component&format=raw&Itemid=173> Acesso em: 01 mar 2012.

ESMER, O. K.; IRKIN, R.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DEGIRMENCIOGLU, A. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. **Meat Science**. V.88. p. 221-226, 2011.

FAO 2010. **The state of world fisheries and aquaculture 2010**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>. Acesso em 04/05/12.

FARIAS, H. Qualidade Higiênico-Sanitária na Cadeia Produtiva de Ostras, *Crassostrea Sp.*, Cultivadas na Baía de Guaratuba, PR, Brasil. Curitiba-PR, 2008. 94p. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M.; **Microbiologia de Alimentos**, São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182 p.

FRANÇA FILHO, A. T. F.; MESQUITA, A. J.; OLIVEIRA, J. P.; BUENO, C. P.; LOPES, J. H.; COUTO, M. V.; BORGES, N. M. F. Qualidade bacteriológica de meias-carcaças bovinas oriundas de matadouros-frigoríficos do estado de Goiás habilitados para exportação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 3, p. 315-325, jul./set. 2006.

HOFER, E; SILVA, C.H.D. Caracterização sorológica de amostras de *Vibrio parahaemolyticus* isoladas de peixes capturados no litoral brasileiro. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.17, n. 4, p. 327-331, out/dez.1986.

GILL, C. O. The solubility of carbon-dioxide in meat. **Meat Science**, 22, 65–71, 1988.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**, 2 Ed., Blackwell Scientific Publications, Toronto: University of Toronto Press. 1986.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. The Use of CO₂ in Packaging of Fresh Red Meats and its Effect on Chemical, Quality Changes in The Meat: A Review. **Journal of Muscle Foods**. V. 13, p. 143-168. 2002.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Predicting the amount of carbon dioxide absorbed in meat. **Meat Science**. V. 68, p. 603-610. 2004.

JAKOBSEN, M.; BERTELSEN, G. Solubility of Carbon Dioxide in Fat and Muscle Tissue. **Journal of Muscle Foods**. V. 17, p. 9-19. 2006.

JAKOBSEN, M.; RISBO, J. Carbon dioxide equilibrium between product and gas phase of modified atmosphere packaging systems:

Exemplified by semihard cheese. **Journal of Food Engineering**. v. 92, p 285-290, 2009.

LEAL, D. A. G.; FRANCO R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle. **Rev Panam Infectol**. v 10(4), p. 48-57, 2008.

LIMA, M. **Avaliação das Condições de Processamento de Mexilhões *Perna Perna* Pré-Cozidos e Resfriados**. Florianópolis – SC, 2010. 134 p. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia Química e Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

MENDES, R.; SILVA, H.A.; ANACLETO, P.; CARDOSO C. Effect of CO₂ dissolution on the shelf life of ready-to-eat *Octopus vulgaris*. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v. 12. p. 551-561. 2011.

NETO, R. M.; **Influência de Variáveis Ambientais Sobre o Desenvolvimento de Ostras *Crassostrea* (Sacco, 1897) na Baía de Guaratuba, Brasil**. Curitiba-PR, 2011. 64p. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J. R.; SOTO, D. **Aqüicultura no Brasil – O desafio é crescer**. Brasília, 2008, 276 p.

PENG, D. Y.; ROBINSON, D. B. A new two-constant equation of state. **Ind. Eng. Chem. Fundam**. v. 15, p. 59-64, 1976.

PEREIRA, M.A. **Qualidade Microbiológica de Ostras *Cassostrea gigas* e Estudo da Ação Sinérgica da Substancia Antimicrobiana Produzida por *Bacillus amyloliquefaciens***. Florianópolis – SC, 2004. 92 p. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

PEREIRA, M. A.; Nunes M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C.R.V. Microbiological Quality of Oysters (*Crassostrea Gigas*) Produced and Commercialized in The Coastal Region of Florianópolis – Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37, p.159-163, 2006.

PESTANA, C. M. P. **Conservação de filetes de sardinha, *Sardina pilchardus*, sujeitos a estabilização com gás solúvel (SGS), embalados em ar, vácuo e atmosfera modificada**. Lisboa – PT, 2007. 92 p. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos. Universidade de Lisboa.

PIGOTT, G.M.; TUCKER, B.W. **Seafood- Effects of Technology on Nutrition**. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 104- 135.

ROTABAKK, B. T.; BIRKELAND, S.; JEKSRUD, W.; SIVERTSVIK, M. Effect of modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization on the shelf life of skinless chicken breast fillets. **Journal of Food Science**, v. 71(2), p. 124-131, 2006.

ROTABAKK, B.T.; LEKANG, O. I.; SIVERTSVIK, M. Solubility, absorption and desorption of carbon dioxide in chicken breast fillets. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 442-446, 2010.

ROÇA, R. O; SERRANO; A.M. Abate de bovinos: alterações microbianas da carcaça. **Higiene Alimentar**, v. 9, n. 35, p. 8-13. 1995.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil**. Ed. Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande, 492p, 1994.

SCHIRMER B. C.; LANGSRUD S. A dissolving CO₂ headspace combined with organic acids prolongs the shelf-life of fresh pork. **Meat Science**, p.280–284, 2010.

SCHUMPE, A. QUICKER, G. DECKWER,W.-D. Gas solubilities in microbial culture media. **Advances in Biochemical Engineering**, 24, 1–38, 1982.

SIMPSON, R.; ALMONACID, S.; ACEVEDO, C. Development of a Mathematical Model for MAP Systems Applied to Nonrespiring Foods. **Journal of Food Science**, v. 66, n.4, 2001.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; VAGANE, A.; ROSNES, J. T. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 1: Development and validation of experimental apparatus using a manometric method. **Journal of Food Engineering**, v. 61(3), p. 449-458, 2004a.

SIVERTSVIK, M.; ROSNES, J. T.; JEKSRUD, W. K. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 2: Raw fish fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 451-458, 2004b.

SIVERTSVIK, M.; JENSEN, J. S. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 3: Cooked meat products. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 499-505, 2005.

SIVERTSVIK, M.; BIRKELAND, S. Effects of Soluble Gas Stabilisation, Modified Atmosphere, Gas to Product Volume Ratio and Storage on the Microbiological and Sensory Characteristics of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus borealis*). **Food Science and Technology International**, v.12(5), p. 445-454, 2006.

SIVERTSVIK, M. The optimized modified atmosphere for packaging of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100 ml oxygen and 37ml/100ml carbon dioxide, **LWT-Food Science and Technology**, 40, 430-438, 2007.

SMITH, J. M.; VAN NESS, H.; ABBOTT, M. **Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics**. 7^o Ed., Editora: McGraw-Hill Companies, Incorporated, 840 p., 2004.

TORRIERI, E.; CAVELLA, S.; MASI, P. Modelling the respiration rate of fresh-cut Annurca apples to develop modified atmosphere packaging. **International Journal of Food Science and Technology**. v.44, 890–899, 2009.

ZHAO, Y.; WELLS, Y. Method for measuring CO₂ absorption in CO₂ and N₂ packaged fresh meat. **Journal of Food Process**, 18, 383–395, 1995.

ZHAO, Y. Y.; WELLS, J. H.; MCMILLIN, K. W. (1995). Dynamic changes of headspace gases in CO₂ and N₂ packaged fresh beef. **Journal of Food Science**, 60, 571–575, 591, 1995.