**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Curso de Pós-graduação em
Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia**

**COMPORTAMENTO HIGROSCÓPICO DO SUCO DE
LARANJA LIOFILIZADO**

RONALDO NOGUEIRA DE MORAES PITOMBO

**Tese para obtenção do grau de
DOUTOR**

Orientador:

Prof. Dr. ANGELO JOSÉ COLOMBO

**São Paulo
1990**

AGRADECIMENTOS

— Ao prof. Doutor Angelo José Colombo pela orientação, estímulo e amizade.

— Ao prof. Doutor Eugênio Aquarone a quem devo o convite para ingressar na Universidade de São Paulo.

— Ao prof. Doutor Renato Baruffaldi pela ajuda na elaboração dos programas de computação.

— Ao prof. Doutor Robert Wasicky pela colaboração nas análises microscópicas.

— Aos professores Thereza Christina Vessoni Penna, Luiz Antonio Gioielli, Michele Vitolo, José Abrahão Neto, Bruno Carlos de Almeida Cunha, Maricê Nogueira de Oliveira Stabile, pelo auxílio, sugestões e amizade.

— Aos colegas da secretaria, Maria do Rosário Pinto Pedrazzi Chamon, Angela Maria Lima e Juarez Vieira de Souza, pela constante colaboração.

— Ao técnico de laboratório Gledson Manso Guimarães pela sua eficiência e dedicação.

— A senhorita Ivani Aparecida Raphael pelo seu reconfortante cafezinho e colaboração.

— Ao engenheiro Celso Garcia Sgarbi, da Companhia Mogi de Café Solúvel, pela sua amizade e colaboração.

- A todas as pessoas que não foram ci
tadas e que de uma maneira ou outra, contribuíram pa-
ra a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Pág.
NOMENCLATURA	1
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 - Liofilização	7
2.2 - Congelamento	8
2.3 - Alterações estruturais em liofilização	10
2.4 - Isotermas de sorção de água	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 - Materiais	18
3.2 - Métodos	20
3.2.1 - Determinação do teor de umidade....	20
3.2.2 - Determinação do valor do pH	20
3.2.3 - Determinação da acidez total	20
3.2.4 - Determinação da vitamina C	21
3.2.5 - Determinação do teor de polpa no suco	21
3.2.6 - Caracterização espectral no visí- vel e ultravioleta	21
3.2.7 - Determinação do limoneno	21
3.2.8 - Determinação das isotermas de adsorção de água	22
3.2.9 - Determinação da temperatura de colapso	22

	Pág.
3.2.10 - Observações microscópicas	23
4. PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1 - Obtenção dos liofilizados	24
4.2 - Preparação de misturas mecânicas secas	25
4.3 - Obtenção de emulsões de limoneno liofi- lizadas	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 - Caracterização do suco de laranja e dos liofilizados	26
5.2 - Caracterização espectral do suco de la- ranja liofilizado	28
5.3 - Correlação entre a soma da intensidade de absorbância (465, 443 e 425 nm)., e o valor da cor determinado pelo coloríme- tro de Hunter para cítricos	35
5.4 - Influência da atividade de água sobre o teor de vitamina C	43
5.5 - Influência do valor do pH sobre o teor do limoneno, em soluções de lactose liofilizadas	49
5.6 - Isotermas de sorção de umidade	61
5.7 - Isotermas de adsorção de umidade do suco de laranja liofilizado	67

	Pág.
5.8 - Caracterização das propriedades de sorção de água das malto-dextrinas M-10 e M-20 e da lactose	67
5.9 - Isotermas de adsorção de água do suco de laranja aditivado liofilizado e de mistu- ras mecânicas de suco liofilizado com adi- tivos	79
5.10 - Umidade adsorvida em função do tempo	87
5.11 - Efeito da temperatura sobre as isotermas de adsorção de água	91
5.12 - Visão geral dos resultados	104
6. CONCLUSÕES	114
7. RESUMO	118
ABSTRACT	119
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120

NOMENCLATURA

A	-	Área do pico do cromatograma
A_a	-	Atividade de água
$A_{\text{água}}$	-	Área da molécula de água
B.E.T.	-	Equação de Brunauer-Emmett-Teller
C	-	Constante de Guggenheim
C'	-	Constante relacionada ao calor de sorção
D_M	-	Densidade molar do limoneno
Eq.	-	Equação
G.A.B.	-	Equação de Guggenheim-Anderson-De Boer
H_C	-	Calor de condensação do vapor de água
H_m	-	Calor de sorção de água, da monocamada
H_q	-	Calor total de sorção das multicamadas
K	-	Fator de correção do modelo G.A.B.
L	-	Volume de líquido no frasco
M-10	-	Malto-dextrina com índice de dextrose equivalente de 9-12% m/m base seca
M-20	-	Malto-dextrina com índice de dextrose equivalente de 19-22 m/m base seca
N	-	Número de Avogadro
η_s	-	Moles de limoneno adicionado ao frasco
η_L	-	Moles de líquido no frasco
η_v	-	Moles de vapor no frasco
η_{l_v}	-	Moles de limoneno no espaço livre do frasco

$PM_{\text{água}}$	-	Peso molecular da água
P	-	pressão de vapor do limoneno
P_a	-	Pressão parcial de vapor de água no alimento
P_o	-	Pressão de vapor da água
R	-	Constante universal dos gases perfeitos
S	-	Área da superfície sólida dos liofilizados
s	-	Volume do limoneno adicionado ao frasco
V	-	Volume do espaço livre do frasco
X	-	Fração molar de limoneno no líquido
Y	-	Fração molar de limoneno no vapor
W	-	Teor de umidade
W_m	-	Teor de umidade, correspondente a saturação dos sítios primários por uma molécula de água, ou seja, é o valor monomolecular
(o)	-	Condição de saturação
$\% \text{ }^m/m$	-	Porcentagem (massa em massa) expressando o número de gramas de substâncias contido em 100 g do produto
$\% \text{ }^m/v$	-	Porcentagem (massa em volume), expressando o número de gramas de substâncias contido em 100 ml do produto.
$\% \text{ }^v/v$	-	Porcentagem (volume em volume) expressando o número de mililitros de substâncias, em 100 ml do produto.
ΔH_a	-	Calor de adsorção de água
ΔH_o	-	Calor latente de vaporização da água
$\% \text{ U.R.}$	-	Porcentagem de umidade relativa.

1. INTRODUÇÃO

A expansão da produção de cítricos nos EUA especialmente na Flórida, e o recente fenomenal aumento na produção brasileira, é o resultado do desenvolvimento na tecnologia de processamento das frutas cítricas.

Nos EUA, 90% da produção de frutas cítricas são processadas. No Brasil, em 1988 foram processadas 178 milhões de caixas de laranja com 40,8 kg. As exportações do suco concentrado foram de 1,4 bilhão de dólares. As estimativas da Associação Brasileira de Exportadores de Cítricos, é de que em 1989 as exportações de suco de laranja concentrado alcancem a 1,2 bilhão de dólares pois embora tenha havido queda no preço, a exportação aumentou em cerca de 5%.

Nos últimos anos nos EUA diminuiu o uso de suco de laranja acondicionado em latas, devido aos altos custos da embalagem e da qualidade inferior quando comparada com sucos embalados em vidro ou plástico.

Por mais seguro e confiável que seja o mercado de um produto, a indústria de alimentos deve estar voltada para criar, melhorar, atender às exigências e abrir novos mercados.

A ciência aliada à tecnologia, possibilitam transformar e aprimorar produtos, desde a qualida-

de das sementes, até às diferentes formas de processamento e acondicionamento.

Recentemente ²³ no Japão, procurou-se melhorar a qualidade do suco de laranja através da remoção de ácidos orgânicos, aromas indesejáveis como furfural, ôxido de linalol, e da hesperidina, utilizando-se resinas de troca iônica.

A liofilização oferece uma série de vantagens sobre outros métodos de conservação e vem se desenvolvendo nos últimos anos, conforme destacado em artigo publicado pela International Food Marketing and Technology, em setembro de 1989.

O alimento liofilizado apresenta as seguintes vantagens quando comparado com o congelado:

- economia de 70 a 90% no transporte;
- não necessita de uma rede de refrigeração para o transporte e armazenamento;
- possibilidade de armazenamento em condições ambientais, desde que seja embalado adequadamente;
- distribuição mais fácil ao consumidor final.

O liofilizado possui ainda as seguintes vantagens:

- melhor valor biológico, pela ausência de esterilização;
- melhores qualidades naturais de aroma e sabor;

- melhor consistência;
- facilidade de reconstituição.

Com o avanço tecnológico, o processo de liofilização está sendo realizado em condições economicamente favoráveis, principalmente em função do uso de microprocessadores no controle de processo, superando problemas de manufatura e melhorando a qualidade do produto.

O suco de laranja liofilizado, pode vir a ser um novo produto com excelente qualidade, constituindo-se em nova perspectiva a ser utilizada pelo setor.

O liofilizado não concorre com o concentrado congelado. Ele atingiria um mercado alternativo. O seu posicionamento de vendas seria nos setores de doses individuais, ou seja alimentos de conveniência, para ser servido a bordo de aviões, em alimentação institucional, garimpos, camping, etc. Também poderia ser utilizado como insumo alimentício em tortas, bolos, creme e recheios, misturas de fruta em pó, pós para sorvete componente de gelatinas e gelatinas e geléias naturais.

Na indústria farmacêutica, teria aplicação como excipiente, aromatizante, corante e, em face de suas propriedades farmacológicas, em formulações de medicamentos e alimentos dietéticos.

O presente trabalho foi desenvolvido objetivando conhecer:

- o comportamento higroscópico do suco de laranja liofilizado;
- o efeito da adição de malto-dextrinas, e da lactose e sobre o comportamento higroscópico do suco de laranja e liofilizado;
- as características espectrais do suco de laranja liofilizado em diferentes atividades de água e temperatura;
- a estabilidade da vitamina C, do suco de laranja liofilizado, em diferentes atividades de água e temperatura;
- A influência do valor de pH e natureza do meio, sobre o teor de limoneno, emulsionado em soluções de lactose liofilizadas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - LIOFILIZAÇÃO

A liofilização é um processo de remoção da maior parte da água contida num material por sublimação. Sendo a concentração da solução, em termos de sólidos solúveis, maior que 1%, o produto seco terá o mesmo volume da solução o que permite obter-se produtos de baixa densidade aparente ³².

A liofilização divide-se em três etapas: na primeira o material é congelado, a seguir a água é sublimada sob pressão reduzida, e, numa terceira etapa, a água incongelável é removida por dessorção.

A liofilização, por ser um processo realizado em baixas temperaturas, é o método de escolha para se conservar substâncias termolábeis. Entretanto, o sucesso de uma liofilização decorre não do fato da secagem ocorrer a baixas temperaturas, mas sim dela ocorrer no estado sólido. Na otimização de uma liofilização deve-se manter o produto no estado sólido durante as três fases de liofilização ⁵⁸.

2.2 - CONGELAMENTO

Durante o congelamento de uma solução a água transforma-se em gelo, num variado, porém alto grau de pureza. Portanto, os constituintes não aquosos são concentrados em uma pequena quantidade de água, resultando em alterações significativas das propriedades da fase não congelada (pH, acidez titulável, força iônica, viscosidade, ponto de congelamento, tensão superficial e interfacial, além do potencial de óxido-redução). Gases dissolvidos, como oxigênio e dióxido de carbono, podem ser expelidos da solução. A estrutura da água e interação soluto-água podem ser alteradas.

Como resultado do congelamento, pode haver a formação de misturas eutéticas, ou precipitados amorfos ¹². Pode ainda ocorrer a desidratação de material insolúvel e coalescência de gotas de líquidos imiscíveis. Além disso, macromoléculas são aproximadas favorecendo a interação.

A intensidade dessas alterações varia em função do material, bem como da velocidade de congelamento.

As curvas de resfriamento e congelamento, observadas na prática, são frequentemente chamadas de velocidade de congelamento.

Alguns autores estabeleceram escalas de velocidade de congelamento, em graus Celsius por segundo:

muito-lento		abaixo de $0,01^{\circ}\text{C/s}$
lento		de $0,01$ a $0,06^{\circ}\text{C/s}$
rápido		de $0,06$ a 50°C/s
super-rápido		acima de 50°C/s

Outros preferem exprimir a velocidade e congelamento em termos de profundidade de congelamento num dado intervalo de tempo. Em velocidade de congelamento entre 0,5 e 1 mm por minuto, ou pouco mais, o gelo que se separa de uma solução eutética tende a formar cristais, na forma de agulhas, na direção em que o congelamento progride ²².

Essa cristalização direcional está ausente tanto em baixas quanto em muito altas velocidades de congelamento, bem como em soluções de concentração igual ou maior que a concentração eutética ⁶⁶.

Como a maior parte dos poros de um resíduo sólido após a liofilização é formada pela sublimação do gelo puro e esses mesmos poros são as principais vias para a saída de vapor de água durante o processo de secagem, concentrações eutéticas ou maiores são mais difíceis de serem liofilizadas.

A velocidade de congelamento determina a dimensão do cristal de gelo. Congelamento rápido produz cristais de gelo muito pequenos que ajudam a preservar detalhes estruturais de materiais destinados a observações microscópicas. No entanto, os pequenos poros que se for-

nam durante a sublimação são mais restritivos ao fluxo de vapor do que aqueles que seriam formados pelo congelamento lento.

2.3 - ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS EM LIOFILIZAÇÃO

Em qualquer fase da liofilização o produto deve ser mantido abaixo de uma certa temperatura limite, chamada de temperatura de "colapso". O colapso é uma alteração estrutural perceptível como um encolhimento radial da matriz sólida do liofilizado.

A causa desse encolhimento é atribuída a uma redução da viscosidade. Os valores limites que suportam a matriz sólida são 10^7 a 10^{10} cP. O colapso é o resultado de um sólido amorfo sofrer um fluxo viscoso⁷⁵.

A temperatura de colapso diminui com o aumento do teor de umidade. Solutos de baixo peso molecular possuem menor temperatura de colapso.

Colapso e transição vítrea de polímeros amorfos são fenomenologicamente eventos similares. Transição vítrea é a passagem de um líquido para o estado sólido sem mudança de fase. Quando um polímero no estado vítreo é aquecido, seu volume específico aumenta com velocidade constante. A uma certa temperatura de transição vítrea, essa velocidade aumenta levando a uma descontinuidade na curva de expansão de volume.

Abaixo da temperatura de transição, o polímero exibe um comportamento semelhante ao vidro; e levando-se a temperatura a valores acima do de transição vítrea, o polímero amolece, comportando-se como borracha; prosseguindo o aquecimento, a "borracha" é gradualmente convertida numa goma, e, finalmente transforma-se num líquido ¹.

Transição vítrea é um fenômeno reversível enquanto que o colapso de uma matriz liofilizada é irreversível.

A temperatura de transição vítrea é dependente do teor de diluentes da mesma maneira que a umidade afeta o colapso.

Estudos sobre o efeito da quebra de pontes de hidrogênio sobre a resistência mecânica de materiais celulósicos estabeleceram que a relação entre o logaritmo do módulo de Young (valor que mede deformação elástica; no caso de materiais celulósicos está relacionado ao número de pontes de hidrogênio, por unidade de volume) e o teor de umidade é linear. A reta sofre uma mudança de inclinação quando atinge o teor de umidade correspondente a camada monomolecular de água (valor monocamada-B.E.T.). Neste caso, a adição de uma molécula de água leva ao rompimento de uma ligação de ponte de hidrogênio. Todavia, quando o teor de umidade é maior que o valor monocamada, rompem-se múltiplas ligações de ponte de hidrogênio ^{32, 77}.

O logaritmo da temperatura de colapso versus teor de umidade também é uma relação linear, sofrendo mudança de inclinação no valor monocamada. Por analogia, supõe-se que temperatura de colapso e módulo de Young avaliam forças estruturais equivalentes devidas a pontes de hidrogênio. Portanto, o colapso pode ser associado a quebra de ligações por ponte de hidrogênio.

Em liofilizados, a retenção de moléculas de baixo peso molecular, mesmo aquelas que tenham pressão de vapor maior que a pressão de vapor de água, é devida à difusão seletiva da água através da matriz liofilizada, ou seja: nas condições de uma liofilização, o coeficiente de difusão das moléculas voláteis é muito menor que o da água ⁷⁴.

Em escala macromolecular, a retenção de voláteis ocorre pelo aprisionamento de moléculas em microregiões da matriz liofilizada ¹⁵.

O processo de alojamento dos voláteis em microregiões se inicia com o congelamento da solução. Os voláteis são retidos na matriz suporte de liofilização antes da sublimação do gelo. Quando soluções de compostos orgânicos, como por exemplo, açúcares, são resfriadas, a etapa de nucleação de cristais de soluto é com frequência inibida, não havendo portanto a formação de uma mistura eutética sólida. Continuando o resfriamento, mais gelo puro é formado, deixando uma solução cada vez mais concentrada. Finalmente, devido à alta concentração de soluto e baixa temperatura, as forças intermoleculares den-

tro da solução tornam-se tão grandes, que ela sofre uma transição vítrea, solidificando-se no estado amorfo^{3, 15}.

A capacidade de substâncias amorfas reterem outras moléculas é consequência da existência de volume livre nesses sólidos. O estado cristalino, por causa do seu limitado volume livre, é incapaz de acomodar impurezas em sua estrutura. Cristalização sucessiva é técnica conhecida para purificação de substâncias.

Além da retenção de voláteis, a liofilização pode encapsular gorduras, evitando sua oxidação²⁰.

Compostos voláteis retidos numa matriz sólida liofilizada não são removidos mesmo que ela seja pulverizada e a seguir colocada em ambientes de pressão reduzida. No entanto, ocorre eliminação de voláteis quando a matriz entra em colapso.

Emulsões liofilizadas de óleo em solução de açúcares, lavadas com hexano para eliminação do óleo superficial, demonstraram não sofrer oxidação. Quando essas emulsões são colapsadas pela adição de água, a oxidação se inicia imediatamente²⁰.

Portanto, o encapsulamento, tanto de voláteis como de gorduras, depende da integridade da estrutura liofilizada.

Recentemente, prepararam-se vesículas de lecitina para o encapsulamento de pepsina e lisosima por liofilização³⁴.

Uma matriz liofilizada, além de entrar em colapso, pode recrystalizar-se. A perda de voláteis e a oxidação de gorduras retidas na matriz ocorrem mais rapidamente quando a estrutura se torna cristalina, do que quando ela está na condição de colapsada.

O colapso não é um fenômeno tudo ou nada. Ao contrário, uma vez iniciado, ele pode ser interrompido ou continuar num maior grau em função da temperatura. O grau de colapso não é um fenômeno dependente do tempo⁷⁷.

2.4 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE ÁGUA

A água é um constituinte essencial de muitos alimentos. Ela pode ocorrer como um componente intra ou extra celular em tecidos vegetais e animais, como meio dispersante ou solvente em vários produtos; como fase dispersa em produtos emulsificados tais como a margarina e manteiga. Mesmo nos alimentos desidratados onde a água ocorre em proporções menores, trata-se de um dos componentes mais importantes, tendo grande influência sobre a estabilidade durante o armazenamento^{55, 60}.

A molécula de água é de natureza fortemente polar devido à distribuição assimétrica das cargas negativas e positivas e por isso apresenta marcante tendência a ligar-se de diferentes maneiras, seja por pontes de hidrogênio, forças capilares ou por íons⁵.

O método mais utilizado para o estudo das propriedades da água em alimentos é a determinação das isotermas de sorção de água.

As isotermas são representações gráficas ou analíticas da pressão parcial de um componente, em equilíbrio com sua concentração em um sólido à temperatura constante. No caso da água, uma isoterma descreve a quantidade sorvida por uma substância em função da pressão de vapor de equilíbrio, ou umidade relativa ou atividade de água. No caso de alimentos adota-se com mais frequência a atividade de água que é definida como:

$$A_a = \frac{P_a}{P_o} = \frac{\%UR}{100}$$

onde:

A_a = atividade de água

P_a = pressão parcial de vapor de água no alimento

P_o = pressão de vapor da água pura, à mesma temperatura

UR = umidade relativa

A atividade de água, há muito tempo, é considerada como um dos fatores de maior influência sobre a qualidade e estabilidade dos alimentos. É um dos parâmetros mais importantes quanto ao desenvolvimento de microrganismos, reações enzimáticas, oxidação lipídica e escurecimento não enzimático ^{36,37,65,71}.

Os aspectos físicos da atividade de água também tem recebido considerável atenção, especialmente em alimentos com alto teor de açúcares, que são responsáveis pela sua natureza higroscópica e tendência a aglomerarem-se e perderem fluidez.

A propriedade dos açúcares no estado amorfo, de adsorverem considerável quantidade de umidade e então a liberarem é uma das principais razões para a instabilidade física de alimentos em pó, mesmo considerando-se que a cristalização dos açúcares é frequentemente inibida por outros componentes químicos. Condições de processamento podem afetar o comportamento higroscópico como demonstrou CAL-VIDAL e FALCONE ⁶, estudando a liofilização do suco de maracujã.

O conhecimento das isotermas de sorção de água é um dos meios mais apropriados ao estudo de sua influência nos alimentos, pois permite estabelecer as condições ideais para sua manipulação e conservação. Permite prever o tempo de secagem, o tempo de vida de prateleira de produtos desidratados acondicionados em embalagem permeáveis e as condições de equilíbrio após a mistura de produtos com distintas atividades de água.

As isotermas proporcionam informações para o estabelecimento de relações termodinâmicas, as quais permitem uma interpretação teórica dos resultados experimentais. Através dessas funções pode-se de-

terminar a energia livre necessária à transferência de moléculas de água no estado de vapor para a superfície do alimento. Pode-se determinar a entalpia ou calor de sorção de água, o que nos fornece a energia de interação entre a água e o alimento sendo portanto um índice de grande importância ao se projetar equipamento de secagem^{22,24,35,57}.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - MATERIAIS

Suco de laranja, concentrado e congelado obtido diretamente do produtor, com concentração de 65°Brix, acidez total 4,74% m/m expressa em ácido cítrico e teor de polpa 5,00% v/v.

Malto-dextrina, de dois tipos, obtidas diretamente do produtor que foram denominadas de M-10 e M-20; a composição em açúcares é apresentada no quadro 1.

Lactose - pA

Limoneno, obtido diretamente do produtor, com grau de pureza de 98%, determinado cromatograficamente.

Equipamentos

- Agitador de tubos (Phoenix Mod. AT56)
- Aparelho de Karl-Fisher (Metron Herisau)
- Balança analítica (Sauter)
- Banho-maria com agitação, e temperatura controlada (FANEM 3 UNITEMP)
- Centrífuga (FANEM, modelo 204 MR)
- Espectrofotômetro (BECKMAN, modelo Acta III)

QUADRO 1. Composição em açúcares das malto-dextrina
(% m/m base seca)

	M-10	M-20
Dextrose equivalente	9-12	19-22
Dextrose	1,0	3,0
Maltose	4,0	6,0
Trissacarídeos	5,0	8,0
Tetrassacarídeos	4,0	7,0
Pentassacarídeos	4,0	7,0
Hexa e superiores	82,0	69,0

- Espectrofotômetro (INCIBRÁS MF, 200 UV VIS)
- Estufa incubadora para B.O.D. (FANEM)
- Cromatôgrafo (CG modelo 37-D)
- Liofilizador (Edwards, modelo L-4KR)
- Potenciômetro (Tokyo Toa, modelo HM-20-B, digital)
- Recravadeira (Luferco, modelo 33-5)
- Refratômetro (Bertuzzi, modelo M-0/35)
- Seringa (Terumo, modelo MS-GAN 500)
- Microscópio Óptico (Reichert).

3.2 - MÉTODOS

3.2.1 - Determinação do teor de umidade

Determinou-se a umidade dos liofilizados expresso em % m/m base seca pelo método de Karl-Fisher²⁷, e por gravimetria.

3.2.2 - Determinação do valor do pH

Determinou-se o valor de pH, em potenciômetro.

3.2.3 - Determinação da acidez total

Determinou-se a acidez total, expressa em % m/m de ácido cítrico, segundo método descrito por TING e ROUSEFF⁷⁶.

3.2.4 - Determinação da vitamina C

Determinou-se a vitamina C expressa em mg de ácido ascórbico por 100 mL de suco 11,8° Brix, segundo o método descrito por TING e ROUSEFF ⁷⁶.

3.2.5 - Determinação do teor de polpa no suco

Determinou-se o teor de polpa expresso em % v/v, de suco 11,8° Brix, segundo o método descrito por TING e ROUSEFF ⁷⁶.

3.2.6 - Caracterização espectral no visível e ultravioleta

Determinou-se as características de absorção no visível bem como no ultravioleta, segundo o método descrito por PETRUS e ATTAWAY ⁵⁴.

3.2.7 - Determinação do limoneno

As determinações do limoneno nas amostras liofilizadas foram feitas por cromatografia em fase gasosa pela técnica da análise do espaço livre (PITOMBO et alii ⁵⁷). Os liofilizados foram reconstituídos com 40 mL de água deionizada em frascos com capacidade de 73 mL. A seguir, foram fechados com tampa de borracha revestidas com folha de alumínio, para evitar absorção do limoneno pela borracha. Os frascos foram recravados e colocados em banho de água a 30°C por 4 horas para o equilíbrio do soluto entre as duas fases. A análise do espaço livre foi

realizada inserindo-se uma seringa cromatográfica de 5 mL nos frascos através da tampa de borracha, retirando-se 3 mL de amostra do espaço livre que foram injetados no cromatógrafo provido com detetor de ionização de chama, operando nas seguintes condições:

- Coluna: aço inoxidável de 3 m de comprimento e 3 mm de diâmetro interno.
- Fase estacionária: Carbowax 20M a 15%.
- Suporte: Cromossorb W-silanizado.
- Vazão dos gases: nitrogênio 30 mL/min; hidrogênio 30 mL/min e ar sintético 210 mL/min.
- Temperaturas: detetor 160°C, vaporizador 140°C coluna 100°C.

3.2.8 - Determinação das isotermas de adsorção de água

As isotermas de adsorção de água foram determinadas segundo o método descrito por PITOMBO et alii ⁵⁶.

3.2.9 - Determinação da temperatura de colapso

A temperatura de colapso do suco de laranja liofilizado foi determinada segundo técnica descrita por TSOUROUFLIS et alii ⁷⁸, com a seguinte modificação.

As amostras ao invés de serem colocadas em ampolas, foram acondicionadas em frascos de vidro, fechadas com rolha de borracha, recravados com anel de alumínio, o que permitiu introdução de par termoelétrico para controlar a temperatura do produto em análise.

3.2.10 - Observações microscópicas

Através de microscopia óptica, com uso de polarizador, avaliou-se a morfologia dos liofilizados.

Avaliou-se a estabilidade e o tamanho dos glóbulos de emulsões.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 - OBTENÇÃO DOS LIOFILIZADOS

O suco de laranja concentrado e congelado foi reconstituído a 11,8° Brix.

As amostras foram preparadas, adicionando-se ao suco, lactose ou malto-dextrinas M-10 ou M-20, de modo a obter em todos os casos a concentração de 10% m/v.

Em frascos de 43 mL foram distribuídos 5 mL de cada um dos 4 tipos de sucos, que a seguir foram congelados a -40°C.

As amostras foram liofilizadas à temperatura ambiente por 96 horas, assumindo-se 0% de umidade residual.

Os frascos foram pesados antes e após a liofilização, o que permitiu a posterior reconstituição de cada amostra ao seu peso original.

Durante 10 dias, nas temperaturas de 10, 25 e 35°C, amostras de suco sem aditivos foram expostas a diferentes umidades relativas e, posteriormente, esse material foi reconstituído a 11,8° Brix e submetido às análises de caracterização espectral e de vitamina C.

4.2 - PREPARAÇÃO DE MISTURAS MECÂNICAS SECAS

Para estudar-se as propriedades de sorção de água de misturas mecânicas, foram liofilizadas soluções a 10% m/v de lactose e das malto-dextrinas M-10 e M-20.

Num graal pulverizaram-se quantidades de suco de laranja liofilizado e aditivos liofilizados, na mesma proporção, em matéria seca das misturas liofilizadas, o que correspondia a cerca de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. Do mesmo modo, prepararam-se misturas do suco liofilizado com o aditivo não liofilizado.

4.3 - OBTENÇÃO DE EMULSÕES DE LIMONENO LIOFILIZADOS

Em frascos de 73 mL adicionou-se 1,00 g de lactose, e 10 mL dos diferentes tampões com valores de pH entre 4,00 e 9,00. Os tampões foram preparados segundo técnica descrita por BACILA et alii². Os frascos foram agitados em banho a 30°C o que facilitou a dissolução. As soluções foram resfriadas a 0°C, mantidas em banho de gelo e com o auxílio de uma seringa cromatográfica, adicionou-se no líquido 0,50, 1,0 ou 2,0 µL de limoneno. Os frascos foram agitados num agitador de tubo por 1 minuto, e a seguir congelados a -40°C.

As amostras congeladas foram liofilizadas por 24 horas à temperatura ambiente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE LARANJA E DOS LIOFILIZADOS

A tabela 1 apresenta algumas características do suco de laranja concentrado, do reconstituído e ainda dos liofilizados reconstituídos, com e sem aditivos.

TABELA 1. Características do suco de laranja

Determinação	Suco Concentrado 65,0 °Brix			
Acidez total (%) m/m	4,74			
Teor de Polpa (%) v/v	5,00			
Relação °Brix/ Acidez total	13,7			
	Suco reconstituído a 11,8 °Brix	Suco reconstituído a 11,8 °Brix adicionado de		
		Lactose (10% m/v)	M-10	M-20
Acidez total (%) m/m	1,03	1,03	1,03	0,99
pH	3,70	3,70	3,70	3,70
Vitamina C (mg/100mL)	50,52	45,86	45,12	45,74

Continua

Continuação da Tabela 1

	Suco liofilizado reconstituído a 11,8 °Brix	Suco liofilizado recons- tituído adicionado de:		
		Lactose	M-10	M-20
		(10% m/v)		
Acidez total (%) m/m	1,00	0,97	0,97	0,96
pH	3,75	3,75	3,75	3,75
Vitamina C (mg/100mL)	48,41	45,07	43,62	43,53

O suco de laranja concentrado e congelado foi obtido diretamente da produção regular de uma indústria do Estado de São Paulo.

A liofilização pouco alterou os teores de vitamina C. Entretanto, houve pequena diminuição da acidez acompanhada da elevação do pH.

Sendo o pH o cologarítmo da concentração hidrogeniônica molal na solução, o valor 3,70 corresponde a uma concentração hidrogeniônica de 0,0199% em peso. O valor 3,75 equivale a uma concentração de 0,0178% em massa. Essas concentrações mostram uma diminuição de 11% na força ácida, embora se deva levar em conta a variação na dissociação dos ácidos orgânicos. Além disso, a presença de sais proporciona um efeito de tamponamento do meio.

5.2 - CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL DO SUCO DE LARANJA

LIOFILIZADO

Espectros de absorção no visível e ultravioleta são empregados na caracterização de sucos de laranja, quanto à variedade, estado de maturação, bem como na detecção de adulterações. Essas adulterações podem ser primárias, como por exemplo, a adição de água, açúcar e ácidos, como também podem ser mais elaboradas, denominadas adulteração sob medida, projetadas especificamente para dificultar sua detecção ⁵⁴.

Deve-se salientar que o efeito da variável de processo, como pressão de extração, tem sido ava

liado através das características espectrais ⁵².

A figura 1 mostra o espectro de absorção no visível e no ultra violeta do suco de laranja liofili_zado. Os máximos de absorção, foram observados a 465, 443 e 425 nm no visível, e a 325, 280 e 245 nm no espectro do ultra violeta.

A absorção no visível é devida à presença de substâncias carotenóides. No ultra violeta a absorção se deve aos polifenólicos (325 nm), flavonóides (280 nm) e ácido ascórbico (245 nm).

Comparando-se espectros do suco de laranja original com o do liofilizado, observa-se que são semelhantes, havendo pouca ou nenhuma alteração nos máximos de absorção.

Comparando-se a curva espectral do suco original com os da literatura ⁵⁴, observa-se que a pressão de extração do suco foi alta, pois esta aumenta a absorção no espectro ultra violeta. O pico bem definido a 280 nm indica que houve a adição de polpa.

No período de 1972 a 1979, foram analisados na Universidade de Florida ⁵⁴, 416 amostras de suco de laranja concentrado e congelado. A soma das absorbâncias a 443, 325 e 280 nm apresentavam o valor mínimo de 2,002 e o máximo de 2,992, sendo o valor médio de 2,410. A razão de absorbância ($\frac{443}{325}$ nm) variou de 0,092 a 0,227 sendo o valor médio igual a 0,144.

FIGURA 1. Espectros de absorção no visível e ultra violeta obtido de soluções alcoólicas do suco de laranja original, bem como do liofilizado.

Comparando-se esses resultados com aqueles obtidos com amostras de liofilizado submetidos a diferentes umidades relativas, nota-se que para as amostras armazenadas a 10°C (Tabela 2), todas, exceto a primeira, se enquadram na faixa do referido estudo, com tendência ao limite inferior. Para a temperatura de 35°C (Tabela 4), em todas as umidades relativas, a razão de absorbância apresentou valores abaixo do valor mínimo, enquanto que para a somatória obteve-se valores dentro da faixa considerada.

A 25°C (Tabela 3), os valores da somatória de absorbância encontram-se dentro dos limites estabelecidos. Para a razão de absorbância observa-se que os valores ora estão dentro, ora fora desses limites.

TABELA 2. Características de absorção no visível e ultra violeta, do suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias, a diferentes unidades relativas a 10°C.

Comprimento de onda (nm)											465	443
	465	443	425	325	280	443/325	280/325	443	+	425	+	443
Unidade relativa(%)												
12,3	0,064	0,084	0,103	0,695	1,175	0,121	1,169	0,251				1,954
24,0	0,062	0,086	0,104	0,750	1,226	0,115	1,635	0,252				2,062
33,6	0,073	0,099	0,121	0,720	1,206	0,137	1,675	0,293				2,025
43,1	0,063	0,088	0,112	0,787	1,185	0,112	1,505	0,263				2,060
62,2	0,069	0,096	0,121	0,725	1,200	0,132	1,655	0,286				2,021
75,4	0,081	0,110	0,147	0,832	1,350	0,132	1,622	0,338				2,292
81,2	0,095	0,120	0,142	0,750	1,182	0,160	1,576	0,357				2,052

TABELA 3. Características de absorção no visível e ultra violeta, do suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias, a diferentes unidades relativas, a 25°C.

Comprimento de onda (nm)	465				443				465 + 443 + 425				443 + 325 + 280			
	465	443	425	325	280	443/325	280/325									
Umidade relativa (%)																
8,23	0,083	0,110	0,125	0,960	1,162	0,114	1,210	0,318					2,232			
22,2	0,042	0,055	0,062	0,662	1,360	0,083	2,054	0,159					2,077			
32,7	0,044	0,058	0,067	0,722	1,484	0,080	2,055	0,169					2,264			
43,2	0,072	0,087	0,095	0,726	1,488	0,120	2,049	0,254					2,301			
58,2	0,058	0,072	0,081	0,732	1,500	0,098	2,049	0,211					2,304			
64,4	0,042	0,057	0,064	0,720	1,484	0,079	2,061	0,163					2,271			
75,1	0,047	0,061	0,070	0,719	1,478	0,085	2,055	0,178					2,258			
84,2	0,095	0,108	0,116	0,729	1,490	0,094	2,044	0,319					2,327			
86,5	0,053	0,069	0,076	0,718	1,476	0,150	2,056	0,198					2,263			

TABELA 4. Características de absorção no visível e ultra violeta, do suco de laranja liofilizado, exposto por 10 dias, a diferentes unidades relativas, a 35°C.

comprimento de onda (nm)										
	465	443	425	325	280	443/325	280/325	465 +	443 +	443 +
Unidade relativa (%)										
7,3	0,036	0,047	0,056	0,673	1,394	0,069	2,071	0,139	2,114	2,114
21,0	0,039	0,053	0,066	0,678	1,382	0,078	2,038	0,158	2,113	2,113
32,1	0,048	0,064	0,073	0,845	1,738	0,075	2,057	0,185	2,647	2,647
43,2	0,045	0,058	0,068	0,873	1,804	0,066	2,066	0,171	2,735	2,735
55,4	0,042	0,057	0,067	0,883	1,808	0,064	2,047	0,166	2,748	2,748
74,9	0,045	0,059	0,070	0,887	1,816	0,066	2,047	0,174	2,762	2,762
80,2	0,051	0,066	0,077	0,883	1,810	0,074	2,050	0,153	2,759	2,759
82,6	0,045	0,059	0,070	0,875	1,796	0,067	2,052	0,174	2,730	2,730
85,9	0,046	0,065	0,050	0,888	1,826	0,073	2,056	0,161	2,774	2,774

5.3 - CORRELAÇÃO ENTRE A SOMA DA INTENSIDADE DE ABSORBÂNCIA (465, 443 e 425 nm), E O VALOR DA COR DETERMINADO PELO COLORÍMETRO DE HUNTER PARA CÍTRICOS

A cor do produto exerce profunda motivação na preferência pela laranja e seus produtos. A cor do suco de laranja ou da laranjada, influi diretamente na opinião do consumidor, compondo-se ao aroma, sabor, corpo, doçura, bem como outras características associadas à qualidade da bebida. Assim como ocorre com o café, onde seu valor está diretamente associado à qualidade da bebida, nos EUA, os processadores pagam aos agricultores um preço maior pelas frutas que possuam uma cor interna mais intensa ^{6, 24}.

A soma das absorvâncias devida aos carotenóides correlacionam-se com a escala de cor, obtida com um colorímetro de HUNTER ⁵³. Amostras obtidas de diferentes processamentos, variando °Brix, teor de polpa, maturidade e variedade seguem a correlação:

$$y = 0,0404x - 1,1886 \quad \text{Eq. (1)}$$

$$y = \sum_{(465, 443 \text{ e } 425 \text{ nm})} \text{absorbância}$$

$$x = \text{escala de cor}$$

A classificação da cor de sucos de laranja varia na faixa de 33 a 40 ⁷⁹.

Na tabela 5 tem-se os resultados de cor do suco de laranja, liofilizado, obtidos através da

TABELA 5. Valores de cor do suco de laranja liofilizado, exposto por 10 dias a diferentes umidades relativas a 10, 25 e 35°C.

25°C		35°C		10°C	
Umidade relativa (%)	cor	Umidade relativa (%)	cor	Umidade relativa (%)	cor
8,23	37,3	7,3	32,9	12,3	35,6
22,2	33,3	21,0	33,3	24,0	35,6
32,7	33,4	32,1	34,0	33,6	36,7
43,2	35,6	43,2	33,7	43,1	35,9
58,2	34,6	55,4	33,5	62,2	36,5
64,4	33,4	74,9	33,7	75,4	37,8
75,1	33,8	80,2	33,2	81,2	38,2
84,2	37,3	85,9	33,4		

equação (1), expostos por 10 dias a diferentes valores de umidade relativa em três diferentes temperaturas.

Analisando-se a tabela 5, observa-se que a 25°C, a cor devida aos carotenóides variou de 33,3 a 37,3, sendo os maiores valores nos extremos e no valor 43,2% de umidade relativa. Comportamento semelhante é observado na oxidação lipídica em função da atividade de água 36, 38, 50.

A alta estabilidade dos carotenóides em baixos teores de umidade, é indicativo da necessidade de uma quase completa desidratação do suco de laranja liofilizado. Essa observação corrobora com os dados de SALWIN 67,68 que estabeleceu que, quando os dados experimentais de uma isoterma não são aplicáveis ao modelo B.E.T., o que ocorre quando as isotermas são do tipo III, há necessidade de uma completa desidratação.

Na temperatura de 10°C a influência da umidade relativa sobre a cor foi menor que a 25°C. Pode-se explicar essa observação pela influência da temperatura que, sendo menor, retardaria as reações de oxidação em todas as atividades de água.

A 35°C observa-se menor influência da umidade relativa sobre a cor, quando comparada com as temperaturas de 10 e 25°C. Neste caso, a influência da temperatura se sobrepõe à da atividade de água de modo que obteve-se valores de cor praticamente iguais e menores que nas outras duas temperaturas experimentadas.

FIGURA 2. Somas das absorvâncias a 465, 443 e 425 nm de soluções alcoólicas de suco de laranja liofilizado, exposto por 10 dias em diferentes umidades relativas a 25°C, em função do teor de umidade e atividade de água.

FIGURA 3. Soma das absorvâncias a 465, 443 e 425 nm de soluções alcoólicas de suco de laranja liofilizado, exposto por 10 dias a diferentes umidades relativas a 10°C, em função do teor de umidade e atividade de água.

FIGURA 4. Soma das absorbâncias a 465, 443 e 425 nm de soluções alcoólicas de suco de laranja liofilizado, exposto por 10 dias a diferentes umidades relativas a 35°C, em função do teor de umidade e atividade de água.

As figuras 2, 3 e 4 ilustram os fenômenos observados.

Em linhas gerais, a influência da atividade de água sobre a oxidação do caroteno segue o mesmo comportamento daquele estabelecido em sistema modelo de oxidação lipídica. A máxima estabilidade ocorre no valor monomolecular, onde as moléculas de água competem pelo mesmo sítio passível de oxidação.

A água, em teores intermediários, hidrata e insolubiliza metais catalizadores³¹. MALONEY et alii⁴¹ afirmaram que a água se liga a peróxidos tornando-os não disponíveis a decomposição.

MUNDAY et alii⁴⁷ calcularam que em muitos alimentos liofilizados existem 10^{15} radicais livres por grama, os quais aumentam com o tempo. A quantidade é proporcional ao teor de gordura e aumenta rapidamente quando exposto ao oxigênio. No entanto, a quantidade de radicais livres pode ser reduzida pela interação com água e essa redução continua a medida que o teor de água aumenta. Entretanto, um posterior aumento do teor de água, acelera novamente a velocidade de oxidação.

Nas atividades de água 0,2 e 0,3 observa-se uma diminuição dos teores de carotenóides, o que a primeira vista é contraditório, pois a água possui baixa mobilidade. Interessante observar-se que a faixa discordante do modelo Labuza, é entre 0,2 e 0,3 de atividade de água.

Entretanto o modelo Labuza foi desenvolvido para isotermas de sorção de água do tipo II. Na faixa de 0 a 0,3 de atividade de água, elas são côncavas em relação as abscissas. As isotermas do suco de laranja liofilizados são do tipo III na classificação de BRUNAUER ⁶ e são convexas em relação as abscissas.

A partir da atividade de água 0,3 ambas são convexas em relação as abscissas. A diferença na forma da isoterma evidencia que a água interage de modo diferente com o alimento.

Estes resultados são análogos aos obtidos por LABUZA ³⁸, que estudando o escurecimento não enzimático do soro de leite, observou que a velocidade máxima da reação ocorria numa atividade de água de 0,44, enquanto que a regra geral estabelece como sendo a atividade de 0,60. Assim como acontece no suco de laranja, o valor 0,44 de atividade de água era um valor pouco acima do valor de máxima estabilidade e de pouca mobilidade para água.

Através de microscopia eletrônica de varredura ficou demonstrado que a transição da lactose presente no soro do estado amorfo para o cristalino, permitiu a oclusão de água em microregiões, que propiciaram um meio adequado para que a lactose remanescente reagisse rapidamente com a proteína. Portanto, a possibilidade da existência de efeitos locais de não equilíbrio, explicaria a origem da maior mobilidade da água numa região onde teoricamente ela estaria com baixa atividade.

Os modelos de comportamento da oxidação lipídica, frente a diferentes atividades de água, foram desenvolvidos a partir de sistemas simples de 2 ou 3 componentes. No alimento a situação é complexa, pois simultaneamente estão ocorrendo, além da oxidação lipídica, uma série de outras reações ou interações entre açúcares, ácidos, micronutrientes, etc. Portanto, nossos resultados são indicadores de uma tendência, sem a pretensão de estabelecer modelos para a oxidação de carotenóides.

5.4 - INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE DE ÁGUA SOBRE O TEOR DE VITAMINA C

Nutricionalmente, o suco de laranja é uma excelente fonte de vitamina C. Nas variedades Pineapple e Valencia o teor de ácido ascórbico varia de 39,2 a 58,0mg/100 mL sendo que na fruta madura seu teor é maior na periferia e no centro ⁶¹.

O suco de laranja contém substancial quantidade de ácidos orgânicos, como por exemplo, cítrico e málico, o que resulta num baixo valor do pH, que exerce efeito estabilizante sobre o ácido ascórbico. O ácido cítrico, através da quelação de íons metálicos, exerce uma ação protetora contra a degradação da vitamina C. Cabe salientar que ocorre diminuição da estabilidade dessa vitamina com o aumento do valor do pH.

A degradação da vitamina C por via aeróbica, requer a presença do oxigênio, que pode estar dissolvido no produto, ou penetrar através do material de embalagem, ou ainda difundir-se do espaço livre, para o produto. Para sucos acondicionados em embalagens de produto longa vida, a fonte de oxigênio provém de resíduos de peróxido de hidrogênio, agente esterilizante aprovado pela FDA e usado na assepsia da embalagem. Como 1 mg de oxigênio decompõe cerca de 10 mg de vitamina C, pode-se estimar as perdas de vitamina, através de cada fonte de oxigênio.

A vitamina C pode ser degradada por via anaeróbica, onde o principal fator é a temperatura⁷⁰. Nessas condições o ácido ascórbico é descarboxilado, desidratado, produzindo furfural e CO₂⁴⁸.

Estudos realizados com suco de laranja, tipo longa vida, mostraram que a degradação anaeróbica foi responsável por 2/3 das perdas de vitamina C^{38,70}.

Os resultados do efeito da atividade de água sobre o teor de vitamina C, em três temperaturas, são mostrados na tabela 6 e ilustrados nas figuras 5 a 7.

De uma maneira geral, pode-se dizer que a vitamina C presente no suco de laranja, é uma substância estável, o que está de acordo com a literatura⁶.

Pelas figuras 5, 6 e 7, observa-se que nas três temperaturas ensaiadas, ocorre uma mudança na relação teor de vitamina C versus atividade de água. A 10°C,

TABELA 6. Teor de vitamina C, em amostras de suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias a diferentes umidades relativas a 10, 25 e 35°C.

10°C		25°C		35°C	
Umidade relativa (%)	Vitamina C (mg/100mL)	Umidade relativa (%)	Vitamina C (mg/100mL)	Umidade relativa (%)	Vitamina C (mg/100mL)
12,3	48,7	8,23	46,4	7,3	46,0
24,0	48,7	22,2	46,4	21,0	46,0
33,6	49,7	32,7	47,3	32,1	45,5
43,1	49,2	43,2	46,4	43,2	45,5
62,2	49,7	58,2	46,3	55,4	42,1
75,4	48,7	64,4	43,0	74,9	36,6
81,2	42,2	75,1	41,2	80,2	31,7
86,6	40,7	84,2	39,7	85,9	30,7
87,4	37,8	86,5	39,7

FIGURA 5. Teor de vitamina C do suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias, a diferentes umidades relativas a 10°C, em função da atividade de água.

FIGURA 6. Teor de vitamina C do suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias, a diferentes umidades relativas a 25°C em função da atividade de água.

FIGURA 7. Teor de vitamina C do suco de laranja liofilizado exposto por 10 dias, a diferentes umidades relativas a 35°C, em função da atividade de água.

25°C e 35°C essa mudança ocorre em valores de atividade de água de cerca de 0,75, 0,60 e 0,45 respectivamente.

Esse tipo de comportamento, pode significar que a partir de uma certa atividade de água crítica, entra em operação outro mecanismo de degradação.

Uma possível explicação seria a de que em atividades de água menores, a complexação entre ions metálicos e o ácido ascórbico é limitada pela baixa mobilidade do meio. Deve-se salientar, que o aumento da temperatura diminuiu a viscosidade do meio⁴⁰.

Comparando-se esses resultados com os do item 5.3, observa-se que, altas atividade de água diminui o teor de vitamina C com o aumento de carotenóides.

5.5 - INFLUÊNCIA DO VALOR DO pH SOBRE O TEOR DO LIMONENO, EM SOLUÇÕES DE LACTOSE LIOFILIZADAS

Padronização do método de determinação do limoneno

Em frascos de 73 mL foram adicionados 40 mL de água, e diferentes volumes de limoneno de maneira análoga a já descrita em 4.3, o que permitiu a construção da figura 8 que mostra área do pico normalizada (A/A_0) em função do volume de limoneno adicionado à água, a 30°C.

Obteve-se portanto, um sistema onde o volume do espaço livre (V) é 33 mL e o volume de líquido (L), igual a 40 mL.

FIGURA 8. Área do pico normalizada, em função do volume de limoneno adicionado a água, a 30°C.

A ordenada A/A_0 assume-se como sendo igual a Y/Y_0 , ou seja, a razão entre a fração molar do limoneno no vapor (Y) e a fração molar de limoneno no vapor acima de uma solução saturada (Y_0).

Como o limoneno adicionado ao frasco se distribuiu entre as fases, pode-se escrever:

$$\eta_S^0 = X^0 \eta_L + Y^0 \eta_V \quad \text{Eq. (1)}$$

onde:

η_S^0 = moles de limoneno adicionado ao frasco

η_L = moles de líquido no frasco

η_V = moles de vapor no frasco

X = fração molar de limoneno no líquido

Y = fração molar de limoneno no vapor

(o) = condição de saturação

Pode-se calcular o número de moles de limoneno adicionado ao frasco pela expressão:

$$\eta_S^0 = S^0 \times D_M \quad \text{Eq. (2)}$$

onde

η_S^0 = número de moles de limoneno adicionado ao frasco

S^0 = volume de limoneno adicionado ao frasco quando $A/A_0 = 1$

D_M = densidade molar do limoneno ($6,16 \times 10^{-6} \frac{\text{moles}}{\mu\text{L}}$),

Como a pressão de vapor é independente da pressão total acima do líquido, conhecendo-se o valor da pressão de vapor do limoneno (p) que é $2,63 \times 10^{-4}$ atm, pela expressão de Clapeyron:

$$pV = n_{\ell_v} RT \quad \text{Eq. (3)}$$

onde

R = Constante Universal dos gases perfeitos

(0,082 atm. /K.mol)

$T = 303$ K

$V = 0,033$ L

pode-se calcular o número de moles de limoneno (n_{ℓ_v}) no vapor.

Como $n_{\ell_v} = Y^O n_v$ substituindo em (1) tem-se o número de moles de limoneno no líquido.

Essa padronização do método, além de permitir estabelecer as condições adequadas de análise, possibilitou estimar-se a solubilidade do limoneno em água a 30°C , como sendo $1,14 \times 10^{-4}$ moles/L. Na literatura encontra-se o valor $1,01 \times 10^{-4}$ moles/L a 25°C ⁴².

Segundo FLINK ¹⁵ o valor de pH, durante o congelamento e liofilização, diminui em relação às soluções originais, devido a própria mecânica do congelamento, onde o gelo formado vai deixando nos interstícios uma solução cada vez mais concentrada de solutos e porque

há um aumento da concentração hidrogeniônica associado à remoção de água adsorvida durante a fase secundária de liofilização. Quanto mais diluída for a solução inicial, maior será a variação no valor de pH, em função da existência de maior quantidade de ions H^+ .

Na tentativa de avaliar-se os efeitos do congelamento, sobre o valor do pH, adicionou-se indicador universal de pH em diversas soluções de lactose tamponadas, observando-se mudança de coloração em algumas delas durante o congelamento. Os resultados são mostrados na tabela 7.

Portanto, mesmo soluções tamponadas podem sofrer alterações nos valores de pH, provocadas pelo congelamento.

SMYRL e Le MAGUER⁷³ estudando o efeito do valor de pH sobre a retenção dos voláteis, carbona, piperitona e eugenol, em soluções de sacarose liofilizadas, encontraram que a retenção aumentava a medida que se afastava do pH neutro. Esses resultados foram contestados por FLINK²⁹, que demonstrou que durante a liofilização da sacarose em pH ácido, devido ao aumento da concentração hidrogeniônica, ocorre hidrólise da mesma, e a seguir por desidratação, a frutose transforma-se em hidroximetil furfural, substância precursora de reações de escurecimento. Como esses compostos absorvem a 280 nm, ou seja, no mesmo comprimento de onda, no qual foi avaliado o teor dos voláteis, sua retenção pode ter sido superestimada.

TABELA 7. Valor do pH, de algumas soluções de lactose em tampão, antes e depois do congelamento.

Natureza do Tampão	Valor do pH	
	Inicial	Após congelamento
Citrato-fosfato	7,0	5,5
Bórax	8,0	7,0
Bórax	9,0	7,0
Cacodilato	7,0	5,5
Fosfato	7,0	5,5

Emulsões preparadas com 0,5, 1, 2, 3 e 4 μ l de limoneno em 10 ml de solução de lactose também foram observadas microscópicamente. As fotomicrografias 1 e 2 representam as condições onde se emulsionou 2 e 3 μ l, respectivamente.

A aparência dos glóbulos, é típica de emulsões de hidrocarbonetos alifáticos. Deve-se salientar que emulsões contendo hidrocarbonetos aromáticos formam aglomerados, ou seja, os glóbulos se associam na forma de cachos, semelhantes aos de uva, que apresentam maior estabilidade contra a coalescência.

A emulsão do limoneno não apresenta aglomerados, sendo portanto, instável, favorecendo a coalescência ¹⁸.

A emulsão de dois líquidos sem um estabilizante se separa em duas fases. A fim de estabilizar a emulsão, substâncias devem ser adicionadas de modo a interferir nas propriedades da interface formando uma barreira energética que evitará o contato entre as gotas emulsionadas, retardando a coalescência ³⁹. Considerando-se que a velocidade de sedimentação, bem como a de colisão entre partículas são inversamente proporcionais à viscosidade da fase contínua, as emulsões de limoneno com até 3 μ l/10mL permaneceram estáveis por pelo menos 5 horas, quando mantidas a 0°C (comprovado por observações microscópicas).

Através das observações microscópicas das emulsões nota-se que para a maior concentração de limoneno utilizada, várias gotículas apresentaram maior diâmetro.

100 μm

FOTOMICROGRAFIA 1. Emulsão de 2 μl de limoneno em solução de lactose.

100 μm

FOTOMICROGRAFIA 2. Emulsão de 3 μl de limoneno em solução de lactose.

Analisando-se a tabela 8, evidencia-se que nas amostras onde se emulsionou 2 mL de limoneno em 10 mL da solução de lactose, a retenção foi menor, independentemente do valor de pH ou natureza do tampão.

Pode-se explicar tal fato pela formação de gotas maiores de limoneno que não caberiam nos poros do liofilizado (matriz), ficando isoladas no meio da água congelada, sendo facilmente removidas na liofilização.

Quando comparamos os resultados oriundos dos volumes 0,5 e 1 mL de limoneno, observa-se que para os volumes de 1 mL as áreas são maiores com uma exceção que foi quando se utilizou bórax em valor de pH igual a 9.

Em todas as concentrações admite-se que também ocorra perda da parte de limoneno que inicialmente estava dissolvido na solução, mas que separa-se quando do congelamento da água.

Esses resultados levam a supor que, com o aumento da quantidade de limoneno adicionado, formam-se gotas maiores, e que deve haver uma quantidade crítica que pode ser adicionada acima da qual ocorre aumento das perdas.

Na maioria dos tampões, nos diferentes valores de pH, a retenção observada foi ligeiramente menor nas amostras emulsionadas com 0,5 mL, mostrando que ao contrário do que ocorre em soluções homogêneas¹², a re-

TABELA 8. Efeito do valor do pH e da concentração inicial do limoneno e da natureza do tampão, sobre a retenção do limoneno emulsionado em soluções de lactose, após a liofilização.

Natureza do tampão	Concentração expressa em área (mm ²)		
	Volume de limoneno adicionado às soluções (mL)		
	0,5	1,0	2,0
pH = 4,0			
Acetato	185	243	40
Aconitato	189	463	45
Citrato	204	216	43
Citrato-fosfato	151	582	50
Succinato	165	270	72
pH = 4,6			
Acetato	165	315	67
Aconitato	178	495	58
Citrato	190	216	42
Citrato-fosfato	180	324	52
Ftalato	250	300	30
Succinato	165	328	48
pH = 6,0			
Citrato	189	225	32
Fosfato	213	261	50
Succinato	290	369	57
Cacodilato	225	288	63
Ftalato	168	315	62

Continua

Continuação da Tabela 8

Natureza do tampão	Concentração expressa em área (mm ²)		
	Volume de limoneno adicionado às soluções (mL)		
	0,5	1,0	2,0
pH = 7,0			
Fosfato	274	292	51
Citrato-fosfato	197	387	38
Cacodilato	248	427	81
pH = 8,0			
Bórax	248	220	38
Fosfato	202	378	48
Tris	194	310	72
pH = 9,0			
Tris	253	297	38
Bórax	230	200	154

tenção é influenciada pela concentração inicial. Os resultados são semelhantes aos obtidos por MASSALDI e KING^{44,45}.

5.6 - ISOTERMAS DE SORÇÃO DE UMIDADE

As isotermas de sorção de umidade, do mesmo produto, obtida por diferentes laboratórios, frequentemente diferem entre si. Isso se deve ao fato de que a exata posição e a forma de uma isoterma dependem de uma série de fatores, tais como, composição, histórico e metodologia. Por isso GAL¹⁹ considera que as isotermas de outros autores não devem ser usadas, a menos que todos os dados relevantes sejam citados e que haja uma semelhança muito grande entre as substâncias na qual foi determinada a isoterma e aquela que está sendo objeto de estudo. Essa condição dificilmente é plenamente preenchida, o que intensifica a importância da determinação das isotermas de todos os materiais envolvidos num estudo de processo ou controle de qualidade.

Com o objetivo de avaliar a metodologia utilizada, determinou-se a isoterma de adsorção de umidade a 25°C (Fig. 9), usando-se celulose microcristalina, substância selecionada como material de referência em estudo colaborativo entre 32 laboratórios Europeus, projeto coST-90⁷⁴ (*).

*European Cooperation in Scientific and Technical Research.

FIGURA 9. Isoterma de adsorção de água da celulose micro cristalina, a 25°C.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os obtidos pelo projeto COST-90 (Tabela 9), observa-se que eles são semelhantes, mesmo considerando-se que não se trabalhou em condições idênticas.

Os resultados do COST-90, representam a média de 80 determinações entre os 32 laboratórios participantes do estudo. Os valores de umidade de equilíbrio variaram em até $\pm 0,30$ g/100g de matéria seca em relação ao valor médio. Os valores obtidos neste trabalho variaram em até $\pm 0,25$ g/100g de matéria seca, em relação à média do COST-90.

Alicando-se a equação de Guggenheim-Anderson-De Boer, modelo G.A.B. aos resultados obtidos neste trabalho e aqueles obtidos no COST 90 obteve-se os valores constantes da tabela 10.

$$\frac{W}{W_m} = \frac{C \cdot K \cdot A_a}{(1 - K A_a) (1 - K A_a + C K A_a)} \quad \text{Eq. (4)}$$

onde:

A_a = atividade de água;

W = teor de umidade % m/m base seca;

W_m = valor monomolecular, teor de umidade correspondente à saturação dos sítios primários por uma molécula de água, % m/m base seca;

C = Constante de Guggenheim = $C^0 \exp (H_q - H_m) / RT$;

H_q = calor total de sorção das multicamadas, (kcal/mol)

H_m = calor de sorção da monocamada, (kcal/mol);

TABELA 9. Isoterma de adsorção de água da celulose micro-cristalina a 25°C.

Atividade de água	Teor de Umidade(%m/m base seca)	
	Presente trabalho	COST-90
0,1	1,75	2,00
0,2	2,90	3,00
0,3	4,00	3,75
0,4	4,80	5,00
0,5	5,85	5,60
0,6	6,80	6,75
0,7	8,00	8,00
0,8	10,00	10,00

TABELA 10. Constantes do modelo G.A.B. obtidas sobre os dados de sorção de água da celulose microcristalina, a 25°C.

	Presente trabalho	COST-90
W_m (%m/m base seca)	4,63	4,53
C	8,16	8,48
K	0,650	0,660
S (m^2 /g matéria seca)	162,05	158,55

k = fator de correção;

$$K = k^0 \exp(H_c - H_t);$$

H_c = calor de condensação do vapor de água (kcal/mol).

Para resolução da equação (4) transforma-se a mesma em:

$$\frac{Aa}{W} = \alpha A_a^2 + \beta A_a + \gamma \quad \text{Eq. (5)}$$

com

$$\alpha = \frac{K}{W_m} \left| \frac{1}{C} - 1 \right| \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\beta = \frac{1}{W_m} \left| 1 - \frac{2}{C} \right| \quad \text{Eq. (7)}$$

$$\gamma = \frac{1}{W_m \cdot C \cdot K} \quad \text{Eq. (8)}$$

Através de uma regressão quadrática aos valores experimentais obtém-se α , β e γ ; resolvendo-se o sistema de equações, obtém-se os valores de W_m , C e K ⁵.

Uma vez conhecido o teor de umidade correspondente à monocamada, pode-se calcular a área da superfície sólida:

$$S = W_m \cdot \frac{1}{PM_{\text{água}}} \cdot (N) \cdot (A_{\text{água}})$$

onde:

$$\begin{aligned}
 S &= \text{área da superfície sólida (m}^2\text{/g)} \\
 PM_{\text{água}} &= \text{peso molecular da água (18 g/mol)} \\
 N &= \text{número de Avogadro (6.10}^{23}\text{)} \\
 A_{\text{água}} &= \text{área da molécula de água (10,6.10}^{-20}\text{ m}^2\text{)}
 \end{aligned}$$

5.7 - ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE UMIDADE DO SUCO DE LARANJA LIOFILIZADO

A figura 10 representa a isoterma típica encontrada nas três temperaturas para o suco de laranja liofilizado. Os dados de sorção de umidade são apresentados na tabela 11.

As isotermas encontradas são do tipo III segundo BRUNAUER et alii ¹, isto é, as curvas obtidas são convexas em relação ao eixo das abscissas. Mesmo para baixos teores de umidade, a mesma exerce pressão de vapor relativamente elevada, estando portanto, disponível para reações de deterioração.

5.8 - CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES DE SORÇÃO DE ÁGUA DAS MALTO-DEXTRINAS M-10 E M-20 E DA LACTOSE

A tabela 12 apresenta dos dados da isoterma de adsorção de umidade dos aditivos M-10 e M-20, bem como da lactose, naturais e após a liofilização. A representação gráfica desses resultados encontra-se nas figuras 11, 12 e 13.

FIGURA 10. Isoterma típica de adsorção de água do suco de laranja liofilizado.

TABELA 11. Isotermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado nas temperaturas de 10, 25 e 35°C.

10°C			25°C			35°C		
Atividade de água	Teor de Umidade (%m/m base seca)	Atividade de água	Teor de Umidade (%m/m base seca)	Atividade de água	Teor de Umidade (%m/m base seca)	Atividade de água	Teor de Umidade (%m/m base seca)	Atividade de água
0,123	1,50	0,823	0,01	0,073	0,66			
0,246	3,20	0,222	2,00	0,210	1,85			
0,336	7,10	0,327	4,52	0,321	4,43			
0,431	11,52	0,432	5,66	0,432	8,50			
0,624	23,20	0,582	15,43	0,554	13,11			
0,754	38,91	0,751	30,96	0,749	40,50			
0,874	63,29	0,842	50,00	0,802	45,70			
		0,865	55,16	0,826	51,29			
				0,859				

TABELA 12. Isotermas de adsorção de umidade dos aditivos M-10, M-20 e lactose a 25°C, na forma natural e liofilizada.

Atividade de água	Teor de Umidade (% base seca)					
	M-10		M-20		Lactose	
	Natural	Liofilizado	Natural	Liofilizado	Natural	Liofilizado
0,083	3,13	2,00	3,18	2,20	0,71	1,25
0,222	4,72	6,10	5,36	5,65	0,75	3,96
0,327	6,24	7,70	5,90	5,94	0,69	5,94
0,432	7,59	9,55	8,06	7,14	0,62	8,15
0,582	8,95	10,51	10,68	9,44	0,81	1,84
0,751	15,24	14,70	18,65	15,93	0,85	2,13
0,842	21,99	19,21	24,11	21,34	1,03	2,38
0,865	23,80	21,33	26,86	26,69	1,02	2,51

FIGURA 11. Isotermas de adsorção de água da malto dextrina M-20, natural e liofilizada, a 25°C.

FIGURA 12. Isotermas de adsorção de água da malto dextrina M-10, natural e liofilizado, a 25°C.

FIGURA 13. Isotermas de adsorção de água da lactose natural e liofilizada, a 25°C.

Comparando-se cada material, em função do processo de liofilização, tem-se que: para a M-20, a liofilização não alterou a forma da isoterma, apresentando-se ambas como sendo do tipo II, na classificação de B.E.T.

Pela figura 11 observa-se que, para valores de atividade de água entre 0 e 0,35, as isotermas são semelhantes. Para valores maiores que 0,35 a amostra liofilizada, apresenta menores valores de água absorvida.

Pela tabela 12 e figura 12 verifica-se que as isotermas da M-10 natural e liofilizada entrecruzam-se em função da atividade de água, apresentando-se como sendo do tipo II na classificação de B.E.T.

Aos dados experimentais das isotermas de adsorção das malto dextrinas, aplicou-se os modelos G.A.B. e B.E.T. ^{5,6}.

O modelo B.E.T. equação descrita por Bunneuer-Emmett-Teller é o seguinte:

$$\frac{A_a}{W(1-A_a)} = \frac{1}{W_m \cdot C'} + \frac{C + 1}{W_m \cdot C'} A_a$$

Eq. (9)

onde:

C' = constante relacionada com o calor de adsorção da monocamada

W = teor de umidade (% m/m base seca)

W_m = valor monomolecular (% m/m base seca)

A_a = atividade de água

Pelas tabelas 13 e 14 observa-se que os valores monomoleculares da M-20 pouco se alteraram após a liofilização, com a utilização dos modelos B.E.T. e G.A.B. Entretanto, para a M-10 verifica-se que os liofilizados apresentaram maiores valores nos dois modelos.

Os valores C' (Tabela 13) e de C (Tabela 14) foram menores para os liofilizados, tanto para a M-10 como para a M-20, nos dois modelos.

Esses resultados permitem supor que o processo de liofilização enfraqueceu a energia de ligação das moléculas de água na monocamada.

Pela tabela 12 e figura 13 verifica-se que a lactose cristalina é um produto não higroscópico. A lactose liofilizada absorve quantidade crescente de umidade, até a atividade de água de 0,432; a partir de valor 0,582 ela se torna não higroscópica, evidenciando o fenômeno da recristalização. As fotomicrografias 3 e 4 representam a lactose natural sob luz polarizada e a liofilizada. Constatou-se que após a liofilização, a lactose não pode ser observada sob luz polarizada, evidenciando a mudança na morfologia, de cristalina para amorfa.

Não existem ainda métodos econômicos para a produção de substâncias amorfas. O estado amorfo pode resultar de processos como a fusão seguida de rápida solidificação, como por exemplo, em extrusão. Também pode ser obtido na secagem rápida como a que ocorre nos rolos de secagem e nos atomizadores. Na liofilização o estado

FOTOMICROGRAFIA 3. Lactose, sob luz polarizada antes da liofilização (125X).

FOTOMICROGRAFIA 4. Lactose liofilizada (125X).

TABELA 13. Constantes da equação de B.E.T. obtidas sobre os dados de sorção de água das malto-dextrinas a 25°C.

Constantes	M-10		M-20	
	Natural	Liofilizada	Natural	Liofilizada
W_m (%m/m base seca)	4,81	7,42	4,31	4,42
C'	12,82	4,91	55,91	13,81
S (m ² /g matéria seca)	168,52	259,88	150,84	154,70

TABELA 14. Constantes do modelo G.A.B. obtidas sobre os dados de sorção de água das malto-dextrinas a 25°C.

Constantes	M-10		M-20	
	Natural	Liofilizada	Natural	Liofilizada
W_m (%m/m base seca)	4,59	10,70	4,83	5,11
C	22,09	5,40	25,52	11,30
K	0,896	0,546	0,924	0,850
S (m ² /g matéria seca)	159,6	374,5	169,0	178,85

amorfo se deve a inibição do crescimento dos cristais, durante o congelamento.

NIEDIEK ⁴⁹ relata que, ROTH estudando o comportamento higroscópico da sacarose moída, observou que ela se apresentava no estado parcialmente amorfo.

O desenvolvimento de uma tecnologia eficiente e barata na produção de substâncias amorfas, encontrará um amplo mercado no setor alimentício, em função das propriedades funcionais dos sólidos amorfos. Dentre elas citam-se: redução de atividade de água durante o armazenamento; deformação em baixas temperaturas que consiste na transição vítrea, propriedade utilizada na fabricação de bombons; aumento da solubilidade, observou-se que a lactose liofilizada solubiliza-se instantaneamente, ao contrário da cristalina.

5.9 - ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE ÁGUA DO SUCO DE LARANJA ADITIVADO LIOFILIZADO E DE MISTURAS MECÂNICAS DE SUCO LIOFILIZADO COM ADITIVOS

As tabelas 15 a 17 apresentam os teores de umidade em função da atividade de água, tanto de suco aditivado liofilizado, como de misturas mecânicas de suco liofilizado com aditivos M-10, M-20 e lactose respectivamente. Os resultados estão graficamente representados nas figuras 14 a 16.

TABELA 15. Isotermas de adsorção de água a 25°C do suco de laranja aditivado liofilizado, e de misturas mecânicas de suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado, na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. (Aditivo: M-10)

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)				Diferença A - B
	Mistura Mecânica		B) Suco aditivado liofilizado		
	Suco liofilizado com aditivo natural	A) Suco liofilizado com aditivo liofilizado			
0,0823	0,360	0,65	0,01	0,64	
0,222	4,20	3,90	1,00	2,90	
0,327	6,24	5,83	2,01	3,82	
0,432	8,98	8,24	5,20	3,04	
0,582	13,31	12,12	8,20	3,92	
0,751	26,51	24,06	21,44	2,61	
0,842	39,40	37,50	31,46	6,04	
0,865	48,60	43,40	39,18	4,22	

TABELA 16. Isotermas de adsorção de água a 25°C do suco de laranja aditivado liofilizado, e de misturas mecânicas de suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado, na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. (Aditivo: M-20)

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)			Diferença A - B
	Mistura Mecânica		B) Suco aditivado liofilizado	
	Suco liofilizado com aditivo natural	A) Suco liofilizado com aditivo liofilizado		
0,0823	0,32	0,98	0,01	0,97
0,222	3,95	3,50	1,30	2,20
0,327	5,73	5,09	1,71	3,38
0,432	8,54	7,00	4,32	2,68
0,582	14,50	12,37	6,82	5,55
0,751	28,00	26,00	22,42	3,58
0,842	41,82	41,10	33,60	7,50
0,865	48,55	47,16	38,47	8,69

TABELA 17. Isotermas de adsorção de água a 25°C do suco de laranja aditivado liofilizado, e de misturas mecânicas de suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado, na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. (Aditivo:Lactose)

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)			Diferença A - B
	Mistura Mecânica		B) Suco aditivado liofilizado	
	Suco liofilizado com aditivo natural	A) Suco liofilizado com aditivo liofilizado		
0,0823	0,01	1,25	0,01	1,24
0,222	0,90	3,60	1,20	2,40
0,327	2,97	5,00	2,38	2,62
0,432	5,82	8,22	4,56	3,66
0,582	8,81	10,48	7,24	3,24
0,751	18,44	21,36	14,21	2,15
0,842	29,90	36,74	30,60	6,14
0,865	33,08	38,64	33,99	4,65

FIGURA 14. Isotermas de adsorção de água, a 25°C do suco de laranja aditivado liofilizado, e de misturas mecânicas do suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. Aditivo: M-10.

FIGURA 15. Isotermas de adsorção de água, a 25°C, do suco de laranja aditivado liofilizado e de misturas mecânicas do suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. Aditivo: M-20.

FIGURA 16. Isotermas de adsorção de água, a 25°C do suco de laranja aditivado, liofilizado e de misturas mecânicas de suco liofilizado com aditivo natural e liofilizado na proporção de 7 partes de suco para 5 partes de aditivo. Aditivo: lactose.

Nas tabelas 15 e 16 observa-se que nos casos de mistura mecânica, o valor de adsorção de umidade tende a ser semelhante tanto na utilização de aditivo natural quanto liofilizado, exceto para o menor valor de atividade de água.

Na tabela 17 verifica-se que para a mistura mecânica os valores de absorção de umidade são menores quando se utiliza aditivo natural.

Ainda nas tabelas 15 a 17 observa-se que os teores de umidade de equilíbrio nas misturas liofilizadas são menores que nas misturas mecânicas com aditivos liofilizados, sendo que essas diferenças proporcionalmente tendem a diminuir com o aumento da atividade de água.

Supõe-se que, em todos os casos, ocorra algum tipo de interação entre os componentes do suco e os aditivos, ocasionando a menor higroscopicidade nas misturas liofilizadas. Admite-se ainda que, tanto a lactose como os açúcares presentes nos aditivos e no suco possam formar estruturas amorfas durante a liofilização que, com o passar do tempo, iriam absorver umidade e se cristalizar, liberando água para os demais componentes. Já no caso das misturas mecânicas, essas interações seriam menores ou não existiriam.

CHINACHOTI et alii¹⁰ calcularam a interação entre o amido e a sacarose durante a liofilização, comparando a quantidade de água absorvida isoladamente por esses componentes. Essa interação foi atribuída à sacarose

amorfa presente no liofilizado.

CARRILLO et alii⁹ estudaram a interação entre o Hylon 7 (amido de milho com 63% de amilose) e a sacarose durante a liofilização, utilizando isotermas de adsorção, difração de raios-X, e um modelo físico-químico que avalia o grau de formação de agregados de molécula de água. Outrossim, compararam isotermas das misturas liofilizadas com misturas mecânicas dos componentes. Observaram que na liofilização a sacarose interage com Hylon 7 diminuindo o número de sítios ativos, o que é um resultado semelhante ao obtido com o suco de laranja.

As citações de CHINACHOTI et alii¹⁰ e CARRILLO et alii⁹, bem como, os resultados obtidos com o suco de laranja e aditivos, podem numericamente ser observadas nas colunas "diferença" da tabelas 15 a 17.

5.10 - UMIDADE ADSORVIDA EM FUNÇÃO DO TEMPO

A tabela 18 apresenta os resultados de umidade adsorvida pelo suco de laranja com e sem aditivos em função do tempo, nas umidades relativas 58 e 75% e a 25°C. Nas figuras 17 e 18 tem-se a representação gráfica desses resultados.

Para as duas umidades relativas experimentadas, observa-se que a adsorção foi maior para o suco liofilizado e menor para as amostras contendo malto-dextrinas, ficando a amostra com lactose numa situação intermediária.

TABELA 18. Umidade adsorvida em função do tempo para o suco de laranja liofilizado com e sem aditivos quando submetidos a 58 e 75% de umidade relativa, a 25°C.

Umidade Relativa (%)	Água Adsorvida (% m/m base seca)			
	Tempo (h)			
	3	6	9	24
Suco liofilizado				
58	1,80	3,48	4,36	6,94
75	3,70	6,11	7,60	12,00
Suco liofilizado com M-10				
58	1,00	1,86	2,41	5,56
75	1,59	2,70	3,71	7,36
Suco liofilizado com M-20				
58	1,03	2,05	2,66	5,77
75	1,49	2,53	3,51	6,60
Suco liofilizado com Lactose				
58	1,29	2,16	2,91	6,47
75	2,12	3,62	5,02	9,09

FIGURA 17. Adsorção de água em função do tempo do suco de laranja liofilizado e do suco de laranja aditivado liofilizado, com M-10, M-20 ou lactose, expostos a ambiente com 75% de umidade relativa, a 25°C.

FIGURA 18. Adsorção de água em função do tempo, do suco de laranja liofilizado, e do suco de laranja aditivado liofilizado, com M-10, M-20 ou lactose, expostos a ambiente com 58% de umidade relativa, a 25°C.

Durante os ensaios observou-se que o colapso nos liofilizados ocorreu na seguinte sequência: laranja, laranja com lactose, laranja com M-20 e laranja com M-10. Nota-se dos sucos com aditivos, que quanto maior o peso molecular dos mesmos, melhor a performance dessas misturas quanto ao retardamento do colapso.

Pela tabela 18 também se observa que tanto o aumento do tempo como o maior valor de umidade relativa, ambos promovem maior absorção de umidade em todos os produtos experimentados. Verifica-se também que o suco liofilizado adicionado de M-20 foi aquele que sofreu menor influência da variação da umidade relativa de 58 para 75%.

5.11 - EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE AS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO DE ÁGUA

As tabelas 19 a 21 apresentam os resultados das isotermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado e dos sucos aditivados com M-10, M-20 e lactose a 10, 25 e 35°C, respectivamente.

Em relação ao suco de laranja liofilizado, pela figura 19 observa-se que a quantidade de água absorvida no equilíbrio diminui a medida que a temperatura aumenta de 10 para 25°C, permanecendo praticamente constante com o aumento de temperatura para 35°C.

As misturas liofilizadas (Figs. 20 a 22) apresentam um comportamento distinto para diferentes

TABELA 19. Isotermas de adsorção de água do suco de laranja e das misturas liofilizadas, com aditivos M-10, M-20 e lactose (10% m/v) a 10°C

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)			
	Laranja	Laranja com M-10	Laranja com M-20	Laranja com Lactose
0,123	1,50	0,60	0,72	0,40
0,246	3,20	1,25	2,62	2,26
0,336	7,10	3,16	4,03	2,80
0,431	11,52	6,50	7,17	7,20
0,624	23,20	9,49	11,39	11,54
0,754	38,91	24,09	27,12	21,34
0,874	63,29	43,87	43,87	36,84

TABELA 20. Isotermas de adsorção de água, do suco de laranja e das misturas liofilizadas, com aditivos M-10, M-20 e lactose (10% m/v) a 25°C

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)			
	Laranja	Laranja com M-10	Laranja com M-20	Laranja com Lactose
0,0823	0,01	0,01	0,01	0,01
0,222	2,00	1,00	1,30	1,20
0,327	4,52	2,01	1,71	2,38
0,432	5,66	5,20	4,32	4,56
0,582	15,43	8,20	6,82	7,24
0,751	30,96	21,44	22,42	19,21
0,842	50,00	31,46	33,60	30,60
0,865	55,16	39,18	38,47	33,99

TABELA 21. Isotermas de adsorção de água, do suco de laranja e das misturas liofilizadas, com aditivos M-10, M-20 e lactose (10% m/v) a 35°C

Atividade de água	Teor de Umidade (% m/m base seca)			
	Laranja	Laranja com M-10	Laranja com M-20	Laranja com Lactose
0,073	0,66	0,51	0,40	0,00
0,210	1,85	2,54	1,80	1,20
0,321	4,43	4,11	3,88	3,89
0,432	8,50	5,49	5,67	6,87
0,554	13,11	7,20	8,02	8,11
0,749	32,66	22,88	24,61	20,26
0,802	40,50	29,48	31,00	26,40
0,826	45,70	31,80	34,81	29,20
0,859	51,29	35,78	37,61	33,12

FIGURA 19. Isotermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado a 10, 25 e 35°C.

FIGURA 20. Isothermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado aditivado com M-10, a 10, 25 e 35°C.

FIGURA 21. Isotermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado, aditivado com M-20, a 10, 25 e 35°C.

FIGURA 22. Isotermas de adsorção de água do suco de laranja liofilizado, aditivado com lactose a 10, 25 e 35°C.

regiões das isotermas, em relação a variação da temperatura.

A figura 20 que representa o liofilizado com M-10, apresenta uma relação inversa entre a água absorvida e a temperatura na faixa intermediária de atividade de água, ou seja, entre os valores 0,45 e 0,70. Observando-se o trecho inicial das isotermas nota-se que praticamente não houve influência da temperatura.

No caso das amostras aditivadas com M-20, o comportamento observado entre 10 e 25°C, foi o comumente encontrado, ou seja, com o aumento de temperatura, há uma diminuição na quantidade de água absorvida. A 35°C, a absorção foi maior que a 10°C até o valor 0,4 de atividade de água, permanecendo a partir daí numa situação intermediária entre as isotermas obtidas a 10 e a 25°C. As amostras com lactose, comportam-se de maneira semelhante as aditivadas com M-20, sendo que a situação intermediária se inicia no valor 0,6 de atividade de água.

Nas temperaturas de 10 e 25°C, para todas as amostras, as observações estão de acordo com a tendência geral das isotermas de adsorção de água dos alimentos. A 35°C as diferenças de comportamento, se devem ao fato de que sendo o alimento uma estrutura complexa, operando-se a uma maior temperatura, algumas alterações irreversíveis termicamente induzidas podem ocorrer, modificando as propriedades de sorção de água do sistema. Mudança de fase dos componentes, bem como dissolução dos açúcares, são fatores determinantes nas alterações das característi-

cas de sorção. A dissolução dos açúcares, um processo endotérmico, aumenta significativamente com o aumento da temperatura, contrabalançando o efeito oposto, sobre a sorção dos demais componentes do liofilizado.

Ao fenômeno de adsorção de água, ajusta-se a equação de Clausius-Clapeyron, o que permite prever valores de sorção de água em outras temperaturas:

$$\ln A_a = \frac{-\Delta H_a}{RT} \quad \text{Eq. (10)}$$

onde:

A_a = atividade de água

ΔH_a = calor de adsorção de água (kcal/mol)

R = constante dos gases (1,987 cal/kmol)

T = temperatura (K)

Para se determinar ΔH_a , a isoterma de adsorção deve ser determinada em duas temperaturas: no entanto, para a obtenção de uma melhor estimativa, um maior número de temperaturas deve ser empregado.

Aos dados experimentais das tabelas 19 e 20, aplicou-se a equação de Clausius-Clapeyron.

Na tabela 22 tem-se o calor isostérico de adsorção de água em função do teor de umidade para os diferentes liofilizados.

A figura 23 representa o calor total de adsorção em função do teor de umidade para os diferentes liofilizados. A linha horizontal representa o calor latente de vaporização da água.

TABELA 22. Calor isostérico de adsorção de água do suco de laranja liofilizado e do suco de laranja liofilizado aditivado com M-10, M-20 ou lactose.

Teor de Umidade (% m/m base seca)	Calor Isostérico (Kcal/mol)			
	Laranja	Laranja com M-10	Laranja com M-20	Laranja com Lactose
5	4,2	5,2	3,2	2,1
10	3,1	2,3	1,7	0,80
15	2,9	1,3	1,6	0,51
20	2,3	0,6	1,5	0,31
25	1,7	0,5	1,4	0,15
30	1,4	0,4	1,3	0,12

FIGURA 23. Calor total de adsorção em função do teor de umidade do suco de laranja liofilizado e do suco aditivado e liofilizado com M-10, M-20 ou lactose.

O comportamento do suco de laranja liofilizado é semelhante ao do "grapefruit"³, ou seja, o calor total de adsorção diminui à medida que aumenta o teor de umidade.

Observa-se através da figura 23, que ao nível de 5% de umidade, o calor total de adsorção foi maior para os liofilizados com malto-dextrina. No suco contendo lactose, os valores foram menores para todos os teores de umidade. O comportamento foi semelhante ao encontrado por PITOMBO et alii⁵⁶ em estudo sobre o efeito da adição de açúcar sobre as isotermas de adsorção de água do café liofilizado, onde também observaram que o calor de adsorção praticamente não variou com os diferentes teores de umidade. Essa pequena variação do calor total significa que nestes produtos a adsorção é um processo cooperativo, onde a água absorvida facilita a adsorção de outras moléculas. Para valores de umidade maiores que 10% todas as amostras com aditivos apresentam menores valores de calor de adsorção que do liofilizado puro.

Os principais constituintes com os quais a água interage são açúcares e polímeros tais como: proteínas, amido, celulose, hemicelulose. Os grupos polares dessas substâncias possuem graus distintos de afinidade pela água. Os polímeros, à medida que adsorvem água sofrem alterações de constituição e dimensão, refletindo na modificação de suas propriedades. O fenômeno de sorção de água, produz mudança de fase dos açúcares. Portanto, a ocorrência simultânea desses eventos dificultam a interpretação das curvas de calor isostérico de sorção de água.

5.12 - VISÃO GERAL DOS RESULTADOS

Analisando-se as isotermas, bem como a adsorção de água em função do tempo, observa-se que o suco de laranja liofilizado é bastante higroscópico.

A composição do suco revela que quase 90% do liofilizado constituem-se de açúcares que são substâncias favoráveis à formação de pontes de hidrogênio, o que explica a sua alta afinidade pela água.

QUADRO 2

Determinação	Composição aproximada do suco de laranja (% m/m base seca)
Proteína	5,1
Gordura	1,7
Carboidratos:	
solúveis	88,9
insolúveis	0,84
Cinzas	5,9

Durante as determinações das isotermas de adsorção água, observou-se que as amostras de suco de laranja liofilizado entraram em colapso com um teor de umidade menor ou igual a 3,20, 2,00 e 1,85% m/m base seca, a 10, 25 e 35°C, respectivamente.

TSOUROUFLIS et alii⁶⁹ determinaram pelo método das ampolas, as temperaturas de colapso do suco de laranja liofilizado, com diversos teores de umidade. (Quadro 3).

Determinou-se a temperatura de colapso de modo análogo ao descrito por TSOUROUFLIS et alii⁶⁹ para o teor de umidade de 0%, obtendo-se o mesmo resultado, 52°C.

Observando-se o Quadro 3, chama a atenção, o fato da temperatura de colapso ter sido 10°C para liofilizados com 9,20% de umidade, enquanto que neste trabalho obteve-se valor igual ou menor que 3,20% de umidade. Uma possível explicação para tal discrepância pode ser a diferente sistemática adotada, ou seja, enquanto neste trabalho na determinação das isotermas, a umidificação ocorreu a 10°C, TSOUROUFLIS et alii⁶⁹ umidificaram a 0°C para posteriormente elevar a temperatura.

Relacionando esse fato com a retenção de voláteis, cabe salientar que TO⁷⁵ ao estudar soluções de lactose liofilizadas, observou que a perda de voláteis foi maior quando a matriz sólida entrou em colapso pela absorção de umidade à temperatura constante, do que quando

QUADRO 3. Temperatura de colapso do suco de laranja liofilizado, congelamento lento, em diversos teores de umidade segundo TSOUROUFLIS et alii ⁶⁹

Teor de Umidade (% m/m base seca)	Temperatura (°C)
0	52
1,33	36
1,50	32
2,62	30
4,05	20
6,08	16
8,85	11
9,20	10

esse fenômeno ocorreu pelo aumento da temperatura em umidade constante. TO^{75} atribuiu que a maior perda de voláteis se deve à recristalização da lactose após o colapso, devido à adsorção de umidade.

Do exposto, pode-se supor que no suco de laranja ocorra alguma alteração de fase.

O suco empregado no presente trabalho, contém 5% v/v de polpa. As características de sorção de umidade da polpa são mostradas e comparadas com as do farelo de aveia no Quadro 4. A representação gráfica desses resultados encontram-se na figura 24.

Aplicou-se o modelo G.A.B aos dados do Quadro 4, o que permitiu a construção da tabela 23.

As isotermas de adsorção de água da polpa e da aveia são do tipo II, isto é, apresentam-se na forma sigmoidal. Elas podem ser divididas em três regiões. A região inicial, para atividades de água até 0,25 que corresponde à adsorção monomolecular; a região intermediária para as atividades de água entre 0,25 e 0,65 que corresponde à adsorção em multicamadas e, finalmente uma terceira região, para as atividades maiores que 0,65, onde tem-se a água condensada.

Comparando-se a polpa com o farelo de aveia, verifica-se que as isotermas são semelhantes nas duas regiões iniciais, possuindo inclusive valores monomoleculares iguais. Na terceira região observa-se que a polpa absorve mais água condensada que o farelo.

FIGURA 24. Isothermas de adsorção de água da polpa de laranja e farelo e aveia a 23°C.

QUADRO 4. Isotermas de sorção de umidade a 23°C, polpa cítrica e farelo de aveia *

Atividade de Água	Teor de Umidade (%m/m base seca)	
	Polpa	Aveia
0,11	3,50	3,74
0,22	5,08	5,19
0,33	5,83	6,56
0,44	8,07	8,11
0,52	8,56	8,59
0,65	12,89	11,12
0,75	16,56	12,78
0,85	19,89	16,16

* LABUZA 37

TABELA 23. Constantes do modelo G.A.B., obtidas sobre os dados de sorção de umidade da polpa de laranja e farelo de aveia, a 23°C.

Constantes	A m o s t r a s	
	Polpa	Aveia
W_m (%m/m base seca)	4,92	4,91
C	14,62	28,80
K	0,870	0,840
S (m^2/g matéria seca)	172,2	171,85

Considerando-se que o farelo de aveia apresenta propriedades que melhoram o funcionamento dos intestinos ⁷, pode-se esperar uma ação semelhante com a polpa da laranja.

O valor profilático atribuído as fibras na regulação das funções do cólon é em parte determinada pela sua capacidade de sorção de água. Processos que alteram as características físicas das fibras, podem afetar as características de sorção de água, e as propriedades das fibras, de regular a função intestinal.

Através do quadro 5, observa-se que isoladamente, cada componente, apresenta uma temperatura de colapso menor, que a do suco integral. A explicação para isso, se deve a presença de polpa no suco de laranja.

Além da natureza do suco, a forma de transmissão de calor influencia a temperatura de colapso.

Na maior parte do processo de liofilização, a transmissão de calor por radiação, fornece calor à superfície de sublimação por condução através da camada seca, criando um gradiente de temperatura nessa camada, o qual ajuda na secagem da lamela úmida acima da superfície de sublimação. A condução de calor pela camada congelada não cria um gradiente de temperatura na camada seca. Com uma secagem lamelar mais lenta há uma diminuição da temperatura de colapso ³.

Em ensaios prévios, tentou-se liofilizar suco contido em frascos com tampas de borracha providas de aberturas laterais, utilizadas nas liofilizações onde

QUADRO 5. Temperatura de colapso durante a liofilização

Amostra (% m/m)	Temperatura (°C)
* Frutose 25	-44
* Glicose 25	-41,5
* Sacarose 25	-24
** Ácido cítrico 10	-46
** Ácido ascórbico 5	-38
* Suco de laranja 23	-24

* BELLOWS and KING ³

** ITO 28,29,30

se faz o fechamento dos frascos sob baixa pressão. Observou-se que a liofilização ocorria normalmente por algumas horas, mas o processo não se concluía, ocorrendo o colapso. Esse fato pode ser explicado considerando que a barreira ao escape do vapor criada pela tampa, no início não afetava o processo, mas, à medida que a camada seca aumenta, aparece uma resistência adicional à saída do vapor, reduzindo a velocidade de secagem.

Atualmente, com os avanços tecnológicos dos microprocessadores, a otimização de processos pode ser realizada provendo os liofilizadores de placas de aquecimento com controles de temperatura independentes, o que permite trabalhar-se em condições de máxima velocidade de secagem, ou seja, no limite de temperatura tanto da camada seca, como da camada congelada.

Segundo MILLMAN et alii⁴⁶ o mais baixo custo de produção na liofilização descontínua, corresponde à condição de maior velocidade de produção. Esse objetivo é alcançado, trabalhando-se com amostras de maior espessura, a menor pressão possível na câmara, e, quando as placas de aquecimento superiores e inferiores são controladas independentemente. Além disso, apesar do tempo longo utilizado na secagem secundária, a otimização de secagem primária reduz os custos de produção.

6. CONCLUSÕES

- 6.1 - A liofilização praticamente não alterou o teor de vitamina C do suco de laranja.
- 6.2 - A liofilização praticamente não alterou o espectro de absorção no visível e ultravioleta do suco de laranja.
- 6.3 - Os valores de cor do suco de laranja liofilizado permaneceram dentro dos limites estabelecidos.
- 6.4 - A soma das absorbâncias a 443, 325 e 280 nm, permaneceram dentro dos limites estabelecidos.
- 6.5 - O congelamento afetou o valor de pH de soluções tamponadas de lactose.
- 6.6 - A retenção do limoneno, durante a liofilização foi influenciada pela sua concentração inicial. Observou-se que ocorreu maior perda na maior concentração utilizada.
- 6.7 - A isoterma de adsorção de água da celulose microcristalina foi muito semelhante à obtida pelo projeto COST-90.

- 6.8 - A liofilização praticamente não alterou o valor monomolecular da malto-dextrina denominada M-20.
- 6.9 - O valor monomolecular da malto-dextrina denominada M-10, liofilizada, foi maior do que o valor da natural.
- 6.10 - A liofilização permitiu a obtenção de lactose no estado amorfo.
- 6.11 - Os teores de umidade de equilíbrio das misturas liofilizadas são menores que os das misturas mecânicas.
- 6.12 - Os aditivos utilizados, reduziram a adsorção de umidade em função do tempo.
- 6.13 - Para teores de umidade maiores que 10%, o calor de adsorção foi maior para o suco de laranja liofilizado, do que nas amostras contendo M-10, M-20 ou lactose.

— CONSIDERAÇÕES FINAIS, PERSPECTIVAS E POTENCIAL
TECNOLÓGICO

O presente estudo, envolvendo uma série de avaliações sobre o suco de laranja liofilizado, serve como uma referência inicial ao desenvolvimento de produtos na área tecnológica.

O suco de laranja é um produto liofilizável, porém, sem aditivos, só poderá ser acondicionado em embalagens de unidade de dose, já que a abertura sucessiva da mesma, levaria a problemas de aglomeração e perda de fluidez.

A vitamina C, que normalmente é empregada como índice de avaliação da intensidade de tratamentos térmicos, mostrou-se altamente estável no suco de laranja liofilizado.

A estabilidade da cor, devido aos carotenóides, é função da temperatura e atividade de água. Portanto, em algumas combinações desses parâmetros, os resultados indicam a necessidade de estudar-se o uso de anti-oxidantes para melhor conservação do suco liofilizado.

A incorporação de voláteis, como o limono, emulsionados em soluções de lactose, dependerá de uma escolha adequada do valor de pH, natureza do tampão e concentração inicial.

O conjunto de resultados serve de subsídios para elaboração de produtos com conteúdo interme -

diário de umidade, que parece ser uma área promissora e pouco explorada no Brasil.

O suco de laranja liofilizado, poderia ser aproveitado na elaboração de fórmulas farmacêuticas, em função da presença de vitamina C, fibras, flavonóides cítricos, chamados de bioflavonoides (vitamina P), que possuem a propriedade de atuar na redução da fragilidade capilar, atividade esta potencializada pela ação sinérgica da vitamina C ¹³. O suco de laranja ainda possui a característica de ter baixos teores de sódio e altos teores de potássio, indicado portanto, para quem possui problemas de hipertensão arterial ³³.

A mudança de fase dos açúcares induzida pela liofilização, parece ser o fator chave numa série de fenômenos, evidenciando ser uma área explorável no desenvolvimento de novas técnicas no setor tecnológico de alimentos.

7. R E S U M O

O comportamento higroscópico do suco de laranja liofilizado, e aditivado com malto-dextrinas e lactose, e de misturas mecânicas do suco liofilizado com os aditivos secos, foi estudado através da cinética e das isothermas de sorção de água, em diferentes temperaturas. Avaliou-se as características espectrais no visível e ultravioleta, e o teor de vitamina C, de amostras de suco de laranja liofilizado expostas a diferentes umidades relativas e temperaturas. Estudou-se a influência do valor de pH e natureza do tampão sobre a retenção do limoneno emulsionado em soluções de lactose, liofilizadas. A liofilização praticamente não alterou o teor de vitamina C e as características espectrais do suco de laranja, mas aumentou o valor monomolecular da malto-dextrina (dextrose equivalente de 9 a 12%). A lactose liofilizada apresentou-se no estado amorfo. Os teores de umidade de equilíbrio das misturas aditivadas liofilizadas, foram menores que os das misturas mecânicas. Os aditivos reduziram a sorção de umidade em função do tempo. A retenção do limoneno foi influenciada pela sua concentração inicial, sendo que ocorreu a maior perda, durante a liofilização na maior concentração utilizada.

A B S T R A C T

The higrscopic behavior of freeze-dried orange juice, with added maltodextrins and lactose and mechanical mixtures with this additives was studied through the kinetics and isotherms of water sorption in different temperatures. It was evaluated the spectral characteristics, in the visible and ultra-violet range, and the vitamin C content from samples of freeze-dried orange juice exposed at different relative humidities and temperatures. It was studied the influence of pH and buffer composition, on the limonene retention of freeze-dried emulsions. The spectral characteristics and vitamin C content showed no alterations after liofilization the maltodextrin (9-12% dextrose equivalent monomolecular value increased. Freeze-dried lactose was amorphous. The equilibrium humidity content of the samples with additives were reduced when compared with mechanical mixtures. The additives also reduced the rate of water sorption. The limonene retention during freeze-drying was influenced by the initial concentration of the emulsion. The greater concentration studied showed the lower retention value.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ALBERTY, R.A. - Physical Chemistry. London, John Wiley & Sons, 1987, p. 876-880.
2. BACILA, M.; VILLELA, G.G.; TASTALDI, H. - Técnicas e experimentos de bioquímica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973, 552p.
3. BELLOWS, R.J. & KING, C.J. - Product collapse during freeze drying of liquid foods. AIChE Symposium Series, Washington, 69:33-41, 1974.
4. BERLIN, E.; ANDERSON, B.A.; PALLANCH, M.J. - Effect of temperature on water vapor sorption by dried milk powders. J. Dairy Sci., Washington, 53:146-149, 1970.
5. BIZOT, H. - Using the "G.A.B." model to construct sorption isotherms. In: JOWITT, R. et al., ed. Physical Properties of Foods, London, Applied Science Publishers, 1983, p. 43-53.
6. BRUNAUER, S.; DEMING, L.S.; DEMING, W.E.; TELLER, E. - A theory of the Van der Waals adsorption of gases. J. Am. Chem. Soc., Washington, 62:1723-32, 1940.

* De acordo com as normas preconizadas pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos estão de acordo com o Chemical Abstracts Service Source Index, Easton, 1975.

7. CADDEN A.M. - Moisture sorption characteristics of several foods fibers. J. Food. Sci., Chicago, 53: 1150-55, 1988.
8. CAL-VIDAL, J. FALCONE, M. - Processing condition affecting the hygroscopic behavior of freeze-dried passion fruit juice. J. Food. Sci., Chicago, 50: 1238-53, 1985.
9. CARRILLO, P.J.; GILBERT, S.G.; DAUN, H. - Starch solute interaction in water sorption as affected by pretreatment. J. Food. Sci., Chicago, 53:1199-1203,1988.
10. CHINACHOTI, P.; STEINBERG, M.P. - Interaction of sucrose with starch during dehydration as shown by water sorption. J. Food. Sci., Chicago, 49:1604-1608,1984.
11. CODORNIGA, I.; LOPEZ-ANDREU, F.J.; CARPENA, O.; CODORNIGA, R. - Higroscopicidad de liofilizados de zumos de naranja y limón. Alimentária, Madri, 131:23-8, 1982.
12. FENNEMA, O.R. - Freezing preservation. In: O.R. Fennema (Org.), Principles of Food Science. physical principles of food preservation. New York, Marcel Dekker, 1975, V.4, p. 133-170.
13. FENNEMA, O.R. - Food Chemistry, New York, Marcel Dekker, 1985, 991p.
14. FLINK, J. & KAREL, M. - Effect of process variables on retention of volatiles in freeze-drying. J. Food Sci., Chicago, 35:444-7, 1970.

15. FLINK, J. & KAREL, M. - Retention of organic volatiles in freeze-dried solutions of carbohydrates. J. Agric. Food Chem., Washington, 18:295-7, 1970.
16. FLINK, J. & GELS-HANSEN, F. - Retention of organic volatiles in freeze-dried carbohydrate solution: microscopic observations. J. Agric. Food. Chem., Washington, 20:691-4, 1972.
17. FLINK, J. - Nonenzymatic browning of freeze-dried sucrose. J. Food. Sci., Chicago, 48:539-42, 1983.
18. FRIBERG, S. - Food Emulsions, New York, Marcel Dekker, 1976, 480p.
19. GAL, S. - The need for, and practical applications of sorption data. In: JOWITT, R. et al., ed. Physical Properties of Foods, London, Applied Science Publishers, 1983, p. 13-23.
20. GEL-HANSEN, F. - Freeze-dried carbohydrate containing oil in water emulsion: microstructure and fat distribution. J. Food. Sci., Chicago, 42:1049-55, 1977.
21. GERO, L. & SMYRL, T.G. - Behavior of low molecular weight organic acids during freeze drying. J. Food. Sci. Chicago, 47:954-57, 1982.
22. GUEGOU, Y. - Phase transition of water in some products of plant origin at low and superlow temperatures. Adv. Food Research, 27:298-99, 1981.

23. IFUKU, Y.; MAEDA, H.; YAMASAKI, S. - Recent technology in the japanese citrus processing industry. Food. technol., Chicago, 42:105-108, 1988.
24. IGLESIAS, H.A. & CHIRIPE, J. - B.E.T. monolayer values in dehydrated foods and food components. Lebensm.-Wiss. technol., Zurich, 9:107-13, 1976.
25. IGLESIAS, H.A. & CHIRIPE, J. - Isosteric heats of water vapor sorption on dehydrated foods. Part I. Analysis of the differential heat curves. Lebensm.-Wiss. technol., Zurich, 9:110-22, 1976.
26. IGLESIAS, H.A. & CHIRIPE, J. - Isosteric heats of water vapor sorption on dehydrated foods. Part II. Hysteresis and Heat of Sorption. Comparison with B.E.T. theory. Lebensm.-Wiss. tecnol., Zurich, 9: 123-27, 1976.
27. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. Normas Analíticas, 2. ed., São Paulo, 1976, V.1, Cap. 4, p. 21-22.
28. ITO, K. - Freeze drying of Pharmaceuticals. On the change in macroscopic appearance during freezing and the critical temperature necessary for freeze drying. Chem. Pharm. Bull., 18:1509-1518, 1970.
29. ITO, K. - Freeze drying of Pharmaceuticals. On the macroscopic appearance of frozen and dried samples in connection with the growth of the eutetic crystals. Chem. Pharm. Bull., 18:1519-25, 1970.

30. ITO, K. - Freeze drying of Pharmaceuticals. Eutetic temperature and collapse temperature of solute matrix upon freeze drying of three-component system. Chem. Pharm. Bull., 19:1095-1102, 1971.
31. KAMYA, Y.; BEATON, S.; LAFORTUNE, A.; INGOLD, K. V. - The metal catalyzed autoxidation of tetralin 2. Cobalt catalyzed autoxidation of undiluted tetralin and of tetralin in chlorobenzene. Can. J. Chem., Ottawa, 41:2043, 1963.
32. KAREL, M. & FLINK, J.M. - Some recent development in food dehydration research. In: A.S. Mujundar, Advances in drying. Hemisphere Publishing Corporation, V. 3, p. 103-152, 1983.
33. KEALEY, K.S.; KINSELLA, J.E. - Orange juice quality with an emphasis on flavor components. Crit. Rev. Food. Sci. and Nutr., Cleveland, 11:1-31, 1979.
34. KOIDE, K. & KAREL, M. - Encapsulation and stimulated release of enzymes using lecithin vesicles. Inter. J. Food. and technol., Oxford, 22:702-23, 1987.
35. LABUZA, T. - Sorption phenomena in foods. Food. technol., Chicago, 22:263-72, 1968.
36. LABUZA, T.P.; TANNENBAUM, S.R., KAREL, M. - Water content and stability of low moisture and Stability of Low Moisture Foods. Food. technol., Chicago, 24: 543-550, 1970.

37. LABUZA, T.P. - Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm Measurement and Use. St. Paul, American Association of Cereal Chemists, 1984, p.41.
38. LABUZA, T.P. - The effect of water activity of reaction kinetics of food deterioration. Food technol., Chicago, 34:36-41, 1980.
39. LABUZA, T.P. - Parenteral and enteral food systems. Food technol., Chicago, 42:77-87, 1988.
40. LIAO, M.L. & SEIB, P.A. - Selected reactions of L-ascorbic acid related to foods. Food technol., Chicago, 41:104-111, 1987.
41. MALONEY, J.F.; LABUZA, T.P.; WALLACE, D.H.; KAREL, M. - Autoxidation of methyl linoleate in freeze-dried model system. I. Effect of water on the autocatalyzed oxidation. J. Food. Sci., Chicago, 31: 878-34, 1966.
42. MASSALDI, H.A. & KING, C.J. - Simple technique to determine solubilities of sparingly soluble organics: Solubility and activity coefficients of d-limonene, n-butylbenzene, and n-hexylacetate in water and sucrose solutions. J. Chem. Engineer. Data, Easton, 393-96, 1973.
43. MASSALDI, H.A. & KING, C.J. - Determination of volatiles by vapor headspace analysis, in a multi-phase system: d-limonene in orange juice. J. Food. Sci., Chicago, 39:434-37, 1974.

44. MASSALDI, H.A. & KING, C.J. - Retention of d-limonene during freeze drying of orange juice. J. Food. Sci., Chicago, 39:445-48, 1974.
45. MASSALDI, H.A. & KING, C.J. - Volatiles retention during freeze drying of synthetic emulsions. J. Food. Sci., Chicago, 39:438-44, 1974.
46. MILLMAN, M.J.; LIAPS, A.I.; MARCHELLO, J.M. - Note on the economics of batch freeze dryers. J. Food. technol., Oxford, 20:541-51, 1985.
47. MUNDAY, K.A.; EDWARDS, M.L.; KERKUT, G.A. - Free radicals in lyophilized food materials. J. Sci. Food. Agr., Washington, 13:455, 1962.
48. NAGY, S.; LEE, H.S. - Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. Food. technol., Chicago, 42:91-97, 1988.
49. NIEDIEK, E.A. - Effect of processing on the physical state and aroma sorption properties of carbohydrates. Food technol., Chicago, 42:81-6, 1988.
50. PAPANICOLAU, D.; SAUVAGROT, F.; SMIATOS, D. - CO₂ emission from an orange juice powder: indication of an oxidative origin. J. Food. Sci., Chicago, 43:1433 - 35, 1978.
51. PETRUS, D.R.; DOUGHERTY, M.H. - Spectrophotometric analyses of orange juices and corresponding orange pulp washes. J. Food. Sci., Chicago, 38:913-14, 1979.

52. PETRUS, D.R.; DOUGHERTY, M.H. - Spectral characteristics of three varieties of Florida orange juice. J. Food. Sci., Chicago, 38:659-661, 1973.
53. PETRUS, D.R.; HUGGART, R.L.; DOUGHERTY, M.H. - Correlation of carotenoid visible absorbance and numerical color score of orange juice. J. Food. Sci., Chicago, 40:922-23, 1975.
54. PETRUS, D.R. & ATTAWAY, J.A. - Visible and ultraviolet absorption and fluorescence excitation and emission characteristics of Florida orange juice and orange pulpwash: Detection of adulteration. J. ASSOC.OFF. Anal. Chem., Washington, 63:1317-31, 1980.
55. PITOMBO, R.N.M. - Armazenamento e comportamento higroscópico do café liofilizado. São Paulo, 1983. |Dissertação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP|.
56. PITOMBO, R.N.M. & COLOMBO, A.J.; VESSONI-PENNA, T.C. - Influência do teor de açúcar sobre as isotermas de adsorção de água de cafés liofilizados. Bol. SBCTA, Campinas, 19:1-16, 1985.
57. PITOMBO, R.N.M., COLOMBO, A.J.; VESSONI-PENNA, T.C. - Influência da adição de açúcar sobre o teor de compostos voláteis e propriedades organolépticas de cafés liofilizados. Rev. Farm. Bioquim. Univ.S.Paulo, 23:125-32, 1987.
58. PITOMBO, R.N.M. - A liofilização como técnica de conservação de material de pesquisa. Ciência e Cultura, São Paulo, 41:427-31, 1989.

59. PITOMBO, R.N.M. & COLOMBO, A.J. - Caracterização espectral do suco de laranja liofilizado. Ciência e Cultura, São Paulo, 41, Suplemento ISSN 0102-2474, 48, 1989.
60. QUAST, D.G. - Físico-química da água em alimentos desidratados. Bol. Inst. tecnol. Aliment. (Campinas), Braz.), 13:1-25, 1968.
61. RAMGANNA, S.; GOUINDARAJAN, V.S.; RAMANA, K.U.R. - Citrus fruits-varieties, chemistry, technology and quality evaluation. A. Chemistry. Critic. Rev.in Food. Sci. and Nutr., Boca Raton, 18:313-86, 1983.
62. RAMGANNA, S.; GOUINDARAJAN, V.S.; RAMANA, K.U.R. - Citrus fruits-varieties, chemistry, technology and quality evaluation. B. Technology. Critic. Rev.in Food. Sci. and Nutr., Boca Raton, 19:1-98, 1983.
63. RAMGANNA, S.; GOUINDARAJAN, V.S.; RAMANA, K.U.R. - Citrus fruits-varieties, chemistry, technology and quality evaluation. C. Quality evaluation. Critic.Rev. in Food. Sci. and Nutr., Boca Raton, 20:73-122, 1984.
64. RIZUI, S.S.H. & BENADO, A.L. - Thermodynamic properties of dehydrated foods. Food technol., Chicago, 38: 83-90, 1984.
65. ROCKLAND, L.B. & NISHI, S.K. - Influence of water activity on food product quality and stability. Food. technol., Chicago, 34:42-52, 1980.

66. ROWE, T.W.G. & SNOWMAN, J.W. - Edwards freeze drying handbook. Edwards high Vacuum, Sussex, England, 1978.
67. SALWIN, H. - Defining minimum moisture contents for dehydrated foods. Food. technol., Chicago, 13:594-95, 1959.
68. SALWIN, H. - Moisture levels required for stability in dehydrated foods. Food. technol., Chicago, 17:1114-21, 1963.
69. SARAVACOS, G.D. & STINCHFIELD, R.M. - Effect of temperature and pressure of the sorption of water vapor by freeze-dried foods materials. J. Food. Sci., Chicago, 30:776-86, 1965.
70. SARAVACOS, G.D.; TSIOURVAS, D.A.; TSAM, E. - Effect of temperature on the water adsorption isotherms of sultana raisins. J. Food. Sci., Chicago, 51:381-87, 1988.
71. SCHWIMMER, S. - Influence of water activity on enzyme reactivity and stability. Food technol., Chicago, 34:64-82, 1980.
72. SIZER, C.E.; WAUGH, P.L.; EDSTAM, S.; ACKERMANN, P. - Maintaining flavor and nutrient quality of aseptic orange juice. Food. technol., Champaign, 42:152 - 59, 1988.

73. SMYRL, T.G.; LeMAGUER, M. - Effect of pH on volatile retention in freeze-dried model solution. J. Food. Sci., Chicago, 43:1357-58, 1978.
74. SPIESS, W.E.L. & WOLF, W.R. - The results of the COST 90 project on water activity. In: JOWITT, R. et al, ed. Physical Properties of Foods, London, Applied Science Publishers, 1983, p. 65-87.
75. THIJSEN, H.A.C. - Flavour retention of organic volatiles in freeze-dried solutions of carbohydrates. J. Agric. Food. Chem., Washington, 18:245-47, 1970.
76. TING, S.V. & ROUSEFF, R.L. - Citrus fruits and their products. Analysis technology, New York, Marcel Dekker, 1986. 293 p.
77. TO, E.C. & FLINK, J.M. - Collapse: a structural transition in freeze dried carbohydrates. Contribuição nº 3427 do Department of Nutrition and Food Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts 02139, EUA, Vol.1, 23p.
78. TSOUROUFLIS, S.; FLINK, J.M.; KAREL, M. - Loss of structure in freeze-dried solutions: effect of temperature, moisture content and composition. J.Sci. Food. Agric., Washington, 27:509-19, 1976.

79. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. United States standards of grades of orange juice amended 1983. Agricultural Marketing service, fruit and vegetable division, processed products branch, Washington, USA.

80. WALTER, B. - Freeze-drying - Manufacture of freeze-dried products for the food processing industry. Food. Market. technol., Nuremberg, 3:32-6, 1989.