

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia de Alimentos

**PARÂMETROS DE TEXTURA E ESTUDO DA MOBILIDADE DA ÁGUA
POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO PEIXE PINTADO**
(Pseudoplatystoma corruscans) LIOFILIZADO.

Guilherme Antonio Mercado Ribeiro Lima

**Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE**

Orientador:
Prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes
Pitombo

São Paulo
2000

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

L732p Lima, Guilherme Antonio Mercado Ribeiro
Parâmetros de textura e estudo da mobilidade da água por
ressonância magnética nuclear no peixe pintado (*Pseudoplatystoma*
corruscans) liofilizado / Guilherme Antonio Mercado Ribeiro
Lima. -- São Paulo, 2000.
78p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia
Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Pitombo, Ronaldo Nogueira de Moraes

1. Peixes de água doce : Processamento : Tecnologia de
alimentos 2. Ressonância magnética nuclear I. T. II. Pitombo,
Ronaldo Nogueira de Moraes, orientador.

664.95 CDD

Guilherme Antonio Mercado Ribeiro Lima

**PARÂMETROS DE TEXTURA E ESTUDO DA MOBILIDADE DA
ÁGUA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO PEIXE
PINTADO (*Pseudoplatystoma corruscans*) LIOFILIZADO.**

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes Pitombo
Orientador / Presidente

2º. Examinador

3º. Examinador

São Paulo, de de 2000.

Aos meus pais, Antonio e Maria Aparecida. Particularmente minha mãe, que sempre me apoiou nas dificuldades.

A Marcia, com todo meu amor, pela companhia, compreensão e incentivo em todos os momentos. A grande responsável por minha nova vida.

A Marianna, minha querida filha e fonte de inspiração.

A meu irmão José Eduardo e meus avós José Lima e Aparecida que sempre fizeram tanto por mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes Pitombo, pela confiança, amizade e orientação na elaboração deste trabalho.

À CAPES – Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior, pela bolsa auxílio durante o primeiro ano do Mestrado.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela provisão da bolsa auxílio e equipamentos, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Alfredo Areas, pelos conselhos e ajuda nos experimentos de RMN.

Ao grande amigo João Lorena Campos que forneceu os peixes utilizados nos experimentos.

Ao Prof. Luiz Antonio Gioielli, pela ajuda nos equipamentos sob sua responsabilidade.

Aos funcionários da secretaria do departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Juarez Vieira de Souza, Maria do Rosário P. Chamon e Míriam Bernardes Lopes.

Ao Gledson Manso Guimarães por sua valiosa ajuda nas liofilizações.

À Prof. Dra. Suzana Lannes, pelo apoio, ajuda e sugestões.

Ao amigo Victor Erasmo Sotero Solis, professores, colegas e funcionários do departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, pela grande amizade e colaboração.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
NOMENCLATURA.....	V
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 A água e os sistemas alimentares.....	3
2.2 Atividade de água e mobilidade molecular.....	3
2.3 Liofilização	6
2.4 Textura	7
2.5 Avaliação dos ácidos graxos.....	11
2.6 Mobilidade da água medida por RMN	12
3. OBJETIVOS.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Materiais	19
4.2 Equipamentos	19
4.3 Métodos	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1. Estudo por RMN da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco.....	24

5.2. Estudo por RMN da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original.....	30
5.3. Estudo por RMN da influência da variação de umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado nas temperaturas de 10, 25 e 40°C.....	37
5.4 Isotermas de Sorção de Umidade nas temperaturas 10, 25, 35 e 40°C.....	51
5.5 Isósteres do peixe Pintado.....	54
5.6 Valores da equação BET, obtidos para as temperaturas de 10 e 25°C.	57
5.7 Valores da equação GAB, obtidos para as temperaturas de 10, 25, 35 e 40°C	59
5.8 Textura do peixe Pintado	62
5.9 Composição química do peixe Pintado	68
5.10 Perfil de ácidos graxos do peixe Pintado	69
6. CONCLUSÕES	70
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros Mecânicos da Textura.....	10
Tabela 2. – Calor Isotérico de sorção de água do peixe Pintado liofilizado.....	56
Tabela 3 - Parâmetros da equação B.E.T., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado liofilizado a 10°C.....	57
Tabela 4 - Parâmetros da equação B.E.T., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C.....	58
Tabela 5 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 10°C.....	59
Tabela 6 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C.....	59
Tabela 7 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 35°C.....	60
Tabela 8 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 40°C.....	60
Tabela 9 – Comparação das propriedades texturais do peixe Pintado fresco e liofilizado, usando o método de compressão simples a 20°C.....	63
Tabela 10 – Comparação das propriedades texturais do peixe Pintado fresco e liofilizado, usando o método de resistência ao cisalhamento a 20°C.....	64
Tabela 11 - Análise do Perfil de Textura (TPA) por dupla compressão do filé de peixe Pintado fresco e liofilizado	66
Tabela 12 –Teores de umidade, proteína e lípidos do peixe Pintado.....	68
Tabela 13 – Composição de Ácidos graxos do Peixe Pintado antes e após a liofilização.....	69

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Corte longitudinal do peixe no ponto de máxima flexibilidade: WF, fibras brancas; RF fibras vermelhas; IF Fibras intermediárias; VC coluna vertebral; LLC canal da linha lateral..... 8**
- Figura 2. Seqüência de pulsos spin-eco (CHEN & RUAN, 1998)..... 15**
- Figura 3. Diagrama esquemático de um modelo de três componentes para um comportamento multiexponencial da relaxação dos prótons. 17**
- Figura 4. Curva de secagem por liofilização do peixe Pintado 22**
- Figura 5. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação Spin-spin (T_2) do Peixe Pintado fresco (modelo de distribuição contínua). 25**
- Figura 6. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco. (picos de máxima amplitude) 26**
- Figura 7. Efeito da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) da gordura extraída do peixe Pintado..... 27**
- Figura 8. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) no peixe Pintado fresco (picos de máxima amplitude). 28**
- Figura 9. Efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado fresco. 29**
- Figura 10. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original (modelo de distribuição contínua)..... 31**
- Figura 11. Efeito da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original. (picos de máxima amplitude)..... 32**

Figura 12. Influência da variação da temperatura na relaxação spin-spin (T_{22}) no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original (detalhe).....	33
Figura 13. Efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original.....	34
Figura 14. Comparação da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) entre o peixe Pintado fresco e o liofilizado e reidratado.....	35
Figura 15. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 10°C (modelo de distribuição contínua).....	38
Figura 16. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 10°C (picos de máxima amplitude).....	39
Figura 17. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado a 10°C.	40
Figura 18. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 25°C (modelo de distribuição contínua).....	41
Figura 19. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 25°C (picos de máxima amplitude).....	42
Figura 20. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado a 25°C.....	43
Figura 21. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 40°C (modelo de distribuição contínua).....	44

Figura 22. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 40°C (picos de amplitude máxima).....	45
Figura 23. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado a 40°C.....	46
Figura 24. Comparação da influência da variação de umidade, nas temperaturas de 10, 25 e 40°C, sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) do peixe Pintado liofilizado.....	47
Figura 25. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 10°C.....	49
Figura 26. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 25°C.....	49
Figura 27. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 40°C.....	50
Figura 28. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 10°C. ...	51
Figura 29. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C. ...	51
Figura 30. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 35°C. ...	52
Figura 31. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 40°C. ...	52
Figura 32. Isotermas de sorção de umidade do peixe Pintado liofilizado.....	53
Figura 33. Isósteres de sorção de umidade do peixe Pintado Liofilizado.....	55
Figura 34. Calor total de sorção em função do teor de umidade do peixe Pintado liofilizado.....	56
Figura 35. Divisão do peixe Pintado em três partes para os experimentos (visão superior).	62
Figura 36. Divisão do peixe Pintado em três partes para os experimentos (visão lateral).	62

NOMENCLATURA

ΔH_o	Calor latente de vaporização da água
ΔH_t	Calor total de sorção
ΔH_w	Calor de sorção da água
A_w	Atividade de água
BET	Equação de Brunauer-Emmet-Teller
C	Constante de Guggenheim
CPMG	Seqüência de pulsos Carr, Purcell, Meiboom e Gill, obtidos por RMN, para se obter tempos de relaxação (T_2) spin-spin longos
E	Desvio médio relativo
GAB	Equação de Guggenheim-Anderson-De Boer
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
K	fator de correção do modelo GAB
L	Espessura da amostra
n	Número de observações
P	Pressão de vapor da água presente no produto
P_o	Pressão de vapor da água pura
R	Constante universal dos gases perfeitos
R^2	coeficiente de correlação das regressões
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMS (%)	Desvio médio relativo
T	Temperatura
T_2	Tempo de relaxação spin-spin obtido por RMN
TPA	Análise do perfil de Textura
TPA	Análise do Perfil de Textura
U	Teor de umidade
UR	Umidade relativa

URE	Umidade Relativa de Equilíbrio
W	Teor de umidade
Wi	Teor de umidade experimental
Wi*	Teor de umidade calculado
Wm	Valor monomolecular

RESUMO

O Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), um peixe de água doce encontrado no Pantanal do Mato Grosso, Brasil, é um peixe de grande tamanho, alta precocidade e excelente prolificidade. É visto como uma ótima opção para a piscicultura e a sua conservação, pela redução do teor de umidade, é muito importante, pois inibe alterações químicas ou biológicas indesejáveis entre a pesca e o consumidor final. A Liofilização é o único método prático para a produção de filés de peixes secos de alta qualidade, com mínimas alterações físicas ou químicas. Para a realização adequada de uma liofilização é necessária a aquisição de parâmetros físico-químicos que orientem na condução do processo de forma mais eficiente. O presente trabalho avaliou a mobilidade da água e a transição vítrea por ressonância magnética nuclear (RMN) e estudou as isotermas de sorção de umidade para encontrar os parâmetros que otimizam a liofilização. O estudo permitiu a obtenção da umidade de máxima estabilidade do produto final para as temperaturas de 10, 25, 35 e 40°C, o calor isotérico de sorção de água do peixe Pintado em diferentes teores de umidade, e a temperatura máxima da fase primária da liofilização. A liofilização, utilizando os parâmetros obtidos, foi avaliada através da análise do perfil de textura (TPA) e do perfil de ácidos graxos. Os modelos matemáticos de GAB e BET foram aplicados para ajustar as isotermas de sorção de água, possibilitando a obtenção dos valores de umidade na monocamada em todas as temperaturas estudadas. Os tempos de relaxação spin-spin (T_2) da água nos filés do peixe Pintado, foram estudados pela utilização do método CPMG por ressonância magnética nuclear de baixa resolução (23 MHz) ^1H . Os experimentos avaliaram a variação da temperatura e da umidade utilizando o software MARAN WinDXP. Os resultados obtidos apresentaram espectros de T_2 que permitiram visualizar as diferentes mobilidades da água no peixe Pintado, com tempos de relaxação (T_2) distintos.

ABSTRACT

Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) is a freshwater fish from the swamp of Mato Grosso, Brazil. Its large size, precocity, and high prolificity make it adequate for the practice of fish culture. Freeze-drying is the only practical method for the production of high quality dehydrated fillet fish with minimal physical and chemical changes. In foods, water is the most important component in the system, because it influences so many process variables, product characteristics, and stability attributes. The molecular mobility is considered as the key to product stability. Availability of water indicates how freely water molecules can participate in reactions. We studied the theoretical and practical applications of the thermodynamics of water sorption to a freeze-dried Pintado fish, through the isotherms of sorption of water. It were analyzed the texture profile parameters of hardness, cohesiveness, adhesiveness, and chewiness. The mathematical model of GAB and BET was fitted to the data of the sorption isotherms. The temperature had influence on the isotherm, when the temperature increased the amount of water sorbed decrease, resulting in an influence on the distribution of isotherm. Recently, NMR measurements have been considered a faster and more reliable measure of the availability of water in complex systems. We studied the relaxation time (T_2) from CPMG experiments in pulsed ^1H NMR of the edible portion (fillets) in the temperatures of -70 up to 60°C and in the freeze-dried fillets, reconstituted to moisture content of 1% up to 32%, at 10, 25 and 40°C . Analysis of the data obtained from CPMG experiments using the MARAN WinDXP software resulted in spectra of T_2 . As a result of the experiments one to three peaks of water appear on each spectrum. Each of which had a distinct relaxation time (T_2) showing a distinct molecular mobility. It was obtained profiles of water fractions with distinct mobility as affected by environments conditions of temperature, moisture and water activity.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta grande potencial para a produção de pescado através da aquicultura devido ao seu clima predominantemente tropical e por ser dotado de ricas bacias hidrográficas que correspondem a 14% da água doce do mundo, além dos milhões de hectares de águas represadas em açudes e reservatórios de água das usinas hidrelétricas em todo o país.

O panorama atual da piscicultura no Brasil é bastante promissor. Dados apresentados pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o ano de 1997 mostram uma produção de 256.364,5 ton de pescado em águas continentais, enquanto que a produção de peixes cultivados de água doce, segundo a estatística da pesca no ano de 1997 pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), está estimada em 76.525,5 ton, sobressaindo-se a região Sul que representa 56,8% deste total.

No Estado de São Paulo existem cerca de 3.000 estabelecimentos comerciais cadastrados do tipo pesque-pague e a venda de rações para peixes triplicou nos anos de 1996 e 1997. O produtor médio de peixes está investindo em tecnologia e aumentando sua área cultivada. Pode-se afirmar que a criação de peixes de água doce e o seu consumo está crescendo rapidamente no Brasil, embora o apoio da pesquisa junto ao produtor seja pouco efetivo.

Uma das limitações para o crescimento da piscicultura no Brasil é a dificuldade de conservação do pescado devido à sua rápida deterioração após a pesca. É de grande importância a utilização de formas adequadas na conservação do pescado para que se mantenha ao máximo suas características organolépticas.

A liofilização é uma técnica de secagem onde se obtém produtos de alta qualidade, de reconstituição instantânea e que possuem longa vida de prateleira. A estabilização do alimento é obtida por meio de múltiplas operações em que o material é submetido durante o processamento, ou

seja, congelamento, sublimação, secagem a vácuo, além de armazenagem do material seco sob condições controladas. A grande vantagem da liofilização está no fato de possibilitar o armazenamento do produto à temperatura ambiente, minimizando os custos de transporte e estocagem. Entre as limitações do uso da liofilização do pescado é a possível dificuldade na manutenção da textura original, fator este que é estudado neste trabalho.

Para a realização adequada de uma liofilização é necessária a aquisição de parâmetros físico-químicos que orientarão as condutas de processo da forma mais eficiente. Estes parâmetros podem ser obtidos pela realização de experimentos com ressonância magnética nuclear de baixa resolução que é uma ferramenta de grande utilidade para se avaliar a mobilidade da água e a transição vítrea nos sistemas alimentares.

O presente trabalho visou estudar uma alternativa tecnológica para a conservação de peixes, estudando a liofilização como método de secagem. O peixe Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), um espécime pertencente à família Pimelodidae, subordem Characoidei, foi escolhido por suas características de alta rusticidade, excelente precocidade, ótima aceitabilidade e alto valor comercial.

O emprego da liofilização do Pintado em escala industrial é importante, pois sua conservação por um método seguro e de longa vida de prateleira é determinante em propiciar as condições favoráveis ao crescimento da produção, melhora na qualidade do produto final e aumento do valor agregado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A água e os sistemas alimentares

A água, como principal componente dos alimentos e demais materiais biológicos, desempenha papel preponderante na determinação da forma e estrutura, além das propriedades físicas e químicas dos sistemas em que se encontra (KAREL, 1975) (SIMATOS, 1988).

No desenvolvimento de produtos, projeto de processos ou produção de alimentos, observam-se efeitos desejáveis ou indesejáveis da água presente no material alimentar (BONE, 1986). Muitas das operações unitárias usadas no processamento de alimentos tem como objetivo de uma maneira ou outra, a remoção da água ou inibição de seus efeitos para se obter a estabilização do material. Isso ocorre, por exemplo, em uma secagem, ou concentração ou na transformação em um material não ativo pelo congelamento, ou ainda imobilização da água em géis, alimentos estruturados ou alimentos de conteúdo intermediário de umidade (GAL, 1975).

2.2 Atividade de água e mobilidade molecular

O principal e essencial meio para a medição da imobilidade da água é através da função que existe entre teor de umidade (U) e atividade de água (A_w). A atividade de água é definida como sendo o quociente entre a pressão de vapor da água presente no produto (P) e a pressão de vapor da água pura (P_o), na mesma temperatura. A equação (1) define esta relação, apresentando também o conceito de umidade relativa de equilíbrio (URE):

$$A_w = \frac{P}{P_o} = \% \frac{URE}{100} \quad (1)$$

Baseado no conceito termodinâmico de potencial químico da água, A_w é utilizada, como um índice de quão satisfatoriamente, está sendo feito o controle do comportamento da água em sistemas alimentares (LABUZA,

1984), bem como é o parâmetro que controla a força motora em operações de remoção de água, sendo portanto essencial ao planejamento de processos (GINSBURG, 1981). A atividade de água caracteriza o estado da água nos alimentos, ou seja, é uma medida da disponibilidade da água para promover alterações físicas, químicas ou biológicas.

A entalpia de sorção pode ser determinada, calculando-se as isotermas de sorção de umidade a várias temperaturas, empregando-se a equação de Clausius-Clapeyron, o que permite estimar a força de ligação das moléculas de água em relação ao sólido onde se encontram sorvidas. As isotermas de sorção podem ser definidas como curvas que relacionam a pressão parcial do vapor de água nos alimentos com seu conteúdo de umidade a uma determinada temperatura.

O final de uma secagem é em geral determinado pela atividade de água desejável ao produto acabado (KAPSALIS, 1981; 1986) (IGLESIAS & CHIRIFE, 1976a,b, c).

Isotermas de sorção de umidade, combinada com equações de transporte de massa, ou seja, equações do tipo (força motora / resistência) são utilizadas para predição do tempo de armazenamento baseados numa atividade de água crítica, em relação a algum atributo do alimento em um sistema definido de embalagem sob condições ambientais estabelecidas.

A equação BET foi primeiramente postulada por BRUNAUER et al. (1938). Esta equação pode se derivada de mecanismos cinéticos e estatísticos, como também de considerações termodinâmicas. A equação BET é expressa na equação (2).

$$A_w = \frac{W_{bm} * B_{bt} * A_w}{(1 - A_w) * [1 + (B_{bt} - 1)A_w]} \quad (2)$$

Onde "W_{bm}" é o conteúdo de umidade na monocamada e "B_{bt}" está relacionado ao calor de sorção e "A_w" a atividade de água do produto. As isotermas BET mais utilizadas contém atividades de água na faixa de 0,05 a 0,45, mas estas fornecem dados suficientes para que os parâmetros M_{bm} e B possam ser calculados (RAHMAN, 1995). O conceito de monocamada é útil devido a sua relação com os vários aspectos físicos e químicos da

deterioração em alimentos desidratados (IGLESIAS & CHIRIFE, 1976a). Além disto, o valor da monocamada do BET é um método bastante efetivo para se estimar a quantidade de água ligada a pontos polares específicos nos alimentos desidratados. (McLAREN e ROWEN, 1952; DUCKWORTH e SMITH, 1963).

O modelo (GAB) Guggenheim-Anderson-de-Boer é um modelo de adsorção semiteórica, multimolecular e homogênea e tem sido considerado o modelo que melhor se encaixa para muitos alimentos em uma faixa ampla de atividade de água (BIZOT, 1983; VAN der BERG, 1985; LOMAURO et al., 1985a, 1985b) e pode ser escrita como na equação (3).

$$\frac{W}{W_m} = \frac{C * K * A_w}{(1 - K A_w) * (1 - K A_w + C * K * A_w)} \quad (3)$$

Onde W é o teor de umidade (% m/m base seca), W_m é valor monomolecular (% m/m base seca), K é um fator de correção relacionado à temperatura efetiva e C é a constante de Guggenheim. A equação da isoterma é uma extensão de dois parâmetros do modelo BET que se mostra com a introdução do parâmetro K . Se K é menor que a unidade, uma menor sorção que aquela demandada pelo modelo BET é prevista e permite à isoterma GAB ser bem sucedida em atividades de água acima de 0,90.

BIZOT (1983) transformou a equação GAB em uma forma quadrática:

$$\begin{aligned} \frac{A_w}{W} &= \alpha * A_w^2 + \beta * A_w + \gamma \\ \alpha &= \frac{K}{W_m} \left[\frac{1}{C-1} \right] \\ \beta &= \frac{1}{W_m} \left[1 - \frac{2}{C} \right] \\ \gamma &= \frac{1}{W_m * C * K} \end{aligned} \quad (4)$$

Assim, o valor da monocamada GAB pode ser calculado por:

$$\begin{aligned}
 W_m &= \left[\frac{1}{(\beta^2 - 4\alpha\gamma)} \right]^{\frac{1}{2}} \\
 K &= -\frac{2\alpha W_m}{\beta W_m + 1} \\
 \gamma &= \frac{1}{W_m * C * K}
 \end{aligned}
 \tag{5}$$

Nos últimos anos, o modelo mais aceito e eficiente para as isotermas de sorção em alimentos tem sido o modelo GAB (LABUZA et al., 1985; TSAMI et al., 1990; OKOS et al., 1992).

A despeito da larga difusão do uso do conceito de atividade de água, a sua universalidade tem sido questionada nos últimos anos. Excelentes revisões recentes mostram a importância do estado vítreo como modulador de muitas reações químicas importantes indicando a importância da matriz juntamente com o meio para a determinação das características físico-químicas dos sistemas (LEVINE & SLADE, 1991) (SCHIMITED, 1991) (ROOS, et al. 1996).

2.3 Liofilização

A liofilização é uma técnica especial que permite a secagem de um corpo após prévia congelamento, removendo-se a água congelada por sublimação à custa de um vácuo intenso e por ser um processo realizado sob baixas temperaturas, é o método de escolha na conservação de alimentos sensíveis a altas temperaturas. Este processo apresenta uma série de vantagens sobre outros métodos de conservação de peixes, dentre as quais destacam-se:

- Armazenamento à temperatura ambiente, desde que a embalagem seja adequada.

- Simplificação na distribuição e economia de energia durante a estocagem.
- Economia considerável no transporte.
- Alto índice de retenção da morfologia, cor e aroma.
- Facilidade na reconstituição.

A industrialização de alimentos deve se intensificar nos próximos anos devido à crescente urbanização e conseqüente mudança de hábitos alimentares requerendo, portanto, que novos processos industriais sejam desenvolvidos, a custos cada vez mais competitivos. Assim, é de se esperar que a liofilização desempenhe um papel cada vez mais importante para a conservação de alimentos.

A liofilização é um processo de não-equilíbrio que, quando bem conduzido, deve se manter sob controle cinético e envolver estados vítreos meta-estáveis ao invés de equilíbrio termodinâmico de fases (FRANKS, 1991). Portanto, a chave do entendimento da liofilização está ligada às transições vítreas, aos fenômenos reológicos e estruturais (PITOMBO, 1989).

A liofilização é uma técnica que exige dispender-se tempo na aquisição de parâmetros para que possa ser conduzida de forma eficiente. Devido à natureza muito complexa da matéria-prima propriamente dita, às reações de deterioração envolvidas e a vasta quantidade de processos de tratamento e possíveis interações, ainda há muito que pesquisar para se ter um completo controle sobre o peixe liofilizado, visando à boa qualidade e durabilidade (BENGTSSON, 1975).

2.4 Textura

Uma possível limitação à qualidade do peixe liofilizado, como ocorre com as carnes em geral, seria as alterações na textura decorrentes do processamento (AYROSA & PITOMBO, 1995).

A textura, aparência, sabor e aroma são os principais fatores sensoriais que determinam a aceitabilidade de um alimento (BRENNAN, 1988).

Os músculos são classificados como de rápida ou lenta reação. Os músculos de rápida reação (aparência branca ou clara) apresentam uma mais rápida progressão ao pico de tensão e declínio à tensão de repouso que os músculos de baixa reação (aparência vermelha ou escura). Os músculos escuros estão concentrados superficialmente, particularmente próximos à linha lateral (um grupo de órgãos sensoriais que se estendem por uma linha simples, da cabeça à cauda) e, geralmente, a proporção de músculos escuros aumenta em direção à cauda. Os músculos brancos do peixe são muito uniformes em sua composição, não importando sua localização, enquanto que os músculos escuros variam sua composição em função da sua localização, contendo mais lípides na parte anterior do peixe e mais água e proteína na parte posterior (FOEGEDING et al., 1996).

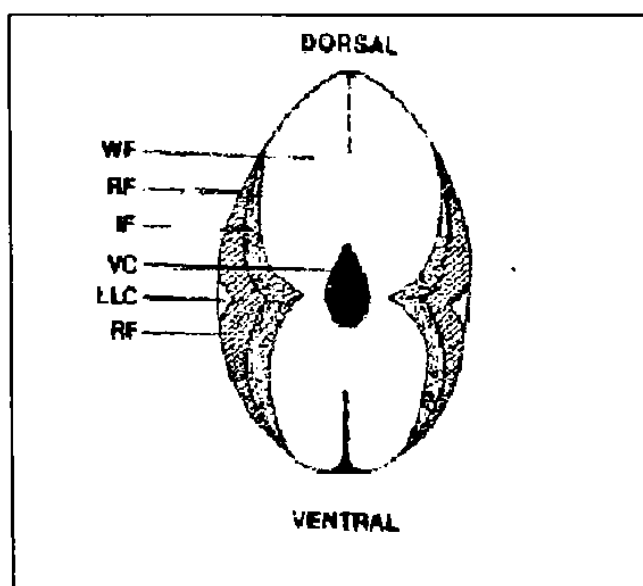


Figura 1. Corte longitudinal do peixe no ponto de máxima flexibilidade: WF, fibras brancas; RF fibras vermelhas; IF Fibras intermediárias; VC coluna vertebral; LLC canal da linha lateral.

A análise do perfil de textura (TPA) é um método bastante útil para se fazer à avaliação da textura dos alimentos, tentando imitar a avaliação

sensorial. A TPA se originou com a classificação Szczesniak das características texturais (SZCZESNIAK, 1963). O princípio chave que serviu como ponte entre a avaliação instrumental e a sensorial de textura. O equipamento que mede a TPA simula a ação mastigatória da boca humana e pode ser descrito como uma unidade composta de um prato apoiado por um braço flexível ligado a um tensor calibrado, e um probe que age sobre a amostra de alimento, usualmente um pedaço cortado, comprimindo-o duas vezes num movimento que imita a ação da mandíbula. O tensor detecta a força gerada, que era registrado por um registrador gráfico. A curva gerada pelo texturômetro mostra a relação de força com o tempo.

A curva fornece sete parâmetros texturais, cinco medidos e dois calculados a partir dos valores medidos. Estes valores são chamados dureza, coesividade, elasticidade, adesividade, fraturabilidade, mastigabilidade, gomosidade e viscosidade. A fraturabilidade e a gomosidade nunca são encontrados no mesmo produto alimentício. SZCZESNIAK et al. (1963) avaliaram os parâmetros sensoriais e instrumentais. Os valores de coesividade e elasticidade podem ser obtidos das curvas do texturômetro, mas estes parâmetros não foram incluídos nas primeiras avaliações organolépticas porque eram difíceis de serem percebidas como tal.

As características mecânicas são divididas em sete parâmetros texturais:

Fraturabilidade é definida como a força na primeira quebra significativa na curva. Como uma quebra é um fenômeno visível relacionado com a macroestrutura da amostra, deve ser identificada como uma mudança na inflexão da curva cuja magnitude deve ser definida.

Dureza é definida como a maior força durante a compressão do primeiro ciclo, mimetizando a primeira mordida.

Coesividade é definida como a proporção da área positiva de força durante a segunda compressão para a da primeira, excluindo as áreas sob a porção de descompressão em cada ciclo.

Adesividade é definida como a área negativa de força para a primeira mordida, representando o trabalho necessário para tirar o probe da amostra.

Elasticidade é definida como a altura que o alimento recupera durante o tempo entre o final da primeira mordida e o início da segunda mordida.

Gomosidade é definida como a energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido até estar pronto para a deglutição; é o produto da dureza x coesividade.

Mastigabilidade é definida como a energia requerida para mastigar um alimento sólido até a deglutição; é o produto da dureza x coesividade x elasticidade.

Gomosidade e mastigabilidade são mutualmente exclusivas e não devem ser descritas para o mesmo produto. Os peixes não apresentam o parâmetro mecânico gomosidade.

Tabela 1 - Parâmetros Mecânicos da Textura.

Parâmetro mecânico	Variável Medida	Unidade
Dureza	Força	$[M][L][\theta^{-2}]$
Coesividade	Relação de áreas	Adimensional
Elasticidade	Relação de distâncias	Adimensional
Adesividade	Trabalho	$[M][L^2][\theta^{-2}]$
Fraturabilidade	Força	$[M][L][\theta^{-2}]$
Gomosidade	Força	$[M][L][\theta^{-2}]$
Mastigabilidade	Trabalho	$[M][L^2][\theta^{-2}]$

[L] Comprimento, [M] Massa, [θ] Tempo.

Os texturômetros computadorizados modernos permitem grande versatilidade, como, por exemplo, o TA-XT2 Texture Analyzer (SMS), onde é possível realizar testes de TPA e diretamente obter todos os parâmetros

através de seu software, sem prévia seleção de valores da curva para cálculos.

Na maioria dos casos, as condições descritas para a obtenção de parâmetros de TPA são muito diferentes em trabalhos distintos, o que torna impossível a comparação de resultados. As diferenças estão em condições experimentais como tamanho da amostra e formato, proporção de compressão e tamanho do probe versus amostra, extensão de deformação, velocidade, número de mordidas, e replicações para obter valor de média.

Tamanho e formato da amostra devem ser especificados, cortadas em cubos ou cilindros de tamanho padrão ou colocadas em recipientes de diâmetro e alturas padrão (PONS & FIZMAN, 1996). O tamanho da unidade de compressão é também muito importante, especialmente em relação ao tamanho da amostra. Esta proporção certamente determina a magnitude dos resultados. Então, quando o probe é maior que a amostra, as forças registradas são compressão uniaxial. Entretanto, quando o oposto é verdadeiro, as forças são de punção, uma combinação de compressão e corte.

2.5 Avaliação dos ácidos graxos

A gordura dos peixes, de uma maneira geral, é rica em ácidos graxos polinsaturados, que fazem bem à saúde humana, os lipídios de peixes marinhos e de água doce tem certas características diferenciais na composição dos ácidos graxos. Estas distinções são baseadas principalmente no tamanho de suas cadeias, mais que qualquer outra propriedade fundamental (VISWANATHAN & GOPAKUMAR, 1978). A característica marcante dos peixes de água doce é apresentar maiores níveis de ácidos C16 e C18 e menores níveis de ácidos C20 e C22, comparados com os peixes marinhos. Estas diferenças são conseqüentes da dieta de gordura e muito pouco devido à interação com o habitat (ACKMAN, 1967). A determinação da composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa é uma análise largamente realizada com várias áreas da ciência, onde os ácidos graxos de cadeia curta podem ser injetados

diretamente no cromatógrafo, e os de cadeia longa não são suficientemente voláteis para uma análise direta, necessitando a sua transformação em ésteres (MAIA & RODRIGUES, 1993). Duas fontes de erro devem ser evitadas nesta derivação: (1) a conversão incompleta dos ácidos graxos (ligados ou livres) aos ésteres desejados, e (2) alterações da estrutura durante a liberação e esterificação dos ácidos graxos.

2.6 Mobilidade da água medida por RMN

Isotermas de sorção de água e análise térmica DSC e DTA fornecem muita informação em relação às transições térmicas dos materiais e os resultados podem ser usados para análise e otimização dos processos de liofilização (PAAKKONEN & ROOS, 1990).

Apesar da grande utilidade de tais métodos, são ambos destrutivos, que alteram a estrutura dos alimentos estudados. A RMN de alimentos tem se desenvolvido rapidamente nos últimos tempos permitindo a obtenção de um grande número de informações a respeito da composição e mobilidade dos componentes sólidos e líquidos do alimento. Através da avaliação da contribuição da relaxação dos vários componentes do alimento, informações das características dinâmicas e estruturais em sistemas complexos como são os alimentos podem ser obtidas de maneira rápida, não invasiva e de forma precisa (BELTON, 1995).

As vantagens das técnicas de RMN são:

- Rapidez na aquisição de resultados;
- Ser uma técnica não invasiva e não destrutiva;
- Pequena preparação das amostras é requerida;
- Possibilidade de automação;
- Capacidade de quantificar diferentes frações de água que apresentam diferentes mobilidades;
- Determinação simultânea do teor de umidade e de gordura.

A técnica de RMN é baseada nas propriedades magnéticas do núcleo atômico. Ela fornece importantes informações sobre a estrutura molecular, taxas de reações químicas e processos de difusão. Qualquer núcleo com um número quântico ($I \neq 0$), quando submetido a um campo magnético, pode absorver e emitir energia através de radiação eletromagnética. A maioria dos elementos da Tabela Periódica apresenta ao menos um isótopo capaz de ser medido por ressonância magnética nuclear. O próton (núcleo H^1) e um isótopo de carbono estável, o núcleo C^{13} , são os mais utilizados em RMN (CHEN & RUAN, 1998).

Os aparelhos de ressonância magnética nuclear são classificados de acordo com a intensidade de seus campos magnéticos. São encontrados instrumentos de alta e de baixa resolução. No presente trabalho utilizou-se um espectrômetro RMN por pulsos de baixa resolução.

Em espectrômetros de RMN de baixa resolução (23 MHz de frequência) a quantidade de átomos de hidrogênio na amostra a ser medida, é essencialmente constante. Se um pulso de frequência de rádio é aplicado por alguns microssegundos, todos os núcleos de hidrogênio são impulsionados a girar em 90° com um campo magnético estático. Quando o pulso é desligado eles retornam ao seu estado original por um processo chamado relaxação nuclear, emitindo um sinal de RMN. A amplitude inicial é proporcional ao número de prótons da amostra. A subsequente "queda livre do sinal induzido" (FID – "Free induction decay") é a soma dos mecanismos com os diferentes tempos de relaxação dependendo do estado físico no qual os prótons estão. Os sinais dos núcleos de hidrogênio na fase sólida caem mais rapidamente que aqueles na fase líquida. Então, o tempo de relaxação registrado consiste de sinais superpostos de pelo menos dois componentes, base para diferenciação entre os prótons sólidos (estruturais) e os prótons líquidos.

Há dois tipos de processos de relaxação: relaxação spin-lattice (ou longitudinal) e relaxação spin-spin (ou transversa). A relaxação spin-lattice é denominada T_1 e a relaxação spin-spin é designada por T_2 . Nas análises dos

dados da relaxação ^1H NMR, é necessário considerar os efeitos da relaxação cruzada entre as moléculas de água e os prótons das proteínas, assim como trocas químicas entre grupos de proteínas ionizáveis, prótons de carboidratos, e moléculas de água (HILLS et al., 1990). A utilização da relaxação spin-spin (T_2) apresenta uma vantagem em relação à relaxação spin-lattice (T_1), pois a contribuição da relaxação cruzada é muito pequena e pode ser ignorada.

Os tempos de relaxação estão relacionados com a mobilidade molecular dos sistemas. Em líquidos, as interações dipolo-dipolo são responsáveis pelo mecanismo dominante de relaxação nuclear. Estas interações dipolo-dipolo são responsáveis pelo mecanismo dominante de relaxação nuclear. Estas interações afetam o sinal, portanto afetam o T_2 . O tempo de queda (T_2) está relacionado com a taxa de movimento que está dentro de limites. O limite de baixa mobilidade é estabelecido pela estrutura de rede "rígida". Em um limite superior, a taxa de FID (queda livre do sinal induzido) pode ser determinada pela heterogeneidade do campo aplicado ou, mais ainda pela heterogeneidade da amostra. O T_2 pode ser medido utilizando-se da seqüência CPMG (CARR & PURCELL, 1954; MEIBOOM & GILL, 1958) que consiste de um pulso de 90° de uma rádio frequência específica, seguido de uma série de pulsos deslocados em fase 180° . Uma série de spin ecos é obtida, seguida de uma supressão de defeitos de uso de pulsos imperfeitos e dos efeitos do campo como a não homogeneidade. É útil usar a seqüência de pulsos para determinar o tempo de relaxação spin-spin (T_2), pois os tempos de queda podem ser registrados em valores mais longos que aqueles FID correspondentes, para determinações de mobilidade mais altas. Em um tempo tau (τ) após o pulso inicial, outro pulso de rádio frequência é aplicado, um pulso 180° , e no tempo 2τ o sinal "spin-eco" aparece.

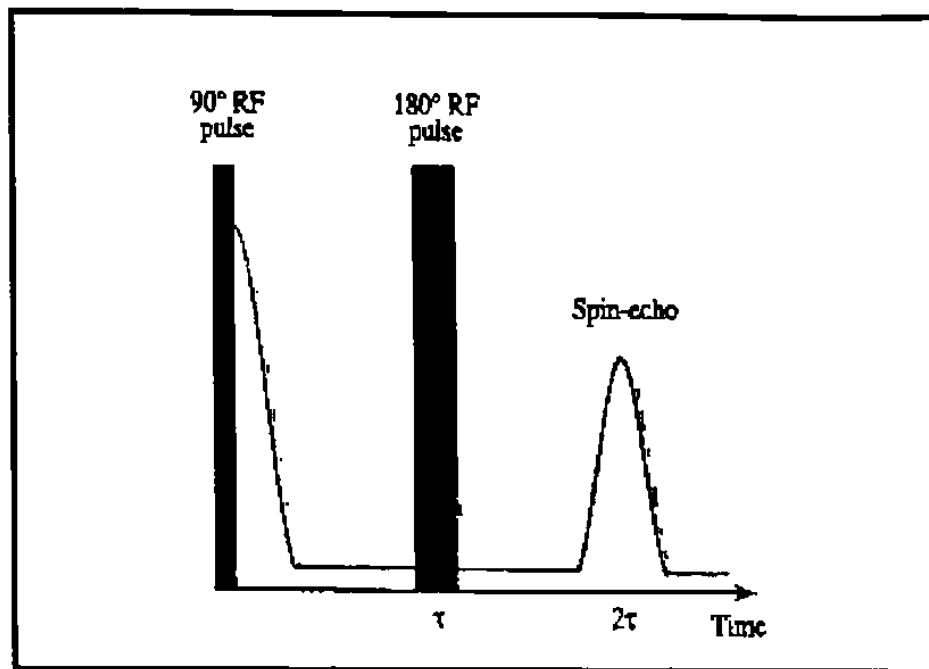


Figura 2. Seqüência de pulsos spin-eco (CHEN & RUAN, 1998).

Os valores de T_2 , obtidos pelo FID, em geral são menores que aqueles obtidos pela seqüência CPMG, devido à influência da não homogeneidade do campo causada pelo magneto, pelo tempo morto do detector de sinal e susceptibilidade às variações dentro da amostra.

Um aparelho de RMN pode também estimar a T_g (temperatura de transição vítrea) considerando esta temperatura como a "temperatura limite da estrutura rígida", medição esta apresentada nos resultados como o ponto de inflexão da curva de T_2 em função da temperatura. A transição vítrea ocorre em uma faixa de temperatura, embora seja freqüentemente referida como um único valor de temperatura. O valor T_g de uma proteína, por exemplo, tem relação com a proteína e com o teor de água no sistema. A água age como um plasticizante para o sistema. Como resultado, a presença de água sempre diminui o ponto de T_g de um sistema. Encontrar

este ponto é muito importante, pois as propriedades mecânicas mudam drasticamente quando transformado de um estado vítreo para um estado emborrachado. O coeficiente de difusão é tão pequeno no estado vítreo que pode limitar reações e cessar ou diminuir extremamente a velocidade das transformações nos sistemas alimentares. Se o material vítreo é plasticizado pelo aumento da temperatura ou adição de água, pode ocorrer colapso da estrutura, cristalização, endurecimento, e amaciamento da estrutura.

A mobilidade da água em sistemas alimentares é muito complexa. Sistemas de matriz com multicamadas polarizadas têm a mobilidade restringida se compararmos com a água pura. Esta multicamada pode ser formada da seguinte maneira: Os grupos hidrofílicos nas macromoléculas formam pontes de hidrogênio com as moléculas de água mais próximas, e estas, devido à polarização causada pelas pontes de hidrogênio, irão se inclinar para formar pontes de hidrogênio com as moléculas de água da próxima camada, e assim por diante. Esta monocamada de moléculas de água está quase imobilizada, e assim se comporta em muitos aspectos (em espectroscopia por RMN inclusive) como parte de um sólido, ou como água no gelo. Com o acréscimo de água às macromoléculas, camadas adicionais de água se ligam à monocamada, para se formar multicamadas de água. A atração ou energia de ligação da água é atenuada com a distancia das macromoléculas. O tempo de relaxação constante spin-spin (T_2) pode ser usado para indicar a mobilidade destas camadas de água, por identificar com tempos T_2 diferentes para cada camada (fortemente ligada ou estruturada, fracamente ligada) conforme sua energia de ligação. Por exemplo, a monocamada de moléculas de água que estão diretamente ligadas às macromoléculas por pontes de hidrogênio normalmente apresenta um T_2 de dezenas de microssegundos similares aos prótons no gelo e muitas macromoléculas, enquanto que a massa de água nas multicamadas do sistema tem um T_2 de dezenas a centenas de milissegundos. Em alimentos, pode-se assumir que há dois, três ou quatro componentes distinguíveis a serem medidos. Na verdade, as moléculas de água podem existir em um número infinito de estados em sistemas alimentares embora

haja vários estados dominantes que são governados por estruturas físicas e químicas do sistema.

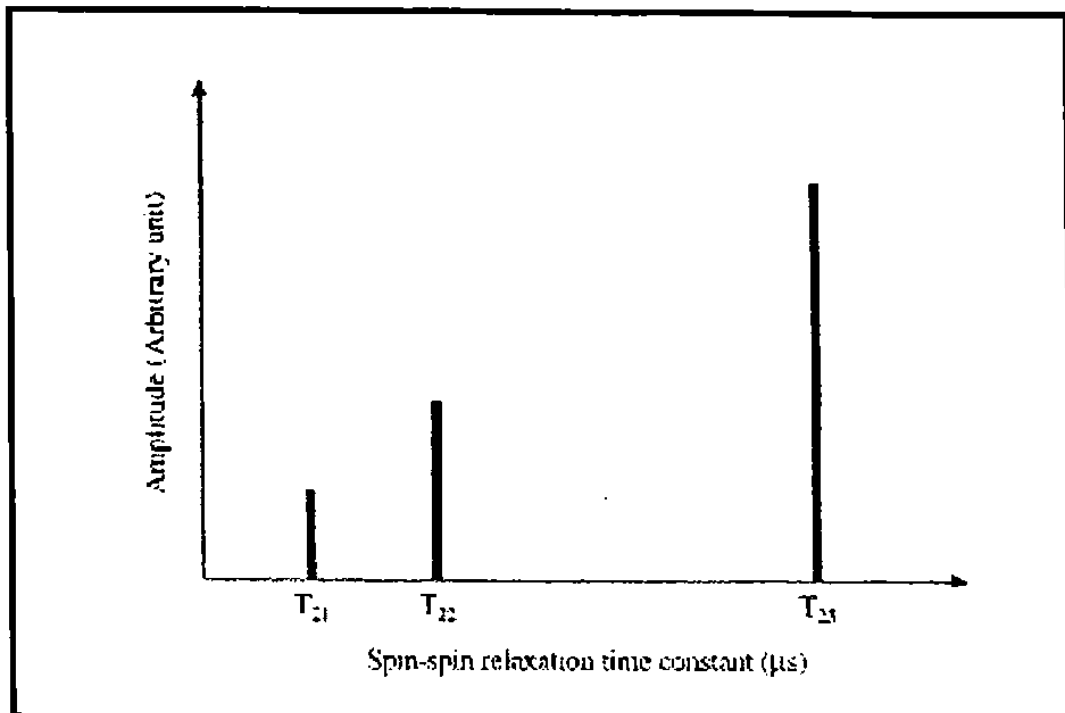


Figura 3. Diagrama esquemático de um modelo de três componentes para um comportamento multiexponencial da relaxação dos prótons.

O procedimento mais comum para a análise do comportamento da relaxação é através de curvas de relaxação com o menor número de termos exponenciais discretos possíveis e que promova uma representação satisfatória dos dados experimentais, como os apresentados nos resultados dos experimentos de relaxação spin-spin do peixe Pintado.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar o efeito do congelamento e liofilização sobre a mobilidade molecular da água no peixe Pintado através de medidas de Ressonância Magnética Nuclear.
- Estudar os aspectos teóricos e práticos da termodinâmica de sorção do vapor de água bem como as transições de fase sofridas pelo alimento com a liofilização.
- Avaliar a influência da desidratação e posterior reidratação nas propriedades mecânicas de textura do filé de peixe Pintado liofilizado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

As amostras do peixe Pintado foram fornecidas por uma propriedade com 40 ha. destinados à piscicultura, em Itaporã - MS. Os peixes foram criados sob as mesmas condições ambientais, apresentando sexo, tamanho e peso semelhantes. Estes peixes, com média de peso de 3 Kg, foram resfriados e transportados para o laboratório, onde os músculos foram removidos na forma de filés, incluindo a região ventral e dorsal. Para os vários procedimentos analíticos, o músculo foi picado e homogeneizado (MACHADO & SGARBIERI, 1991).

4.2 Equipamentos

- Analisador de Textura, TA.XT2
- Cromatógrafo a gás VARIAN STAR-3400 cx
- Higrômetro Novasina Aw-center
- Balança analítica, Explorer - OHAUS
- Bomba de vácuo, PRIMAR, 141-2VC
- Estufa incubadora para B.O.D., FANEM, 347 F.
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Maran 23MHz.
- Freezer, KELVINATOR, Series 100.
- Liofilizador, SECFROID, Lyolab G.

4.3 Métodos

4.3.1 Curvas de congelamento

As curvas de congelamento foram obtidas por ressonância magnética nuclear, utilizando-se da seqüência CPMG, tendo sido medidos os tempos de relaxação T_2 com a diminuição da temperatura segundo método NAGASHIMA & SUZUKI (1981).

4.3.2 Estudos da mobilidade da água

Medidas do tempo de relaxação (spin-spin T_2) foram empregadas para caracterizar a mobilidade da água (CHEN et al, 1997) (CURRIE, et al, 1981) (YASUY, 1979) (WEISSER, 1990), utilizando-se o método CPMG (Carr Purcell, Meiboom e Gill) com os parâmetros: P90= 3,5 μ s; P180= 7,0 μ s; Dead1= 3 μ s; Dead2= 5 μ s; frequência do espectrômetro= 23 MHz; O1= 200.000 – 400.000; tamanho de filtro= 1.000 MHz; DW= 1,0 μ s; Tau= 50 μ s; DS= 2; RF= 100%, em tubos de 10mm de diâmetro e aproximadamente 2g de amostra.

4.3.3 Determinação das Isotermas de sorção de água

Segundo método descrito por (PITOMBO et al. 1994), de acordo com as recomendações do Projeto COST-90. (SPIESS&WOLF, 1983, 1986).

4.3.4 Determinação do perfil de ácidos graxos

Os lípides foram extraídos com éter etílico, segundo o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976). Os ácidos graxos, transformados em ésteres metílicos (HARTMAN & LAGO, 1973) e analisados, qualitativa e quantitativamente em cromatógrafo a gás, equipado com detector de ionização de chama e integrador eletrônico.

4.3.5 Análise de textura

As análises de textura foram feitas em aparelho analisador de textura, modelo TA.XT2, acoplado a um microcomputador com software para processar os dados e calcular os parâmetros mecânicos de textura (AYROSA & PITOMBO, 1995) (BRANDT, 1963).

Nos métodos de compressão simples (Teste de dureza) e resistência ao cisalhamento (Teste de corte), foram testados peixes Pintado de um mesmo lote, com alimentação, ambiente de crescimento e pesos idênticos. Cada peixe foi dividido em três partes distintas: anterior, central e caudal. As amostras foram processadas em filés e padronizou-se o tamanho da

amostra em formas cilíndricas (2,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de altura). Metade das amostras foram imediatamente processadas e a outra metade foi submetida à liofilização e posterior reidratação, imergindo as amostras em água destilada a 25°C até atingirem a umidade original. Todas as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente 25°C e testadas no Analisador de Textura, TA.XT2 com um probe cilíndrico de 2,5 cm de diâmetro, para o experimento de compressão simples e instrumento de corte em "v" para o experimento de resistência ao cisalhamento. Nos dois experimentos foram utilizados os parâmetros de velocidade de compressão a 2mm/s e compressão de 50%.

No método de dupla compressão (TPA) foram utilizados peixes Pintado de um segundo lote, com alimentação, ambiente de crescimento e peso idênticos. Devido à grande diferença de textura observada para a parte posterior nos experimentos anteriores, cada peixe foi dividido em apenas duas partes: anterior (próxima à cabeça) e central. Todas as amostras foram condicionadas à temperatura ambiente 25°C e testadas no Analisador de Textura, TA.XT2. Neste experimento foram utilizados os parâmetros de velocidade de compressão a 2mm/s e compressão de 30%. As padronizações das amostras do teste anterior também foram observadas. Os resultados foram médias de 15 amostras com quatro repetições.

4.3.6 Determinações rotineiras

O teor protéico foi determinado pelo doseamento de N x 6,25, método da AOAC(Association of Official Analytical Chemist's, 1995).

O teor de umidade foi determinado por gravimetria, segundo a metodologia descrita por INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976.

O Teor de lípides foi determinado utilizando-se a metodologia proposta por Bligh & Dyer, (1959). Os ácidos graxos foram esterificados segundo método proposto por HARTMAN & LAGO, (1973). Os ésteres metílicos foram submetidos à análise por cromatografia gasosa.

4.3.7 Liofilização do peixe Pintado

Para a realização da liofilização do peixe Pintado foram observadas as quatro etapas básicas da liofilização que são o pré-tratamento, o congelamento, a secagem primária e a secagem secundária.

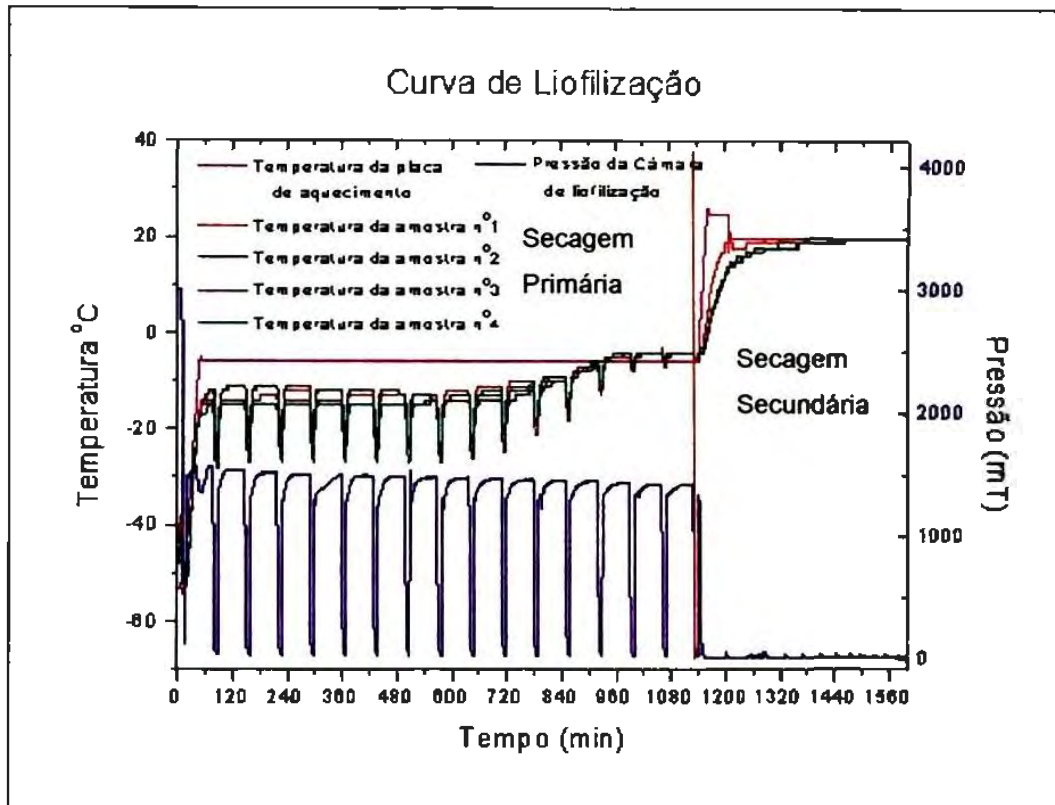


Figura 4. Curva de secagem por liofilização do peixe Pintado

Para a etapa da liofilização de pré-tratamento, foi utilizada a técnica de aumento da área superficial pela pulverização das amostras congeladas nas análises de perfil de ácidos graxos, isothermas de sorção de umidade e mobilidade da água por ressonância magnética nuclear. Os experimentos de textura foram realizados com cubos de amostras inteiros. A etapa de congelamento foi procedida em freezer a -70°C para uma boa qualidade do produto final e um tamanho de cristais de gelo que não altera as características texturais do peixe e não aumenta significativamente o tempo de liofilização.

A secagem primária se inicia com a introdução do material pré-congelado na câmara de liofilização. A temperatura de operação das placas de aquecimento deve ser pouco abaixo da temperatura de transição vítrea do peixe Pintado que foi encontrada em experimentos de RMN como -10°C . A pressão de trabalho foi regulada para 1950 mT na câmara de liofilização, fazendo com que a temperatura do produto se mantenha próxima ao T_g . A temperatura do condensador durante todo o processo foi próxima a -84°C , promovendo um diferencial de temperatura entre o condensador e o produto. Este diferencial de temperatura cria um diferencial de pressão, -84°C (2mT) no condensador e -10°C (1950mT) do produto, promovendo a migração do vapor de água para o condensador.

A cada 60 min de processo, foi feita uma verificação do andamento da secagem, procedendo a uma queda da pressão na câmara de liofilização e observando a queda da temperatura do produto. Quando a temperatura do produto não se altera com a queda de pressão, chegando à temperatura de 0°C , o produto passa à etapa de secagem secundária. Durante a secagem secundária, a bomba de vácuo promove a queda da pressão para a secagem da água residual, também designada "água não-congelável". O final da secagem secundária é obtido com a observação de três quesitos:

A temperatura do produto deve ser igual à temperatura da placa de aquecimento, indicando que não há transferência de calor e que poucas moléculas de vapor estão deixando o produto.

A temperatura do condensador deve retornar à baixa temperatura original, indicando que o condensador não está mais capturando vapor (e sua energia associada), resultando no aumento da temperatura.

A pressão no sistema retornou a seu baixo valor inicial.

Ao final da secagem secundária, as amostras foram mantidas em dessecadores sob vácuo até sua utilização nos experimentos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo por RMN da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco.

A análise dos dados obtidos pelos experimentos de CPMG, usando o software WINDXP Maran systems, resultou em um espectro de T_2 (distribuição contínua), visualizado na figura 5. Os eixos x, y e z expressam os valores do tempo de relaxação spin-spin (T_2), a amplitude do sinal e a temperatura em °C, respectivamente. Observa-se a influência da temperatura na relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco por meio da avaliação dos espectros de T_2 . As evoluções na curva de distribuição são o resultado da soma dos núcleos de prótons ^1H que apresentam tempos de relaxação T_2 semelhantes. Os picos destas curvas começam a se dividir em picos menores com o aumento da temperatura. Estas divisões representam as várias formas de como a água está ligada ao sistema, juntamente com o pico da gordura do peixe que tem um tempo de relaxação muito alto, da ordem de dezenas a centenas de milissegundos.

O pico da gordura começa a ficar evidente a partir de -10°C , e aos 20°C pode ser bem evidenciada no espectro.

Entre as temperaturas de -50 e -20°C , o único sinal que pode ser visualizado é o que representa a água não-congelável e apresenta um valor de mobilidade muito baixo. No espectro de -10°C pode-se identificar três picos, sendo que o pico de menor mobilidade representa a água fortemente ligada ao sistema. Os picos aumentam em tamanho e valor com o aumento da temperatura e, na temperatura de 10°C mostra dois picos iniciais que representam a água fortemente ligada ao sistema. O pico de menor mobilidade representa a água ligada aos sítios hidrofílicos das

macromoléculas e o imediatamente ao lado representa a água ligada aos sítios hidrofóbicos.

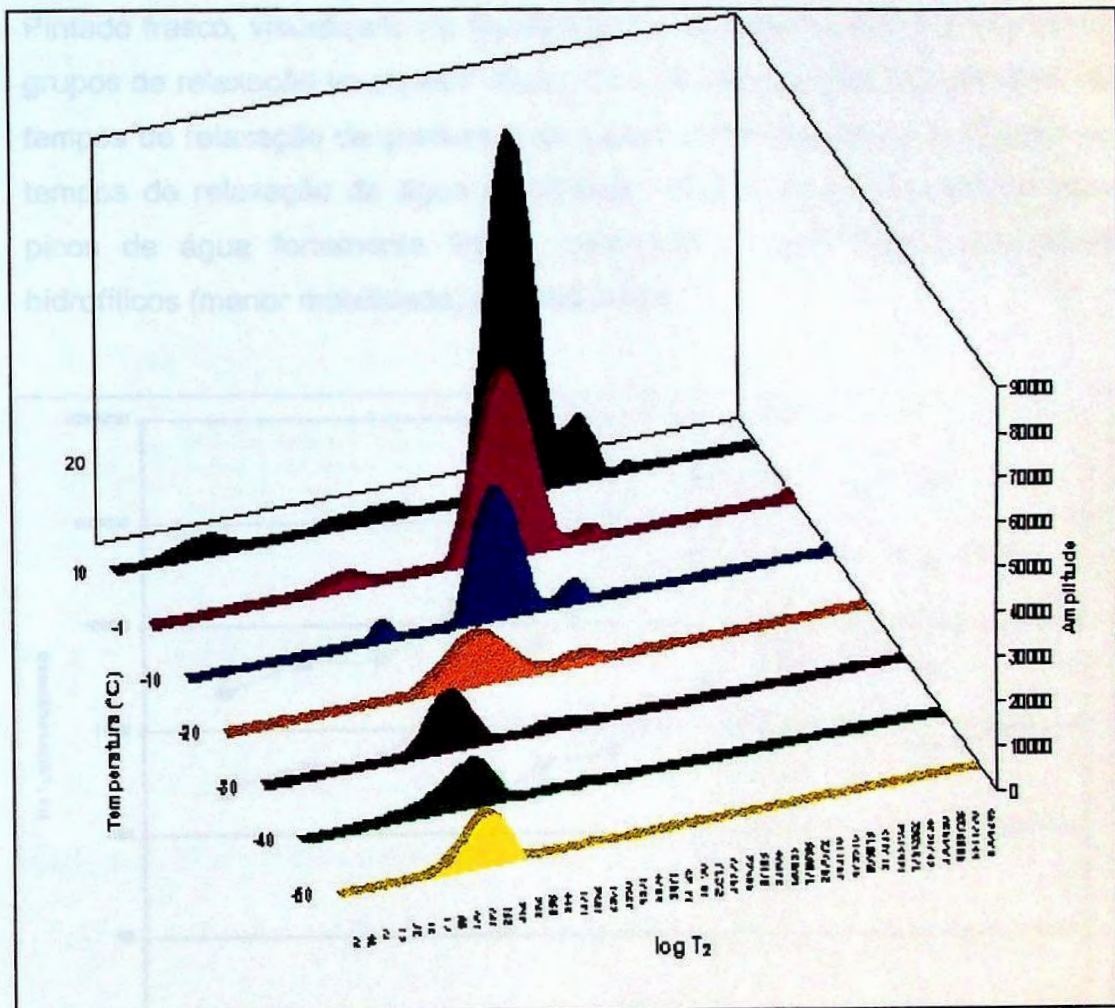


Figura 5. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação Spin-spin (T_2) do Peixe Pintado fresco (modelo de distribuição contínua).

Figura 6. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco, picos de relaxação individuais.

O valor do tempo de relaxação spin-spin, T_{22} para a gordura do peixe Pintado fresco à temperatura de 30°C foi de 128 ms, evidenciado a márito obvio pelo aspecto da figura 7 que foi obtido com a análise da peixe Pintado, comprovando que o sinal T_{22} é mesmo proveniente da fração de gordura.

O efeito da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) dos picos de máxima amplitude no espectro de distribuição de água no peixe Pintado fresco, visualizado na figura 6 facilita a identificação dos diferentes grupos de relaxação no peixe Pintado. A curva denominada T_{23} identifica os tempos de relaxação da gordura e as curvas denominadas T_{21} e T_{22} são os tempos de relaxação da água no Pintado. Note o aparecimento dos dois picos de água fortemente ligada, indicando a água ligada aos sítios hidrofílicos (menor mobilidade) e hidrofóbicos.

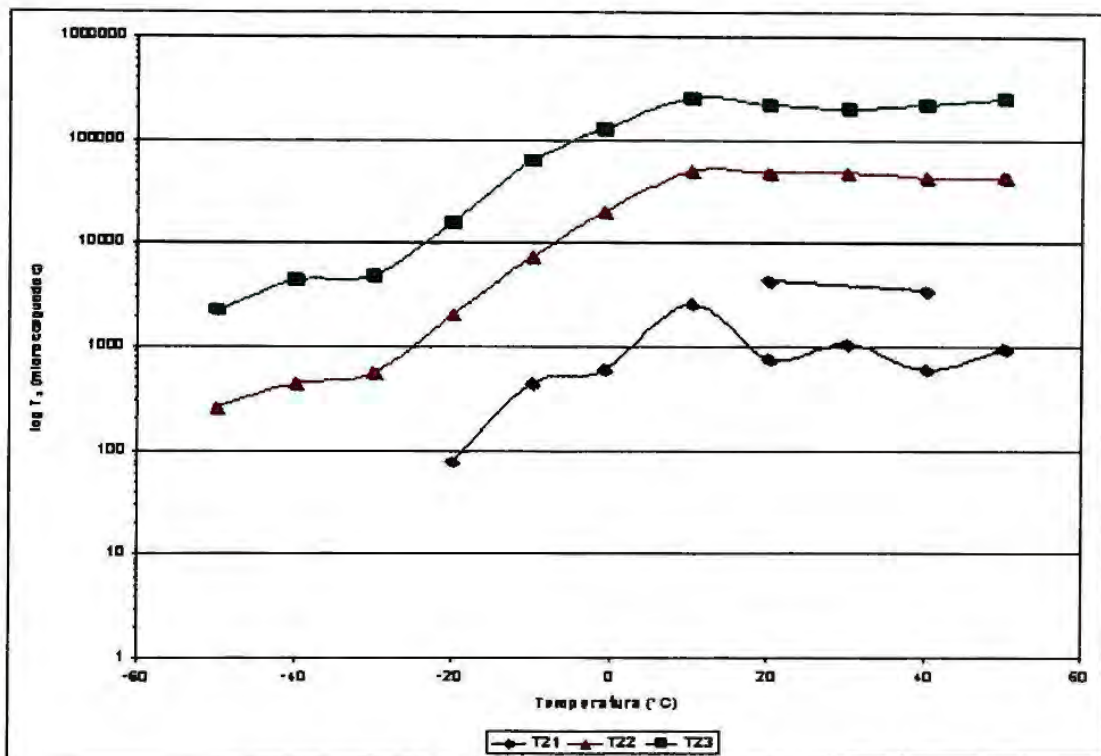


Figura 6. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado fresco. (picos de máxima amplitude)

O valor do tempo de relaxação spin-spin (T_{23}) para a gordura do peixe Pintado fresco à temperatura de 30°C foi de 199,1ms, exatamente o mesmo obtido pelo espectro da figura 7 que foi obtido com a gordura extraída do peixe Pintado, comprovando que o sinal T_{23} é mesmo procedente da fração de gordura.

Na figura 8 podemos observar que, em temperaturas acima de 5°C, a curva de T_{22} se estabiliza com um tempo de relaxação spin-spin (T_2) de 49,3ms e 48,4ms nas temperaturas de 10°C e 30°C. Estes tempos de relaxação estão abaixo dos encontrados para o bacalhau fresco ($T_{22}=62.4\text{ms}$) e salmão fresco ($T_{22}=84.2\text{ms}$) à 25°C, obtidos por JEPSEN et al., (1999), mas condizem com os tempos de relaxação T_{22} encontrados por STEEN & LAMBELET (1997) de 46ms e 44ms na temperatura de 20°C, para o peixe bacalhau estocado à 70°C, por 2 e 4 meses, respectivamente. Os tempos de relaxação T_{22} sofrem um aumento exponencial iniciando em -30°C e tendo seu ponto de inflexão na temperatura de -10°C, com um T_2 de 7,3ms.

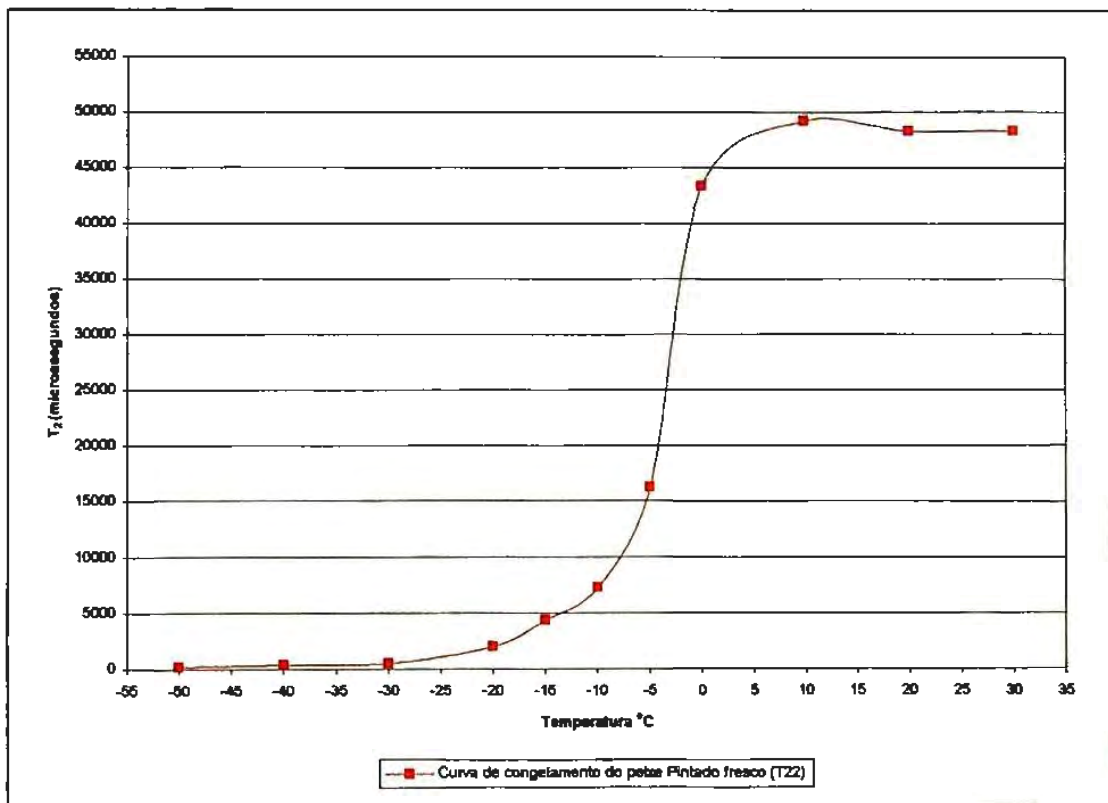


Figura 8. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) no peixe Pintado fresco (picos de máxima amplitude).

Na figura 9 podemos visualizar o efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação T_2 nos filés de peixe Pintado fresco. Os valores evidenciam a importância do tempo de relaxação T_{22} (Barra marrom) como ferramenta de identificação da mobilidade da água. Nas temperaturas abaixo de 10°C , quase a totalidade do sinal obtido é reconhecido como sendo T_{22} .

Com o aumento da temperatura, a amplitude de sinal da gordura (T_{23}) tem um crescimento e se estabiliza a partir de 30°C , apresentando 20% do sinal recebido.

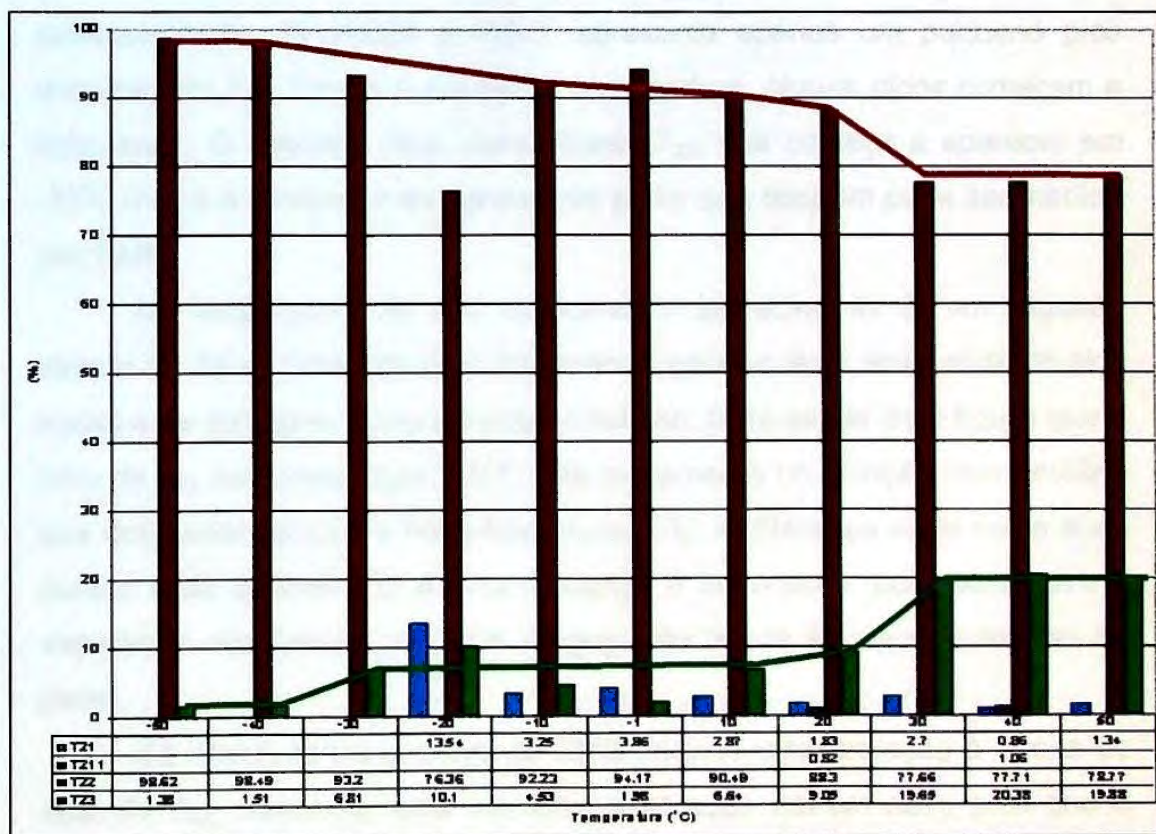


Figura 9. Efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado fresco.

5.2. Estudo por RMN da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original

A Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original são mostrados na figura 10. Evidencia-se na evolução dos picos de T_2 com a variação da temperatura que os tempos de relaxação e a amplitude de sinal aumentam com o acréscimo da temperatura. A amostra de peixe, quando completamente congelada a -65°C , apresenta apenas um pequeno pico denominado T_{22} . Com o aumento da temperatura, alguns picos começam a sobressair. O segundo pico, denominado T_{24} , que começa a aparecer em -25°C indica a relaxação da gordura do peixe que também pode ser medida por RMN.

Na temperatura de -5°C verifica-se o aparecimento de um segundo estado da água. Uma água tão fortemente ligada que se desprende do pico inicial e se distingue como um pico individual. Nota-se por esta figura que o pico de T_{22} na temperatura -10°C está exatamente na posição intermediária dos dois picos formados na temperatura -5°C . A diferença entre estas duas curvas é de apenas 5°C e esta mudança é importante, pois demonstra a separação das formas com que a água esta ligada às macromoléculas do peixe.

Se observarmos a curva de 20°C nota-se uma projeção à direita do pico de T_{22} , indicando uma iminente separação em um novo pico que é evidente quando observamos a curva seguinte a 50°C . Este pico corresponde ao sinal da gordura e é denominado T_{24} .

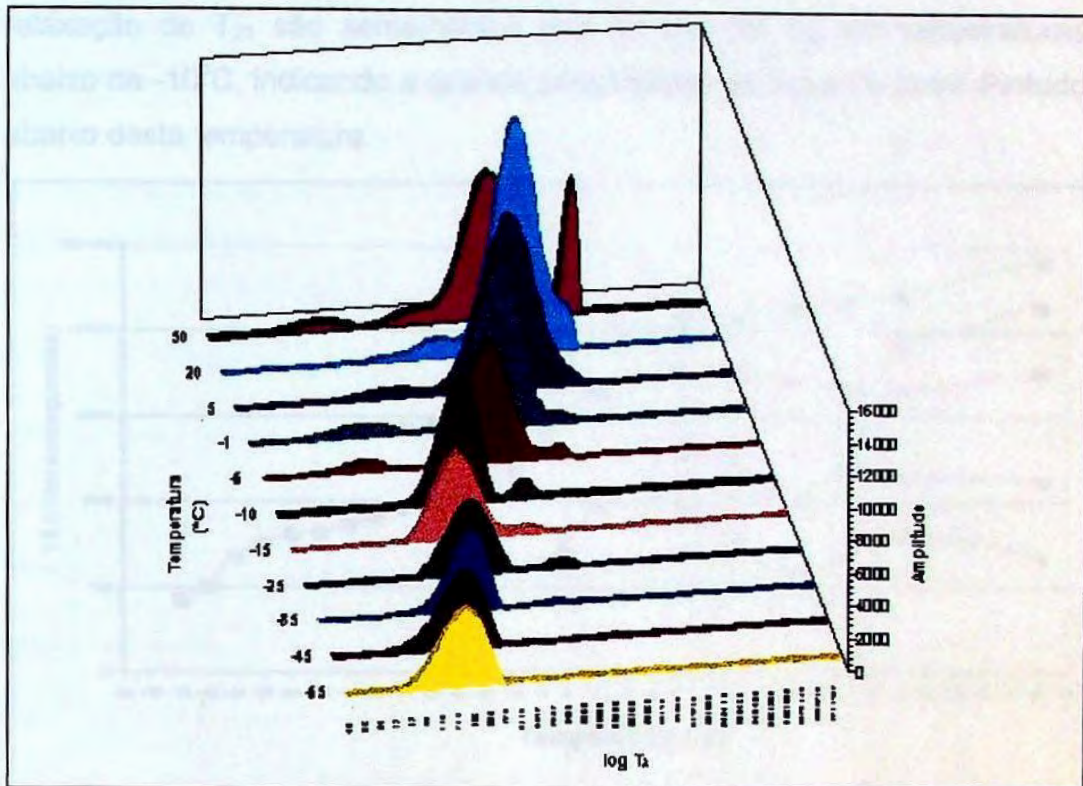


Figura 10. Influência da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original (modelo de distribuição contínua).

O efeito da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original pode ser melhor avaliado na figura 11. As curvas foram obtidas com os pontos de máxima amplitude nas curvas de distribuição contínua. Na temperatura de -5°C observa-se o aparecimento de um novo sinal denominado T_{21} . Este sinal representa a água fortemente ligada às macromoléculas, com um tempo de relaxação bem distinto do sinal T_{22} . O sinal T_{21} se divide em dois entre as temperaturas de 5 e 20°C . Com esta divisão pode-se visualizar as duas formas de água fortemente ligada "Bound water": a água ligada às

superfícies hidrofílicas (menores tempos de relaxação), e a água ligada às superfícies hidrofóbicas das macromoléculas do sistema. Os tempos de relaxação de T_{21} são semelhantes aos tempos de T_{22} em temperaturas abaixo de -10°C , indicando a grande imobilização da água no peixe Pintado abaixo desta temperatura.

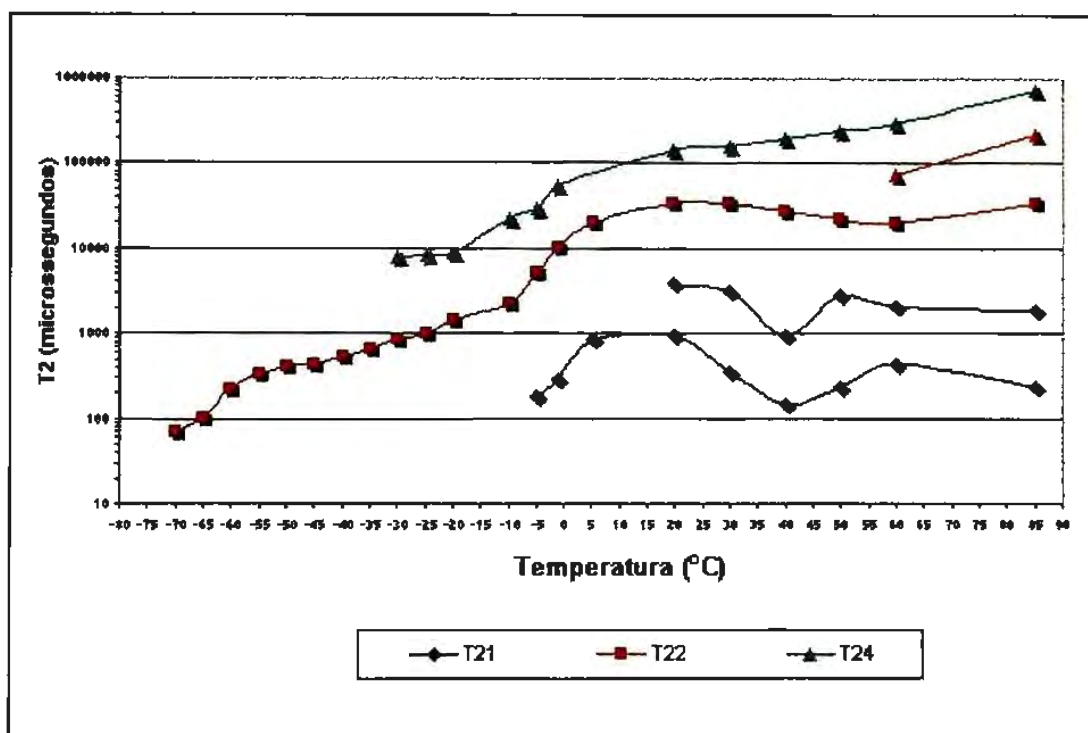


Figura 11. Efeito da variação da temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original. (picos de máxima amplitude)

A curva de relaxação T_{22} também apresenta uma divisão entre as temperaturas de 50 e 60°C . Esta divisão refere-se a uma fração da água que está muito distante da matriz, na região das multicamadas e seu tempo de relaxação passa a ser cada vez mais longo, tendo em vista que o valor do tempo de relaxação da água não ligada é da ordem de 3 a 4 segundos.

Uma visualização mais clara da influência da variação da temperatura na relaxação spin-spin (T_{22}) no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original pode ser analisada na figura 12. O aumento da temperatura provoca um aumento exponencial do tempo de relaxação T_{22} até a temperatura de 20°C quando se estabiliza em 34,9ms. A inflexão da curva de T_{22} mostrou-se na temperatura de -7°C, que apresentou um tempo de relaxação de 4,3ms.

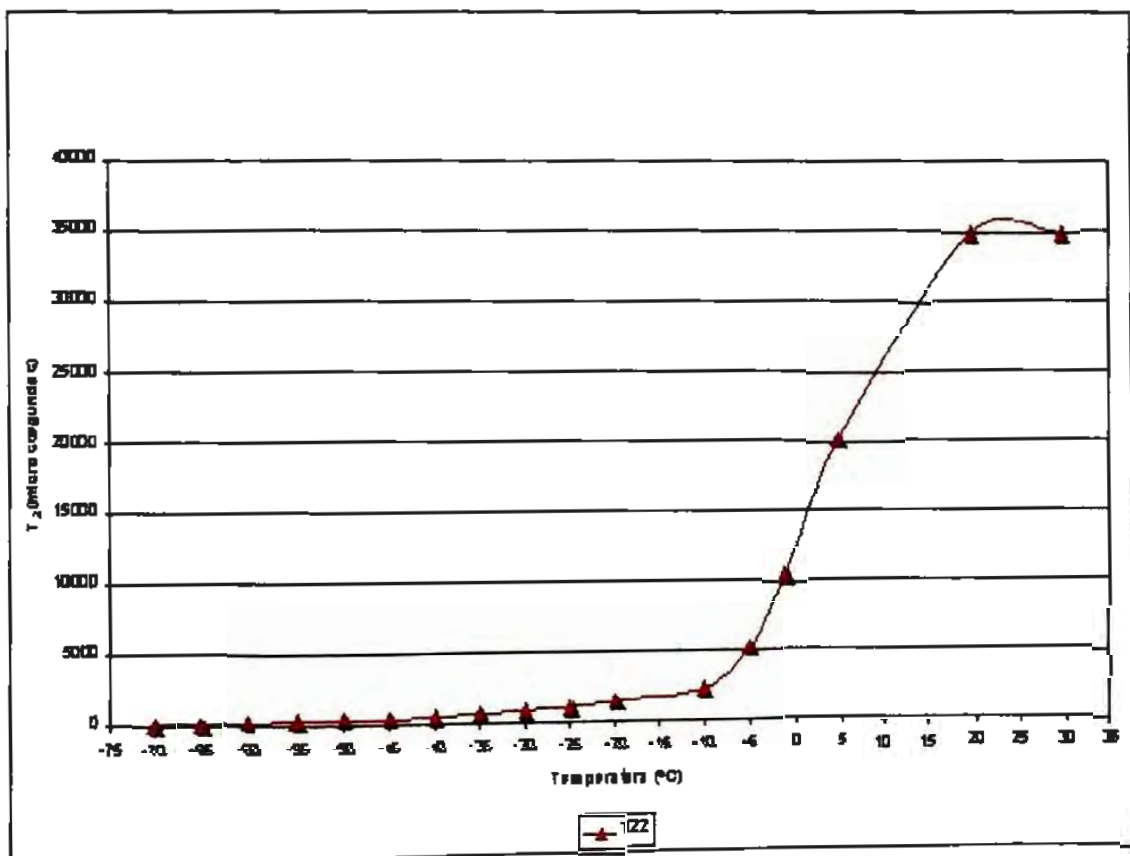


Figura 12. Influência da variação da temperatura na relaxação spin-spin (T_{22}) no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original (detalhe).

O efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original pode ser avaliado na figura 13. O sinal T_{22} representa quase a totalidade dos sinais obtidos abaixo de 5°C , mostrando a importância deste sinal na relaxação total do peixe Pintado. O sinal T_{24} representa a gordura no sistema e seu sinal passa a ser significativo a partir da temperatura de 20°C e atinge o máximo a 60°C com 20,7% do sinal total.

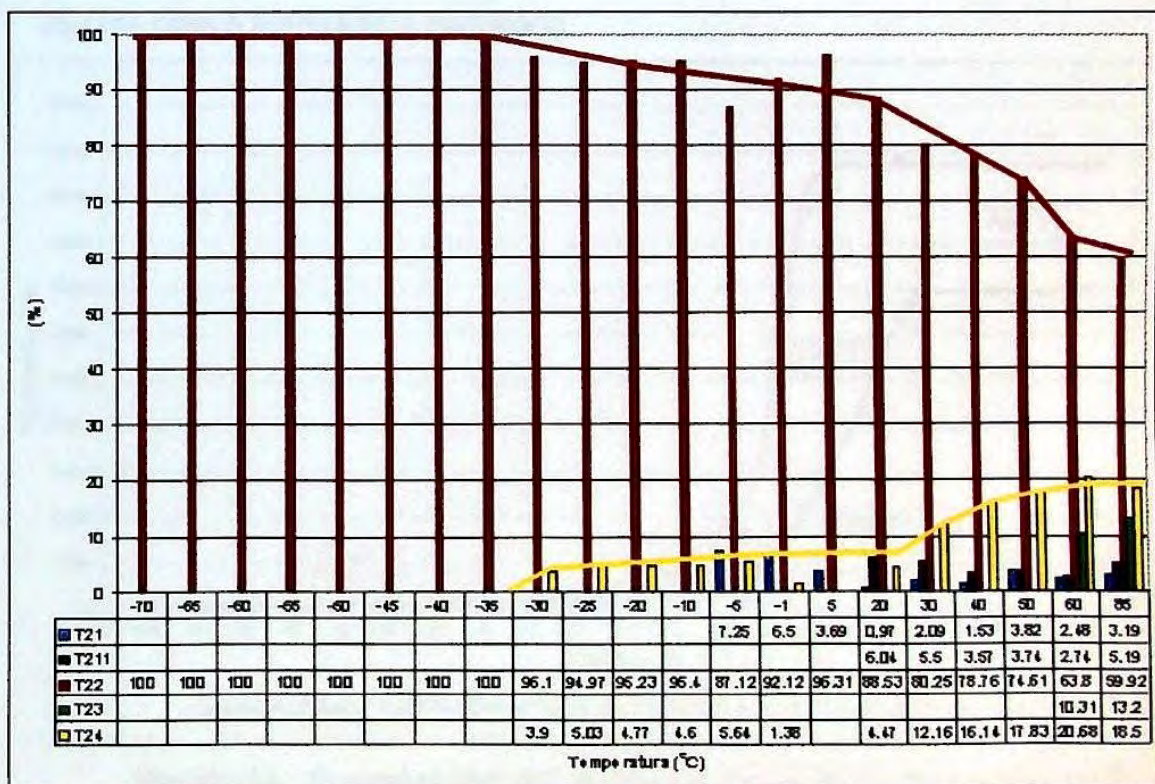


Figura 13. Efeito da variação da temperatura na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado e reidratado à umidade original.

Os resultados obtidos com as curvas de relaxação mostrando a influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) entre o peixe Pintado fresco e o liofilizado e reidratado são apresentados na figura 14. Comparando-se as duas curvas de T_{22} pode-se afirmar que houve uma interferência da liofilização nos tempos de relaxação da água no peixe Pintado. Os tempos de relaxação na fase 1 do peixe Pintado fresco e liofilizado e reidratado foram semelhantes, mas a relaxação do peixe Pintado fresco foi maior na fase 2, com a inflexão da curva na temperatura de -10°C , enquanto que para o peixe Pintado liofilizado e reidratado a inflexão da curva ocorreu na temperatura de -7°C . Os tempos de relaxação T_{22} na fase 3 também foram diferentes com a estabilização em 48,4ms para o fresco e 35,0ms para o liofilizado e reidratado.

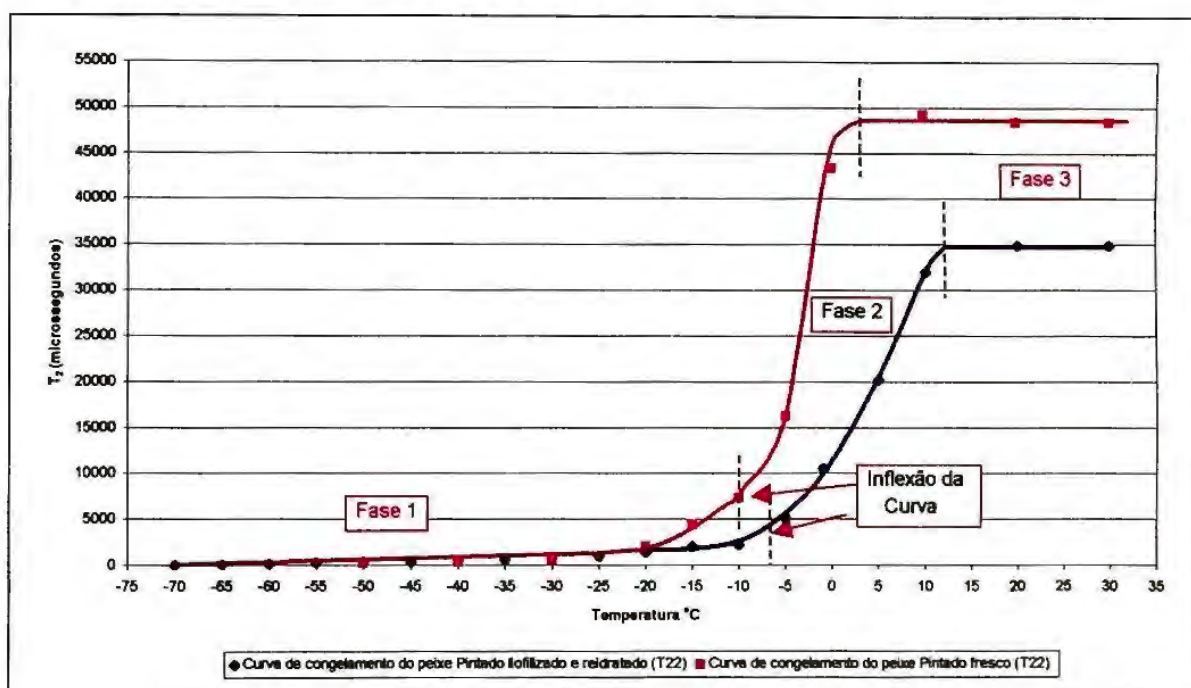


Figura 14. Comparação da influência da variação de temperatura sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) entre o peixe Pintado fresco e o liofilizado e reidratado.

Segundo CHEN & RUAN, (1998), o ponto de inflexão da curva de T_2 está relacionado com o processo de transição vítrea e que estes valores são muito próximos aos obtidos pela determinação do ponto de transição vítrea

obtido pela técnica "Differential Scanning Calorimetry" DSC. Assim pode-se afirmar que a temperatura de -10°C é a temperatura de transição vítrea do peixe Pintado fresco. Este valor de T_g é próximo aos valores obtidos por BRAKE & FENNEMA, (1999), para o peixe Mackerel (-13°C) e Bacalhau ($-11,7^{\circ}\text{C}$), pela técnica de DSC. Alguns autores citam temperaturas de transição vítrea bem abaixo destes valores. INOUE & ISHIKAWA, (1997), citam a temperatura de transição vítrea para o peixe Tuna como -71°C e NESVADBA, (1993) cita que a temperatura de transição vítrea do peixe Bacalhau é de -77°C . Ambos utilizaram a técnica de DSC para a identificação. Em seu trabalho BRAKE & FENNEMA, (1999) discutem a discrepância entre estes valores e afirmam que valores muito abaixo de -10°C não representam a matriz vítrea formada pelos componentes de alto peso molecular, e sim a matriz formada constituintes de baixo peso molecular que apresentam propriedades hidrofílicas bem diferentes das proteínas musculares.

5.3. Estudo por RMN da influência da variação de umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado nas temperaturas de 10, 25 e 40°C.

Para se entender a dinâmica da sorção de água nas amostras de peixe Pintado as figuras 15 a 23 devem ser observadas como complementares. Nas figuras, 15, 18 e 21 podemos visualizar a influência da variação da umidade na distribuição do tempo de relaxação spin-spin (T_2) pelo método CPMG, nas temperaturas de 10, 25 e 40°C. As figuras 16, 19 e 22 foram obtidas com os pontos de máxima amplitude dos espectros das curvas de distribuição e mostra que as amostras de peixe com teores de umidade muito baixos apresentam apenas um pequeno pico denominado T_{24} , que corresponde ao pico de relaxação T_2 da gordura. Com o aumento da umidade, alguns picos começam a sobressair. Um segundo pico, denominado T_{22} , começa a aumentar e passa a ser dominante a partir de 8% de umidade. Ele é importante, pois representa a água fortemente ligada à matriz do produto liofilizado. Em umidades altas, apresenta um tempo de relaxação longo, indicando que esta água está mais disponível no sistema. A importância desta disponibilidade está ligada à velocidade de secagem, crescimento de microrganismos, degradação de materiais biológicos e atividade enzimática.

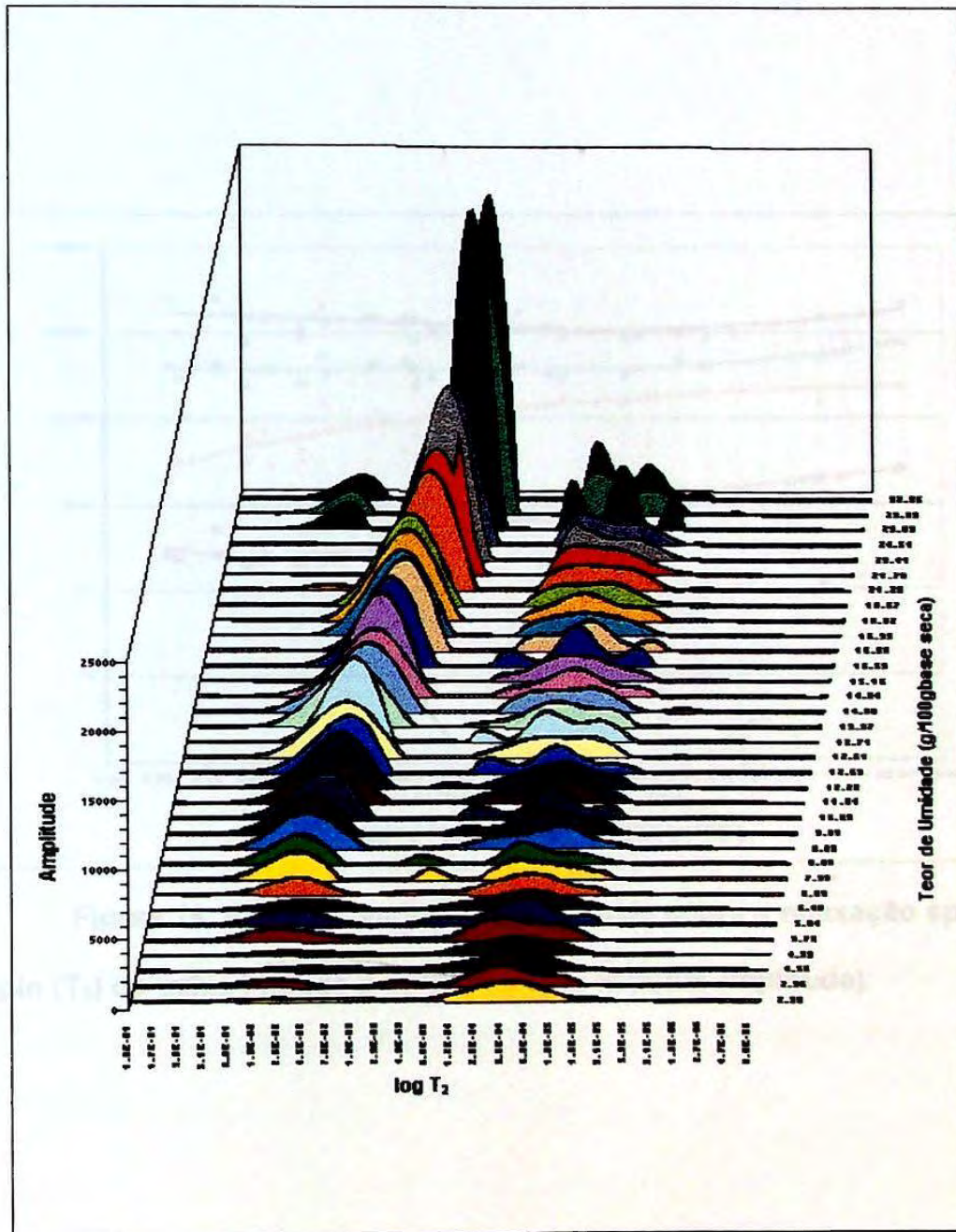


Figura 15. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 10°C (modelo de distribuição contínua).

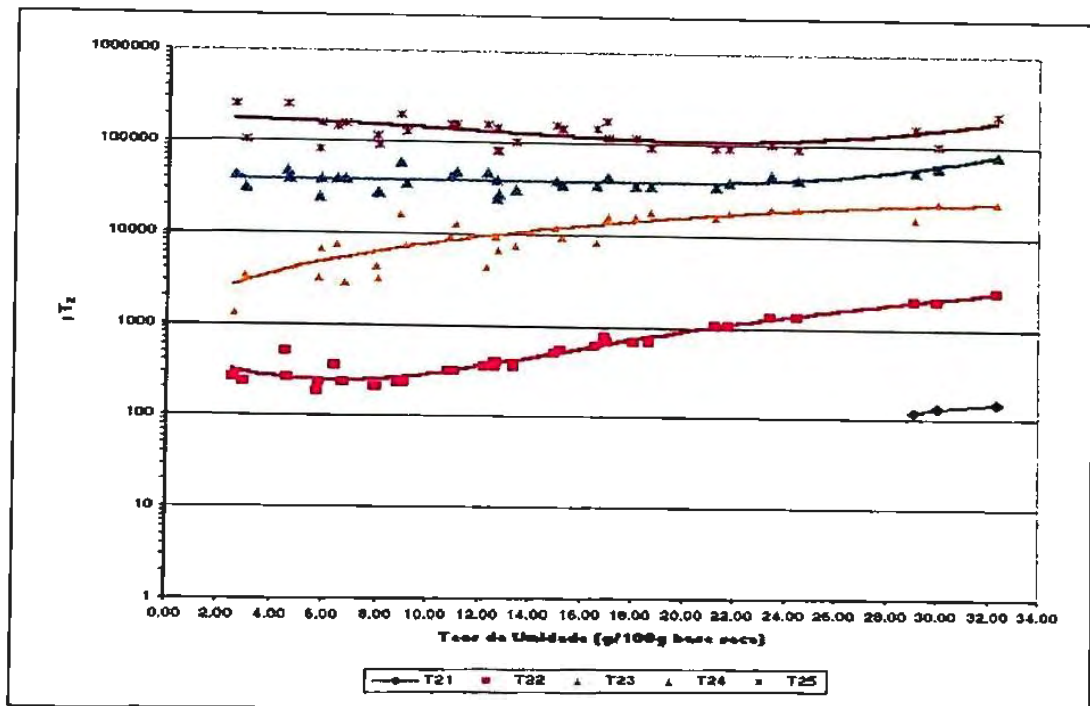


Figura 16. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 10°C (picos de máxima amplitude).

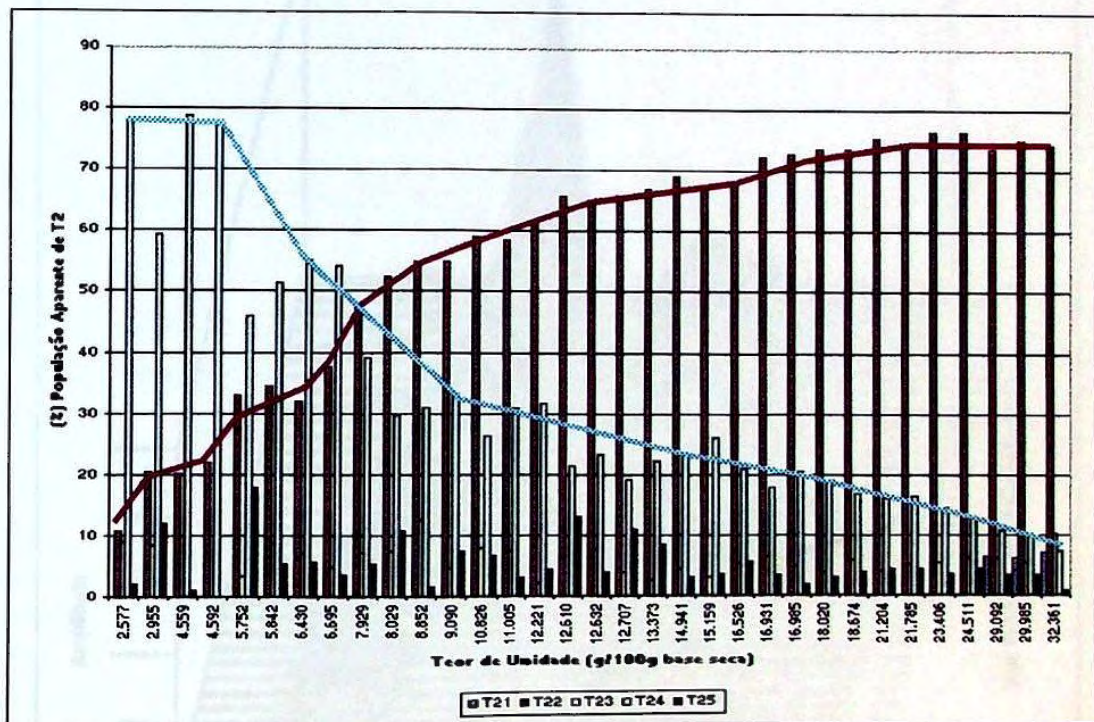


Figura 17. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado a 10°C.

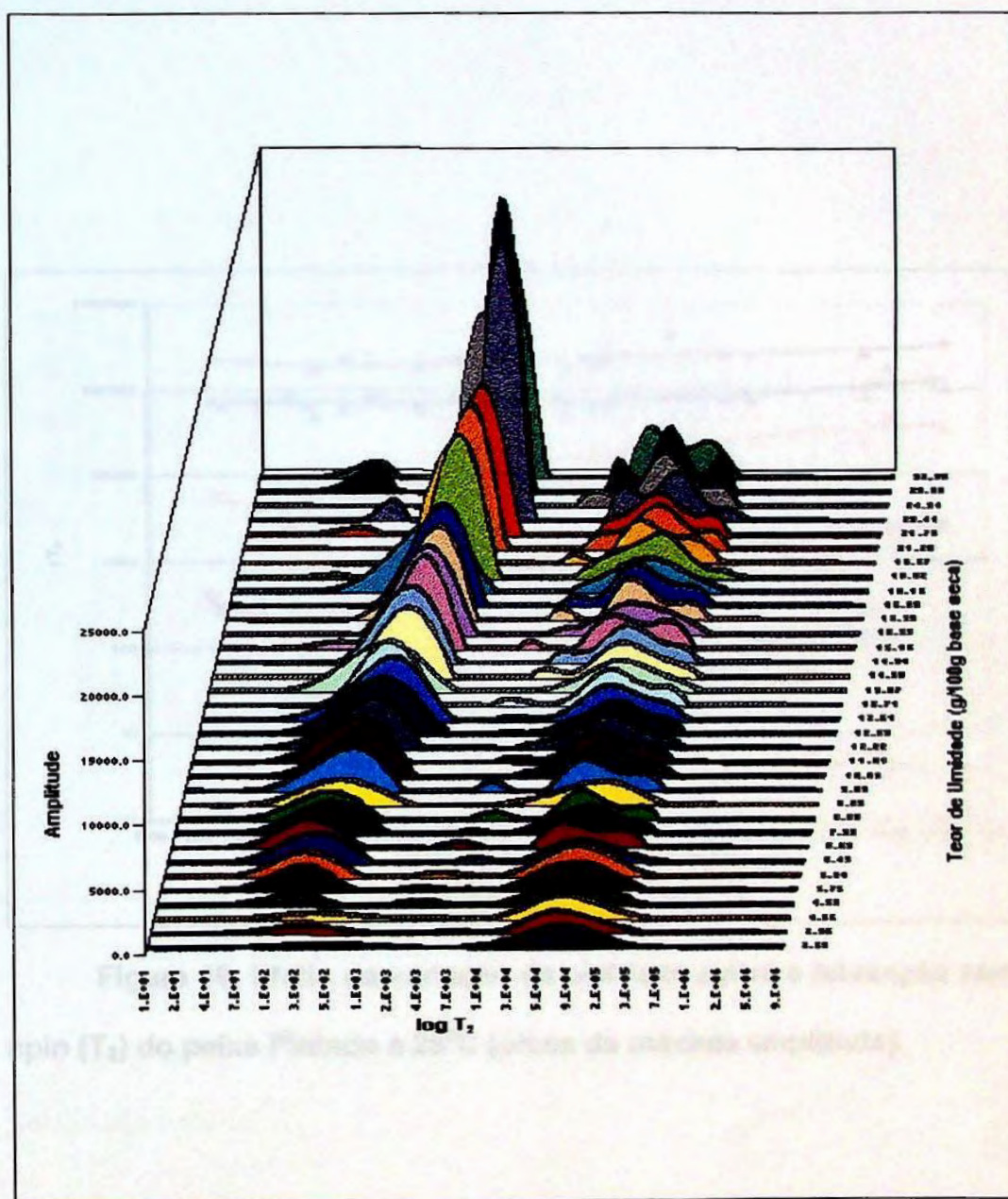


Figura 18. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 25°C (modelo de distribuição contínua).

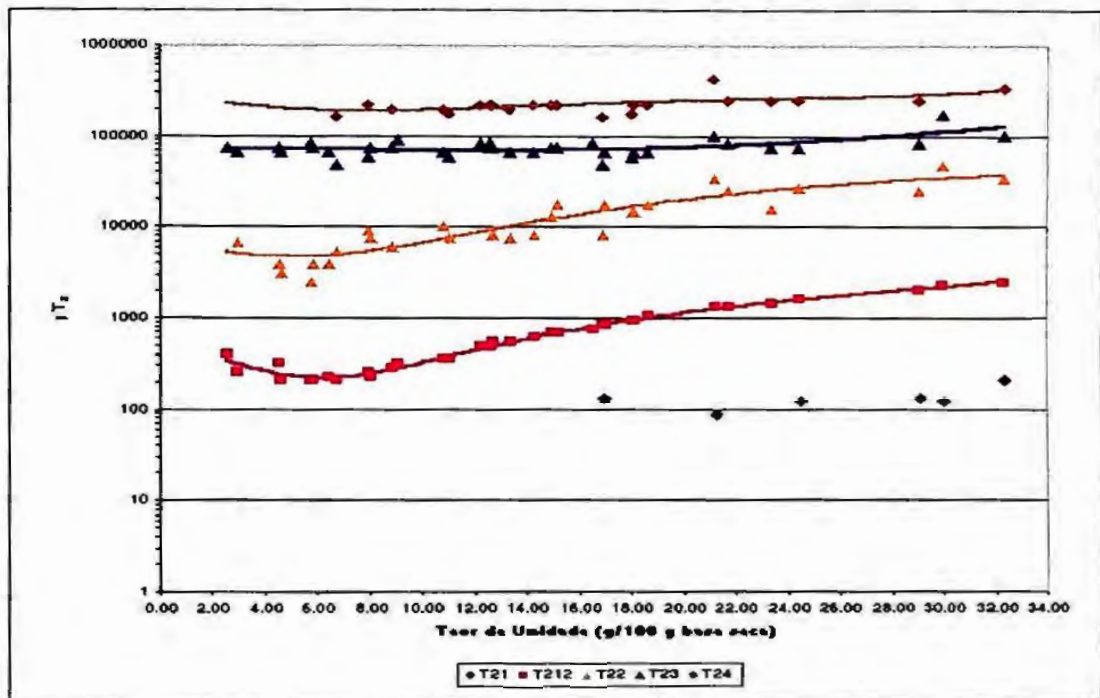


Figura 19. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 25°C (picos de máxima amplitude).

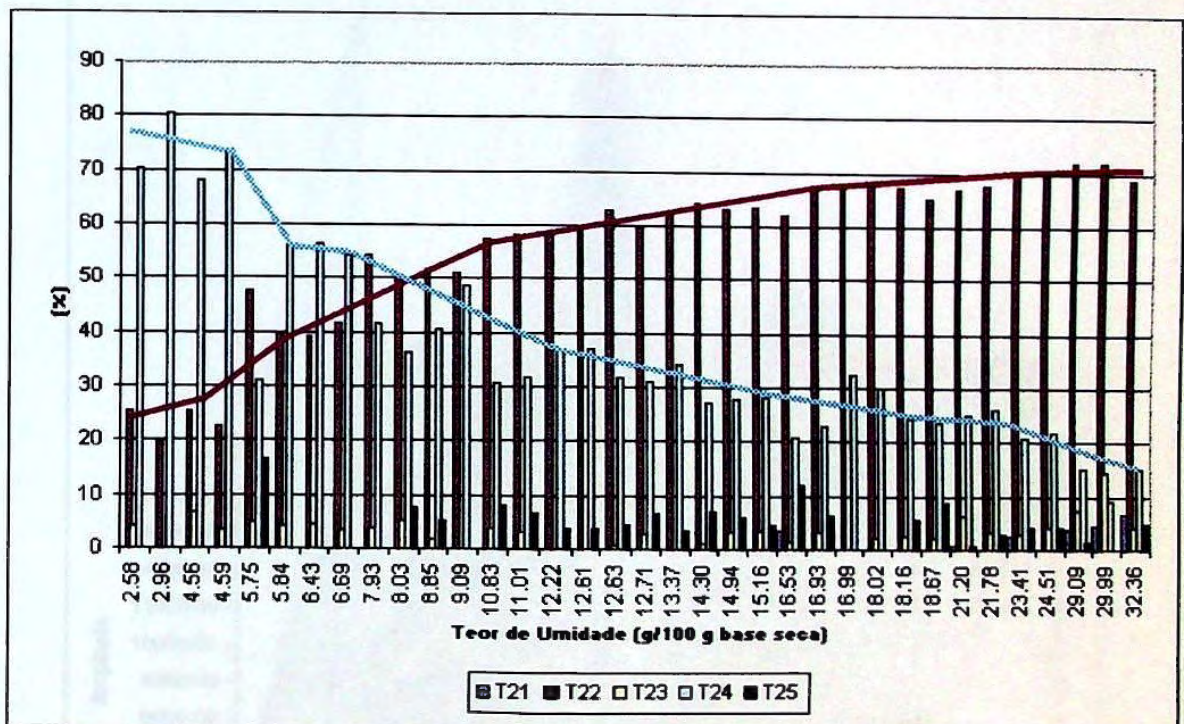


Figura 20. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado a 25°C.

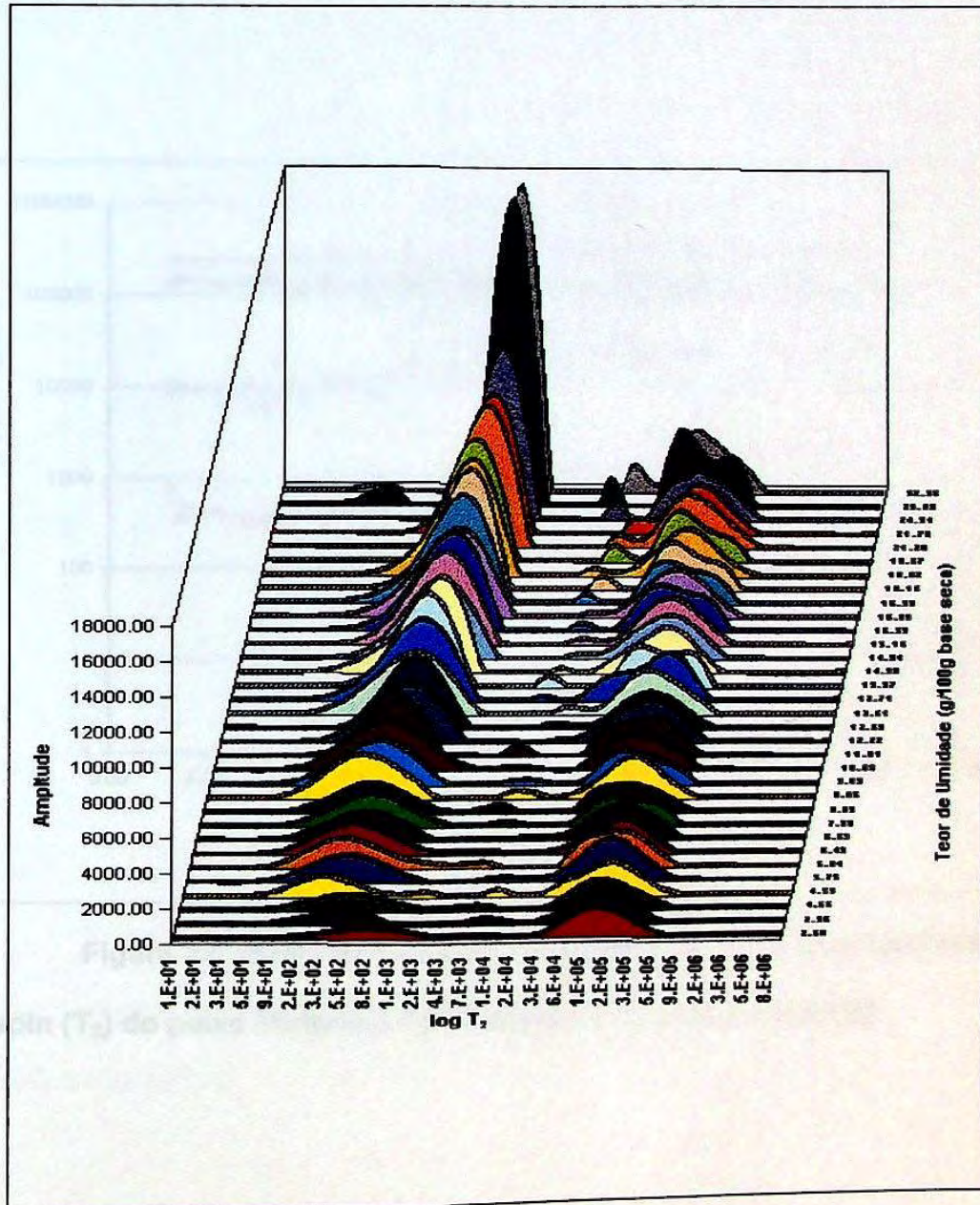


Figura 21. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 40°C (modelo de distribuição contínua).

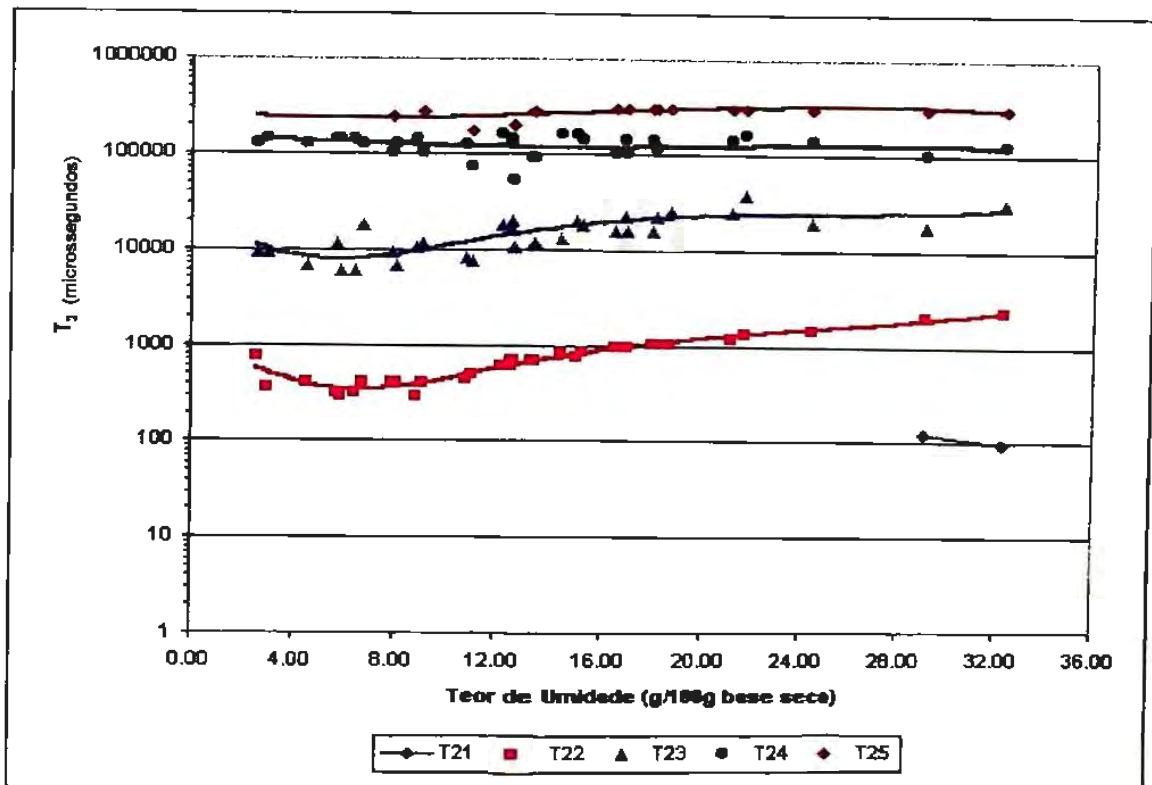


Figura 22. Efeito da variação da umidade sobre a relaxação spin-spin (T_2) do peixe Pintado a 40°C (picos de amplitude máxima).

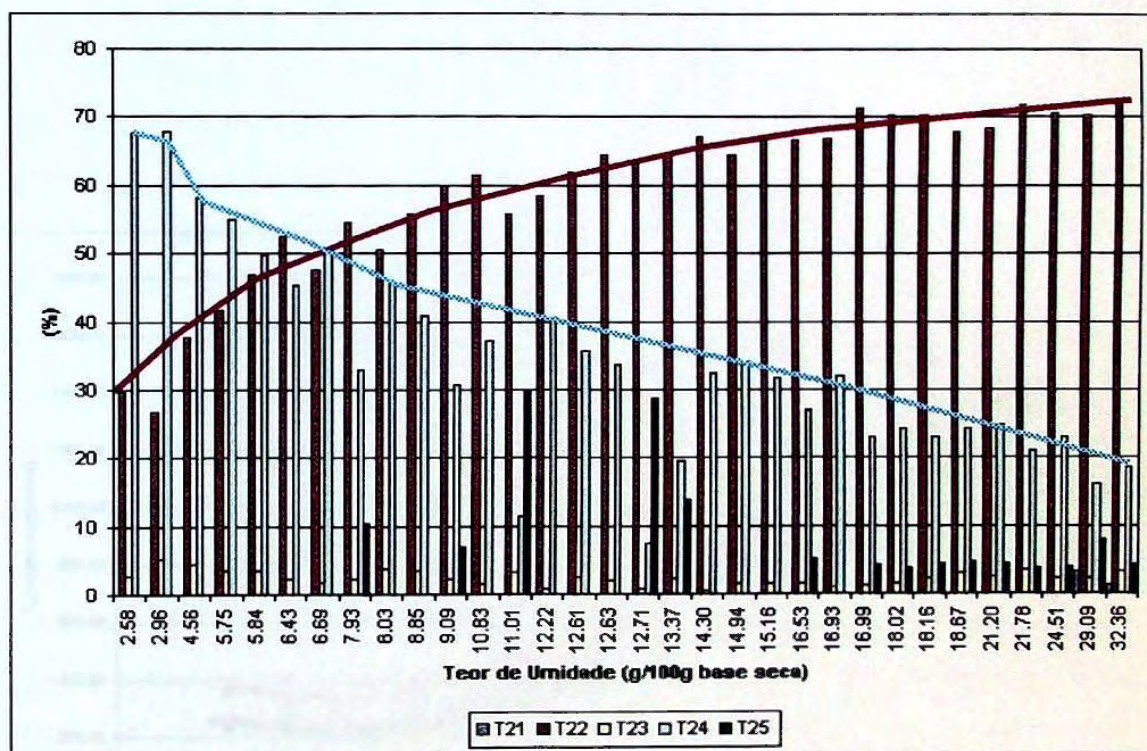


Figura 23. Efeito da variação da umidade na população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2), por RMN, no peixe Pintado liofilizado a 40°C.

Figura 24. Comparação da população aparente dos tempos de relaxação spin-spin (T_2) em função da temperatura de 10, 20 e 30°C, para o peixe Pintado liofilizado.

A influência da variação de umidade, nas temperaturas de 10, 25 e 40°C, sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) do peixe Pintado liofilizado é mostrada na figura 24. As curvas de T_{22} apresentam um deslocamento, indicando que nas temperaturas mais altas, a relaxação é maior e a estabilização ocorreu nos tempos de relaxação T_2 de 350 μ s para 40°C e de 220 μ s para as temperaturas de 10 e 25°C.

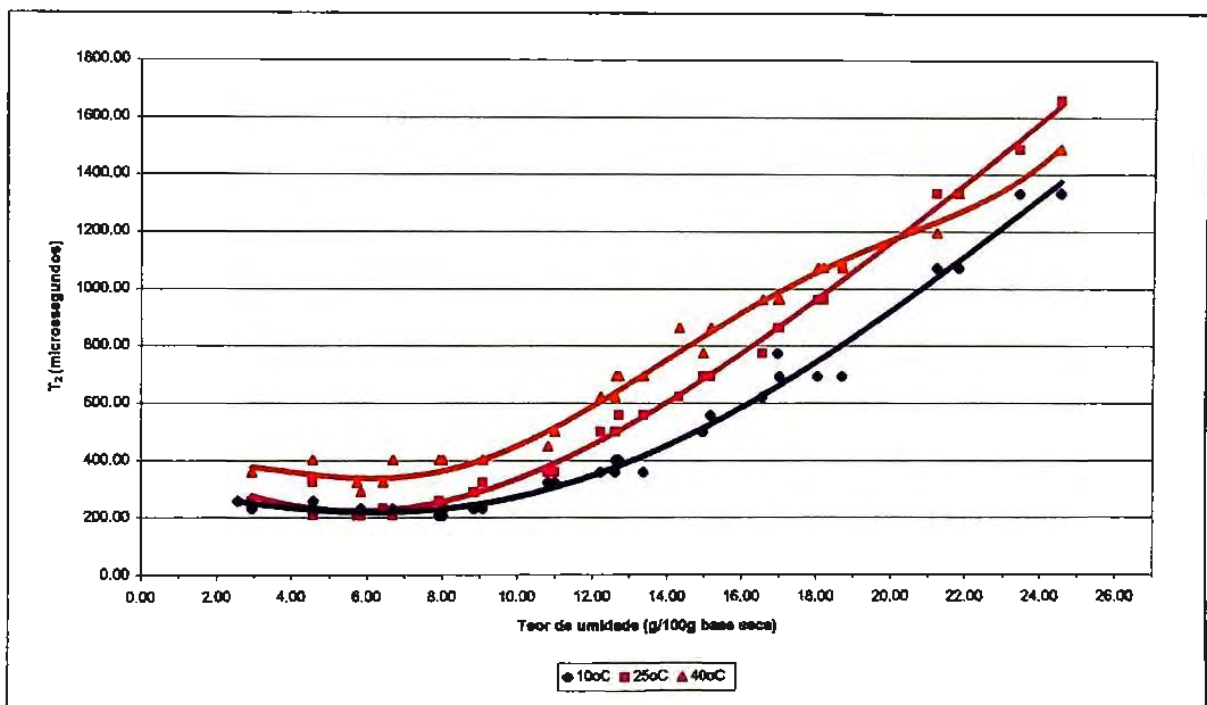


Figura 24. Comparação da influência da variação de umidade, nas temperaturas de 10, 25 e 40°C, sobre a relaxação spin-spin (T_{22}) do peixe Pintado liofilizado.

As isotermas de sorção de umidade (figuras 29 – 32) são tradicionalmente utilizadas como ferramentas para o projeto de processos tecnológicos na conservação de alimentos. A partir dos anos 90 novas técnicas, entre elas a ressonância magnética nuclear, vêm sendo propostas para substituir o uso das isotermas de sorção, no entanto, não se estabeleceu ainda uma forma clara, objetiva e prática de como os aficionados por estas técnicas possam substituir com sucesso as isotermas de sorção de umidade.

Na tentativa de tornar as informações teóricas, com os dados obtidos por RMN da dinâmica da hidratação do peixe Pintado liofilizado, foram construídas as figuras 25, 26 e 27, as quais exemplificam a aplicação direta da relação do tempo de relaxação spin-spin (T_{22}), conteúdo de água e a atividade de água do peixe Pintado liofilizado. Observa-se que a curva de T_2 apresenta inflexão e um crescimento exponencial acima de um certo teor de umidade, mostrando uma fase de estagnação anterior a este ponto. Este teor de umidade é o limite da transição de fases do sistema, sendo que a partir deste ponto, a água passa a estar menos ligada à matriz liofilizada. Extrapolando-se para a curva da isoterma de sorção de água, pode-se estimar a atividade de água para a amostra que contém esta umidade. Na figura 25 este ponto é o de 8% e a atividade de água é de 0,45. Na figura 26 o ponto de inflexão da curva de T_{22} é de 6,4% de umidade, correspondendo à atividade de água de 0,37. Seguindo a mesma tendência observada, os valores de umidade e atividade de água foram menores na figura 27, com 6,0% e 0,42, respectivamente. Note-se que o valor da monocamada GAB para as temperaturas estudadas se encontram na zona de maior estabilidade da curva de T_{22} .

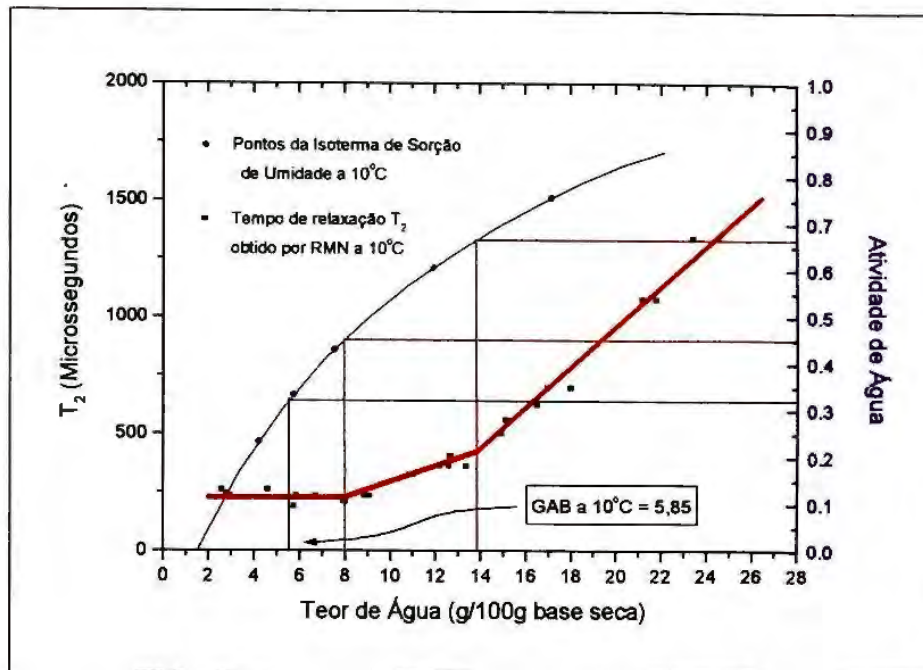


Figura 25. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 10°C.

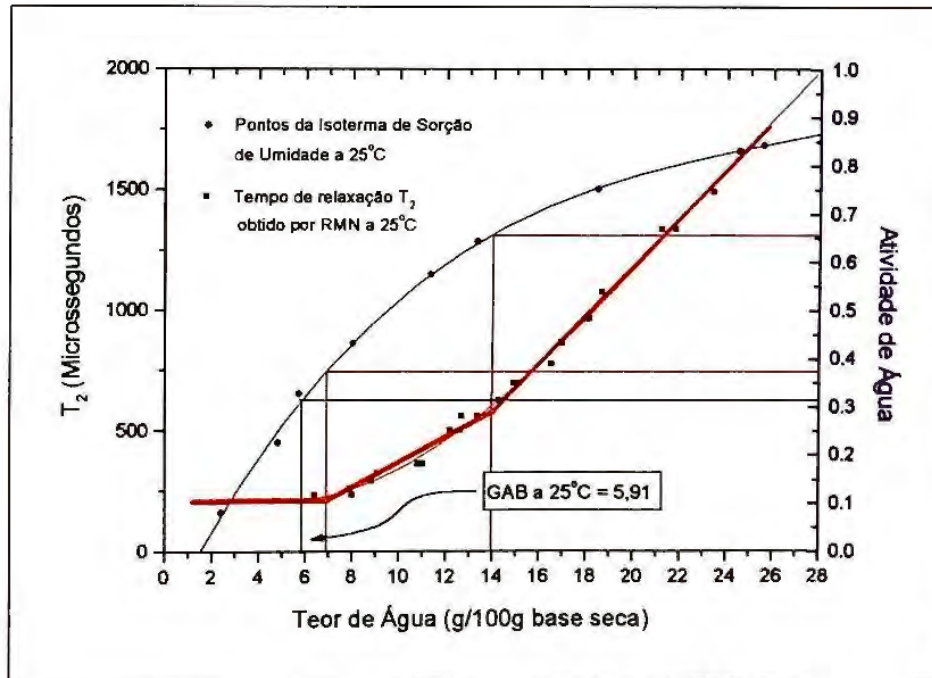


Figura 26. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 25°C.

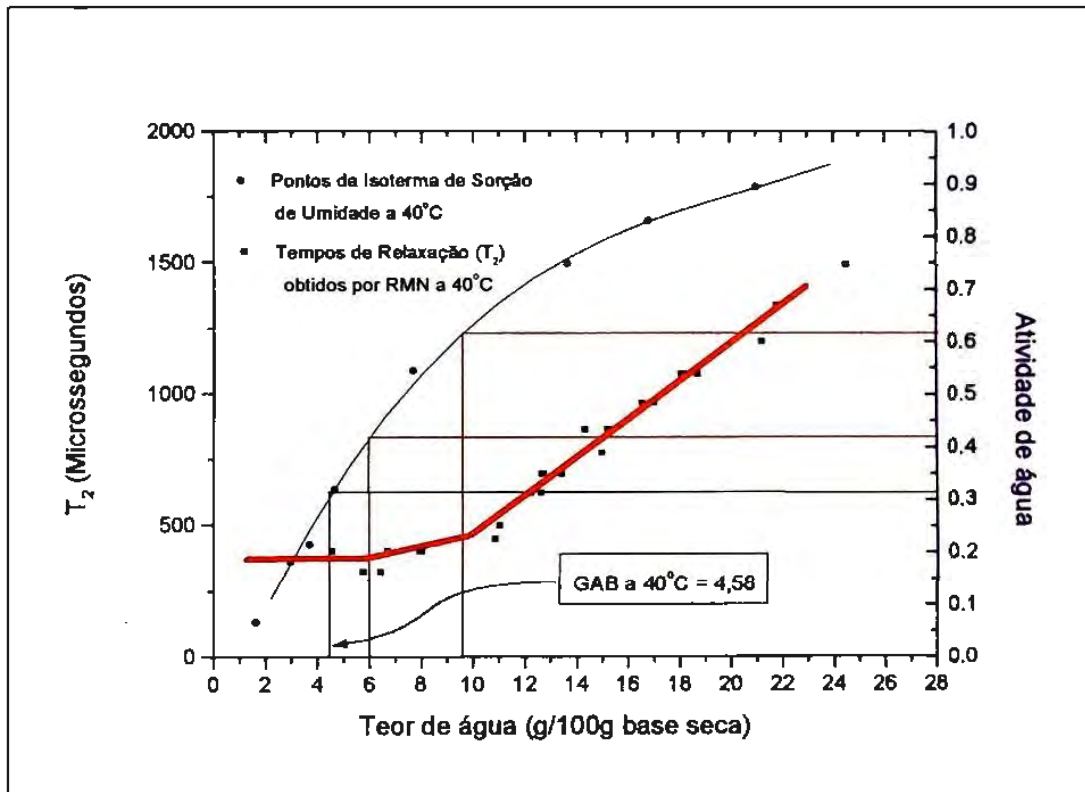


Figura 27. Tempo de relaxação spin-spin (T_{22}) em função da atividade de água (A_w) e a isoterma de sorção de umidade a 40°C.

5.4 Isotermas de Sorção de Umidade nas temperaturas 10, 25, 35 e 40°C

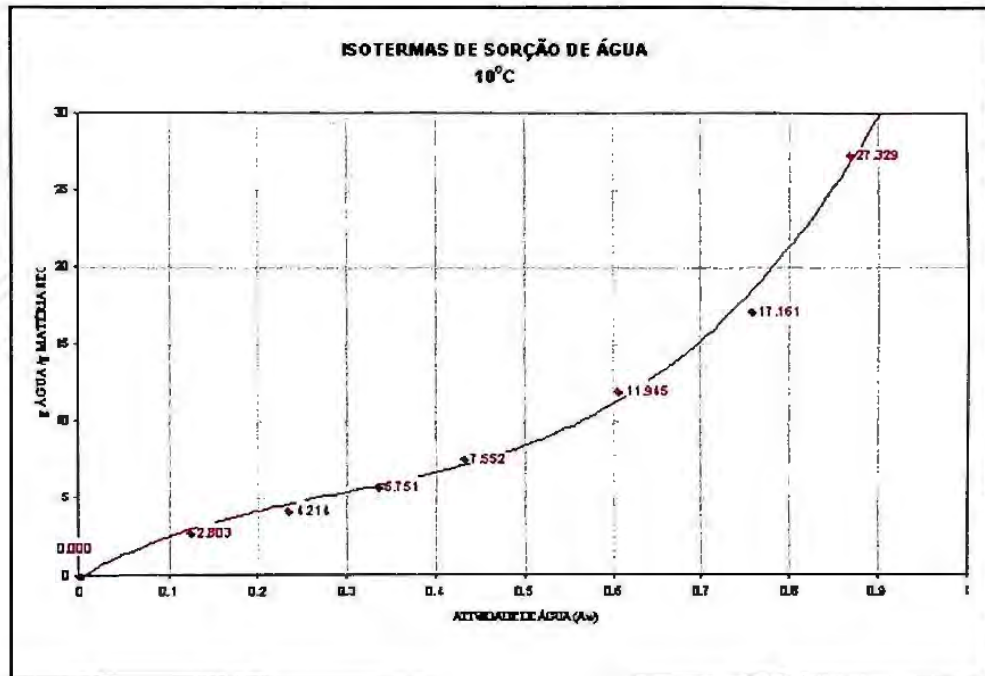


Figura 28. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 10°C.

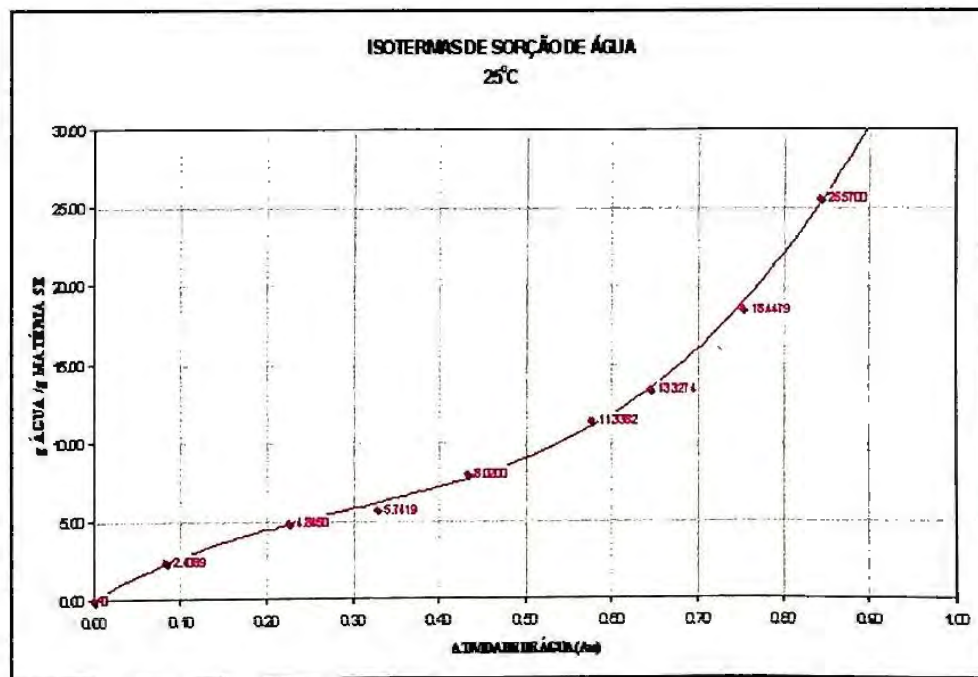


Figura 29. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C.

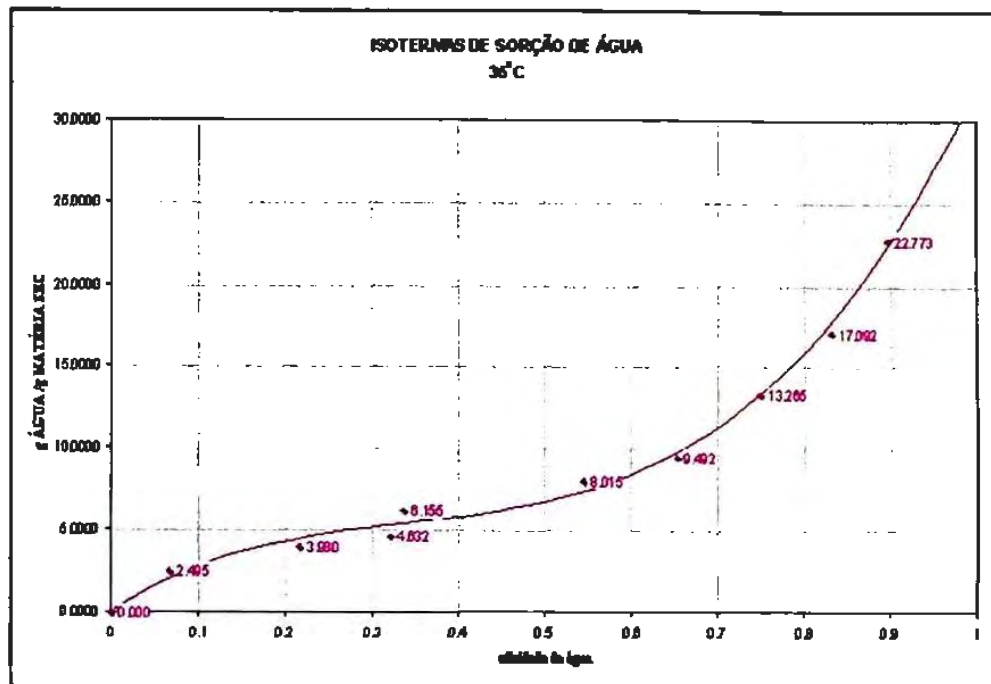


Figura 30. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 35°C.

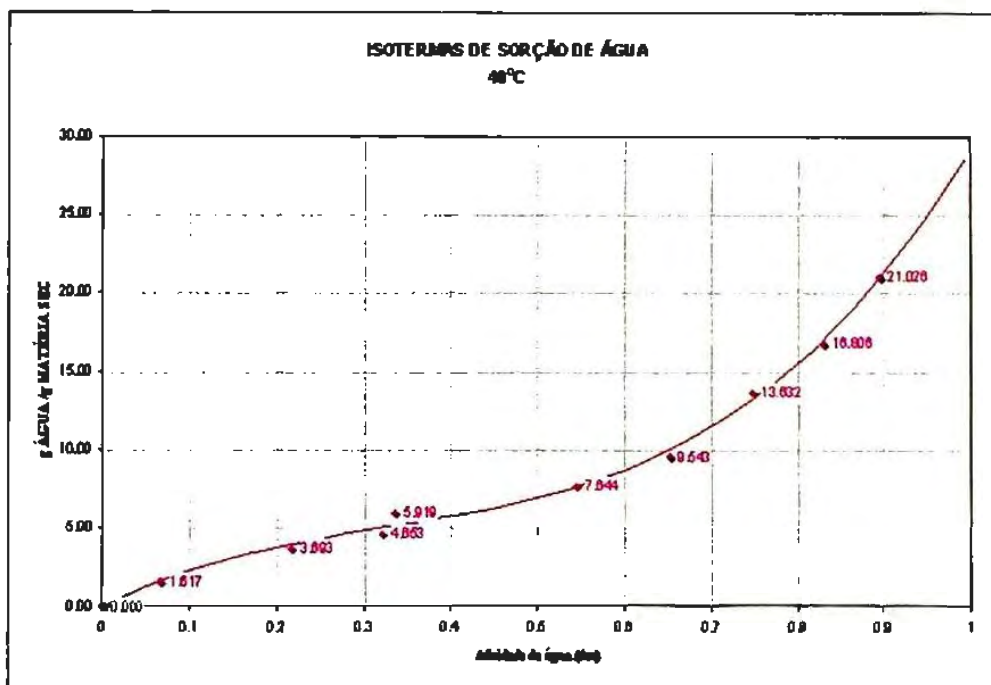


Figura 31. Isoterma de sorção de umidade do peixe Pintado a 40°C.

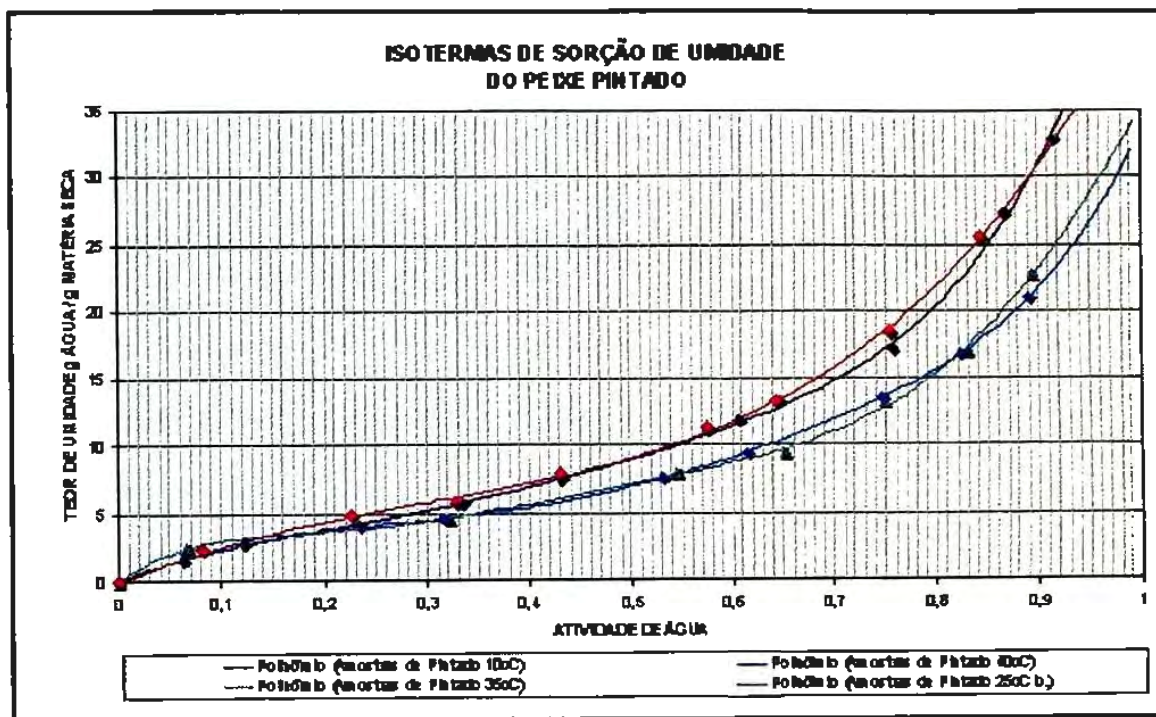


Figura 32. Isotermas de sorção de umidade do peixe Pintado liofilizado.

A metodologia utilizada foi certificada pela determinação da isoterma de sorção de água a 25°C empregando-se a celulose microcristalina (AVICEL PH101), material de referência de acordo com o projeto COST-90 (European Cooperation in Technnical Research).

As isotermas obtidas são de tipo II, apresenta a forma sigmóide, a mais comum em alimentos. Estas isotermas podem ser fracionadas em três partes. Uma inicial, côncava em relação às abscissas, onde a sorção é devida principalmente à hidratação das proteínas do peixe. Na faixa intermediária de atividade de água , entre 0,3 e 0,6 a sorção é devida a efeitos capilares

As isotermas de sorção de umidade do peixe Pintado liofilizado são mostradas nas figuras de 28 a 31. Observa-se que as isotermas obtidas são do tipo II, apresentando-se na forma sigmóide, comum a alimentos ricos em proteína.

Observou-se variações no posicionamento das isotermas influenciados pela temperatura, conforme a figura 32, em temperaturas mais baixas, para um mesmo teor de umidade, o sistema apresenta uma menor atividade de água.

A variação no posicionamento das isotermas a 10 e 25°C, bem como a 35 e 40°C, foram semelhantes, mas se compararmos com as isotermas a 10 e 25°C e 35 ou 40°C, podemos observar um grande deslocamento.

5.5 Isósteres do peixe Pintado

Aos dados experimentais obtidos para as isotermas aplicou-se a equação de Clausius-Clapeyron:

$$\ln A_w = \frac{-\Delta H_w}{RT} \quad (6)$$

Onde:

A_w = Atividade de água

ΔH_w = Calor de sorção da água (Kcal/mol)

R = Constante dos gases (1,987 cal/mol)

T = Temperatura (K)

A função termodinâmica usada para expressar a dependência da temperatura, pela pressão de vapor é a equação de Clausius-Clapeyron. Esta equação, além de permitir o conhecimento do valor da energia de ligação das moléculas de água ligadas aos sítios de sorção permite prever os valores em outras temperaturas.

Fixando-se níveis de umidade, pela equação das isotermas obtém-se os valores correspondentes de A_w , para as três temperaturas. Traçam-se então, as isósteres correspondentes mostradas na figura 33, que relacionam o efeito da temperatura absoluta sobre a atividade de água, em diferentes níveis de umidade de equilíbrio.

Para se determinar ΔH_w , a isoterma de sorção deve ser feita no mínimo em duas temperaturas. Porém para uma melhor estimativa, um maior número de temperaturas deve ser empregado.

Pelas tangentes das isósteres, conforme a equação de Clausius-Clapeyron, encontram-se os valores do calor de sorção, (ΔH_w) mostradas na tabela 2. O calor total de sorção (ΔH_t) é obtido somando-se ao ΔH_w , o calor latente de vaporização da água (ΔH_o), cujo valor é de 10,4 Kcal/mol e que está representado na figura 34 pela linha horizontal.

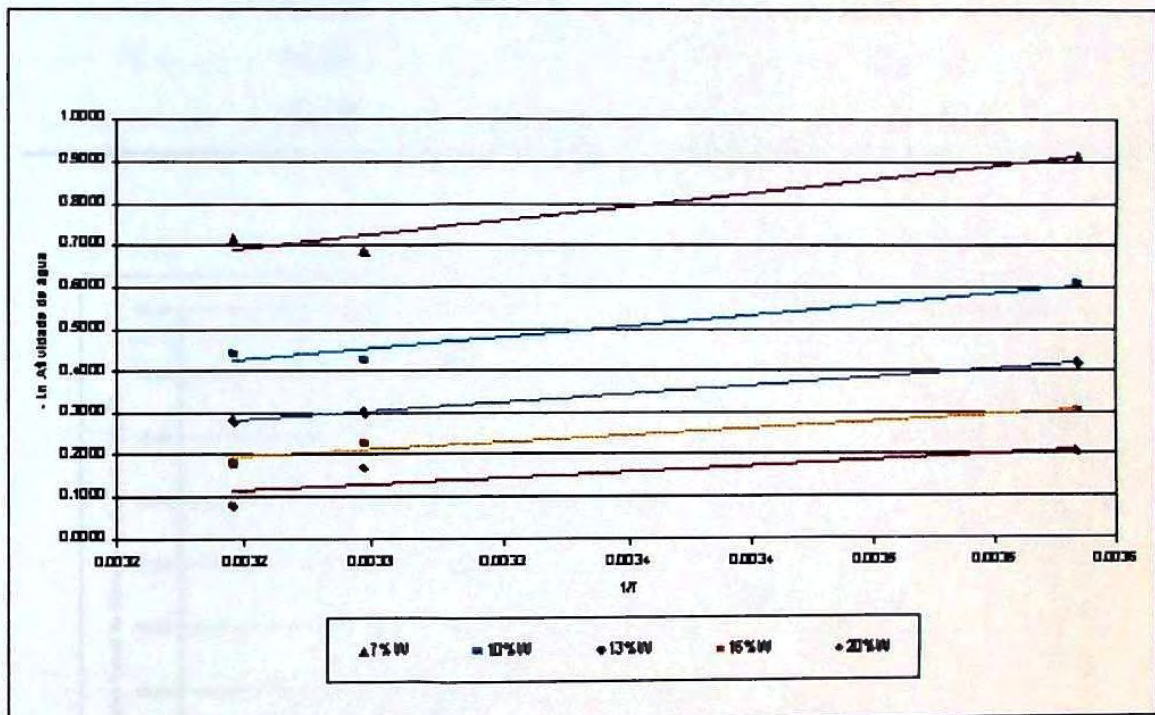
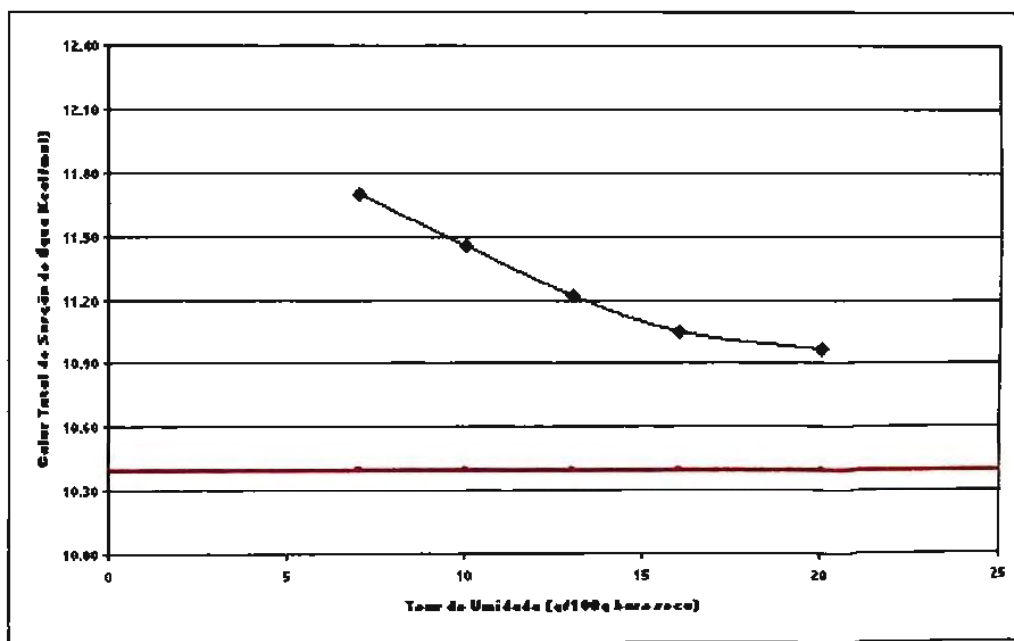


Figura 33. Isósteres de sorção de umidade do peixe Pintado Liofilizado.

Figura 34. Calor total de sorção de umidade do peixe Pintado Liofilizado.

Tabela 2. – Calor Isotérico de sorção de água do peixe Pintado liofilizado.

Teor de Umidade (g/100g base seca)	Calor Isotérico (Kcal/mol)
7,00	1.30
10,00	1.06
13,00	0.82
16,00	0.66
20,00	0.57



— ΔH_v = calor latente de vaporização da água

Figura 34. Calor total de sorção em função do teor de umidade do peixe Pintado liofilizado.

Tabela 4 - Parâmetros da equação B.E.T., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C.

B E T 25°C							
Número de pontos	Aw	Wi	Aw/Wi*(1-Aw)	Wi*	y = 0,1716x + 0,0234		
4	0,082	2,41	0,0372	2,20	R2 = 0,9801		
	0,225	4,84	0,0601	4,09			
	0,327	5,74	0,0849	5,25	alfa	beta	
	0,431	8,02	0,0947	6,61	0,1716	0,0234	
					RMS%	C	
					1,8490	10,0596	
						<div style="border: 1px dashed black; padding: 2px; display: inline-block;"> Wm 4,25 </div>	

Onde: A_w = Atividade de água.

W_i = Teor de umidade no equilíbrio (g de água/100g de sólidos)

W_i^* = Teor de umidade calculado pela equação

W_m = Teor de umidade correspondente a uma camada monomolecular de água, adsorvida na superfície do produto em g de água por 100 g de sólidos.

C = Constante relacionada com o calor de sorção

Os resultados obtidos no cálculo do valor monomolecular para a equação BET mostraram uma pequena variação de W_m para as duas temperaturas consideradas.

5.7 Valores da equação GAB, obtidos para as temperaturas de 10, 25, 35 e 40°C

Tabela 5 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 10°C.

G A B 10°C						
Número de pontos	Aw	Wi	Aw/Wi	Wi/Wm	Wi*	$y = -0,1267x^2 + 0,1071x + 0,0349$
8	0,123	2,80	0,0440	0,4562	2,67	$R_2 = 0,9768$
	0,234	4,21	0,0555	0,7531	4,41	
	0,335	5,75	0,0582	1,0106	5,92	
	0,431	7,55	0,0571	1,2806	7,50	alfa
	0,607	11,94	0,0508	1,9463	11,40	beta
	0,757	17,16	0,0441	2,9776	17,44	gama
	0,868	27,33	0,0318	4,5677	26,75	-0,1267
	0,915	32,89	0,0278	5,8256	34,12	0,1071
						0,0349
						Wm
						5,86
						K
						0,9120
						C
						5,3649
						RMS%
						0,2514

Tabela 6 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 25°C.

G A B 25°C						
Número de pontos	Aw	Wi	Aw/Wi	W/Wm	Wi*	$y = -0,1311x^2 + 0,1202x + 0,027$
6	0,082	2,41	0,0342	0,3866	2,29	$R_2 = 0,9214$
	0,328	5,74	0,0571	1,0598	6,27	
	0,576	11,34	0,0508	1,8460	10,91	
	0,644	13,33	0,0483	2,1769	12,87	alfa
	0,843	25,57	0,0330	4,0615	24,01	beta
	0,903	28,53	0,0316	5,3326	31,53	gama
						-0,1311
						0,1202
						0,0270
						Wm
						5,91
						K
						0,9062
						C
						6,9126
						RMS%
						0,1840

Tabela 7 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 35°C.

G A B 35°C						
Número de pontos	Aw	Wi	Aw/Wi	W/Wm	Wi*	$y = -0,228x^2 + 0,2304x + 0,0141$
7	⁰ 0,067	2,50	0,0270	0,6048	2,36	$R_2 = 0,9696$
	0,320	4,63	0,0692	1,2756	4,97	
	0,545	8,01	0,0681	1,9473	7,58	alfa
	0,652	9,49	0,0687	2,4874	9,69	-0,2280
	0,749	13,27	0,0564	3,2701	12,73	beta
	0,829	17,09	0,0485	4,4068	17,16	0,2304
	0,895	22,77	0,0393	6,1005	23,76	gama
						0,0141
						Wm
						3,89
						K
						0,9360
						C
						19,4583
						RMS%
						0,2963

Tabela 8 - Parâmetros da equação G.A.B., obtidos com os dados de sorção de umidade do peixe Pintado a 40°C.

G A B 40°C						
Número de pontos	Aw	Wi	Aw/Wi	W/Wm	Wi*	$y = -0,1714x^2 + 0,1639x + 0,0303$
7	⁰ 0,063	1,6174	0,0387	0,3425	1,5694	$R_2 = 0,975$
	0,316	4,6533	0,0679	1,0614	4,8633	
	0,532	7,6438	0,0696	1,6821	7,7069	alfa
	0,616	9,5429	0,0645	2,0278	9,2910	-0,1714
	0,747	13,6318	^{0,} 0548	2,8541	13,0768	beta
	0,823	16,8059	0,0490	3,6614	16,7754	0,1639
	0,891	21,0263	0,0424	4,8299	2,1291 ²	gama
						0,0303
						Wm
						4,5817
						K
						0,8970 ⁰
						C
						8,0303
						RMS%
						0,3058

Onde: A_w = Atividade de água.

W_i = Teor de umidade no equilíbrio (g de água/100g de sólidos)

W_i^* = Teor de umidade calculado pela equação

W_m = Teor de umidade correspondente a uma camada monomolecular de água, adsorvida na superfície do produto em g de água por 100 g de sólidos.

C = Constante relacionada com o calor de sorção

Os valores monomoleculares diminuíram com o aumento da temperatura, apesar do valor encontrado para a isoterma de 35°C ser pouco maior que o da isoterma a 40°C, pois as duas curvas se cruzam. Esta tendência a um menor valor de monocamada está de acordo com a literatura (IGLESIAS & CHIRIFE, 1976d).

5.8 Textura do peixe Pintado

Para efeito dos experimentos, os peixes foram divididos em três partes distintas: As partes 1, 2 e 3 correspondem às regiões anterior, central e caudal.



Figura 35. Divisão do peixe Pintado em três partes para os experimentos (visão superior).

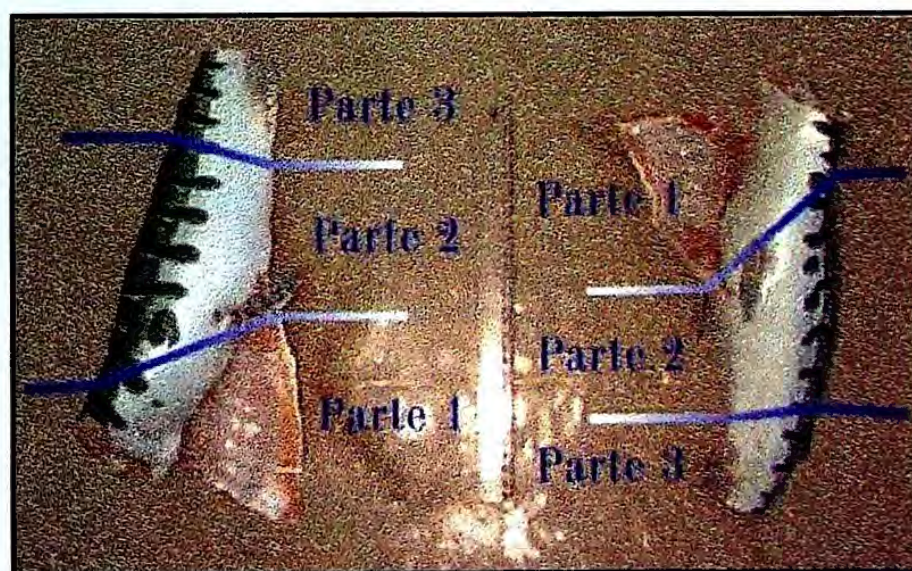


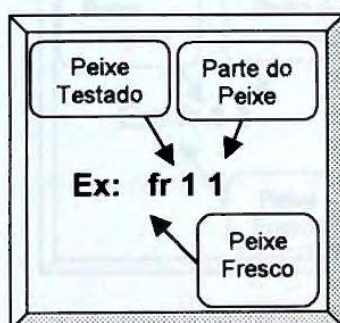
Figura 36. Divisão do peixe Pintado em três partes para os experimentos (visão lateral).

Tabela 9 – Comparação das propriedades texturais do peixe Pintado fresco e liofilizado, usando o método de compressão simples a 20°C.

	fr11	fr21	fr31	fr41	fr12	fr22	fr32	fr42	fr13	fr23	fr33	fr43
li11	*	*					*		*	*		*
li12					*					*		
li13					*				*			
li21		*								*		
li22		*				*			*	*		*
li23										*		
li31	*	*	*				*		*	*		*
li32							*			*		*
li33											*	
li41				*	*							
li42	*	*					*	*	*	*		*
li43												*

fr - peixe fresco obs: O primeiro número corresponde ao peixe testado e o segundo número corresponde à parte (anterior, meio e posterior) do peixe testado.
li - peixe liofilizado * diferença significativa à $p < 0.05$

Legenda:



Amostras	Média	Tukey ^a
li11	0.768	a
fr12	0.773	a
li42	0.785	ab
li31	0.878	ab
li22	0.969	abc
li12	0.997	abcd
li33	1.109	abcde
li21	1.114	abcdef
li32	1.119	abcdefg
fr42	1.138	abcdefgh
fr22	1.181	abcdefghi
li23	1.206	abcdefghij
fr33	1.261	abcdefghijk
fr31	1.296	abcdefghijkl
fr41	1.338	abcdefghijkl
li43	1.504	abcdefghijklm
fr32	1.580	cdefghijklm
fr11	1.613	cdefghijklm
li41	1.633	bcdefghijklm
fr21	1.730	defghijklm
fr13	1.880	defghijklm
li13	2.047	efghijklm
fr43	2.282	ef h jklm
fr23	2.290	e k m

^a Valores seguidos por uma mesma letra na coluna não são significativos à $p < 0.05$.

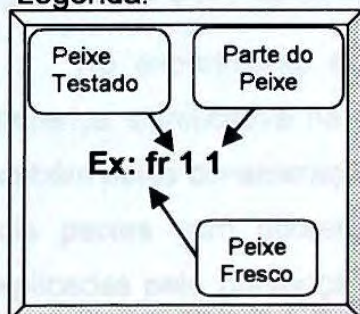
Tabela 10 – Comparação das propriedades texturais do peixe Pintado fresco e liofilizado, usando o método de resistência ao cisalhamento a 20°C.

	fr51	fr61	fr71	fr81	fr52	fr62	fr72	fr82	fr53	fr63	fr73	fr83
li51	■				*	*			*	*	*	
li52					■	*			*	*	*	
li53									■	*	*	
li61		■			*	*			*	*	*	
li62						■			*	*	*	
li63				*						■	*	
li71		*	■		*	*			*	*	*	
li72					*	*	■		*	*	*	
li73	*		*	*			*	*			■	
li81			■		*	*			*	*	*	
li82					*	*		■	*	*	*	
li83	*		*	*						*		■

fr - peixe fresco obs: O primeiro algarismo corresponde ao número de ordem do peixe

li - peixe liofilizado O segundo algarismo corresponde à parte (anterior, central *
diferença significativa à $p < 0,05$ e posterior) do peixe.

Legenda:



Amostras	Média	Tukey ^a
fr71	1.846	a
fr51	2.353	ab
li81	2.392	abc
fr82	2.565	abcd
li71	2.569	abcd
fr61	2.673	abcd
li51	2.721	abcd
fr81	2.960	abcd
fr52	3.216	abcde
fr72	3.437	abcde
li82	4.185	abcdef
li72	4.452	abcdef
fr62	4.991	cdefg
li61	5.014	bcdefgh
li83	5.065	bcdefgh
fr53	5.344	bcdefgh
fr63	6.190	defghi
li52	6.447	fghi
fr83	6.658	efghi
fr73	7.933	ghij
li62	8.132	hij
li53	8.940	ij
li73	10.510	ij
li63	10.751	j

^a Valores seguidos por uma mesma letra na coluna não são significativos à $p < 0.05$.

Nos experimentos anteriores, o primeiro segmento, com marcas azuis, corresponde à parte anterior do peixe, já as partes com marcas verdes e amarelas correspondem às partes central e caudal, respectivamente. As amostras com as iniciais "fr" correspondem às amostras do peixe que foram testadas frescas, sem nenhum tratamento prévio. As amostras que apresentam as iniciais "li", correspondem as amostras do peixe que foram testadas com a prévia liofilização e posterior reidratação à umidade original.

No experimento de compressão simples, a parte 3 (parte posterior) foi a que apresentou maior diferença estatística entre os experimentos. Os resultados podem ser explicados mais pela diferença entre as amostras da parte 3 em relação às outras partes do teste que pela influência da liofilização no teste. Com relação às outras duas partes (anterior e central), excetuando-se alguns pontos erráticos devido a própria heterogeneidade da musculatura do peixe, pode-se considerar que não houve diferenças significativas entre as amostras frescas e liofilizadas.

No experimento de resistência ao cisalhamento, verificou-se uma diferença significativa na parte 3 (parte posterior), que pode ser explicada também pelas considerações anteriores. A parte 2 (parte central) apresentou dois peixes com diferenças significativas. Estas diferenças podem ser explicadas pela presença de fibras muito resistentes que impediam o corte das amostras. Os outros dois peixes da parte 2 não apresentavam estas fibras, ou sua interferência foi reduzida devido às diferenças no ordenamento das fibras nos peixes. As fibras dos peixes, apesar de serem mais ordenadas que dos mamíferos, por vezes apresentam desordem nas fibras musculares além de serem menos espessas quanto mais próximas das extremidades. A parte 1 (parte anterior) foi a que apresentou mais homogeneidade nos resultados, podendo-se afirmar que não sofreu alterações significativas entre as amostras, com relação ao processamento por liofilização.

Tabela 11 - Análise do Perfil de Textura (TPA) por dupla compressão do filé de peixe Pintado fresco e liofilizado

Dureza			Elasticidade		
Amostras	Média	Tukey ^a	Amostras	Média	Tukey ^a
Liofilizado parte 1	431,9811 g	a	Liofilizado parte 2	0,3344	a
Fresco parte 1	754,3016 g	a	Fresco parte 2	0,5262	b
Liofilizado parte 2	3.356,5455 g	b	Liofilizado parte 1	0,6171	c
Fresco parte 2	3.787,4314 g	b	Fresco parte 1	0,8342	d

Adesividade			Coesividade		
Amostras	Média	Tukey ^a	Amostras	Média	Tukey ^a
Fresco parte 1	-67,7000	a	Liofilizado parte 1	0,2235	a
Liofilizado parte 2	-48,9146	b	Fresco parte 1	0,2464	a
Fresco parte 2	-34,2869	bc	Liofilizado parte 2	0,4343	b
Liofilizado parte 1	-25,4901	c	Fresco parte 2	0,4455	b

Mastigabilidade		
Amostras	Média	Tukey ^a
Fresco parte 1	24,9174 gf	a
Liofilizado parte 2	31,3730 gf	a
Fresco parte 2	32,8864 gf	a
Liofilizado parte 1	33,0756 gf	b

^a Valores seguidos por uma mesma letra na coluna não são significativos à $p < 0,05$.

No parâmetro de dureza foi observada uma diferença significativa a 5% entre as amostras da parte 1 e 2, mas entre as amostras da mesma parte não houve diferença significativa, provando que a liofilização não alterou a dureza dos filés de peixe. Apesar de serem peixes de diferentes lotes, pode-se fazer uma comparação entre os resultados obtidos no experimento de resistência ao cisalhamento e a dureza no TPA. Os mesmos apresentam a diferença significativa entre as amostras da parte 1 e a parte 2.

Quanto à elasticidade, todas as amostras apresentaram diferenças significativas, sendo as amostras da parte 1 mais elásticas que as amostras da parte 2.

A adesividade foi alterada pela liofilização na parte 1. A parte 2 não sofreu alterações.

A coesividade não apresentou diferenças significativas quanto ao processo de liofilização, apresentando, porém, uma diferença significativa entre as amostras da parte 1 e 2.

A mastigabilidade foi alterada pela liofilização apenas na parte 1, não se alterando nas amostras da parte 2.

De um modo geral, as observações mostraram que os parâmetros de textura mais influenciados pela liofilização, neste experimento, são os de elasticidade e de adesividade, apesar das amostras da parte 2 não apresentarem diferenças significativas quanto a adesividade. Estes dois parâmetros estão diretamente relacionados com o teor de umidade e, durante a liofilização ou com a reidratação das amostras liofilizadas, pode haver algumas alterações na forma com que a água passa a ser ligada ao sistema. Sabendo-se que a água pode agir como agente plasticizante quando fortemente ligada às macromoléculas (biopolímeros) em sistemas alimentares, pode ter promovido uma maciez do material analisado, visto que numericamente, a média de todas as amostras liofilizadas, para os parâmetros de dureza, elasticidade e coesividade, são menores que as frescas.

5.9 Composição química do peixe Pintado

Tabela 12 – Teores de umidade, proteína e lípidos do peixe Pintado

Amostra	Teor de Umidade (g/100g base seca)	Teor Protéico na matéria seca e desengordurada (g/100g base seca)	Teor Protéico na matéria original (g/100g base seca)	Teor de Lípidos na matéria original (g/100g base seca)
Pintado fresco parte 01	65,23	81,03	27,79	2,70
Pintado fresco parte 02	64,76	83,74	26,28	3,62
Pintado Liofilizado e reconstituído parte 01	65,08	81,08	26,26	2,61
Pintado Liofilizado e reconstituído parte 02	64,89	81,02	25,31	3,76

Com o objetivo de analisar as mudanças estruturais ou fisiológicas nos peixes, foram obtidos os valores de composição centesimal dos peixes.

Os valores de % Proteína Bruta e % de lípidos não variaram significativamente entre as partes 1 e 2 do peixe Pintado fresco e liofilizado.

5.10 Perfil de ácidos graxos do peixe Pintado

Tabela 13 – Composição de Ácidos graxos do Peixe Pintado antes e após a liofilização

Ácidos graxos	Pintado Fresco parte 01	Pintado Fresco parte 02	Pintado Fresco parte 03	Pintado Liofilizado Parte 01	Pintado Liofilizado Parte 02	Pintado Liofilizado Parte 03	BRENNER & BERNASCONI (1997)	ANDRADE et al (1997)
14:0	1,0845	1,2931	0,7092	1,1138	1,3415	1,1581	0,23	-
16:0	0,2141	0,2484	0,176	0,2193	-	0,2403	0,47	-
18:0	21,3260	24,206	22,2167	20,5346	24,3428	23,5821	26,16	33,50
18:1 n-7	3,1398	3,3212	3,0383	2,8178	3,5518	3,0554	4,8	7,81
18:0	7,8083	8,6243	11,1617	7,6832	6,7174	8,9433	7,76	9,99
18:1 n-9	32,8285	34,0846	36,4455	32,1512	35,7003	35,0822	27,86	26,78
18:1 n-7	0,1150	-	0,1496	0,1087	-	-	2,28	4,57
18:2 n-6	17,301	16,1664	12,0682	17,8319	19,4669	16,8293	12,40	10,06
19:0	0,8314	0,7050	0,4465	0,7054	0,7693	0,5789	-	-
18:3 n-3	1,3319	1,3841	0,6839	1,3866	1,4233	1,1094	1,84	-
20:3 n-6	0,6813	0,5079	0,7434	0,5636	0,5643	2,7184	0,42	-
20:4 n-6	1,7934	1,2512	1,5576	1,2623	1,3377	1,0958	3,67	-
20:3 n-3	1,1988	0,5875	1,5243	0,7137	0,7704	0,5503	-	-
20:4 n-3	0,1843	-	-	0,1298	-	-	-	-
20:5 n-3	0,5194	0,3728	0,3198	0,4228	-	0,2646	1,27	2,97
22:6 n-3	0,3200	-	0,3266	-	-	-	3,89	4,29
NI	9,3223	5,2675	8,4327	12,3553	2,0143	4,7919	-	-

Os resultados obtidos identificam os principais ácidos graxos presentes no peixe Pintado. Verificou-se uma maior concentração de ácidos oleico (18:1 n-9) e linoleico (18:2 n-6) e quase ausência dos ácidos EPA (20:5 n-3) e DHA (22:6 n-3) em relação às referências bibliográficas e não apresentaram diferenças significativas entre as amostras frescas e liofilizadas.

6. CONCLUSÕES

- As isotermas de sorção de umidade apresentaram a forma sigmóide, que é própria de alimentos ricos em proteínas. No trecho inicial o peixe mostrou-se moderadamente higroscópico, na região das multicamadas, pouco higroscópico, e no final da curva apresentou-se altamente higroscópico.
- O modelo matemático de GAB ajustou-se bem aos dados das isotermas de sorção de umidade nas temperaturas estudadas, diminuindo o valor da monocamada em temperaturas mais elevadas.
- O modelo matemático BET ajustou-se aos dados experimentais, permitindo o cálculo dos valores monomoleculares nas temperaturas de 10 e 25°C. Os resultados obtidos no cálculo do valor monomolecular para a equação BET mostraram uma pequena variação de W_m para as duas temperaturas estudadas.
- Comparando-se os valores de W_m calculados pela equação de BET com os valores calculados pela equação de GAB observou-se que o valor monomolecular calculado com a equação de BET foi menor.
- A temperatura exerceu influência no posicionamento da isoterma, quanto maior a temperatura, menor a quantidade de água absorvida pelo peixe Pintado. O calor isotérico diminuiu à medida que se aumentava o teor de umidade.
- A liofilização não alterou significativamente o perfil de textura dos filés de peixe Pintado estudados.
- O peixe Pintado não apresentou diferenças significativas nos perfis de ácidos graxos quando submetido à liofilização.

-
- Os valores de relaxação spin-spin (T_2) dos experimentos com RMN mostraram variação quanto à secagem por liofilização e posterior reidratação em relação ao peixe Pintado fresco.
 - O estudo do peixe Pintado demonstrou que a técnica de RMN é bastante conclusiva na determinação das diferentes mobilidades da água em sistemas heterogêneos.
 - Pela técnica de Ressonância Magnética Nuclear, determinou-se a temperatura de transição vítrea do peixe Pintado fresco a qual verificou-se ser de -10°C . Este limite de temperatura deve ser utilizado para os processos de conservação por congelamento e liofilização do peixe Pintado.
-

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R.G. Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some freshwater fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. Comp. Biochem. Physiol., v. 22, p. 907, 1967.
- ANDRADE, A.D., VISENTAINER, J.D., MATSUSHITA, M., SOUZA, N.E. Omega-3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil In: Arch. Latinoam. Nutr., v. 47, p.73-76, 1997.
- AOAC Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1980
- AYROSA, A.M.I.B., PITOMBO, R.N.M. Comportamento higroscópico da carne bovina cozida liofilizada. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, v.16, n.1, p.12-17, 1996.
- AYROSA, A.M.I.B., PITOMBO, R.N.M. Estudo do perfil de textura da carne bovina cozida liofilizada. Proc. I Congresso Ibero Americano de Engenharia de Alimentos, Campinas, Resumo-B₁-39, 1995.(trabalho completo no prelo, 1997).
- BELTON, P.S. NMR in heterogeneous systems, In: BELTON, P.S.; Delgadillo, I.; Gil, A.M., Webb, G.A. eds. Magnetic Resonance in Food Science, The Royal Society of Chemistry, London, 1995, p.18-32.
- BENGTSSON, N.E. Freeze drying of sliced beef. In: GOLDBLITH, S.A., REY, L., ROTHMAYR, W.W., eds. Freeze drying and advanced food technology. London: Academic Press, 1975, p.253-76.
- BIZOT, H. Using 'GAB' model to construct sorption isotherms, In: JOWITT, R., ESCHER, F., HALLSTROM, B., MEFFERT, H.F., SPIESS, W.E.L., VOS, G. eds. Physical properties of foods, London: Applied Science, 1983, p.43-53.
- BONE, D.P. Practical applications of water activity and moisture relations in foods. In: ROCKLAND, L.B., BEUCHAT, L.R. eds. Water Activity:

- Theory and Applications to Food, New York, Marcel Dekker, 1986, p.215-34.
- BRAKE N.C., FENNEMA O.R., Glass transition values of muscle tissue, J Food Sci, Chicago, v.64, p.10-15, 1999.
- BRENNAN, J.G. Texture perception and measurement. In: PIGGOTT, J.R. ed. Sensory analysis of foods. 2.ed. London, Elsevier, 1988, p.69-102.
- BRENNER, R.R., BERNASCONI, A.M. Aporte de ácidos grasos esenciales de las series n-6 y n-3 a la dieta humana por pescados comestibles del río Paraná. Medicina, Buenos Aires, v. 57, p.307-314, 1997.
- BRUNAUER, S., EMMETT, P.H., TELLER, E., Adsorption of gases in multimolecular layers, J. Am. Chem. Soc., Washington, v.60, p.309, 1938.
- CARR, H.Y., PURCELL, E.M. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. Phys. Rev., New York, v.94, n.3, p.630-638, 1954.
- CHEN, P.L., LONG, R., RUAN, R, LABUZA, T.P. NMR studies of water mobility in bread during storage,. Wiss u. Technol., Lebensm, v. 30, p.178-83, 1997.
- CHEN, P.L., RUAN R.R. Water in foods and biological materials – A Nuclear Magnetic Approach., Technomic publishing Company, Lancaster, p.1-50, 1998.
- CURRIE, E.W., JORDAN, R.; WOLFE, F.H. Changes in water structure in postmortem muscle, as determined by NMR T1 values J. Food. Sci, Chicago,. v. 46, p.822-823, 1981.
- DUCKWORTH, R. B. e SMITH, G. M. The environment for chemical change in dried and frozen foods. Proc. Nutr. Soc., v.22, p.182, 1963.
- FOEGEDING, E.A., LANIER, T.C., HULTIN, H.O. Characteristics of edible muscle tissues In: Food Chemistry., Marcel Dekker Inc, New York, 1996, p.879-931.
- FRANKS, F. Hydration Phenomena: An update and implication for the food process industry. In: Water relationships in foods., Plenum Press, New York, 1991, p.1-19.

- GAL, S., Recent advances in techniques for the determination of sorption isotherms. In: DUCKWORTH, R.B. Water Relations of Foods, London, Academic Press, 1975, p.139-153.
- GINSBURG, A.S. The forms and energy of moisture binding in foods as a basis for choosing rational methods for processing and storage. In: ROCKLAND, L.B. & STEWART, G.F. ed. Water Activity: Influences on Food Quality, New York, Academic Press, 1981, p.679.
- HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Lab. Pract., London, v. 22, p.475-476, 494, 1973.
- HILLS, B.P., TAKACKS, S.F., BELTON, P.S., A new interpretation of proton NMR relaxation time measurements of water in food. Food Chem. 1990,37,95-111.
- IGLESIAS, H.A., CHIRIFE, J. B.E.T. monolayer values in dehydrated foods and food components. Food Sci. Technol., London, v.9, p.107-113, 1976b.
- IGLESIAS, H.A., CHIRIFE, J. Isothermic heats of water sorption on dehydrated foods. Part II. Hysteresis and heat of sorption comparison with BET theory, Food Sci. Technol., London, v.9, p.107, 1976a.
- IGLESIAS, H.A., CHIRIFE, J. Isothermic heats of water vapor sorption on dehydrated foods. Part I. Analysis of the differential heat curves. Food Sci. Technol., London, v.9, p.116-122, 1976c.
- IGLESIAS, H.A., CHIRIFE, J. Isothermic heats of water vapor sorption on dehydrated foods. Part II. Hysteresis and heat of sorption comparison with B.E.T. theory. Food Sci. Technol., London, v.9, p.123-127, 1976d.
- INOUE, C., ISHIKAWA, M., Glass transition of Tuna flesh at low temperature and effects of salt and moisture, J. food Sci., Chicago, v.62, p. 496-499, 1997.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos., 2ed. São Paulo, v.1, p.19-40, 1976.

- JEPSEN, S.M., PEDERSEN, H., ENGELSEN, S.B., Application of chemometrics to low-field ^1H NMR relaxation data of intact fish flesh. J. Sci Food Agric., London, v.79, p.1793-1802, 1999.
- KAPSALIS, J.G., DRAKE, B., JOHANSSON, B. Textural properties of dehydrated foods. Relationships with the thermodynamics of water sorption. J. of Texture Stud., Westport, v.1, n.3, p.285-308, 1970.
- KAPSALIS, J.G., Moisture sorption hysteresis. In: ROCKLAND, L.B. & STEWART, G.F. eds. Water Activity: Influences on Food Quality., New York, Academic Press, 1981, p.143-177.
- KAPSALIS, J.G., Influences of hysteresis and temperature on moisture sorption isotherms. In: ROCKLAND, L.B. & BEUCHAT, L.R. eds. Water Activity: Theory and Applications to Food., New York, Marcel Dekker, 1986, p.173-214.
- KAREL, M. Water activity and food preservation. In: FENNEMA, O.R., ed. Principles of food science., New York: Marcel Dekker, 1975. pt. 2, p. 237-263. [Food Science: a series monographs, v. 4].
- LABUZA, T.P. Moisture Sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use. St. Paul, American Association of Cereal Chemists, 1984, 150p.
- LABUZA, T.P., KANANE, A. e CHEN, J.Y. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods, J. Food Sci., Chicago, v.50, p.385, 1985.
- LEVINE, H., SLADE, S. Water relationships in foods., Plenum Press, New York, 1991.
- LOMAURO, C.J., BAKSHI, A.S., LABUZA, T.P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products, Food Sci. Technol., v.18, p.111, 1985a.
- LOMAURO, C.J., BAKSHI, A.S., LABUZA, T.P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part II: Milk, coffee, tea, nuts, oilseeds, spices and starchy foods, Food Sci. Technol., v.18, p.118, 1985b.

- MACHADO, M.G.S., SGARBIERIM, V.C. Partial characterization and nutritive value of proteins from pacu (*Colossoma mitrei*, BERG 1895). J. Agric. Food Chem., v.39, p.1715-1718, 1991.
- MAIA, E.L., RODRIGUES-AMADA, D.B. Avaliação de um método simples para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes Rev. Inst. Adolfo Lutz, v.53(1/2) p. 27-35, 1993.
- McLAREN, A.D., ROWEN, J.W. Sorption of water vapor by proteins and polymers: a review, J. Polymer Sci., v.7, p.289, 1952.
- MEIBOOM, A., GILL, D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. Rev. Sci. Instrum., New York, v.29, n.8, p. 688-691, 1958.
- NAGASHIMA N., SUZUKI, E. Pulsed NMR and state of water in foods. In: Water activity: Influences on food quality eds. Rockland L.B., Stewart, G.F. Academic Press New York, 1981, p.247-64.
- NESVADBA, P., Glass Transition in aqueous solutions and foodstuff. In: The Glassy State in Foods, BLANSHARD, J.M.V., LILLFORD, P.J., ED. Nottingham University Press, Loughborough, 1993, p. 523-526.
- OKOS, M.R., NARSIMHAN, G. e SINGH, R.K., Food dehydration, in Handbook of food Engineering, HELDMAN, R. e LUND, D.B., Eds., Marcel Dekker, Inc., NY, 1992.
- PAKKONEN, K., ROOS, Y.H. Effects of drying conditions on water sorption and phase transitions of freeze-dried horseradish roots. J. Food Sci. Chicago, v.55, p.206-209, 1990.
- PITOMBO, R.N.M. A liofilização como técnica de conservação de material de pesquisa. Ciência e Cultura, São Paulo, v.41, p.427-431, 1989.
- PITOMBO, R.N.M., SPRING, C., PASSOS, R.F., TONATO, M., VITOLO, M. Effect of moisture content on the invertase activity of freeze-dried *S. cerevesae*, Cryobiology, New York, v.31, p.383-392, 1994.
- PONS, M., FISZMAN, S.M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. J. of Texture Stud., Westport, v.27, n.6, p-597-624, 1996.

- RAHMAN, S. Food Properties Handbook, ed. Shafiur Rahman, CRC Press, Florida, 1995, p.23-85.
- ROOS, Y.H., KAREL, M., KOKINE, J.L. Glass transitions in low moisture and frozen foods: effects on shelf life and quality. Food Technol., v.30, p.95-108, 1996.
- SCHIMITED, S., Lai, H. Use of NMR to study water relations in food. In: LEVINE, H and SLADE, L. Water relationships in foods. Plenum Press, New York, 1991, p.405-452.
- SIMATOS, D. Characterization of the condition of water in foods. Physico-Chemical aspects. In: SEOW, C.C. ed. Food Preservation by Moisture Control., London, Elsevier Applied Science, 1988, p.1-41.
- SPIESS, W.E.L., WOLF, W.R. Critical evaluation of methods to determine moisture sorption isotherms. In: ROCKLAND, L. B., BEUCHAT, L.R. ed.
- SPIESS, W.E.L., WOLF, W.R. The results of the COST 90 project on water activity. In: JOWWITT, R. ed. Physical Properties of Foods, London, Applied Science Publishers, 1983, p.65-87.
- STEEN, C., LAMBELET,P., Texture Changes in Cod Mince Measured by Low-Field Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, J Sci Food Agric, London, v.74, p268-272.,1997.
- SZCZESNIAK, A.S. Classification of textural characteristics. J. Food Sci., Chicago, v.28, p.385-89,1963.
- Theory and Applications to Food., New York, Marcel Dekker, 1986, p. 369-396.
- TSAMI, E., MARINOS, D., MAROULIS, Z. B. Water Sorption Isotherms of Raisins, Currants, Figs, Prunes and Apricots. J Food Sci, Chicago, v.50, n.6, p.1594-1597, 1625, 1990.
- VAN DER BERG, C., Development of B.E.T. like models for sorption of water on foods, theory and relevance, In: SIMATOS, D. e MULTON, J.L. eds. Properties of Water in Foods, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrtch, Netherlands, 1985.

-
- VISWANATHAN, N. P. G., GOPAKUMAR, K. Fatty acid compositions of 15 species of fish from tropical waters. J Food Sci, Chicago, v.43, p.1162-1164, 1978.
- WEISSER, H. NMR spectroscopy In: food industry minispec application, note nº 7, BRUKER, 1990.
- YASUY, T., ISHIOROSHI, M., NAKANO, H. Changes in shear modulus, ultrastructure and spin-spin relaxation times of water associated with heat-induced gelation of myosin. J. Food Sci., Chicago, v. 44, p.1201-1211, 1979.