

Água e Gelo 2

David S. Reid e Owen R. Fennema

CONTEÚDO

2.1	Introdução	26	2.10.4	Fatores que influenciam nas velocidades de reação da solução	48
2.2	Propriedades físicas da água e do gelo	26	2.10.5	O papel da mobilidade molecular sobre a estabilidade dos alimentos	49
2.3	A molécula de água	26	2.10.6	Diagrama de estado.	50
2.4	Associação das moléculas de água	27	2.10.6.1	Introdução	50
2.5	Dissociação de moléculas de água	29	2.10.6.2	Interpretando o diagrama de estado	51
2.6	Estruturas em sistemas de água pura	29	2.10.6.3	Interação entre equilíbrio e cinética.	52
2.6.1	A estrutura do gelo	29	2.10.6.4	Ampliando o conceito a sistemas alimentícios complexos	53
2.6.2	A estrutura da água (líquida).	32	2.10.6.5	Identificando as suposições	53
2.7	Relação de fases da água pura	33	2.10.7	Limitações do conceito.	55
2.8	Água na presença de solutos.	35	2.10.8	Aplicações práticas.	56
2.8.1	Gelo na presença de solutos	35	2.10.8.1	Desenvolvendo o diagrama de estado.	56
2.8.2	Interações água-soluto em soluções aquosas	36	2.10.8.2	Processo de congelamento, alimentos congelados.	57
2.8.2.1	Nível macroscópico	36	2.10.8.3	Processos de secagem	61
2.8.2.2	Nível molecular: generalidades.	37	2.11	Isotermas de sorção.	62
2.8.2.3	Nível molecular: “água ligada”	37	2.11.1	Definições e zonas	63
2.8.2.4	Interações da água com íons e grupos iônicos	38	2.11.2	Dependência de temperatura.	65
2.8.2.5	Interação da água com grupos neutros capazes de realizar pontes de hidrogênio (solutos hidrofílicos)	39	2.11.3	Histerese	65
2.8.2.6	Interação da água com substâncias não polares	40	2.11.4	Sequência de hidratação de uma proteína.	68
2.9	Atividade de água e pressão de vapor relativa	44	2.12	Pressão de vapor relativa e estabilidade dos alimentos.	68
2.9.1	Introdução	44	2.13	Comparações	70
2.9.2	Definição e medida	44	2.13.1	Relações entre RVP, Mm e aproximação da ISU para entendimento do papel da água nos alimentos.	70
2.9.3	Dependência de temperatura.	45	2.14	Conclusão	72
2.10	Mobilidade molecular e estabilidade dos alimentos.	48	Referências.	72	
2.10.1	Introdução.	48			
2.10.2	História inicial	48			
2.10.3	Estágio seguinte	48			

2.1 INTRODUÇÃO

Quando se examina a composição da maioria dos alimentos, a água é encontrada como um componente fundamental. Além disso, ela é o principal solvente no qual ocorrem os processos metabólicos do organismo humano. Nesse sentido, é apropriado aprofundar-se na natureza e nas propriedades da água e das soluções aquosas, tendo em vista suas diversas funções nos alimentos, de modo a compreender o papel central da água na química de alimentos.

2.2 PROPRIEDADES FÍSICAS DA ÁGUA E DO GELO

Para familiarizar-se com a água, é conveniente que, antes de mais nada, sejam consideradas suas propriedades físicas, mostradas na Tabela 2.1. Ao comparar as propriedades da água com as de moléculas de peso molecular e composição atômica semelhantes (Tabela 2.2), é possível determinar o comportamento da água, podendo-se julgá-lo como normal ou incomum. Por meio dessas comparações [1], pode-se observar que a água apresenta temperaturas de fusão e de ebulição extraordinariamente altas; valores altos de energia superficial, permissividade, capacidade calorífica e calores de mudança de fase (fusão, vaporização e sublimação); densidade um pouco abaixo da esperada. Além de tudo isso, a água tem a propriedade incomum de expandir-se ao tornar-se sólida, mas, apesar de suas propriedades incomuns, possui uma

viscosidade completamente normal. Essa aparente normalidade para um líquido anômalo será explicada adiante.

Outras propriedades da água também são notáveis. A condutividade térmica da água é alta se comparada à da maioria dos demais líquidos, e a condutividade térmica do gelo é maior que a esperada para um sólido não metálico. A condutividade térmica do gelo a 0° C é cerca de quatro vezes maior que a da água líquida na mesma temperatura, o que indica que o gelo conduzirá a energia térmica em uma taxa muito maior que a da água imobilizada (p. ex., em tecidos). Como a capacidade calorífica da água é aproximadamente duas vezes maior que a do gelo, as difusividades térmicas de ambos diferem por um fator de aproximadamente 9 [2]. A difusividade térmica indica a taxa na qual um material modificará sua temperatura. Baseando-se nisso, espera-se que o gelo, em determinado ambiente térmico, sofrerá mudanças de temperatura em uma velocidade nove vezes superior à da água líquida. Essas diferenças de valores de difusividade e condutividade térmica entre a água e o gelo fornecem um bom embasamento para a compreensão da razão pela qual os tecidos congelam com mais rapidez do que descongelam, sob a aplicação de diferenças de temperatura simétricas [2].

2.3 A MOLÉCULA DE ÁGUA

As propriedades incomuns da água indicam a existência de forças de atração fortes entre suas moléculas de água, bem como a excepcionalidade da água e do gelo. Para que se en-

TABELA 2.1 Propriedades físicas da água e do gelo

Propriedade	Valor			
Peso molecular	18,0153			
Ponto de fusão (a 103,3 kPa)	0,00° C			
Ponto de ebulição (a 103,3 kPa)	100,00° C			
Temperatura crítica	373,99° C			
Pressão crítica	22,064 Mpa			
Temperatura do ponto triplo	0,01° C			
Pressão do ponto triplo	611,73 Pa			
ΔH_{vap} a 100° C	40,647 kJ/mol			
ΔH_{sub} a 0° C	50,91 kJ/mol			
ΔH_{fus} a 0° C	6,002 kJ/mol			
	Temperatura (°C)			
Outras propriedades dependentes de temperatura	Gelo		Água	
	-20	0	0	+20
Densidade (g/cm ³)	0,9193	0,9168	0,99984	0,99821
Pressão de vapor (kPa)	0,103	0,6113	0,6113	2,3388
Capacidade calorífica (J/g/K)	1,9544	2,1009	4,2176	4,1818
Condutividade térmica (W/m/K)	2,433	2,240	0,561	0,5984
Difusividade térmica (m ² /s)	$11,8 \times 10^{-7}$	$11,7 \times 10^{-7}$	$1,3 \times 10^{-7}$	$1,4 \times 10^{-7}$
Compressibilidade (Pa ⁻¹)		2	4,9	
Permissividade	98	90	87,9	80,2

Fonte: Lide, D.R. (Ed.) (1993/1994) *Handbook of Chemistry and Physics*, 74 edn. CRC Press: Boca Raton, FL.

TABELA 2.2 Propriedades de moléculas pequenas relacionadas

	CH ₄	NH ₃	H ₂ O	H ₂ S	H ₂ Se	HF
PM	16,04	17,0	18,01	34,08	80,9	20,01
PF (° C)	-182,6	-77,7	0	-86	-60	-83,1
PE (° C)	-161,4	-33,3	100	-61	-41	19,5
ΔH_v (kJ/mol)	8,16	23,26	40,71	18,66		

Fonte: Lide, D.R. (Ed.) (1993/1994) *Handbook of Chemistry and Physics*, 74 edn. CRC Press: Boca Raton, FL.

tendam as características e o comportamento incomum da água e do gelo deve-se considerar, inicialmente, a natureza de uma única molécula de água. Após isso, as características de moléculas de água agrupadas, aumentando seu tamanho até a consideração final da natureza do sistema como um todo. A molécula de água é descrita como dois átomos de hidrogênio que interagem com os dois orbitais ligantes sp^3 do oxigênio, formando duas ligações covalentes sigma (σ), com 40% de caráter iônico, sendo que cada uma apresenta energia de dissociação de $4,6 \times 10^2$ kJ/mol. Parte-se do pressuposto que os orbitais moleculares localizados permanecem orientados de maneira simétrica sobre os eixos do orbital original, mantendo, portanto, uma estrutura que se aproxima da forma tetraédrica. Um modelo esquemático é mostrado na Figura 2.1a; o raio de van der Waals é apresentado na Figura 2.1b. Embora o comportamento geométrico das moléculas de água associadas por meio de pontes de hidrogênio seja coerente com esse modelo, a suposição da hibridização sp^3 dos pares solitários tem sido questionada [3].

Em estado de vapor, o ângulo de ligação de uma molécula de água isolada é de $104,5^\circ$, próxima ao ângulo de um tetraedro perfeito que é de $109,5^\circ$; os raios de van der Waals para oxigênio e hidrogênio são de 1,40 e 1,2 Å, respectivamente [4].

Nesse ponto, é importante a observação de que a figura que descreve apenas a molécula HOH é muito simplificada. O material que se conhece como água pura trata-se de uma mistura de moléculas HOH com muitos outros componentes

relacionados. Além dos isótopos comuns de oxigênio e hidrogênio, ^{16}O e ^1H , também estão presentes ^{17}O , ^{18}O , ^2H (D) e ^3H (T), resultando em 18 isótopos variantes de HOH molecular. Além disso, a água contém espécies iônicas como íons de hidrogênio (existindo em formas como H_3O^+ e H_9O_4^+) e íons de hidroxila, também com suas variantes isotópicas. Desse modo, a água “pura” consiste em mais de 33 variantes químicas de HOH, mas, como essas variantes são encontradas em pequenas quantidades, as propriedades são dominadas pelas espécies HOH.

2.4 ASSOCIAÇÃO DAS MOLÉCULAS DE ÁGUA

A forma em V das moléculas HOH e a natureza polarizada da ligação O–H resultam na distribuição assimétrica de cargas dentro da molécula e no momento dipolar de 1,84 D para a água pura em estado de vapor. Polaridades dessa grandeza resultam em forças de atração intermoleculares consideráveis, o que faz com que as moléculas associem-se com uma tenacidade considerável. No entanto, pode-se notar que a força de atração intermolecular da água anormalmente alta não pode ser explicada, em sua totalidade, considerando-se apenas a elevação do momento dipolar da molécula. Esse fato é previsível, uma vez que os momentos dipolares são uma propriedade de moléculas inteiras, não fornecendo indicações do grau em que cada carga individual está exposta ou

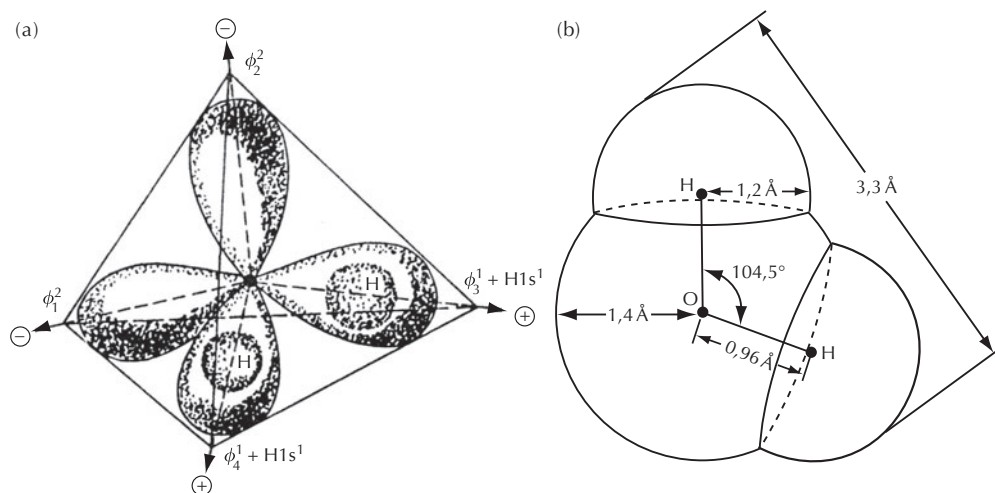


FIGURA 2.1 Modelo esquemático de uma molécula individual de HOH. (a) Possível configuração sp^3 e (b) raio de van der Waals para uma molécula de HOH, em estado de vapor.

da geometria da molécula, aspectos esses que são relevantes para a intensidade da associação intermolecular.

As grandes forças de atração intermolecular entre as moléculas de água podem ser explicadas por sua capacidade de participar de diversas associações por pontes de hidrogênio no espaço tridimensional. Em comparação a ligações covalentes (energia de ligação média de cerca de 335 kJ/mol), as pontes de hidrogênio são fracas (em geral, 2–40 kJ/mol), apresentando comprimentos maiores e mais variáveis. As interações oxigênio-hidrogênio apresentam energia de dissociação de aproximadamente 11–25 kJ/mol, variando em comprimento entre cerca de 1,7 a 2,0 Å, em comparação ao comprimento de cerca de 1,0 Å da ligação covalente oxigênio-hidrogênio [1].

Como as forças eletrostáticas fornecem mais contribuições à energia da ligação por ponte de hidrogênio e já que os modelos eletrostáticos da água são simples, ocasionando uma imagem geométrica correta das moléculas de HOH (como se sabe que existe no gelo), uma discussão posterior sobre as características geométricas formadas pela associação de moléculas de HOH enfatizará os efeitos eletrostáticos. Essa simplificação, apesar de totalmente satisfatória para esse propósito, será inadequada, devendo ser modificada se outras características comportamentais da água, como influência de solutos apolares, tiveram de ser explicadas de forma satisfatória.

O oxigênio altamente eletronegativo da molécula de água pode ser visualizado pelo afastamento parcial dos elé-

trons não pareados dos dois átomos de hidrogênio ligados covalentemente, deixando, assim, cada átomo de hidrogênio com uma carga parcial positiva e uma proteção de elétron mínima. Isto é, cada átomo de hidrogênio assume algumas das características de um próton isolado. Como os orbitais ligantes hidrogênio-oxigênio estão localizados em dois dos eixos de um tetraedro imaginário (Figura 2.1a), os dois eixos podem ser considerados como linhas que representam forças positivas (sítios doadores de pontes de hidrogênio). Os pares de orbitais solitários do oxigênio podem ser considerados como os dois eixos restantes do tetraedro, representando linhas de força negativa (sítios receptores de pontes de hidrogênio). Em virtude da existência das quatro linhas de força em orientação tetraédrica, cada molécula de água tem o potencial de realizar pontes de hidrogênio com, no máximo, outras quatro moléculas. O arranjo tetraédrico resultante é mostrado na Figura 2.2.

Como cada molécula de água apresenta um número igual de sítios doadores e aceptores de pontes de hidrogênio, arranjados de modo a permitir ligações de hidrogênio tridimensionais, a força de atração entre as moléculas de água é excepcionalmente alta em comparação à força de atração existente entre outras moléculas pequenas que também possuem ligações por ponte de hidrogênio (p. ex., NH_3 e HF). Como a amônia (com seu arranjo tetraédrico com três sítios doadores e um aceptor) e o fluoreto de hidrogênio (com seu arranjo tetraédrico com um sítio doador e três aceptores) não possuem números iguais de sítios doadores e aceptores, ne-

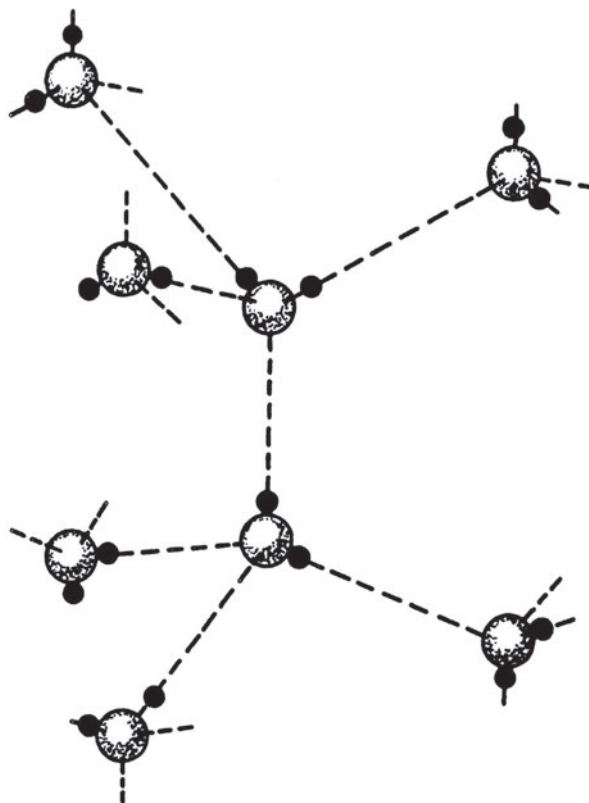


FIGURA 2.2 Pontes de hidrogênio de moléculas de água em configuração tetraédrica. Os círculos abertos são átomos de oxigênio; os círculos fechados são átomos de hidrogênio. As pontes de hidrogênio são representadas pelas linhas tracejadas.

nhum deles pode formar redes tridimensionais de pontes de hidrogênio, como as encontradas na água. Ambos limitam-se a formar redes bidimensionais extensivas, as quais envolvem menos pontes de hidrogênio por molécula que as encontradas na água.

A conceitualização da associação de poucas moléculas de água torna-se muito mais complicada quando variantes isotópicas e íons de hidrônio e hidroxil são considerados. O íon de hidrônio, como resultado de sua carga positiva, deveria exibir um potencial de doação de ligação de ponte de hidrogênio maior que a água não ionizada (Figura 2.3a). O íon de hidroxil, por sua vez, como resultado de sua carga negativa, deveria apresentar um potencial de aceção de pontes de hidrogênio maior que a água não ionizada (Figura 2.3b).

A capacidade da água de apresentar ligações de hidrogênio tridimensionais extensivas proporciona uma explicação lógica para muitas das suas propriedades incomuns, como seus valores elevados de capacidade calorífica, ponto de fusão, ponto de ebulição, tensão superficial e entalpias de mudança de fases. Todos esses valores podem ser relacionados à energia adicional necessária para a quebra das diversas pontes de hidrogênio intermoleculares.

A permitividade (constante dielétrica) da água também é influenciada pelas pontes de hidrogênio. Embora a água seja um dipolo, esse fato isolado não explica sua alta permitividade. Aparentemente, os agrupamentos moleculares ligados por pontes de hidrogênio dão origem a dipolos multimoleculares, aumentando a permitividade de forma efetiva.

2.5 DISSOCIAÇÃO DE MOLÉCULAS DE ÁGUA

Como já foi mencionado, duas das espécies de íons da água pura são os íons produzidos pela autodissociação da molécula, sendo identificados em sua forma mais simples como íon de hidrogênio H^+ e íon de hidroxil OH^- , embora também existam na forma hidratada. Na água pura, esses íons são encontrados em quantidades equimolares, pois surgem do processo de autodissociação.



A constante de equilíbrio da dissociação a 298 K é $K_w = 10^{-14}$; o pH é 7. É importante ressaltar que essa dissociação é aumentada em temperaturas mais elevadas e, como consequência, o pH da água pura é dependente da temperatura. A K_w aproxima-se de 10^{-12} a 373 K, gerando um pH próximo de 6 a essa temperatura. Deve-se observar que, enquanto o

pH de 6, a 298 K, implica concentração de OH^- de 10^{-8} M, a 373 K, o pH de 6 implica concentração de OH^- próxima a 10^{-6} M.

2.6 ESTRUTURAS EM SISTEMAS DE ÁGUA PURA

2.6.1 A estrutura do gelo

É apropriado que se aborde a estrutura do gelo antes da estrutura da água líquida, pois a estrutura do gelo é melhor compreendida, tratando-se de uma extensão lógica das informações já apresentadas.

A água, com suas forças direcionadas tetraedricamente, cristaliza em estruturas abertas e de baixa densidade, que foram determinadas com precisão. A distância internuclear entre a ligação O—O mais próxima do gelo é de 2,76 Å, sendo que o ângulo de ligação O—O—O é de cerca de 109° , muito próximo do ângulo $109,28^\circ$ do tetraedro perfeito (Figura 2.4). A maneira como cada ligação HOH pode associar-se a outras quatro (número de coordenação de 4) pode ser visualizada na célula unitária da Figura 2.4, considerando-se a molécula W e seus quatro vizinhos mais próximos 1, 2, 3 e W'.

Quando várias células unitárias estão combinadas, sendo visualizadas desde sua parte superior (debaixo do eixo c) a simetria hexagonal do gelo torna-se aparente (Figura 2.5). A subestrutura tetraédrica fica em evidência por meio da molécula W e de seus quatro vizinhos mais próximos, sendo que 1, 2 e 3 são visíveis enquanto o quarto encontra-se por debaixo do plano da folha, diretamente abaixo da molécula W. Quando a Figura 2.5a é visualizada em três dimensões, como na Figura 2.5b, evidenciam-se os dois planos das moléculas envolvidos (círculos abertos e fechados). Esses dois planos são paralelos, muito próximos um do outro, movimentando-se como uma unidade durante o “deslizamento” ou fluxo do gelo sob pressão, como acontece em um glacial. Pares de planos desse tipo são compostos por planos basais do gelo. Pelo empilhamento de diversos planos basais, obtêm-se a estrutura estendida do gelo. Para que se formasse a estrutura representada na Figura 2.6, três planos basais foram combinados. Observada por debaixo do eixo c , a aparência é exatamente a mesma da Figura 2.5a, indicando que os planos basais estão perfeitamente alinhados. O gelo é monorrefringente nessa direção, sendo birrefringente nas demais direções. Portanto, o eixo c é o eixo óptico do gelo. É interessante observar que, em folhas amplas de gelo, o eixo c é perpendicular ao plano principal da folha [5]. Ainda não foi encontrada uma explicação completamente satisfatória para

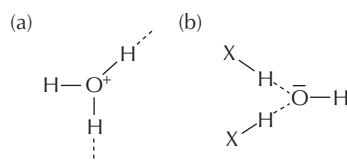


FIGURA 2.3 Estrutura e possibilidades da ponte de hidrogênio: (a) para um íon de hidrônio e (b) para um íon de hidroxil. As linhas tracejadas representam pontes de hidrogênio; X—H representa um soluto ou outra molécula de água.

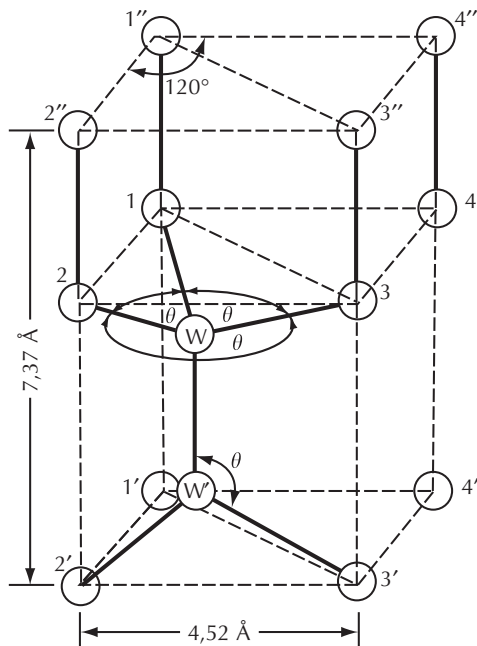


FIGURA 2.4 Célula unitária de gelo comum, a 0° C. Os círculos representam átomos de oxigênio de moléculas de água. A distância internuclear entre a ligação O–O mais próxima é de 2,76 Å. θ é 109°.

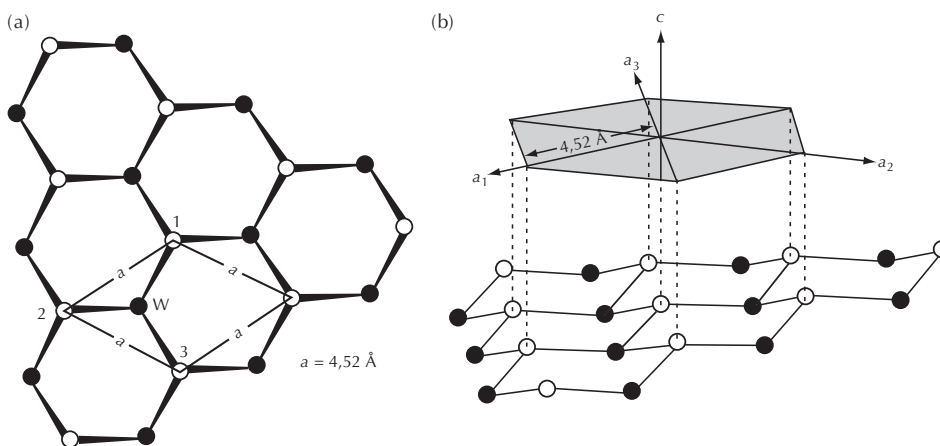


FIGURA 2.5 Plano basal do gelo (combinação de duas camadas de elevações minimamente diferentes). Cada círculo representa o átomo de oxigênio de uma molécula de água. Os círculos abertos e fechados representam, respectivamente, átomos de oxigênio nas camadas superior e inferior do plano basal. (a) Estrutura hexagonal observada abaixo do eixo c. Os átomos numerados referem-se à célula unitária da Figura 2.4. (b) Vista tridimensional do plano basal. A extremidade frontal dessa vista corresponde à extremidade inferior da vista (a). Os eixos cristalográficos estão posicionados de acordo com o ponto de simetria externo.

esse fato, mas, de qualquer forma, ela pode refletir as diferentes velocidades de propagação do crescimento do gelo nos diferentes eixos de simetria.

Em relação à localização dos átomos de hidrogênio no gelo, existe consensos gerais em relação aos seguintes tópicos:

1. Cada linha que conecta os dois átomos de oxigênio vizinhos mais próximos é ocupada por um átomo de hidrogênio centralizado a $1 \pm 0,01$ Å do oxigênio, ao qual é ligado covalentemente, e a $1,76 \pm 0,01$ Å

do oxigênio, ao qual é ligado por ponte de hidrogênio. Essa configuração é mostrada na Figura 2.7a.

2. No entanto, se as localizações dos átomos de hidrogênio são visualizadas ao longo do tempo, em vez de instantaneamente, obtêm-se figuras diferentes das já descritas. Um átomo de hidrogênio em uma linha que conecta dois átomos de oxigênio vizinhos mais próximos, X e Y, pode localizar-se em uma de duas posições possíveis, 1 Å de X ou 1 Å de Y. Como essas duas posições têm a mesma probabilidade de ocorrência, acredita-se que cada

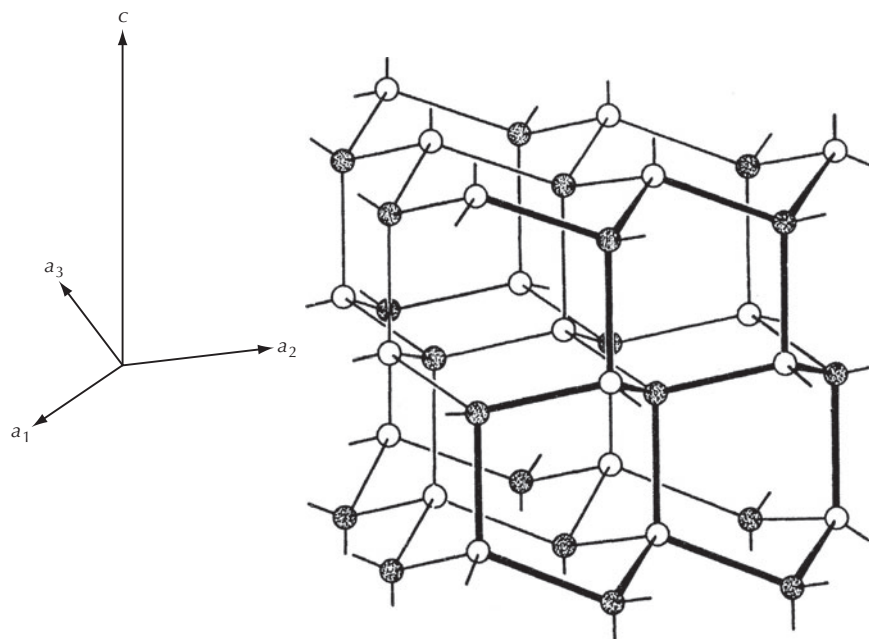


FIGURA 2.6 Estrutura expandida do gelo comum. Apenas os átomos de oxigênio são mostrados. Os círculos abertos e fechados representam, respectivamente, átomos de oxigênio nas camadas superior e inferior do plano basal.

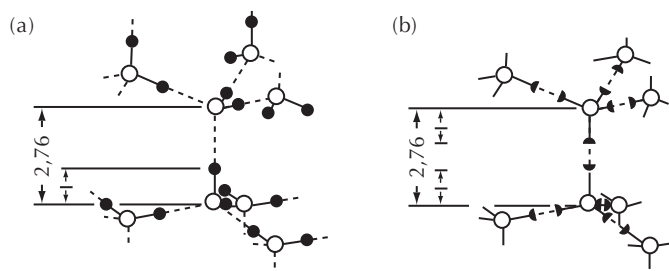


FIGURA 2.7 Localização dos átomos de hidrogênio (●) na estrutura do gelo: (a) estrutura instantânea e (b) estrutura média (também conhecida como meio hidrogênio, Pauling, ou estrutura estatística). Os círculos abertos são átomos de oxigênio.

posição seja ocupada durante a metade do tempo. Isso é possível pois, exceto em temperaturas extremamente baixas, as moléculas de HOH podem rotar em cooperação, permitindo, portanto, que os átomos de hidrogênio “saltem” entre os átomos de oxigênio adjacentes. Uma representação da estrutura média resultante, conhecida como meio hidrogênio, Pauling, ou estrutura estatística, é mostrada na Figura 2.7b.

Sob a perspectiva da simetria cristalina, o gelo comum pertence à classe bipiramidal di-hexagonal do sistema hexagonal. Ele também pode existir em outras nove estruturas polimórficas cristalinas, bem como em estado vítreo ou amorfo de estrutura incerta, embora sua estrutura de ocorrência mais comum seja a não cristalina. Das 11 estruturas possíveis, apenas o gelo hexagonal comum é estável à pressão normal a 0°C.

A verdadeira estrutura do gelo não é tão simples como a discussão anterior poderia fazer crer. Em primeiro lugar,

o gelo puro não contém somente moléculas HOH comuns, mas também as variantes iônicas e isotópicas de HOH que foram citadas como constituintes menores da água. Felizmente pode-se ignorar, na maioria das vezes, a influência estrutural das variantes isotópicas, já que elas estão presentes em quantidades muito baixas. Estruturalmente, a principal consideração deve ser dada às contribuições de HOH, H^+ (H_3O^+) e OH^- .

Os cristais de gelo reais nunca são perfeitos, sendo que os defeitos encontrados em sua estrutura costumam ser do tipo orientacional (causados pelo deslocamento de prótons, acompanhados pelos ajustes orientacionais de neutralização) ou do tipo iônico (causados pelo deslocamento de prótons, com formação de H_3O^+ e OH^-) (ver Figura 2.8). A presença de defeitos estruturais proporciona uma explicação para a mobilidade inesperadamente alta dos prótons do gelo, bem como para o decréscimo pequeno da condutividade elétrica, ocorrente no congelamento da água, caso em que seria esperada uma grande diminuição da condutividade na solidificação.

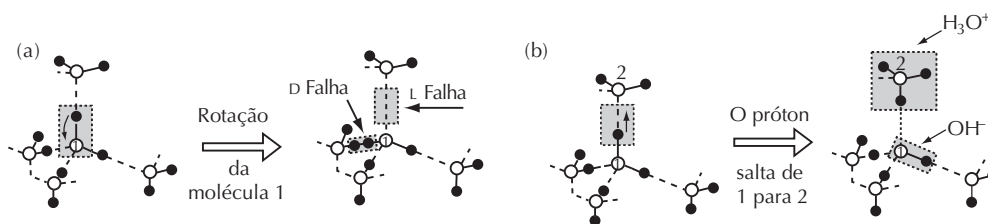


FIGURA 2.8 Representação esquemática de defeitos de prótons no gelo. (a) Formação de defeitos de orientação e (b) formação de defeitos iônicos. Os círculos abertos e fechados representam átomos de oxigênio e hidrogênio, respectivamente. As linhas sólidas e tracejadas representam ligações químicas e pontes de hidrogênio, respectivamente.

Além das mobilidades atômicas envolvidas nos defeitos da estrutura cristalina, existem outros tipos de movimentos do gelo. Acredita-se que cada molécula de HOH do gelo vibra com amplitude média quadrática de vibração (considerando-se que cada molécula vibra como uma unidade) de cerca de $0,4 \text{ \AA}$, a -10°C [5]. Além disso, as moléculas de HOH individuais, que ocupam alguns dos espaços intersticiais do gelo, podem difundir-se de forma aparentemente lenta pela fase em vez de ficarem retidas em espaços intersticiais específicos.

Logo, o gelo está longe de ser um conjunto de moléculas estático ou homogêneo, e suas características dependem da temperatura. Como as moléculas de HOH do gelo possuem quatro coordenações em todas as temperaturas, é necessário que se reduza a temperatura a aproximadamente -180°C ou menos, a fim de que se restrinjam os átomos de hidrogênio a apenas uma das muitas configurações possíveis. Sendo assim, apenas em temperaturas próximas ou inferiores a -180°C todas as pontes de hidrogênio estarão intactas e, na medida em que essa temperatura é alcançada, o número médio de ligações de hidrogênio intactas (fixas) diminui gradativamente.

2.6.2 A estrutura da água (líquida)

À primeira vista, o conceito de estrutura de um líquido pode parecer estranho, uma vez que a fluidez é a essência do estado líquido, sendo essa uma antiga e bem aceita ideia [6] de que a água possui algum nível de estrutura insuficiente para a produção de rigidez, mas com uma organização muito maior que a do estado de vapor. Além disso, essa estrutura é suficiente para gerar a orientação e a mobilidade de qualquer uma das moléculas de água, sendo influenciada pelas moléculas de água vizinhas. Uma simplificação conceitual útil foi a de pensar a estrutura do líquido como uma série de associações estruturadas a curto prazo, sempre interconvertidas com rapidez, mas com manutenção de um grau médio de estrutura no líquido em todas as vezes.

Existem diversas evidências que apoiam a abordagem da água como um líquido estruturado. Por exemplo, a água é um líquido “aberto”, com uma densidade de apenas 60% da esperada para líquidos nos quais as moléculas encontram-se empacotadas. A retenção parcial do arranjo de pontes de hidrogênio em forma de tetraedro aberto do gelo pode explicar facilmente a baixa densidade da água líquida. Além disso, enquanto a entalpia de fusão do gelo é muito alta para

um sólido, ela corresponde apenas à energia necessária para quebrar 15% das ligações de hidrogênio que se acredita existir no gelo. Apesar de que isso não implique necessariamente que 85% das ligações de hidrogênio existentes no gelo sejam retidas na água líquida (mais ligações podem ser quebradas, mas a mudança resultante da energia pode ser mascarada pelo aumento simultâneo nas interações de van der Waals), os resultados de muitos estudos independentes suportam com força o conceito de que muitas pontes de hidrogênio água-água continuam existindo no líquido, sendo que a quantidade dessas ligações diminui com o aumento da temperatura do líquido [1,7].

A elucidação da(s) estrutura(s) da água líquida pura é muito complexa e desafiadora. Muitas teorias têm sido propostas, mas todas elas são incompletas, muito simplificadas e com pontos fracos que são citados pelos proponentes das teorias divergentes. Essa situação é conveniente, já que resulta em descrições estruturais mais apuradas da água líquida. Nos últimos anos, o aumento da tecnologia em informática permitiu simulações computacionais da dinâmica molecular da água, tendo sido guiadas por equações do movimento e funções de potencial molecular que buscam aproximar os modos interativos significativos das moléculas de água [8–10]. Essas simulações, ainda que limitadas por erros e aproximações das funções potenciais escolhidas, mostram muitas das propriedades características da água e vêm fornecendo novos pontos de vista sobre a realidade da água líquida. A visualização dos movimentos das moléculas representadas na simulação é muito instrutiva, mas difícil de ser registrada em papel. Apesar do aumento da sofisticação das simulações e dos achados valiosos que elas fornecem, é válido que se considerem os modelos formulados antes do acesso aos avanços computacionais que, atualmente, tornaram-se comuns.

Foram propostos três tipos de modelos para a água líquida: de mistura, intersticiais e contínuos (também chamados de modelos homogêneos ou uniformes) [11,12]. Os modelos de mistura incorporam o conceito de que as pontes de hidrogênio intermoleculares tornam-se concentradas momentaneamente em agrupamentos volumosos de moléculas de água que se encontram em equilíbrio dinâmico com espécies mais densas, indicando “momentaneamente” uma escala de tempo de cerca de 10^{-11} s [12]. As simulações computacionais da dinâmica molecular costumam incorporar esse tipo de abordagem, sendo que a simulação fornece uma sucessão

de posições instantâneas (e, em geral, orientações) das moléculas constituintes representadas no modelo. As características exatas exibidas pelos modelos dependem da interação da função potencial designada para a água, sendo que foram propostas e utilizadas muitas funções potenciais diferentes, cada uma com seus pontos fortes e fracos.

Os modelos contínuos partem dos pressupostos de que as pontes de hidrogênio intermoleculares são distribuídas de maneira uniforme ao longo da amostra e de que muitas das pontes existentes no gelo simplesmente são distorcidas em vez de se quebrarem quando o gelo é derretido. Tem sido sugerido que esse fato permite a existência de uma rede contínua de moléculas de água, que são, obviamente, de natureza dinâmica, sendo que as distorções são capazes de se reajustarem ao espaço transferindo-se por meio da rede [13,14].

O modelo intersticial envolve o conceito de retenção da água, com pequena distorção, em estrutura de rede de pontes de hidrogênio, tanto nos moldes do gelo como nos moldes do clatrato com preenchimento dos espaços intersticiais da rede por moléculas individuais de água. Nos três modelos, a característica estrutural dominante é o conceito de associação por pontes de hidrogênio da água líquida, em tetraedros efêmeros e distorcidos. Todos os modelos costumam permitir que moléculas de água individuais alterem seus arranjos de ligação pela terminação rápida de uma ponte de hidrogênio em troca de uma nova, mantendo, ainda, em temperatura constante, um grau constante de pontes de hidrogênio e estrutura para o sistema como um todo.

Em muitos aspectos, os modelos computacionais mais recentes demonstram facetas de cada um dos modelos mais tradicionais [10]. Existem evidências da mudança de orientação das pontes de hidrogênio e do reajuste das moléculas de água em posições que não são explicadas pela rede tradicional de pontes de hidrogênio. Diversos estudos de modelagem têm conseguido aproximar com sucesso os comportamentos observados da água. Nos modelos computacionais, que produzem imagens ao longo do tempo, apesar das pontes de hidrogênio serem obviamente muito importantes, não ocorre o aparecimento de estruturas bem definidas, como se espera dos modelos mais simples.

Neste momento, é possível que se discuta a baixa viscosidade da água, aparentemente anômala. Esse atributo é conciliável com os tipos de estruturas já descritos. Como os arranjos das moléculas de água por pontes de hidrogênio são altamente dinâmicos, isso permite que moléculas individuais alterem suas pontes de hidrogênio com moléculas vizinhas, em intervalos de tempo de nano a pico segundos, facilitando assim a mobilidade e a fluidez. A capacidade calorífica particularmente alta da água líquida é, em parte, um reflexo da energia necessária para a quebra de mais pontes de hidrogênio ao se aumentar a temperatura. A alta entalpia de vaporização reflete a quebra da maioria ou de todas as pontes de hidrogênio remanescentes à medida em que o líquido vaporiza, pois acredita-se que a maioria das moléculas do vapor sejam monômeros.

O grau de pontes de hidrogênio intermoleculares entre as moléculas de água depende, obviamente, da temperatura. O gelo a 0°C apresenta um número de coordenação (número

de vizinhos mais próximos) de 4,0, sendo que a distância mais próxima é de 2,76 Å. Com o fornecimento da entalpia de fusão, ocorre o derretimento. A entalpia de fusão reflete a quebra de algumas pontes de hidrogênio (a distância entre vizinhos mais próximos aumenta) e outras pontes de hidrogênio formam-se conforme as moléculas de água assumem estado fluido com associações que são, em média, mais compactas. À medida que a temperatura aumenta, o número de coordenação cresce de 4,0 no gelo a 0°C para 4,4 água a 1,5°C, e depois, para 4,9, a 83°C. Ao mesmo tempo, a distância entre os vizinhos mais próximos aumenta de 2,76 Å, no gelo a 0°C, para 2,9 Å, na água a 1,5°C, e depois, para 3,05 Å a 83°C [15,16].

Torna-se evidente, portanto, que a transformação do gelo em água é acompanhada pelo aumento da distância entre os vizinhos mais próximos (diminuição da densidade) e pelo aumento do número médio desses vizinhos (aumento da densidade), sendo que a última predomina durante a mudança de fase, o que resulta no conhecido aumento líquido de densidade associado à fusão. O aquecimento posterior acima do ponto de fusão faz com que a densidade chegue a seu máximo na temperatura de 3,98°C, decrescendo de maneira gradativa. O efeito do aumento do número de coordenação é, aparentemente, predominante em temperaturas entre 0°C e 3,98°C. Em temperaturas acima de 3,98°C, o efeito do aumento da distância entre vizinhos próximos (expansão térmica) é predominante.

2.7 RELAÇÃO DE FASES DA ÁGUA PURA

Até este ponto têm-se considerado apenas aspectos moleculares e estruturais da água, ou em outras palavras, interações e inter-relações nos níveis microscópico e submicroscópico. No momento, é apropriado que se discorra sobre o comportamento de fase da água, pois isso será relevante, não só pela nossa apreciação das propriedades da água pura, mas também pela discussão posterior sobre o comportamento de soluções aquosas sob diversas condições de temperatura e pressão. Ao se estudar as relações de fase da água pura, as influências da temperatura e da pressão devem ser consideradas.

A Figura 2.9a mostra o diagrama de fases da água pura. Para a ciência de alimentos, a linha de equilíbrio vapor-líquido e a dependência de pressão das formas estáveis do gelo são de importância particular. Como já foi mencionado, diversas formas de gelo já foram identificadas, sendo que cada uma é estável em uma região específica do diagrama temperatura-pressão. Sob condições de temperatura e pressão utilizadas no processamento dos alimentos, a única fase de gelo de interesse é a do gelo I. É notável que, no caso do gelo I, com o aumento da pressão, o ponto de fusão do gelo Ih diminui (Figura 2.9b). Particularmente, deve-se notar que sob pressão de 270 MPa, o ponto de fusão do gelo Ih encontra-se abaixo de -20°C. Esse fato pode ser aplicado a técnicas como congelamento sob pressão [17,18], na qual o alimento é resfriado a -20°C, sob alta pressão. Nessas condições, o material fica acima do ponto de congelamento e, portanto, a água permanece líquida, embora a entalpia (conteúdo de calor) seja diminuída. Ao se baixar a pressão, o congela-

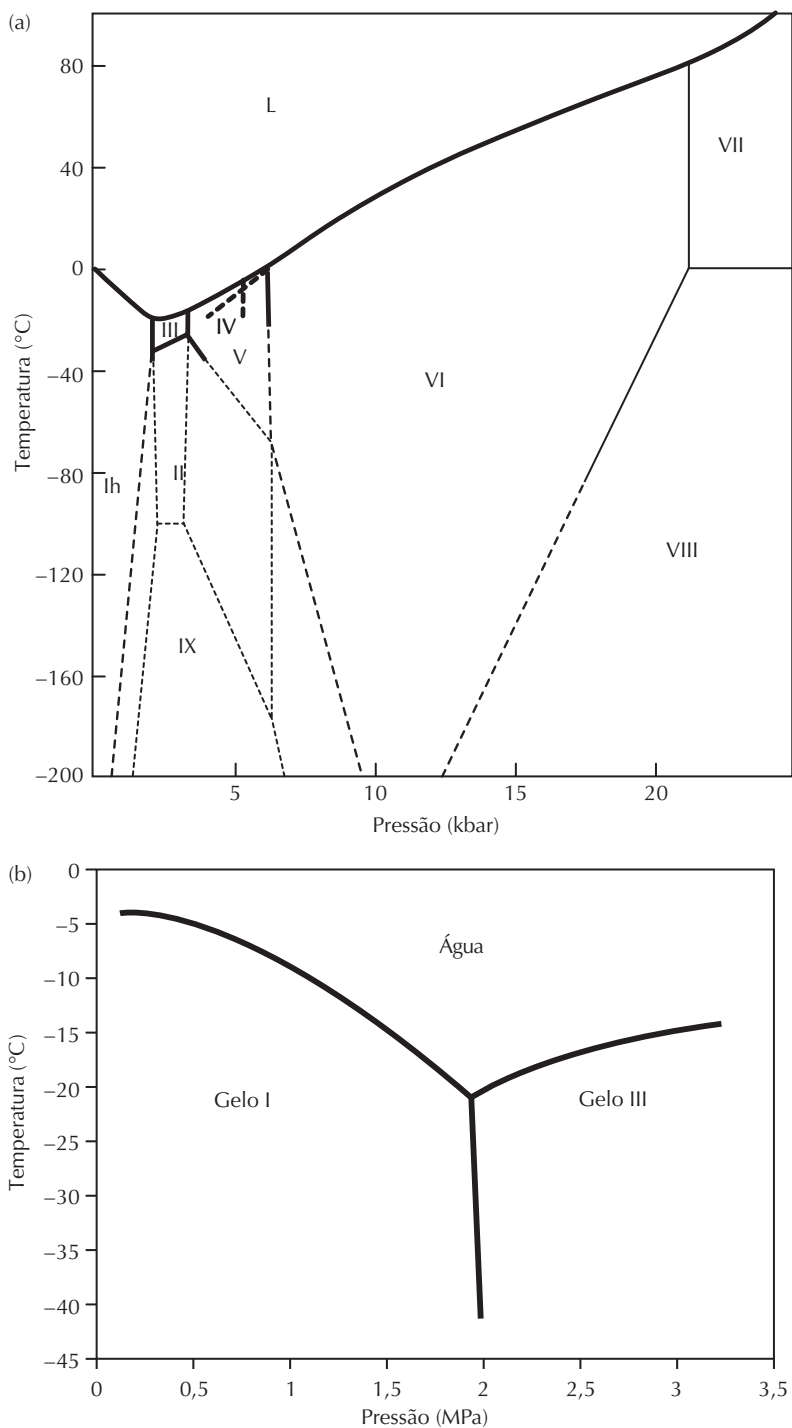


FIGURA 2.9 Diagrama de fase pressão-temperatura para (a) água pura, (b) detalhes das características da água líquida e dos gelos I e III.

mento acontece com muita rapidez, pois a forma estável da água sob essa nova condição é o gelo. Nesse sentido, o calor não trocado da amostra é o de uma amostra que contém uma fração significativa de gelo. O processo inverso de descongelamento também foi definido: nele o material congelado é sujeito a uma pressão alta o suficiente para permitir que a água seja a fase estável, sem mudança de temperatura. Como a pressão pode ser aplicada quase instantaneamente, o des-

congelamento é imediato. Após o aumento da temperatura acima de 0°C a pressão aplicada pode ser diminuída, sem a formação de gelo. Por isso, pode-se conseguir um processo de descongelamento no qual a mudança de fase seja uniforme no material, em vez de progressiva, refletindo o padrão geométrico da mudança de temperatura, controlado pelo processo de transferência de calor. Sob pressões maiores que aquelas em que o gelo I é a fase estável, podem ser encontra-

das outras formas de gelo como gelo II, III, IV e assim sucessivamente. Essas formas não são encontradas sob nenhuma condição relevante na manipulação e no processamento dos alimentos e, por essa razão, não serão abordadas.

Considerando-se o equilíbrio em sistemas líquido-vapor, observa-se que a pressão de vapor da água líquida pura aumenta de 610 Pa, a 0°C, para 101,323 Pa, a 100°C. Também é possível que se meça a pressão de vapor da água acima da água líquida subresfriada a temperaturas abaixo de 0°C, sob condições em que a forma de equilíbrio de HOH é o gelo. Essas pressões são sempre maiores que a pressão de vapor de equilíbrio da água acima do gelo, na mesma temperatura (Tabela 2.3). A importância dessas observações para a ciência de alimentos, em particular no que diz respeito ao uso da pressão de vapor relativa como indicativo da “disponibilidade da água”, será discutida adiante neste capítulo. Como a água é um componente importante dos alimentos, é necessário que se desenvolva um sistema (ou sistemas) para a descrição de sua quantidade, seu estado e sua condição nos alimentos. Porém, antes de se propor uma descrição satisfatória, deve-se primeiro considerar os sistemas mais complexos que a água pura, para que se compreenda a influência do ambiente molecular sobre as propriedades exibidas pela água, tanto em nível molecular como em nível maciço.

2.8 ÁGUA NA PRESENÇA DE SOLUTOS

Em todos os sistemas alimentares, tanto a água como os solutos são substâncias presentes. Portanto, é necessário que se discorra sobre os efeitos dos solutos na natureza e o compor-

tamento das moléculas de água, incluindo suas propriedades de solvente.

2.8.1 Gelo na presença de solutos

A presença de solutos influencia tanto na quantidade (por meio de efeitos termodinâmicos) como nos padrões de propagação (por meio de efeitos cinéticos) do gelo, em sistemas aquosos. À medida que a concentração de um determinado soluto aumenta, a quantidade de gelo formada a uma determinada temperatura diminui. Isso ocorre como consequência da depressão do ponto de congelamento e dos efeitos coligativos. Na Figura 2.10, um diagrama de fases simples para um sistema aquoso binário mostra como o ponto de congelamento de uma solução aquosa binária muda com a concentração. Os diagramas de estado e de fase serão discutidos com mais detalhes adiante.

A quantidade e o tipo dos solutos presentes influenciam não só na quantidade mas também no tamanho, na estrutura, na localização e na orientação dos cristais de gelo resultantes de um determinado processo de resfriamento. Considerem-se, por exemplo, os efeitos do soluto sobre a estrutura do gelo. Em estudos pioneiros, Luyet e colaboradores [19–21] estudaram a aparência de cristais de gelo formados sob diversas condições de resfriamento distintas, na presença de vários solutos, como sacarose, glicerol, gelatina, albumina e miosina. Eles desenvolveram um sistema de classificação baseando-se em morfologia, elementos de simetria e velocidades de resfriamento necessárias ao desenvolvimento de diversos tipos de estruturas de gelo visíveis. Suas qua-

TABELA 2.3 Pressões de vapor e taxas de pressão de vapor da água e do gelo

Temperatura (°C)	(p°) _w Água (kPa)	(p°) _i Gelo (kPa)	((p°) _i /(p°) _w)
100	101,325		
90	70,123		
80	47,379		
70	31,181		
60	19,936		
50	12,346		
40	7,382		
30	4,245		
20	2,338		
10	1,228		
0	0,611	0,611	1,00
-5	0,421 ^a	0,402	0,954
-10	0,287 ^a	0,260	0,905
-15	0,191 ^a	0,165	0,863
-20	0,125 ^{a,b}	0,103	0,824
-25	0,0807 ^{a,b}	0,063	0,780
-30	0,0509 ^{a,b}	0,038	0,746
-40	0,0189 ^{a,b}	0,013	0,687
-50	0,0064 ^{a,b}	0,039	0,609

^a Líquido super-resfriado.

^b Valor calculado.

Fonte: Lide, D.R. (Ed.) (1993/1994) *Handbook of Chemistry and Physics*, 74 edn., CRC Press: Boca Raton, FL e Mason, B.J. (1957) *The Physics of Clouds*. Clarendon Press: Oxford, p. 445.

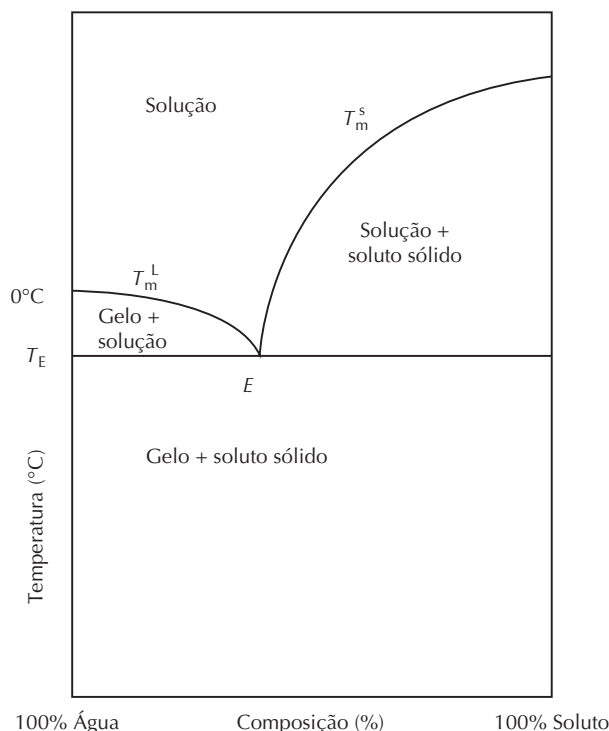


FIGURA 2.10 Diagrama de fases para um sistema aquoso binário simples.

tro classificações principais de estruturas de gelo visíveis são formas hexagonais, de dendritos irregulares, esferulitas grossas e esferulitas passageiras.

A forma hexagonal, que é altamente ordenada, é encontrada apenas em alimentos, contanto que seja evitado o congelamento ultrarrápido e que o soluto seja de tipo e concentração que não interfiram indevidamente na mobilidade (facilidade de reorganização espacial) das moléculas de água. Por exemplo, a gelatina em altas concentrações resultará em cristais de gelo mais desordenados. Em seus estudos mais antigos, Luyet e colaboradores encontraram evidências claras da existência de uma fase vítrea (amorfa) não congelada ao redor dos cristais de gelo a baixas temperaturas, associando-se a existência dessa fase a fenômenos como o “colapso” na liofilização. Ao mesmo tempo, Rey [22,23] também desenvolveu estudos pioneiros sobre as propriedades das fases envolvidas no processo de liofilização, chegando a resultados similares. Embora a importância real desses estudos não tenha sido percebida imediatamente, esses estudiosos foram precursores do desenvolvimento sobre os conceitos do papel do estado vítreo na determinação de propriedades cinéticas dos sistemas congelados. Esses importantes conceitos serão discutidos com mais detalhes adiante.

2.8.2 Interações água-soluto em soluções aquosas

2.8.2.1 *Nível macroscópico*

Antes de se iniciar a descrição das interações água-soluto em nível molecular, é apropriado que se façam algumas obser-

vações gerais sobre o comportamento da água. A presença desta causa um impacto significativo sobre as propriedades dos alimentos, sendo que as propriedades mudam com as alterações do conteúdo de água. Alguns termos como ligação da água, hidratação e capacidade de retenção de água surgiram para ajudar na descrição da influência da água sobre as propriedades dos sistemas [24,25]. Geralmente baseados em observações macroscópicas, esses termos históricos têm sido infelizes quando considerados para proporcionar entendimento dos processos moleculares subjacentes que eles, presumivelmente, refletiriam. Não obstante, é importante que se introduzam esses conceitos descritivos, já que eles desempenharam um papel importante na evolução do conhecimento das propriedades e das influências da água sobre os alimentos.

Antigamente, as expressões “ligação da água” e “hidratação” costumavam ser utilizadas para a descrição da tendência geral da água de se associar a substâncias hidrofílicas, incluindo materiais celulares. Quando utilizadas nesse contexto, essas definições pertencem ao nível macroscópico. Embora termos mais específicos como “potencial de ligação da água” sejam definidos em termos quantitativos, eles continuam a ser aplicados apenas em nível macroscópico. O grau e a intensidade da ligação da água ou da hidratação dependem de vários fatores, incluindo a natureza dos constituintes não aquosos, a composição salina, o pH e a temperatura.

O termo “capacidade de retenção de água” costuma ser aplicado à descrição da capacidade de uma matriz de moléculas, em geral macromoléculas presentes em baixa concentração, de reter fisicamente grandes quantidades de água, de

modo a inibir a exsudação sob a aplicação de forças externas em geral gravitacionais. Matrizes alimentícias que normalmente atraem água dessa forma incluem géis de pectina e amido e células teciduais, tanto animais como vegetais.

A água capturada de forma física não flui a partir dos tecidos alimentares com facilidade, mesmo quando eles são cortados ou picados. Não obstante, durante o processamento, essa água comporta-se com propriedades bem similares às da água pura. Ela é removida com facilidade durante a secagem, facilmente convertida em gelo durante o congelamento e disponível como solvente de imediato. Logo, mesmo que o seu escoamento seja um tanto restrito, o movimento das moléculas individuais é similar ao das moléculas da água em solução salina diluída.

A maioria da água encontrada em tecidos e géis pode ser classificada como fisicamente capturada, sendo que as falhas na capacidade de encapsular ou capturar a água (capacidade de retenção de água) dos alimentos exercem grandes efeitos sobre sua qualidade. Exemplos de defeitos de qualidade associados às falhas na capacidade de retenção de água são sinerese de géis, exsudação no descongelamento de alimentos e desempenho inferior de tecidos animais em embutidos, resultante do declínio do pH muscular, o qual acompanha eventos fisiológicos normais de pós-morte. Em todos os casos, os defeitos de qualidade derivam do reajuste físico das moléculas de água ao espaço, mas nem sempre refletem mudanças significativas nas propriedades interativas dessas moléculas.

2.8.2.2 *Nível molecular: generalidades*

A mistura direta de solutos e água resulta na alteração das propriedades de ambos, considerando-se suas propriedades antes da mistura. Essas mudanças são o resultado das interações moleculares e, portanto, dependem da natureza do soluto em nível molecular. Os íons ou grupos carregados interagem com a água principalmente por forças eletrostáticas. Essas forças podem aumentar ou interferir nas orientações geométricas normais das moléculas de água. Os solutos hidrofílicos interagem fortemente com a água, causando mudanças nas associações estruturais e na mobilidade da água adjacente. Ao mesmo tempo, a água muda a reatividade e, às vezes, também a estrutura dos solutos hidrofílicos. Em contrapartida, os grupos hidrofóbicos de solutos adicionados interagem apenas fracamente com a água adjacente, parecendo preferir ambientes não aquosos. No entanto, essa interação

fraca pode causar consequências estruturais profundas. As forças de ligação existentes entre a água e vários tipos de solutos são resumidas na Tabela 2.4.

2.8.2.3 *Nível molecular: “água ligada”*

“Água ligada” é um termo bastante utilizado, porém não se trata de um termo definido com facilidade, pois não se refere a uma entidade homogênea. Essa expressão nem sempre faz alusão à água verdadeiramente ligada de alguma forma a um soluto. Uma terminologia que descreva coerente e uniformemente a água ligada é difícil, já que existem numerosas definições, com frequência contraditórias, e não há consenso sobre qual é a melhor. Esse termo é controverso, geralmente mal-utilizado e pouco entendido. Muitos cientistas sugeriram que o termo não deve mais ser utilizado. Uma vez que todas as etapas são importantes para que haja uma comunicação precisa, o termo água ligada é muito usado na literatura e, por isso, deve ser discutido junto à apreciação de suas limitações.

A seguinte lista parcial de definições, que tem sido proposta para a água ligada, ilustra a confusão gerada pela utilização desse termo [24,25]:

1. Água ligada é o conteúdo de água de equilíbrio de uma amostra, a uma temperatura apropriada (e arbitrária) e baixa umidade.
2. Água ligada é aquela que não contribui significativamente à permitividade a altas frequências e, portanto, possui sua mobilidade rotacional restrita pela substância à qual se encontra associada.
3. Água ligada é aquela que permanece não congelada a uma determinada temperatura arbitrária, em geral, a -40°C ou menos.
4. Água ligada é aquela que não está disponível como solvente para solutos adicionais.
5. Água ligada é aquela que produz um alargamento de linha em experimentos que envolvem ressonância magnética nuclear.
6. Água ligada é aquela que se movimenta com a macromolécula em experimentos que envolvem taxas de sedimentação, viscosidade ou difusão.
7. Água ligada é aquela que se encontra na proximidade de solutos e outras substâncias não aquosas e que possui propriedades aparentes que diferem significativamente das da água “livre”, no mesmo sistema.

TABELA 2.4 Classificação dos tipos de interação água-soluto

Tipo	Exemplo	Força	Comentários
Água-água	Ponte de hidrogênio	5–25 kJ/mol	
Dipolo-íon	Íon de água livre	40–600 kJ	Depende do tamanho e da carga do íon
	Substituinte de água-carregada na molécula orgânica		Influenciado pelo pH e pela força iônica
Dipolo-dipolo	NH água-proteína	5–25 kJ/mol	
	CO água-proteína	5–25 kJ/mol	
	Cadeia OH lado-água	5–25 kJ/mol	
Hidratação hidrofóbica	Água + R → R(hid)	Baixa	Soma cumulativa maior
Interação hidrofóbica	2R(hid) → R ₂ (hid) + H ₂ O	Baixa	Soma cumulativa maior

Todas essas definições são válidas sob condições apropriadas, mas poucas delas produzem o mesmo valor quando aplicadas separadamente a determinados sistemas. Além disso, em alguns casos, o valor obtido para a água ligada, utilizando-se técnica e definição determinadas, dependerá do conteúdo total de água do sistema, mesmo quando o conteúdo exceder a quantidade de água ligada.

De um ponto de vista conceitual, é interessante pensar na água ligada como a descrição imperfeita da “água existente nas proximidades de solutos e outros constituintes não aquosos, a qual, como resultado de sua posição, exhibe propriedades aparentes que são significativamente diferentes das da ‘água livre’, em sistemas iguais”. A água ligada pode ser pensada como a água que, de algum modo, apresenta “mobilidade dificultada” em comparação à da água “livre”, não se tratando de uma água que foi “imobilizada”. Em um alimento típico com alto teor aquoso, esse tipo de água corresponde apenas a uma pequena parte do total de água presente, correspondendo, aproximadamente, à primeira camada de moléculas de água adjacentes locais aos grupos hidrofílicos. Porém, não se deve esquecer que não se trata de uma população estática de moléculas de água.

Esse assunto será discutido adiante, na seção que trata da mobilidade molecular em sistemas congelados.

2.8.2.4 Interações da água com íons e grupos iônicos

Íons individuais e grupos iônicos de moléculas orgânicas parecem dificultar ou influenciar na mobilidade das moléculas de água de forma mais intensa do que qualquer outro tipo de soluto. A força das ligações eletrostáticas água-íon é maior do que a força das ligações por ponte de hidrogênio água-água, porém muito menor que a força das ligações covalentes.

A estrutura normal aceita para a água pura (baseada em arranjos geralmente tetraédricos de ligações por pontes de hidrogênio) pode ser rompida pela adição de solutos dissociáveis. A água e os íons inorgânicos simples passam por interações dipolo-íon. O exemplo da Figura 2.11 ilustra a hidratação do par iônico do NaCl. São mostradas apenas as moléculas de água da primeira camada no plano do papel, orientadas pelo campo elétrico radial associado aos íons. Acredita-se que existe uma segunda camada de moléculas de água em soluções diluídas de íons em água, além da primei-

ra camada, em um estado estruturalmente irresoluto, devido às influências estruturais conflitantes da primeira camada de água que circunda os íons carregados e da água da fase “livre”, orientada tetraedricamente, a qual se encontra longe da influência dos campos elétricos radiais que circundam os íons. Em soluções salinas concentradas, onde se espera que os campos elétricos de íons individuais se sobreponham, não existe água na fase “livre” e a sua estrutura será dominada pelos íons.

Existem muitas evidências de que alguns íons em solução aquosa diluída exercem efeitos de “quebra de estrutura reticular” (soluções mais fluidas que a água pura) enquanto outros possuem efeitos de “formação de estrutura reticular” (soluções menos fluidas que a água pura). O termo “estrutura reticular” refere-se a todos os tipos de estrutura, tanto à organização normal da água, como a novos tipos de organização da água. Do ponto de vista da estrutura “normal” da água, todos os íons são destrutivos, pois tal estrutura não apresenta simetria radial [26].

A capacidade de um determinado íon de alterar a estrutura reticular está muito relacionada a seu poder de polarização (carga dividida pelo raio) ou simplesmente à força de seu campo elétrico. Íons pequenos e/ou multivalentes (como Li^+ , Na^+ , H_3O^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , F^- e OH^-) têm campos elétricos fortes, sendo promotores de estrutura reticular. A estrutura imposta por esses íons mais do que compensa qualquer perda na estrutura normal da água, eles interagem fortemente com 4 a 6 moléculas de água da primeira camada, tornando-as menos móveis e empacotando-as de forma mais densa que as moléculas de HOH em água pura. Íons grandes e monovalentes, como K^+ , Rb^+ , Cs^+ , NH_4^+ , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , BrO_3^- , IO_3^- e ClO_4^- , possuem campos elétricos fracos, sendo destruidores de estrutura, apesar de que, com o K^+ , os efeitos são muito pequenos. Esses íons rompem a estrutura normal da água sem impor uma estrutura nova para compensar as perdas.

Obviamente, os íons exercem outros efeitos importantes sobre a estrutura da água, como mudar a capacidade de hidratação (competem pela água), influenciar na permitividade do meio aquoso e controlar a espessura da dupla camada elétrica que envolve os colóides; os íons influenciam profundamente no “grau de hospitalidade” oferecida a outros solutos presentes no meio aquoso, bem como a substâncias suspensas no meio. Isso foi reconhecido, a princípio, por

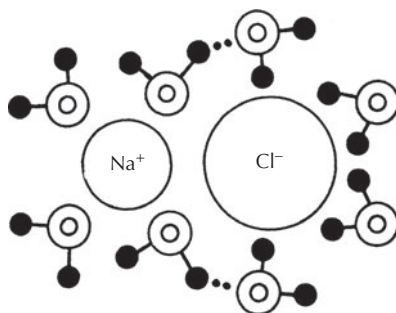


FIGURA 2.11 Arranjo das moléculas de água adjacentes ao par de íons do cloreto de sódio. São representadas somente as moléculas de água em um plano de papel.

meio das séries liotrópicas ou de Hofmeister, que classificaram os íons por ordem de efetividade em causar *salting-in* ou *salting-out* de proteínas ou de efetividade em influenciar em várias outras propriedades, como na estabilidade coloidal. É importante a observação de que as séries empíricas de Hofmeister correlacionam-se bem com aquelas baseadas nas influências estruturais de diversos íons [27, 28].

2.8.2.5 Interação da água com grupos neutros capazes de realizar pontes de hidrogênio (solutos hidrofílicos)

As interações entre água e solutos hidrofílicos não iônicos são mais fracas que as interações água-íon, tendo, aproximadamente, a mesma força que as pontes de hidrogênio água-água. Dependendo da força das pontes de hidrogênio água-soluto, a água da primeira camada (água imediatamente adjacente às espécies hidrofílicas) pode ou não apresentar mobilidade reduzida e outras propriedades alteradas quando se tem a água da fase “livre” como termo de comparação.

Em um primeiro momento, pode-se esperar que os solutos capazes de formar pontes de hidrogênio aumentem, ou pelo menos não quebrem, as estruturas normais da água pura. Essa expectativa simplista ignora a importância da orientação e da localização espacial na existência de redes viáveis de ligações de hidrogênio. Em algumas situações, a distribuição e a orientação dos sítios de ligação de hidrogênio do soluto são geometricamente incompatíveis com

as existentes na água pura. Esses solutos costumam exercer influências de ruptura sobre a estrutura tridimensional tetraédrica normal da água pura. A ureia é um bom exemplo de soluto pequeno que forma pontes de hidrogênio e que, por motivos geométricos, pode exercer um efeito marcante de quebra sobre a estrutura normal da água. Em contrapartida, algumas moléculas podem apresentar grupos hidrofílicos que sejam formadores potenciais de pontes de hidrogênio, em orientações e localizações compatíveis com as estruturas de pontes de hidrogênio da água. Os carboidratos simples são um exemplo disso. Verificou-se que essas substâncias possuem grupos hidroxil equatoriais que têm relações espaciais similares às das moléculas de água agrupadas (ver Figura 2.12). Esse grau de compatibilidade pode até mesmo aumentar o número total de pontes de hidrogênio. Deve-se observar que, como o espaçamento entre o átomo de oxigênio da água e das moléculas individuais depende da temperatura, não é necessário que haja correspondência exata em todas as situações, mas que exista uma correspondência próxima e, desse modo, uma interação potencialmente facilitada.

É importante que se entenda que o número total de pontes de hidrogênio por mol de água pode não ser alterado significativamente pela adição de um soluto formador de pontes de hidrogênio que quebre a estrutura normal da água. Isso é possível desde que pontes de hidrogênio água-água possam ser substituídas por pontes de hidrogênio água-soluto. Os solutos que comportam-se dessa maneira exercem poucos efeitos sobre a “estrutura reticular” como já foi definido.

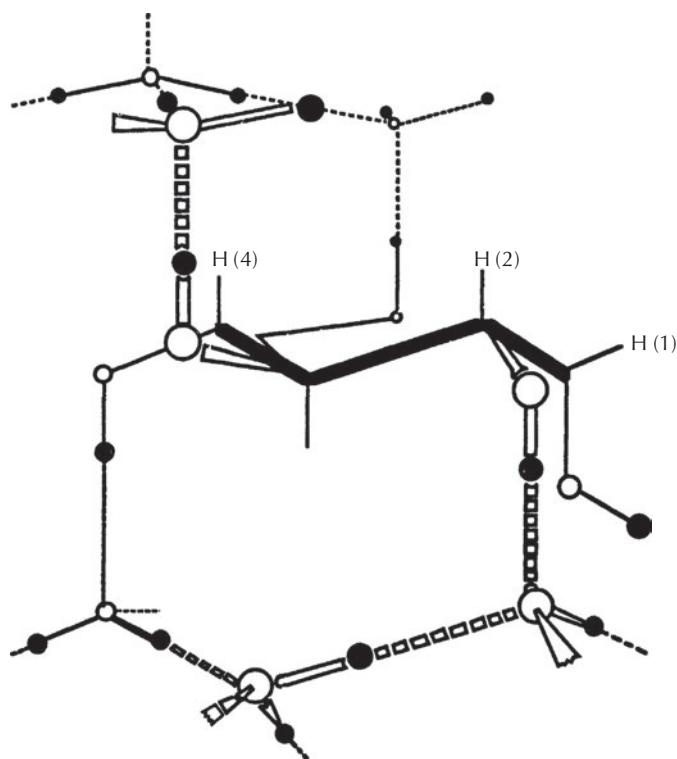


FIGURA 2.12 Possível associação da D-glicose com moléculas de água em arranjo tetraédrico. A vista lateral do anel de piranose é representado pela linha grossa. Os átomos de oxigênio e hidrogênio das moléculas de água são representados por círculos abertos e fechados, respectivamente. Os prótons hidroximetil não são mostrados. (De Sugget, A. (1976) *J. Solution Chem.* 5:33-46.)

As pontes de hidrogênio da água podem ocorrer com vários grupos (p. ex., grupos hidroxil, amino, carbonil, amida, imina, etc.). Isso, às vezes, resulta em pontes de água, nas quais uma molécula de água interage com dois sítios de ligação de hidrogênio, em um ou mais solutos. A Figura 2.13 mostra uma representação esquemática de pontes de hidrogênio (linhas pontilhadas) da água, com dois tipos de grupos funcionais encontrados em proteínas. Um exemplo mais elaborado, envolvendo uma ponte tripla HOH entre unidades de um esqueleto peptídico, é mostrado na Figura 2.14.

Como já foi afirmado no caso de alguns açúcares [29], os grupos hidrofílicos em muitas macromoléculas cristalinas são separados por distâncias bem similares ao espaço do átomo de oxigênio vizinho mais próximo, na água pura. Se esse espaço prevalece na macromolécula hidratada, ocorre a tendência de que se favoreça a ligação de hidrogênio cooperativa que envolve tanto a primeira como a segunda camada de água pelo aumento da estabilidade (tempo de existência) do agrupamento.

2.8.2.6 Interação da água com substâncias não polares

A mistura de água com substâncias hidrofóbicas, como hidrocarbonetos, gases raros e com grupos apolares dos ácidos graxos, aminoácidos e proteínas, é um evento termodinamicamente desfavorável ($\Delta G > 0$), o que não é um fato surpreendente. No entanto, a energia livre desse processo é po-

sitiva, não pelo fato de que o ΔH é positivo, o que costuma ocorrer em solutos com baixa solubilidade, mas porque o $T\Delta S$ é negativo [30].

Acredita-se que essa redução de entropia, considerada como um indicativo do aumento da “ordem”, acontece em virtude das estruturas especiais da água, as quais se formam nas proximidades das entidades apolares incompatíveis. Esse processo tem sido chamado de “hidratação hidrofóbica” (Tabela 2.4 e Figura 2.15a).

Como a hidratação hidrofóbica é termodinamicamente desfavorável, o sistema ajusta-se na tentativa de minimizar a associação da água às entidades apolares presentes. Dessa forma, se dois grupos apolares separados estão presentes, sua incompatibilidade com o ambiente aquoso favorecerá a associação entre eles, diminuindo assim a área da interface água-apolar, um processo que é termodinamicamente favorável ($\Delta G < 0$). Esse processo, que é uma reversão parcial da hidratação hidrofóbica, é chamado de “interação hidrofóbica” [31], podendo ser representado, em sua forma mais simples, como



onde R é um grupo apolar (Tabela 2.4 e Figura 2.15b).

Como a água e os grupos apolares encontram-se em uma relação antagonica, a estrutura da água se ajusta a fim de minimizar o contato com os grupos apolares. O tipo de estrutura da água que se acredita existir na camada próxima aos

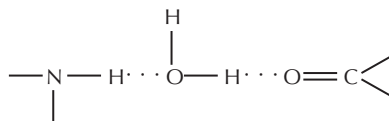


FIGURA 2.13 Ponte de hidrogênio (linhas pontilhadas) de moléculas de água, com dois tipos de grupos funcionais que são de ocorrência comum em proteínas.

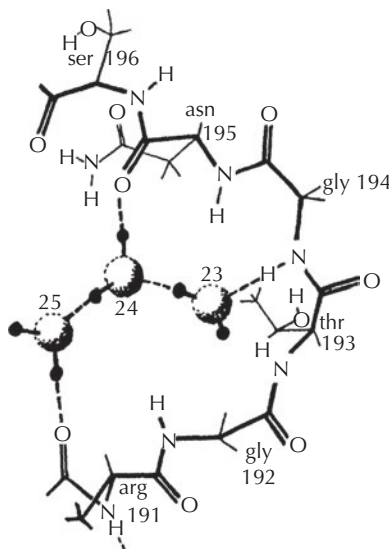


FIGURA 2.14 Exemplo de uma ponte de três moléculas de água na papaína: 23, 24 e 25 são as moléculas de água da ponte. (De Berendsen, H.J.C. (1975) Em *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 293–349.)

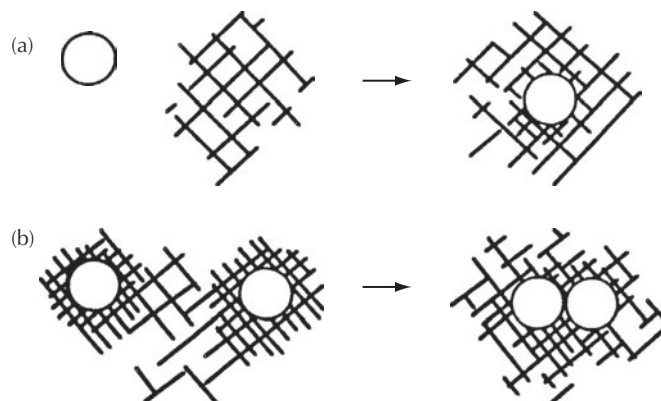


FIGURA 2.15 Representação esquemática de (a) hidratação hidrofóbica e (b) associação hidrofóbica. Os círculos abertos são grupos hidrofóbicos. As áreas hachuradas representam a água. (Adaptada de Franks, F. (1975) Em *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 1–94.)

grupos apolares é mostrado na Figura 2.16. Dois aspectos dessa relação antagonônica merecem uma abordagem adicional: a formação de clatratos de água e a associação da água a grupos hidrofóbicos em proteínas.

2.8.2.6.1 Clatratos de água

Um clatrato de água é um composto de inclusão semelhante ao gelo, no qual a água, substância hospedeira, forma uma estrutura semelhante a uma gaiola, com pontes de hidrogênio, que captura fisicamente uma molécula apolar pequena conhecida como molécula convidada. Os clatratos de água são importantes, pois representam a estrutura mais extrema da água como resposta a substâncias apolares e, ainda, porque microestruturas similares podem ter ocorrência natural em materiais biológicos. Os clatratos de água podem ser cristalinos. Os cristais de clatrato podem crescer com facilidade até se tornarem visíveis, sendo que alguns são estáveis a temperaturas acima de 0°C, se houver pressão suficiente [32]. As moléculas convidadas de clatratos de água são compostos com baixa massa molecular, com tamanhos e formas compatíveis com as dimensões das gaiolas de água hospedeira,

formadas por 20–74 moléculas de água. Moléculas convidadas típicas são hidrocarbonetos e hidrocarbonetos halogenados de baixa massa molecular; gases raros; aminas primárias, secundárias e terciárias de cadeia curta; e sais de alquil amônio, sulfatônio e fosfônio. A interação direta entre a água e as moléculas convidadas é fraca, em geral, envolvendo não mais do que forças de van der Waals, sendo que a molécula convidada é livre para rotar na cavidade. Os clatratos são o resultado extraordinário da tentativa da água de minimizar o contato com grupos hidrofóbicos. Embora, à primeira vista, a estrutura da água dos clatratos seja muito diferente em comparação ao gelo, essa estrutura surge de uma mudança geométrica sutil na ponte de hidrogênio. No gelo, as moléculas de água, em coordenação tetraédrica com seus vizinhos, apresentam suas ligações de hidrogênio em conformação dispersa quando observadas sob o ponto de vista da direção de ligação oxigênio-oxigênio, enquanto em clatratos de água a geometria da coordenação tetraédrica das moléculas de água é encontrada sob a forma eclipsada (Figura 2.17). A rotação de 60° na orientação da ligação resulta em estruturas em que três das quatro pontes de hidro-

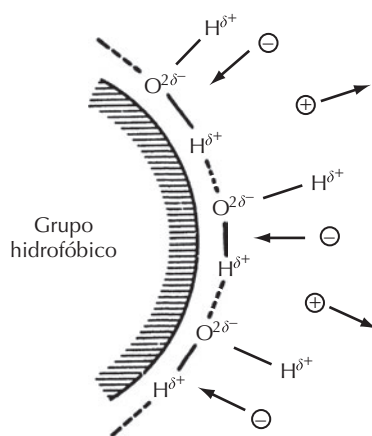


FIGURA 2.16 Orientação da água proposta em uma superfície hidrofóbica. (Adaptada de Lewin, S. (1974) *Displacement of Water and its Control of Biochemical Reactions*. Academic Press: London.)

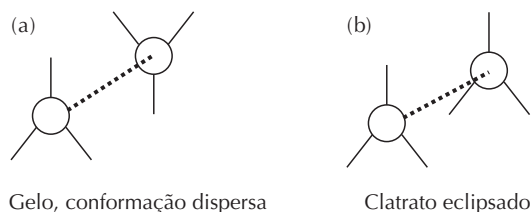


FIGURA 2.17 Orientação relativa das moléculas de água ligadas por pontes de hidrogênio: (a) conformação dispersa (gelo) e (b) conformação eclipsada (clatrato).

gênio de uma molécula de água podem ajudar na formação da curva de superfície (como uma superfície geodésica) da cavidade, enquanto as quatro pontes de hidrogênio projetam-se para fora em direção normal à superfície. Logo, não há nenhuma ponte de hidrogênio que se projete dentro da cavidade interna, não havendo interação desfavorável com grupos apolares dentro da cavidade. Como já foi dito, uma molécula apolar pequena pode rotar livremente na cavidade. Também é importante observar que, ao se compararem as energias livres da estrutura do gelo e da estrutura de gaiola do clatrato (quando não há nenhuma molécula na cavidade), a estrutura do gelo é mais estável que a do clatrato vazio por pouca diferença. Desse modo, a presença de um convidado desejável, que estabilize a cavidade por meio de interações estéricas, pode resultar em uma estrutura cristalina com estabilidade muito maior que a do gelo [33,34].

Existem evidências de que estruturas de pontes de hidrogênio similares a clatratos de água cristalinos podem ter

ocorrência natural em materiais biológicos [35–37], sendo, no entanto, menos extensivas no espaço (multicamadas de pontes de hidrogênio com orientação eclipsada). Nesse caso, as estruturas localizadas teriam mais importância para a ciência de alimentos que os clatratos cristalinos, por influenciarem na conformação, na reatividade e na estabilidade de moléculas como as proteínas. Por exemplo, alguns estudiosos sugerem que estruturas parciais de clatrato podem existir ao redor de grupos hidrofóbicos expostos de proteínas [38]. As figuras 2.16 e 2.18 ilustram esse conceito. Também é possível que estruturas da água semelhantes a clatratos exerçam um papel na ação anestésica de gases raros como o xenônio. Para obter mais informações a respeito de clatratos de água, pode-se consultar Davidson [32].

Simulações dinâmicas moleculares de sistemas aquosos incluindo espécies não polares fornecem evidências adicionais à possível reorientação das pontes de hidrogênio água-água para uma orientação do “tipo clatrato”, em resposta à

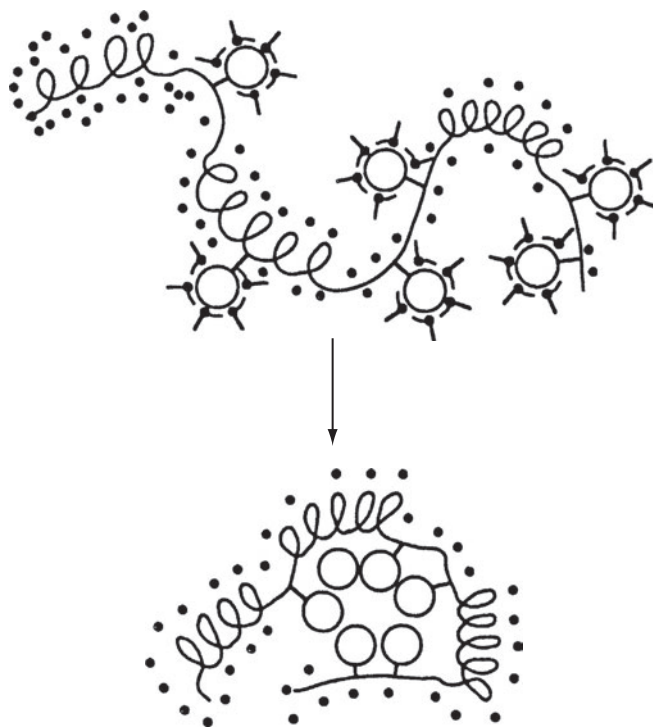


FIGURA 2.18 Ilustração esquemática de uma proteína globular sob interação hidrofóbica. Círculos abertos são grupos hidrofóbicos. Moléculas em forma de L são moléculas de água orientadas conforme a proximidade de uma superfície hidrofóbica e representam moléculas de água associadas com grupos polares.

presença de entidades não polares. Enquanto, em detalhes, os resultados de modelagem molecular não mostram estruturas com geometrias de pontes de hidrogênio com orientação do tipo clatrato, mudança na direção média das ligações é consistente ao modelo pictórico mais simples. Em modelos que incorporam solutos hidrofóbicos, as pontes de hidrogênio tendem a se tornar tangenciais às superfícies moleculares [7].

2.8.2.6.2 Interações da água com estruturas moleculares complexas

Embora seja difícil realizar experimentalmente a determinação do arranjo das moléculas de água próximas a moléculas orgânicas, esse é um campo prolífico de pesquisa, sendo que dados úteis têm sido obtidos. O anel hidratado de uma piranose é mostrado na Figura 2.12; na Figura 2.19 é apresentada uma simulação computacional da seção transversal de

uma mioglobina [39]. A partir de uma distância de 2,8 Å entre sítios hidratados, com ocupação total desses sítios, cerca de 360 moléculas de HOH estariam no campo de hidratação primário da mioglobina.

Devido à coexistência de regiões polares, hidrofílicas e hidrofóbicas dentro de uma molécula de tamanho grande, algumas interações e interferências inevitáveis da água com determinados grupos hidrofóbicos exercem influências importantes sobre a funcionalidade das proteínas [11,30,38]. A dimensão dos contatos inevitáveis é relativamente grande, pois as cadeias laterais apolares são encontradas em cerca de 40% dos aminoácidos em proteínas oligoméricas típicas dos alimentos. Esses grupos não polares incluem grupo metil da alanina, grupo benzil da fenilalanina, grupo isopropil da valina, grupo mercaptometil da cisteína e grupos butil e isobutil secundários das leucinas. Os grupos apolares de outros compostos como álcoois, ácidos graxos e aminoácidos livres

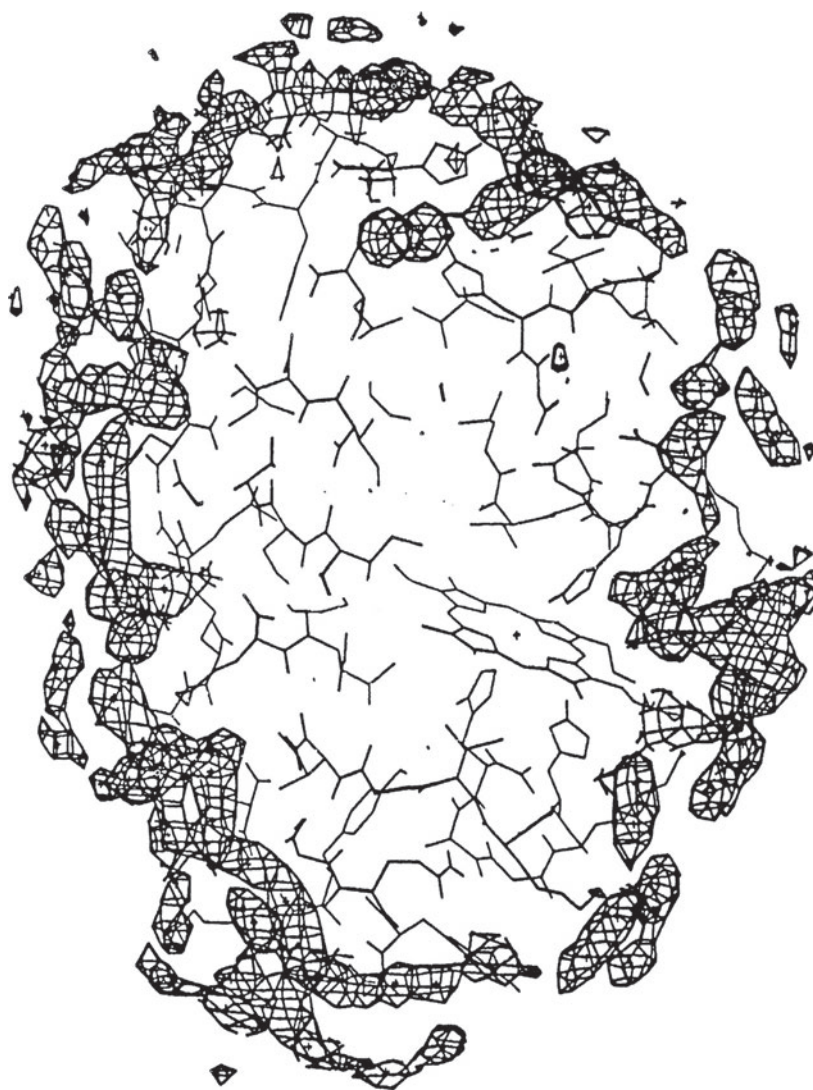


FIGURA 2.19 Seção transversal de uma molécula hidratada de mioglobina, obtida por simulação dinâmica molecular. As gaiolas reticuladas representam sítios de alta probabilidade de primeira camada de moléculas de água. As figuras em vareta representam a estrutura média temporal de uma proteína. (De Lounnas, V. and B.M. Pettitt (1994) *Proteins: Struct. Func. Genet.* **18**: 133–147.)

também podem participar de interações hidrofóbicas, mas as consequências dessas interações são menos importantes que as que envolvem proteínas.

Como a exposição dos grupos apolares das proteínas à água não é termodinamicamente favorável, a associação entre grupos hidrofóbicos, ou interação hidrofóbica, é facilitada. Esse processo é mostrado, por meio de um esquema, na Figura 2.18. Acredita-se que a interação hidrofóbica seja a maior força motriz para o dobramento das proteínas, fazendo com que muitos resíduos hidrofóbicos assumam posições escondidas no interior da proteína. Apesar das interações hidrofóbicas, estima-se que os grupos não polares de proteínas globulares ainda ocupem cerca de 40–50% da área da superfície. Como consequência da localização dos grupos hidrofóbicos na superfície, as interações hidrofóbicas também são consideradas como de importância fundamental na manutenção da estrutura terciária (associações de subunidades, etc.) da maioria das proteínas [40,41]. Por sua grande importância para a complexidade estrutural das proteínas, as reduções de temperatura causam enfraquecimento nas interações hidrofóbicas e fortalecimento das pontes de hidrogênio.

Aplicações recentes da modelagem molecular aos efeitos de solvatação de solutos reforçam a importância das associações por ponte de hidrogênio para água. Elas também indicam que o principal efeito dos solutos é a modulação das associações por ponte de hidrogênio que ocorrem dentro do solvente puro, em particular, a qual causa alterações que refletem as mudanças induzidas ao solvente puro por variação na temperatura e na pressão, as quais, por sua vez, refletem-se na equação de estado da água como solvente [42].

Os esquemas apresentados sobre as propriedades da água e de soluções aquosas, proporcionam um fundamento para o entendimento dos diversos papéis da água nos sistemas alimentícios, bem como da influência da quantidade e das características da água sobre a química e a microbiologia dos alimentos. Na discussão seguinte, será examinada a utilidade de diferentes aproximações ou enfoques para o entendimento aprofundado do papel da água nas propriedades dos alimentos e em sua estabilidade.

2.9 ATIVIDADE DE ÁGUA E PRESSÃO DE VAPOR RELATIVA

2.9.1 Introdução

Sabe-se há muito tempo, com origens que remontam à pré-história, que existe uma relação, apesar de imperfeita, entre o conteúdo de água de um alimento e sua perecibilidade. Processos de concentração e desidratação são realizados com o objetivo principal de diminuir o conteúdo de água de um alimento, aumentando, ao mesmo tempo, sua concentração de solutos e, portanto, diminuindo sua perecibilidade.

No entanto, já foi observado que diversos tipos de alimentos com o mesmo conteúdo de água diferem significativamente em termos de perecibilidade. Portanto, é evidente que o conteúdo de água por si só não é um indicador confiável de perecibilidade. Esse fato é atribuído, em parte, às diferenças da intensidade com a qual a água está associada a

constituintes não aquosos. Espera-se que a água fortemente associada seja menos capaz de dar suporte a atividades de degradação, como crescimento de microrganismos e reações químicas hidrolíticas, que a água pouco associada. O termo “atividade de água” (a_w) foi desenvolvido para indicar a intensidade com a qual a água associa-se a constituintes não aquosos.

A experiência mostra que estabilidade, segurança e outras propriedades dos alimentos podem ser previstas de forma muito mais exata utilizando-se a a_w em detrimento do conteúdo de água. No entanto, a a_w não é um indicador totalmente confiável. As razões desse fato serão apresentadas em seção posterior. Apesar da falta de perfeição, a a_w correlaciona-se de forma suficientemente adequada às taxas de crescimento microbiano e às taxas de muitas reações de degradação, tornando-a um indicativo de estabilidade e segurança microbiana possíveis do produto. O fato de que a a_w seja especificada em algumas das leis federais dos EUA concernentes às boas práticas de fabricação de alimentos indica a sua utilidade e credibilidade [43], além da exploração completa desse tópico.

2.9.2 Definição e medida

Como descrito na maioria dos livros-textos de físico-química, Lewis e Randall derivaram rigorosamente das leis da termodinâmica a noção de “atividade” de uma substância, tendo sido Scott [44, 45] o pioneiro de sua aplicação a alimentos. A seguinte apresentação é

$$a_w = (f/f^0)_T \quad (2.1)$$

sendo f a fugacidade do solvente (fugacidade é a tendência do solvente de escapar da solução) e f_0 a fugacidade do solvente puro no estado definido como padrão. O T subscrito indica que as medições são realizadas a temperaturas constantes. A baixas pressões (p. ex., pressão ambiente) a diferença entre ff^0 e p/p^0 é menor que 1% e, portanto, pode-se definir a_w em termos de p/p^0 . Logo,

$$a_w = (p/p^0)_T \quad (2.2)$$

É importante ressaltar que essa equação está baseada na suposição de equilíbrio termodinâmico. Como nos alimentos essa suposição costuma ser violada, a Equação 2.2 deve ser considerada como uma aproximação, sendo a expressão correta

$$a_w \approx (p/p^0)_T \quad (2.3)$$

Na ciência de alimentos, por p/p^0 ser facilmente mensurável, e em alguns casos não equivaler a a_w , é mais apropriado que se utilize o termo $(p/p^0)_T$ em lugar de a_w . Dessa forma, utilizaremos o termo $(p/p^0)_T$. Pressão de vapor relativa (RVP) é o nome de $(p/p^0)_T$, de modo que esses dois termos serão usados da mesma forma. Apesar da preferência científica do uso de RVP em vez de a_w (pois RVP não implica equilíbrio), o leitor deve saber que o termo a_w é amplamente difundido, não sendo incorreto contanto que o usuário entenda seu verdadeiro significado e as limitações que implicam sua utilização.

O fato de que a aproximação a_w -RVP não seja uma estimativa perfeita para a estabilidade dos alimentos deve-se a duas razões principais: à violação das considerações realizadas na Equação 2.2 e a efeitos específicos do soluto. A violação das considerações da Equação 2.2 pode diminuir a utilidade da RVP como ferramenta tecnológica, mas, felizmente, isso ocorre em raras ocasiões. Uma das exceções acontece quando produtos desidratados são preparados por adsorção de água e não por dessorção (efeito da histerese). Esse fato será discutido mais adiante. A violação das considerações da Equação 2.2 invalida a utilização da RVP como ferramenta para a interpretação de mecanismos, quando os modelos teóricos são baseados na validade dessas considerações. Esse costuma ser o caso de modelos de isotermas de sorção de água, nos quais a aplicação das conclusões aparentes deve ser realizada com cuidado.

Em alguns casos que podem ser de grande importância, os efeitos específicos do soluto podem fazer com que a RVP seja um indicador fraco da estabilidade e da segurança dos alimentos. Isso pode ocorrer quando as considerações subjacentes da Equação 2.2 são totalmente conhecidas. Nessas situações, alimentos com a mesma RVP, mas com composição de solutos diferentes, podem apresentar diferentes estabilidades e outras propriedades. Esse é um ponto muito importante, não devendo ser negligenciado na utilização de RVP como ferramenta de avaliação da segurança e da estabilidade dos alimentos. A Figura 2.20 reforça esse tópico. Os dados indicam claramente que a $(p/p^0)_T$ mínima para o crescimento de *Staphylococcus aureus* depende do tipo de solvente [46].

A pressão de vapor relativa está relacionada à umidade relativa de equilíbrio (%ERH) do ambiente onde se encontra o produto da seguinte forma:

$$RVP = (p/p^0)_T = \%ERH/100 \quad (2.4)$$

Dois aspectos dessa relação são notáveis. Em primeiro lugar, a RVP é uma propriedade intrínseca, enquanto a %ERH é uma propriedade da atmosfera estabelecida com a amostra no estado estacionário. Deve-se notar que a existência de um estado estacionário não implica necessariamente a existência

de equilíbrio. Em segundo lugar, a igualdade descrita pela Equação 2.4 só existe se foi alcançado o equilíbrio entre o produto e sua vizinhança. O estabelecimento do equilíbrio é um processo demorado, mesmo em amostras muito pequenas (<1 g), sendo impossível para amostras grandes, em especial em temperaturas abaixo de 20°C.

Uma vez que a ERH atingiu o equilíbrio, pode ser mais apropriada a utilização de uma forma modificada para essa relação, a qual especifique melhor que a medida da RVP está relacionada à umidade relativa do estado estacionário (SSRH) do ambiente do produto:

$$RVP = (p/p^0)_T \approx \%SSRH/100 \quad (2.5)$$

A RVP de uma pequena amostra pode ser determinada colocando-a em uma câmara fechada durante o tempo suficiente para atingir o equilíbrio aparente (peso constante), medindo-se, após, a pressão ou a umidade relativa dentro da câmara [47–50]. Vários tipos de instrumentos estão disponíveis para medir a pressão (manômetros) e a umidade relativa (higrômetros elétricos, instrumentos de ponto de orvalho) [51]. O conhecimento da depressão do ponto de congelamento também pode ser utilizado na determinação da RVP, embora ele esteja relacionado somente à temperatura no ponto de congelamento. Com base em muitos estudos colaborativos, a precisão da determinação da a_w é de cerca de $\pm 0,005$ [48].

Se se deseja ajustar uma pequena amostra a uma RVP específica, pode-se colocar a amostra em uma câmara fechada a uma temperatura constante, mantendo-se a atmosfera em torno da amostra a uma umidade relativa constante e conhecida, por meio da solução saturada de um sal apropriado ou de algum método equivalente, estocando-se, então, a amostra nessas condições, até que atinja um peso constante.

2.9.3 Dependência de temperatura

A pressão relativa de equilíbrio depende da temperatura. Nesse sentido, uma modificação da equação de Clausius-Claeyron pode ser utilizada a fim de que essa dependência

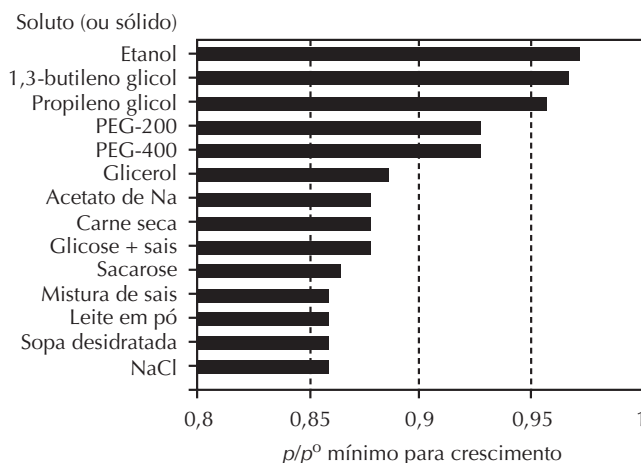


FIGURA 2.20 RVP mínima para o crescimento de *Staphylococcus aureus*, quando influenciada pelo soluto usado para o controle da RVP. A temperatura de crescimento é próxima à ótima. PEG = polietileno glicol. (De: Chirife, J. (1994) *J. Food Eng.* 22: 409–419.)

seja estimada. Essa equação, embora seja baseada na a_w , em geral, pode ser aplicada à RVP na seguinte forma:

$$\frac{d \ln a_w}{d(1/T)} = \frac{-\Delta H}{R} \tag{2.6}$$

onde T é a temperatura absoluta, R é a constante universal dos gases e $-\Delta H$ é o calor isostérico de sorção no conteúdo de umidade da amostra. Essa equação pode ser exposta como a equação de uma reta, por meio de um simples rearranjo. Portanto, pelo gráfico $\ln a_w$ vs. $1/T$ (a uma umidade constante), obtém-se uma reta. Se a mesma relação é obtida para $\ln(p/p^0)_T$ vs. $1/T$, então a equação pode ser utilizada para se estimar calores efetivos de sorção, para efeitos de comparação. Essas relações pressupõem o equilíbrio, o qual, muitas vezes, não acontece.

Gráficos lineares de $\ln(p/p^0)_T$ vs. $1/T$ para amido nativo em vários conteúdos de umidade são mostrados na Figura 2.21. É evidente que o grau de dependência de temperatura é uma função do conteúdo de umidade. Para uma $(p/p^0)_T$ de 0,5, o coeficiente da temperatura é $0,0034 \text{ K}^{-1}$, em uma faixa de temperatura de 275–313 K (2–40°C). Segundo o trabalho de diversos autores [48,52], os coeficientes da temperatura para $(p/p^0)_T$ (em uma faixa de temperatura de 5–50°C a $(p/p^0)_T$ inicial de 0,5) encontram-se entre 0,003 e $0,02 \text{ K}^{-1}$ para alimentos com alto conteúdo de carboidratos ou proteínas. Desse modo, dependendo do produto, uma mudança de 10 K na temperatura pode ocasionar mudanças de 0,03–0,2 em $(p/p^0)_T$. Esse comportamento pode ser importante para alimentos embalados, os quais sofrerão mudanças de RVP com as oscilações de temperatura, fazendo com que sua estabilidade tenha mais dependência de temperatura que os mesmos produtos quando não embalados.

Os gráficos de $(p/p^0)_T$ vs. $1/T$ nem sempre são lineares em faixas amplas de temperatura. Por exemplo, eles costumam exibir quebras acentuadas no início da formação de gelo. Antes de se interpretar dados em temperaturas abaixo do ponto de congelamento, deve-se considerar a definição de RVP quando aplicada essas temperaturas. Como já foi colocado, a água super-resfriada pode existir em forma metaestável a temperaturas abaixo de 0°C. Conseqüentemente, surge uma questão sobre se o denominador p^0 , que é a pressão de vapor do solvente puro, pode ser comparada à pressão de vapor da água super-resfriada ou à pressão de vapor do gelo. Como o gelo puro é a forma em equilíbrio da água pura, a essas temperaturas (para comparações úteis em sistemas abaixo do ponto de congelamento), a escolha mais apropriada para o estado-padrão é a pressão de vapor da água supergelada (1) pois os valores de RVP a temperaturas abaixo do ponto de congelamento podem, apenas nesse caso, ser comparadas diretamente a valores em temperaturas acima do ponto de congelamento e, ainda, (2) porque realizando-se a escolha da pressão de vapor de gelo (para amostras que contêm gelo), a p^0 poderia resultar em situações nas quais a RVP seria igual à unidade, em todas as temperaturas abaixo do ponto de congelamento. Essa segunda situação resulta das relações-padrão termodinâmicas, em que a pressão parcial da água de qualquer alimento congelado é igual à pressão de vapor do gelo na mesma temperatura.

Como a pressão de vapor da água super-resfriada foi medida abaixo de -15°C , tendo sido estimada por meio de extrapolação a -30°C (Tabela 2.3) e a pressão de vapor de gelo foi medida a temperaturas bem menores, os valores de RVP

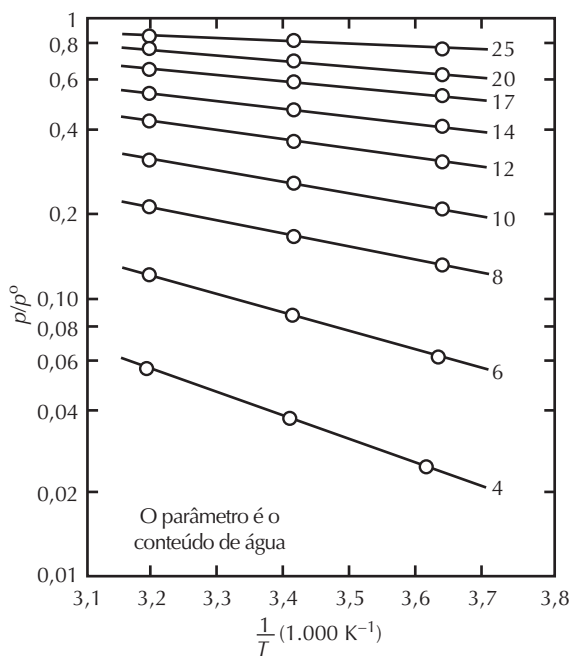


FIGURA 2.21 Relação entre RVP e temperatura para amido nativo com diferentes conteúdos de água. Estes são mostrados depois de cada linha e expressos em g HOH/g amido seco. (De van den Berg, C. e H.A. Leniger (1978) Em *Miscellaneous Papers*. Wageningen Agricultural University).

para alimentos congelados são simples de serem calculados, baseando-se no estado-padrão da água super-resfriada,

$$a_w = \left[\frac{p_{ff}}{p^0(\text{UCW})} \right]_T = \left[\frac{p_{ice}}{p^0(\text{UCW})} \right]_T \quad (2.7)$$

onde p_{ff} é a pressão parcial da água em alimentos semicongelados, $p^0(\text{UCW})$ é a pressão de vapor da água super-resfriada pura e p_{ice} é a pressão de vapor do gelo puro, todas na mesma temperatura T .

Na Tabela 2.3 são apresentados os valores de RVP calculados por meio das pressões de vapor do gelo e da água super-resfriada. Esses valores são idênticos aos dos alimentos congelados em temperaturas iguais. A Figura 2.22 apresenta um gráfico de $\log(p/p^0)_T$ vs. $1/T$ para uma solução aquosa típica, ilustrando que: (1) a relação é linear em temperaturas abaixo do ponto de congelamento, (2) a influência da temperatura sobre a RVP é maior em temperaturas abaixo do ponto de congelamento que em temperaturas acima deste e (3) no ponto de congelamento da amostra acontece uma quebra acentuada no gráfico. Espera-se um comportamento similar de sistemas biológicos.

Dois distinções importantes devem ser observadas ao se comparar valores de RVP acima e abaixo das temperaturas de congelamento. Em primeiro lugar, em temperaturas acima do ponto de congelamento, a RVP é uma função da composição da amostra e da temperatura, sendo que o primeiro fator é predominante. Em temperaturas abaixo do ponto de congelamento, a RVP torna-se independente da composição da amostra, dependendo apenas da temperatura, uma vez

que na presença de uma fase de gelo, os valores de RVP não são influenciados pelo tipo ou pela quantidade de solutos presentes [53]. Em consequência, qualquer evento ocorrente em temperaturas abaixo do ponto de congelamento que seja influenciado pelo tipo de soluto presente (p. ex., processos controlados por difusão; reações catalisadas; e reações afetadas pela presença ou ausência de agentes crioprotetores, agentes antimicrobianos e/ou substâncias químicas que alteram o pH e o potencial de oxirredução) não pode ser previsto com exatidão por meio do valor de RVP. Em decorrência disso, os valores de RVP em temperaturas abaixo do ponto de congelamento são indicadores menos válidos de eventos físicos e químicos que os valores de RVP em temperaturas acima do ponto de congelamento. Portanto, o conhecimento da RVP a temperaturas abaixo do ponto de congelamento não pode ser utilizado para a previsão da RVP em temperaturas de congelamento ou temperaturas inferiores. Observe também que a utilização da depressão do ponto de congelamento para estimativa a_w ou da RVP é, de fato, a determinação do ponto de quebra na curva.

Em segundo lugar, quando se modifica a temperatura o suficiente para formação ou derretimento de gelo, a significância da RVP em termos de estabilidade do alimento também muda. Por exemplo, em um produto a -15°C ($(p/p^0)_T = 0,86$) os microrganismos não se desenvolverão e as reações químicas acontecerão devagar. No entanto, a $+20^\circ\text{C}$ e $(p/p^0)_T = 0,86$, algumas reações químicas acontecerão com rapidez e alguns microrganismos conseguirão desenvolver-se em velocidades moderadas.

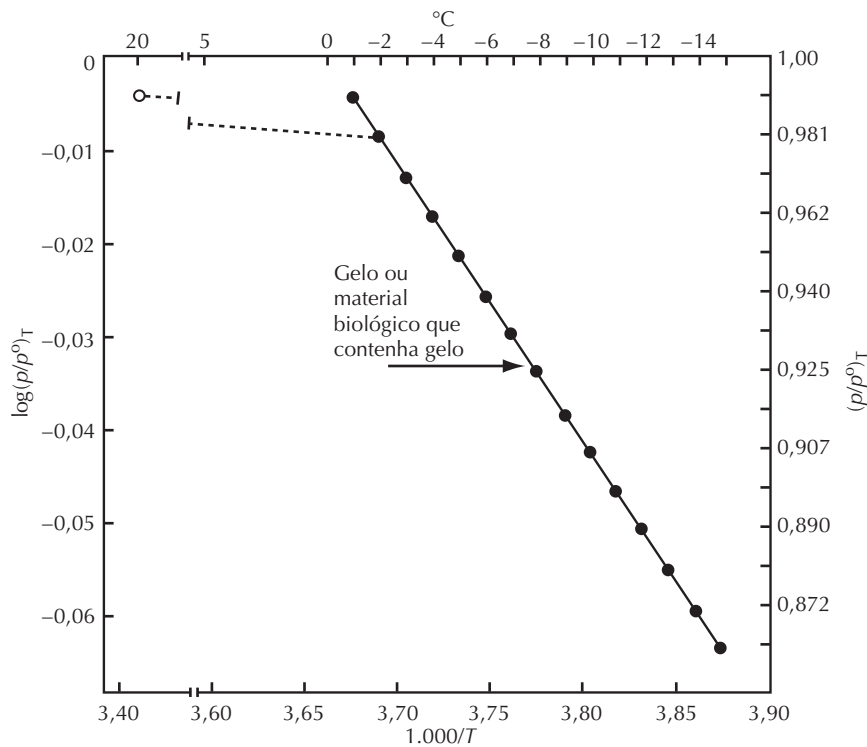


FIGURA 2.22 Relação entre RVP e temperatura para sistemas aquosos acima e abaixo do ponto de congelamento. (Modificada de Fennema, O. (1978) Em *Dry Biological Systems* (J.H. Crowe e J.H. Clegg, Eds.), Academic Press: New York, pp. 297–322).

A falta de utilidade da RVP como indicativo da estabilidade de produtos em temperaturas abaixo do ponto de congelamento serve de motivação para o desenvolvimento da abordagem da mobilidade molecular, a fim de que as relações de estabilidade dos alimentos sejam compreendidas. Essa teoria será discutida a seguir. A discussão sobre as isotermas de sorção, que descrevem a relação entre o conteúdo de umidade e a RVP da amostra, relacionando-os à estabilidade dos alimentos, pode ser melhor entendida após a abordagem da mobilidade molecular, já que os conceitos desenvolvidos na teoria da mobilidade molecular podem ajudar a esclarecer algumas das relações entre as isotermas de sorção de umidade e a estabilidade do produto.

2.10 MOBILIDADE MOLECULAR E ESTABILIDADE DOS ALIMENTOS

2.10.1 Introdução

Embora a aproximação da RVP tenha sido útil para a indústria de alimentos, isso não deve impedir a consideração de outras abordagens que podem complementar ou substituir parcialmente a RVP como ferramenta para previsão e controle da estabilidade e do processamento dos alimentos. Algumas evidências têm indicado que a mobilidade molecular (Mm: movimento translacional ou rotacional) é um atributo dos alimentos que merece atenção particular, pois está relacionada a diversas propriedades importantes dos alimentos que são limitadas pela difusão.

Na abordagem da mobilidade molecular, é dada atenção à mobilidade das moléculas constituintes, sendo consideradas relevantes tanto a mobilidade rotacional quanto a translacional. A consideração das mobilidades implica a consideração cuidadosa dos aspectos de difusão de muitas reações e, em particular, a importância das relações limitadas pela difusão para a qualidade de muitos alimentos.

2.10.2 História inicial

Como já foi indicado, Luyete e colaboradores, nos Estados Unidos [19,20], e Rey e colaboradores, na França [22,23], foram os primeiros a chamar a atenção para a relevância da Mm (estado vítreo, recristalização, temperaturas de colapso durante a liofilização) para as propriedades de materiais biológicos. Muitos dos conceitos básicos relacionados ao Mm, em sistemas de não equilíbrio constituídos de polímeros amorfos sintéticos, foram estabelecidos por Ferry e colaboradores [54,55]. White e Cakebread [56,57] descreveram o importante papel dos estados vítreo e supersaturado em diversos alimentos que contêm açúcares, sugerindo que a existência desses estados exerce uma importante influência sobre a estabilidade e a processabilidade de muitos alimentos. Duckworth e colaboradores [58] demonstraram a relevância da Mm na velocidade do escurecimento não enzimático e na oxidação do ácido ascórbico, fornecendo, assim, mais evidências de que a relação entre a Mm e a estabilidade dos alimentos tem importância considerável.

2.10.3 Estágio seguinte

Desde esse ponto de partida até então, os conhecimentos têm evoluído com rapidez, sendo que hoje, a Mm é aceita como um dos determinantes principais da estabilidade dos alimentos. O início do enfoque moderno da Mm começou com os estudos pioneiros de Franks [59] e Slade e Levine [60–65], os quais demonstraram que os conceitos de Ferry podem ser aplicados, de forma modificada, para o entendimento da estabilidade dos alimentos. Um avanço importante foi o postulado de que soluções vítreas de açúcares e outros materiais em estado vítreo, em sistemas alimentares, podem ser concebidas como tendo propriedades similares aos polímeros amorfos caracterizados por Ferry e colaboradores. Além disso, relações semelhantes às desenvolvidas por Ferry podem ser aplicadas a “soluções vítreas de alimentos”. Em particular, Levine e Slade propuseram a aplicação da equação de Williams-Landel-Ferry (WLF) a sistemas alimentares. A equação WLF toma a forma

$$\log \frac{\eta}{\eta_g} = \frac{-C_1(T - T_g)}{C_2 + (T - T_g)} \quad (2.8)$$

onde η é a viscosidade à temperatura do produto T (K), η_g é a viscosidade à temperatura do produto T_g (K) (em geral, à temperatura de transição vítreo) e C_1 (adimensional) e C_2 (K) são constantes. A η pode ser substituída por $1/Mm$, que é a mobilidade molecular ou qualquer outro processo de relaxamento limitado por difusão. Essa equação descreve a dependência da viscosidade do sistema e outros processos capacitados pela difusão, baseando-se no comportamento de um polímero em estado amorfo. Em sistemas poliméricos, têm sido estabelecidos valores universais para C_1 e C_2 . Existem polêmicas sobre a possibilidade de aplicação desses valores a sistemas de soluções vítreas de alimentos. Enquanto Levine e Slade cunharam a frase “abordagem científica de polímero alimentar” para descrever essas inter-relações, talvez seja mais útil que a abordagem esteja focada no conceito subjacente à mobilidade molecular, o que se optou por fazer neste capítulo.

2.10.4 Fatores que influenciam nas velocidades de reação da solução

Antes de se abordar os conceitos de mobilidades moleculares como determinantes das taxas (velocidades) de reação em sistemas limitados pela difusão, é importante que se observe que, em temperatura ambiente, as reações químicas em solução aquosa não costumam ser limitadas pela difusão. Em condições de temperatura e pressão constantes, três fatores principais controlam a taxa de reação química: o fator de difusão D , que descreve a probabilidade de um encontro; o fator de frequência de colisão A , que define o número de colisões por unidade de tempo, ocorrentes após o encontro; e o fator de energia de ativação química, E_a , que define a barreira energética que deve ser superada em uma colisão entre reagentes orientados de forma adequada. Os dois últimos termos aparecem na equação de Arrhenius,

que descreve a dependência da constante da taxa de reação em relação à temperatura. Para que uma reação seja limitada pela difusão, nem A nem E_a podem limitar a velocidade da reação. Em outras palavras, os reagentes adequadamente orientados devem colidir com alta frequência e com energia de ativação baixa o suficiente para assegurar que as colisões tenham probabilidades altas de resultar em reação. Portanto, as reações limitadas pela difusão apresentam baixas energias de ativação (8–25 kJ/mol). A maioria das “reações rápidas” (baixa E_a , alto A) é limitada pela difusão. Exemplos de reações limitadas pela difusão são as reações de transferência de prótons, reações ácido-base, muitas reações catalisadas por enzimas e oxigenação/desoxigenação da mioglobina e da hemoglobina. Constantes de reação entre 10^{10} e $10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ são consideradas como evidências presumidas de reações limitadas por difusão. A velocidade limitada pela difusão é a velocidade máxima possível para reações em solução (considerando-se a ocorrência de mecanismos de reação convencionais, o que é normal).

A dependência da constante de difusão em relação à temperatura e à viscosidade é pertinente. A constante de velocidade de segunda ordem limitada pela difusão para partículas esféricas não carregadas é fornecida pela equação de Smoluchowski

$$k_{\text{dif}} = \frac{4\pi N_A}{1.000} (D_1 + D_2)r \quad (2.9)$$

onde N_A é o número de Avogadro, D_1 e D_2 são os coeficientes de difusão para as partículas 1 e 2, e r é a distância entre a aproximação máxima das partículas 1 e 2, representada pela soma de seus raios.

Essa constante também é fornecida pela equação de Stokes-Einstein:

$$D = kT/\pi\beta\eta r_s \quad (2.10)$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, β é uma constante numérica, η é a viscosidade e r_s é o raio hidrodinâmico das espécies difusivas.

Como a viscosidade aumenta com rapidez quando a temperatura da região WLF diminui, a dependência de D e, conseqüentemente, de k_{dif} , em relação à viscosidade, torna-se de interesse particular.

É provável que as taxas de algumas reações em alimentos com alto conteúdo de umidade, em condições ambientais, sejam limitadas pela difusão, enquanto outras não. Espera-se que essas taxas, as quais são limitadas pela difusão, estejam de acordo com a cinética WLF ao se diminuir a temperatura ou o conteúdo de umidade.

2.10.5 O papel da mobilidade molecular sobre a estabilidade dos alimentos

O principal conceito relativo à relação entre a mobilidade molecular e a estabilidade dos alimentos é muito simples. Quando os alimentos são resfriados, a mobilidade molecular diminui. Essa é uma consequência normal da diminuição da temperatura. As diferentes espécies moleculares do alimento

podem ter características próprias de mobilidade. Duas situações são possíveis, na mais simples, à medida que a temperatura diminui, chega um momento em que a mobilidade das moléculas maiores torna-se tão impraticável que sua difusão se torna muito restrita e os processos que dependem de sua mobilidade têm sua velocidade muito reduzida. A temperaturas um pouco menores, as moléculas de tamanho intermediário também experimentam mobilidade restrita, sendo que as propriedades do sistema e suas reações exibem mais dependência de temperatura na zona de temperatura em que ocorre a restrição do movimento.

Na situação mais complexa, ao se diminuir a temperatura, uma fase sólida nova começa a se separar. Isso é mais relevante quando a fase sólida é o gelo (p. ex., no congelamento). Conforme o gelo se separa, a concentração de solutos na fase aquosa sem congelamento aumenta. A mobilidade molecular não é função somente da temperatura, é também da concentração, pois em concentrações maiores as colisões e os entrelaçamentos tornam-se mais prováveis. Conseqüentemente, nesses sistemas, à medida em que a temperatura diminui, a mobilidade molecular é reduzida, tanto pelo efeito da temperatura como pelo efeito do aumento da concentração. A combinação desses fatores leva à redução da mobilidade com a diminuição da temperatura, a qual é muito mais intensa que em situações em que a diminuição da temperatura é a única força motriz. Como no outro caso, o tamanho molecular trata-se de um fator, com as moléculas grandes exibindo mobilidades mais restritas em temperaturas maiores que as exigidas por moléculas menores. Os padrões de comportamento de sistemas congelados foram estudados em detalhes nos últimos 30 anos e serão discutidos em termos de mobilidade molecular mais adiante nesta seção.

Existem evidências que relacionam a Mm à causa de propriedades limitadas pela difusão de alimentos que contêm, além de água, quantidades significativas de moléculas amorfas, principalmente hidrofílicas, que variam em tamanho de monômeros a polímeros. Os componentes fundamentais, no que diz respeito à Mm, são a água e o soluto ou solutos dominantes. Alimentos desse tipo incluem os que contêm amido, alimentos fervidos, alimentos proteicos, alimentos com conteúdo de umidade intermediária e desidratados, alimentos congelados ou liofilizados.

Quando um alimento encontra-se em uma condição em que a Mm é muito reduzida, as propriedades limitadas pela difusão tornam-se bastante estáveis, com mudanças muito lentas, ou sem mudança nenhuma ao longo do tempo. Deve-se notar que, enquanto a maioria dos processos de mudanças físicas é limitada pela difusão, nem todos os processos de alteração química são tão limitados. Às vezes, a reatividade química é o fator dominante na estabilidade dos alimentos. No entanto, os processos limitados pela difusão costumam exercer um papel importante na estabilidade dos alimentos.

Como já foi discutido com maiores detalhes, a abordagem da Mm para a estabilidade dos alimentos deve ser considerada como um complemento eficaz e não como uma substituição da RVP, como ferramenta para a previsão da estabilidade dos sistemas alimentícios que contêm água como componente majoritário.

2.10.6 Diagrama de estado

2.10.6.1 Introdução

Como os sistemas alimentícios raramente encontram-se em equilíbrio, os diagramas de fase tradicionais apresentam uso limitado para a compreensão dos comportamentos de fase dos alimentos. É melhor que se utilize uma forma ampliada do diagrama de estado, que fornece informações de “estados” de não equilíbrio, talvez metaestáveis, além de informações sobre as fases em equilíbrio. O termo “estado” refere-se à manifestação de não equilíbrio que, em equilíbrio, será chamado de fase. A utilização dos termos é aconselhada para que haja distinção clara entre observações ocorrentes em equilíbrio ou fora de equilíbrio. Os diagramas de estado são basicamente diagramas de fase “suplementados”.

Um diagrama de estado composição-temperatura, simplificado para o sistema binário, é apresentado na Figura 2.23. Esse diagrama pode ser comparado com o diagrama de fases da Figura 2.10. Neles, considera-se que as linhas contínuas são definidas termodinamicamente, enquanto as linhas tracejadas indicam o sítio de uma propriedade ou parâmetro que é definido de modo cinético, ou metaestável. Em geral, esses sítios são postos em gráfico como linhas-limite que

definem o possível final real da propriedade. Utilizando-se esses diagramas, considera-se que a pressão é constante e que a dependência dos estados metaestáveis em relação ao tempo é pequena ou não é significativa nos sistemas de interesse. Enquanto todos os diagramas de estado para sistemas binários simples têm a mesma forma, alimentos reais e complexos não podem ser facilmente representados por diagramas de estado binários. No entanto, considerando-se a água como o único material que cristalizará, um diagrama de estado binário pode fornecer a aproximação adequada do comportamento de estado de um alimento complexo, podendo mostrar a curva de transição vítrea com precisão suficiente. Para uso desse diagrama, deve-se considerar a totalidade dos componentes não aquosos da fase aquosa como sendo um soluto único. Isso é aceitável quando nenhum dos componentes dos solutos não aquosos pode separar-se (cristalizar, precipitar ou formar uma nova fase líquida). Como na maioria dos alimentos congelados o gelo é o único componente a se separar da fase aquosa, um diagrama pseudobinário pode ser obtido com facilidade pelo gráfico de T_m^L como função da concentração. No entanto, deve-se considerar que, em um alimento complexo, diferentes regiões do alimento, ou moléculas de componentes diferentes, podem existir em fases

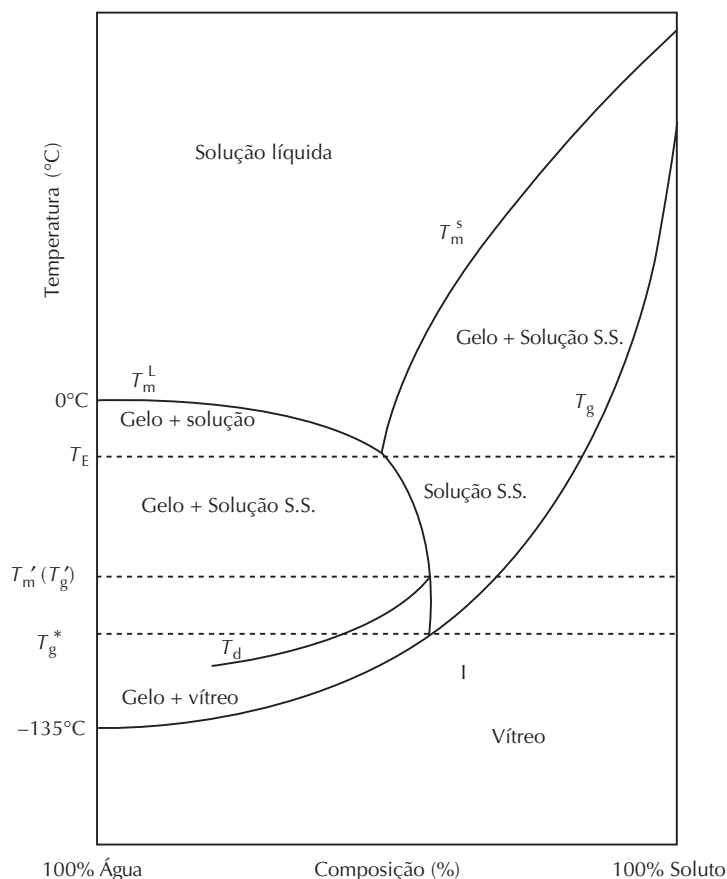


FIGURA 2.23 Diagrama de estado de composição e temperatura para um sistema aquoso binário. As suposições são: concentração máxima de congelamento, sem cristalização de soluto, pressão constante e independência do tempo. T_m^L é a curva do ponto de fusão, T_E é o ponto eutético, T_m^S é a curva de solubilidade, T_g é a curva de transição vítrea, T_d é a curva de desvitração, $T_m'(T_g')$ é o início do derretimento e T_g^* é a temperatura de transição vítrea específica do soluto da solução congelada, de máxima concentração.

distintas das de outras regiões ou de regiões que contêm outras moléculas e, desse modo, pode haver a necessidade de vários diagramas binários de estado para uma melhor descrição. Pode ser interessante identificar-se qual é o componente dominante ou a região dominante que controlam as propriedades críticas desse sistema. Por exemplo, em alguns sistemas que contêm misturas de polímeros, ocorre separação de fases, gerando domínios que podem conter diferentes espécies de polímeros dominantes. Nesses sistemas complexos, é difícil a identificação da transição vítrea ou de restrição de mobilidade mais relevante. O reagente limitante pode estar presente em uma ou várias das diversas fases.

2.10.6.2 Interpretando o diagrama de estado

É conveniente que se discorra, agora, sobre alguns dos problemas de interpretação dos diagramas de estado. A região do diagrama que representa o verdadeiro diagrama de fases, indicado por linhas contínuas, descreve a situação de equilíbrio verdadeiro. Tanto a linha de ponto de derretimento T_m^L como a linha de saturação T_m^S , e sua intersecção no ponto E (o ponto eutético) descrevem equilíbrios verdadeiros. A linha T_m^L localiza-se em ciclos de aquecimento e resfriamento, com dados coletados a partir de experimentos de aquecimento. Além do ponto E , a continuação da linha T_m^L descreve uma realidade nova e mais complexa. Primeiramente, isso só ocorre se o soluto não cristalizou (o que é comum). Na ausência de cristalização do soluto, a porção do diagrama para o lado de maior concentração de T_m^L representa supersaturação da solução (SS). Dessa forma, a linha de E até T_g representa um estado de não equilíbrio. A extensão da linha T_m^L de E até T_g costuma representar estados de equilíbrio metaestáveis, representando as concentrações maiores do soluto em solução (supersaturada), que podem ser atingidas pela cristalização do gelo em qualquer temperatura. É possível que haja, em qualquer temperatura específica, menos quantidade de gelo no sistema e, consequentemente, concentração menor de solutos, dependendo da cinética exata da cristalização durante o congelamento nesse ponto. Quanto mais rápido for o congelamento e menor a temperatura, mais provável será a cristalização incompleta do gelo.

Em determinada temperatura, alcança-se uma condição em que não haverá mais separação de gelo durante o resfriamento. No diagrama ideal, isso é representado pela intersecção entre as linhas T_m^L e T_g e a temperatura T_g^* , com a concentração de soluto C_g^* . A linha T_g representa a temperatura da transição vítrea para uma matriz amorfa *homogênea*, em função da composição da matriz. Note que ao se determinar toda a linha T_g desde HOH pura até soluto puro, devem ser aplicadas condições de resfriamento aos sistemas representando toda a faixa de concentração, de modo que nem o soluto nem o solvente possam cristalizar, tendo como resultado uma série de sistemas vítreos homogêneos de concentração conhecida a temperaturas apropriadamente baixas. A realização desse processo pode ser um desafio, em particular em concentrações grandes de água, em que pode haver necessidade de resfriamento muito rápido para a prevenção de qualquer cristalização do gelo. A curva T_g para um sistema

aquoso amorfo estende-se desde -135°C , para a água pura, até a T_g adequada, para o soluto puro.

Em sistemas em equilíbrio, nos quais ocorre cristalização de gelo, o ponto eutético E define a concentração C_E , que representa a concentração crítica do sistema em equilíbrio, no qual ocorre uma transformação de cristalização isolada de gelo para cristalização simultânea de gelo e soluto. Apenas nessa concentração única de fases, o gelo e o soluto podem cocrystalizar, o que acontece a uma taxa constante equivalente à proporção de água para soluto, na fase da solução, em concentração C_E . Em maiores concentrações iniciais de água, a concentração de soluto C_E é atingida pela cristalização do gelo e, em maiores concentrações iniciais de soluto, pela cristalização do soluto.

Os criobiologistas, que se interessam pelas propriedades de estados vítreos aquosos diluídos, têm estudado extensivamente os cristais aquosos [66–68]. É de interesse particular a observação de que, ao se aquecer um sistema vítreo diluído a partir de uma temperatura muito baixa, ocorre transição vítrea em T_g . Ao se prosseguir o aquecimento a uma dada temperatura T_d , ocorre a desvitrificação, com a formação de um pouco de gelo, além de um processo exotérmico e o aumento concomitante da concentração de soluto da fase vítrea residual, alcançando concentração máxima possível $(C_g)_T$, definida pela linha T_g , à temperatura T_d . Esse resultado indica que, na T_d , a mobilidade molecular do soluto aumenta o suficiente para que haja rearranjo molecular espacial, bem como formação de domínios de água pura em forma de gelo. O aumento resultante da concentração na fase de solução residual resulta no decréscimo da mobilidade do soluto, de modo que esse domínio permanece efetivamente em estado vítreo, sendo que a T_g é apropriada ao aumento de sua concentração de soluto. A localização exata da T_d dependerá da escala de tempo experimental. Para escalas de tempo maiores, T_d estará em temperaturas menores. Deve-se notar que, como a cristalização do gelo é exotérmica, a desvitrificação será um processo autoacelerado e, portanto, será de ocorrência rápida.

Considere-se agora o que acontece com um sistema cuja concentração global é mais diluída que sua concentração eutética C_E , sendo resfriado com menos rapidez que a requerida para a formação do estado vítreo homogêneo. Para esse exercício, parte-se do pressuposto de que a nucleação inicial do gelo acontece rapidamente (nem sempre isso ocorre assim na prática), de modo que não há subresfriamento significativo. Ao prosseguir com o resfriamento, atinge-se a T_m^L inicial para a concentração de partida, e inicia-se a formação de gelo. À medida que o resfriamento continua, mais gelo é formado e a composição resultante da fase não congelada alcança a T_m^L . Ao final, chega-se ao ponto E e, se o equilíbrio é mantido, o soluto e o gelo cocrystalizarão na temperatura T_E , em proporção constante (definida pela proporção a C_E), até que todo o sistema se torne sólido. Continuando-se o resfriamento, a temperatura diminuirá novamente, mas sem mudanças adicionais na concentração da fase (decrécimo vertical a partir de E). No entanto, a nucleação e o crescimento dos cristais pode ser difícil. É comum que aconteça supersaturação. Se ela acontecer, o prosseguimento do resfriamento até

que se atinja o ponto E produzirá mais gelo, mas sem a cristalização simultânea do soluto. Portanto, a composição da fase não congelada continuará a aumentar além de C_E , junto à linha T_m^L , de E até T_g^* , ponto no qual a fase não congelada entra em estado vítreo. Essa concentração pode ser denotada como $(C_m^L)_T$. Na T_g^* , $(C_m^L)_T$ é C_g^* . Como já foi observado, se a concentração aumenta ou se a temperatura diminui, haverá aumento da viscosidade da solução. Consequentemente, a mobilidade das moléculas do soluto dentro da fase da solução diminuirá, em particular das moléculas grandes de soluto, e o processo de segregação necessário para a formação de regiões de água pura em forma de gelo levará mais tempo. A continuação da linha T_m^L , a partir de E , como já descrita, define a concentração máxima $(C_m^L)_T$ possível para a fase não congelada a cada temperatura. Se a taxa de cristalização de gelo é restrita (p. ex., por meio de congelamento rápido), a concentração de soluto na fase não congelada será menor que $(C_m^L)_T$, a qualquer temperatura abaixo de T_E . Ao final do resfriamento contínuo, a fase não congelada atingirá temperatura e concentração que coincidem com algum ponto da linha T_g , representando mais a transição vítrea do estado vítreo mais diluído que a do estado vítreo congelado de máxima concentração T_g^* .

2.10.6.3 Interação entre equilíbrio e cinética

A fixação da localização exata da intersecção da linha T_m^L com a linha T_g tem sido um tema consideravelmente controverso. Levine e Slade identificaram, por meio de curvas de DSC, uma temperatura que chamaram de T'_g , a qual identificaram como a temperatura de transição vítrea da matriz de concentração de gelo máxima. Utilizando seus dados, procuraram calcular a concentração nesse ponto (W'_g , a concentração de água ou C'_g , a concentração de soluto) [69], mas seus cálculos iniciais estavam errados [70–72]. Estudos posteriores, que determinaram T_g em sistemas suprimidos de concentração superior ou utilizaram métodos revisados para calcular o conteúdo de gelo, foram necessários para que se estimasse W_g^* ou C_g^* , o conteúdo de água do sistema vítreo e a concentração do sistema vítreo, respectivamente, na Tabela 2.5. Outros pesquisadores, como Roos e Karel [73] e Simatos

e Blond [74], desafiaram a caracterização de Levine e Slade do ponto que chamaram T'_g como representando a transição vítrea. Algumas evidências indicaram que a verdadeira transição vítrea é observada a temperaturas menores. Admitiu-se que a T'_g da terminologia de Levine e Slade era realmente o início do derretimento e foi proposto que o símbolo T'_m identificasse esse ponto. Este capítulo segue essa terminologia, em que T'_m representa o ponto inicialmente chamado de T'_g por Levine e Slade. Como estes propuseram que T'_g era a temperatura significativa a ser utilizada na equação de WLF, estimando-se taxas de reação em sistemas congelados, essa não foi uma disputa trivial. Ela foi resolvida pela percepção de que, na realidade, essa importante temperatura representa o ponto no qual, provavelmente, durante o aquecimento, o processo de derretimento do gelo emerge da redução de cinética de mobilidade de soluto, seguindo a linha T_m^L , que define o sistema metaestável. Portanto, ele deve ser considerado como o ponto final do limite da curva T_d , representando a comutação de obstáculos à mobilidade, na cristalização de gelo, para obstáculos à mobilidade, no derretimento de gelo. A linha T_d representa a temperatura mais alta na qual um obstáculo cinético efetivo à cristalização de gelo em um sistema nucleado, em temperaturas sub- T_m , pode ser encontrado. Combinando-se conceitos, o símbolo T'_m pode ser considerado como representante da “temperatura de mobilidade”, na qual os obstáculos decorrentes da redução de mobilidade de soluto são superados durante o aquecimento. Esse símbolo representa a temperatura na qual a difusão do soluto no sistema de concentração máxima pode ocorrer a uma velocidade razoável. Como será discutido adiante, essa temperatura é um parâmetro importante para a estimativa da estabilidade e das velocidades de reação em sistemas congelados mantidos a temperaturas de subcongelamento acima de T'_m . Como T'_m representa claramente o ponto em que a mobilidade do soluto torna-se suficiente para que sejam observadas mudanças mensuráveis, trata-se de uma temperatura de referência apropriada para ser utilizada na equação de WLF, a fim de se calcular o aumento de mobilidade (e suas consequências). Na equação de WLF, parte-se do pressuposto de que a temperatura de referência representa um limiar de mobilidade repetível para diversos sistemas. Utilizando-se a T'_m para repre-

TABELA 2.5 Estimativas de C_g^* para carboidratos selecionados

Carboidrato	C_g^* (%massa)		T'_m (K)
	Levine e Slade	Outros pesquisadores	
Glicerol	54	80	208
Ribose	67	81	226
Glicose	70,9	80	230
Frutose	51	83	231
Galactose	56	83	232
Sacarose	64	81	241
Maltose	80	81	244
Maltotriose		81	250

Fonte: Slade, L. e H. Levine (1995). Em *Food Preservation by Moisture Control* (G.V. Barbosa-Canovas e J. Welti-Chanos, Eds.), Technomic Press: Lancaster, PA, pp. 33–132.

sentar a temperatura na qual o sistema tem sua mobilidade de referência, utiliza-se o início da difusão de soluto suficiente para possibilitar o derretimento do gelo como critério. Isso fornece suporte à proposição de Levine e Slade de que a T'_m era a temperatura apropriada para ser utilizada na equação de WLF, como previsão da estabilidade de produtos congelados. Observe que a concentração do sistema-limite não congelado a T'_m será muito próxima de C_g^* , já que, até que a mobilidade de soluto seja suficiente para permitir o derretimento do gelo e a diluição da matriz não congelada, não haverá mudança na concentração da matriz não congelada. Deve-se lembrar que essa discussão refere-se a sistemas-limite metaestáveis ideais. Na realidade, as temperaturas e as concentrações serão determinadas em uma faixa em torno de T'_m e C_g^* . O termo T_g^* é utilizado neste capítulo para representar a temperatura de transição vítrea do sistema vítreo de concentração máxima por congelamento, em detrimento do termo T'_g , para que sejam evitadas confusões desnecessárias decorrentes das diversas definições designadas à T'_g na literatura.

2.10.6.4 Ampliando o conceito a sistemas alimentícios complexos

Pode-se realizar uma aproximação, com certo mérito, para identificação do soluto dominante do alimento dentro de um sistema, deduzindo-se, então, as propriedades do alimento complexo a partir do diagrama de estado binário para esse soluto. Um exemplo útil é a utilização de um diagrama de estado sacarose-água para prever as propriedades e o comportamento de biscoitos durante cozimento e armazenamento [75]. Se em outras situações mais de um soluto primário estiver presente, deve-se considerar um diagrama de estado para cada soluto. Não se deve esquecer que o diagrama de estado é construído a partir de observações de temperaturas de fase e/ou vítreo e transições relacionadas (como desvitrificação) em função do conteúdo de umidade do sistema. Em sistemas com um único soluto (ou taxa de soluto fixa) que podem formar gelo, T'_m e T_g^* são as mesmas para todas as composições iniciais (no entanto, T_d e T_g são dependentes da composição); a temperatura variável do líquido (T_m^L) pode ser localizada pelo seguimento da mudança na quantidade de gelo (e, conseqüentemente C_m^L , a concentração da fase líquida, em contato com o gelo) a cada temperatura, como já foi abordado. Entretanto, em sistemas binários com conteúdos de água abaixo da matriz de concentração máxima de gelo (incapazes, portanto, de formar gelo), são necessárias determinações separadas de todas as temperaturas de transição para cada conteúdo de umidade. Em baixos conteúdos de umidade, a identificação da T_g costuma ser possível, pois o soluto raramente cristaliza. Contudo, a determinação da linha de saturação T_m^s , geralmente é difícil em decorrência da dificuldade dos solutos de cristalizar em ou para sua concentração de saturação. Em sistemas complexos, em que nenhum soluto dominante (SD) pode ser identificado, como em alimentos complexos desidratados ou semidesidratados, a determinação das curvas T_m^s ainda não é possível. No entanto, como já foi dito, a determinação da T_m^L é uma tarefa relativamente simples e, em consequência disso, é possível que se determinem diagramas de estado para alimentos con-

gelados complexos. A Figura 2.24 mostra como o diagrama de estado muda para diferentes solutos.

Um comentário final deve ser realizado. Enquanto em temperaturas acima de T_E , T_m^L e T_m^s ocorrem em linhas de fato, T_g e T_d são descritores de barreiras cinéticas, sendo considerados com mais exatidão como bandas. A temperatura exata do evento depende da “frequência característica” ou do tempo de resposta inerente à medida, como se espera de um processo cinético [76,77].

Examinando-se o diagrama de estado para concentrações maiores de soluto que a máxima concentração de gelo, observa-se que a curva T_g aumenta com declividade crescente para T_g^s , a T_g do soluto. Descrevendo de forma diferente, mesmo uma pequena quantidade de água presente no soluto exerce muita influência sobre T_g . Esse fenômeno, conhecido como plastificação, é uma propriedade de todos os sistemas vítreos aos quais são acrescentados uma quantidade de moléculas significativamente menores que as moléculas que definem a transformação vítrea. Uma das explicações bastante aceitas para a plastificação envolve o conceito de volume livre, o espaço entre as moléculas principais do sistema vítreo. Quando o volume livre aumenta, é evidente que o movimento molecular se tornará mais fácil, correspondendo a temperaturas menores de transição vítrea. Pequenas moléculas podem penetrar nos interstícios entre as moléculas maiores, aumentando o volume livre e, conseqüentemente, diminuindo T_g . A água, sendo uma molécula muito pequena, é um plastificante efetivo. Outras moléculas, como etanol e glicerol, também podem promover a plastificação, considerando-se que podem penetrar a fase ocupada pelas moléculas que constituem a fase amorfa. Sendo a molécula pequena não miscível com a molécula maior, em nível molecular, a plastificação como foi descrita aqui, não pode acontecer, embora um efeito lubrificante entre “domínios de microfase” separados ainda possa ocorrer. Essa lubrificação influenciaria nas propriedades mecânicas, mas as propriedades térmicas do sistema ainda refletiriam as T_g dos domínios, sendo esperado que a cinética esteja conforme a T_g dos domínios.

2.10.6.5 Identificando as suposições

A aplicabilidade da aproximação da mobilidade molecular à estabilidade dos alimentos depende de diversos conceitos-chave e suposições. A primeira e mais importante das premissas é que *muitos alimentos (se não a maioria) contêm componentes amorfos, sendo encontrados em estado de equilíbrio metaestável ou de não equilíbrio, um estado cineticamente lábil*. Isso é verificável em muitos alimentos complexos, pois a maioria deles contém sólidos amorfos e regiões líquidas supersaturadas. Os biopolímeros são, pelo menos em parte, tipicamente amorfos.

Muitas moléculas pequenas são de difícil cristalização em solução, existindo, assim, em estado amorfo, quando saturadas em excesso. O estado amorfo pode ser cineticamente limitado e, portanto, metaestável, podendo, também, mudar aos poucos com o tempo, transformando-se em estado de não equilíbrio. Essencialmente, a linha-limite mais baixa (T_g) de um diagrama de estado define as condições-limite para a fase

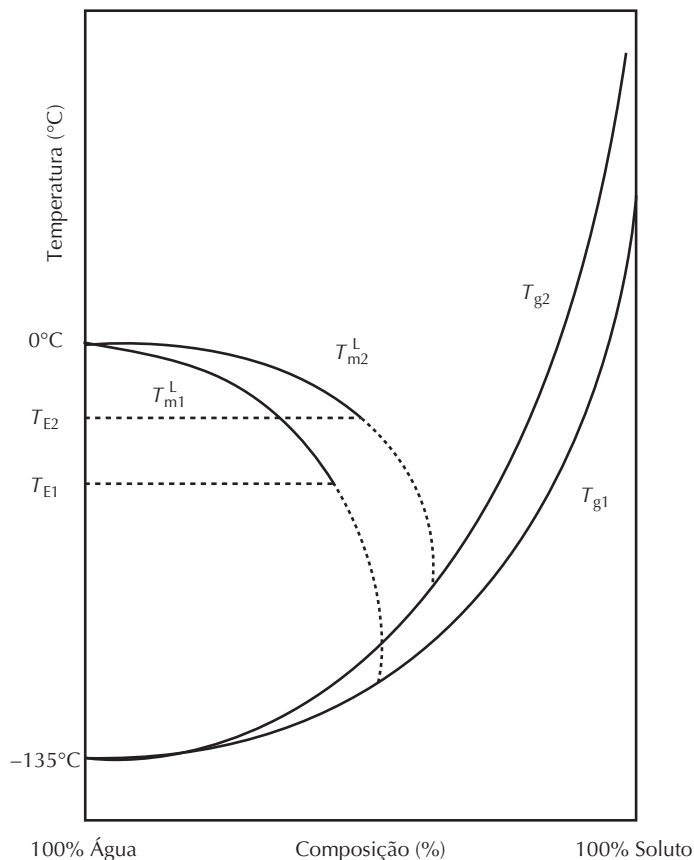


FIGURA 2.24 Diagrama de estado para sistemas binários mostrando a influência do tipo de soluto sobre posição de T_m^L e T_g . O extremo esquerdo de T_g é fixado na temperatura de vitrificação da água pura (-135°C). Aplicam-se aqui as considerações citadas na Figura 2.23.

amorfa metaestável, sendo que a região de $C > C_E$, acima de T_g e abaixo de T_m^S , representa um estado amorfo de não equilíbrio, sendo que a condição-limite superior dessa condição é definida pela linha de solubilidade de saturação (T_m^S), acima da qual tem-se uma solução simples. Observa-se que a região de T_m^L para a esquerda do ponto E ($C < C_E$) (Figura 2.23) define, da mesma forma, o limite superior do estado amorfo de não equilíbrio para composições em que não há gelo em decorrência do resfriamento rápido ou de outras restrições. Como é mais difícil de se prevenir a cristalização do gelo que a cristalização de solutos em alimentos, o estado amorfo para composições à esquerda do ponto E não é atingido com rapidez, com exceção de (1) região de subresfriamento inicial anterior à nucleação inicial de gelo e (2) região com C^L menor, porém próxima de C_m^L , como definido por líquidos que representam uma fase não congelada que pode ser chamada de matriz de concentração não-máxima por congelamento. Entre os principais objetivos de cientistas e tecnólogos de alimentos estão a maximização do número de atributos desejáveis dos alimentos que dependam de estados de equilíbrio metaestáveis e o desenvolvimento de condições que forneçam estabilidade aceitável para os atributos desejáveis que dependem da manutenção dos estados de não equilíbrio.

O próximo ponto-chave é a reiteração de que a *velocidade da maioria dos processos físicos, bem como de muitos processos químicos, é controlada pela mobilidade molecular,*

sendo que esses processos necessitam de alguma forma de movimento molecular para ocorrerem. Como já foi discutido, a maioria dos alimentos existe em estados metaestáveis ou de não equilíbrio, portanto, as aproximações cinéticas costumam ser muito relevantes para compreensão, previsão e controle de suas propriedades. A mobilidade molecular fornece uma aproximação cinética apropriada, já que está relacionada casualmente às taxas dos processos limitados pela difusão em alimentos. A utilização da equação de WLF para se estimar a M_m a temperaturas acima da transição vítrea T_g , mas abaixo de T_m^L , foi estabelecida nas últimas décadas como um procedimento-padrão. Os diagramas de estado definem regiões de temperatura e composição que permitem que existam condições metaestáveis ou de não equilíbrio durante períodos de tempo úteis. Em sistemas congelados, uma controvérsia particular chamou a atenção para a possibilidade de que T_g deva ser empregada na equação de WLF. Como já foi observado, enquanto Levine e Slade recomendaram o uso de T_m^L (T_g') em sua terminologia, está claro que isso não leva em conta a diluição da fase não congelada devido ao derretimento a temperaturas mais altas. Além disso, não reconhece que a verdadeira temperatura de transição vítrea da matriz de máxima concentração por congelamento é T_g^* . Como foi sugerido por diversos autores [74,78,79], a utilização de T_g , que é a temperatura de transição vítrea, nessa fase de maior diluição, parece ser mais correta. Porém, considerando-se que os pa-

râmetros da equação de WLF não apresentam valores universais, o uso de qualquer convenção é igualmente eficiente em sistemas reais [79]. Uma vez que o estabelecimento do verdadeiro valor de T_g constitua um desafio importante, é, de fato, muita sorte que, como já foi indicado, o uso de T'_m na equação de WLF forneça precisão suficiente.

2.10.7 Limitações do conceito

Embora a aproximação da Mm seja útil para a previsão de muitos tipos de mudanças físicas, sua utilidade não é universal. Exemplos nos quais a aproximação não é satisfatória incluem reações químicas cujas velocidades são pouco influenciadas pela difusão, efeitos alcançados pela ação de substâncias químicas específicas e situações em que a Mm calculada reflete as propriedades de um componente polimérico, enquanto o processo envolve moléculas menores cuja mobilidade é pouco influenciada pela perda de mobilidade da matriz primária. Além disso, no crescimento de células vegetativas de microrganismos, a mobilidade da água e, conseqüentemente, $(p/p^0)_T$ servem para previsões mais efetivas.

Voltando à discussão sobre cinética de reação, nos últimos 20 anos, houve discussões intensas sobre as equações de WLF e de Arrhenius, de modo a se estabelecer qual das duas fornece a melhor descrição da dependência de temperatura de reações cinéticas em sistemas aquosos de alimentos, em particular em temperaturas entre T_g e T_m^L ou T_m^S . Considere sistemas que podem formar gelo. Nessa região, tomando a abordagem da mobilidade molecular, há dois fatores que se espera que influenciem na mobilidade: temperatura e concentração. Com a diminuição da temperatura, a concentração aumenta. No início, a temperatura é o principal fator a influenciar na mobilidade, mas, quando a temperatura continua a diminuir, a concentração crescente torna-se um fator de mais importância, à medida que o gelo se forma. A Figura 2.25 mostra os efeitos da temperatura e da concentração, separadamente, sobre viscosidade e mobilidade. A combinação dos efei-

tos é mostrada nas Figuras 2.26 e 2.27. Tanto a equação de Arrhenius como a equação de WLF descreverão de maneira apropriada os efeitos da temperatura sobre a cinética apenas se a concentração for constante. O efeito da concentração sobre cinética entra como outro termo da análise. Para reações de primeira ordem, a concentração não influencia na taxa fracional de reação ($t_{1/2}$ é independente da concentração), mas para ordens de reação maiores, a velocidade relativa de reação é dependente da concentração. Para muitas reações em sistemas congelados, a descrição de pseudoprimeira ordem é adequada, o que não garante que o efeito da concentração possa ser ignorado ao se estimar a extensão da reação, em especial na zona concentrada de gelo. Como já foi especificado, evidências empíricas mostram que uma equação da forma WLF pode fornecer estimativas adequadas para velocidade e extensão da reação em função da temperatura e do tempo, utilizando tanto T'_m , T_g^* ou T_g do gelo homogêneo de composição C_T^L (em que T é a temperatura de armazenamento de interesse) como temperatura de referência. Em temperaturas dentro da faixa entre T_g e T_m^L de sistemas congelados, não é surpreendente que a equação de Arrhenius também forneça o ajuste satisfatório dos dados experimentais.

Deve-se observar outro fator, o qual é pouco comentado, a saber, a natureza “equimolal” da fase não congelada em sistemas congelados. A presença de gelo define a osmolalidade da fase não congelada, considerando-se que T_m^L define a concentração. Como a composição (e, em consequência disso, as taxas molares) dos solutos muda em decorrência das reações, ao contrário do caso dos sistemas não congelados, a quantidade de gelo, portanto, as concentrações individuais, serão ajustadas para a manutenção da osmolalidade definida da fase não congelada. Logo, a evolução das concentrações de reagente e produto podem depender da estequiometria da reação de forma diferente em comparação a sistemas não congelados.

Em sistemas com concentração excessiva de T_g^* , nos quais a cristalização do gelo não é possível, acima de T_m^S , no sistema fluido, a cinética de Arrhenius se mantém. Não é

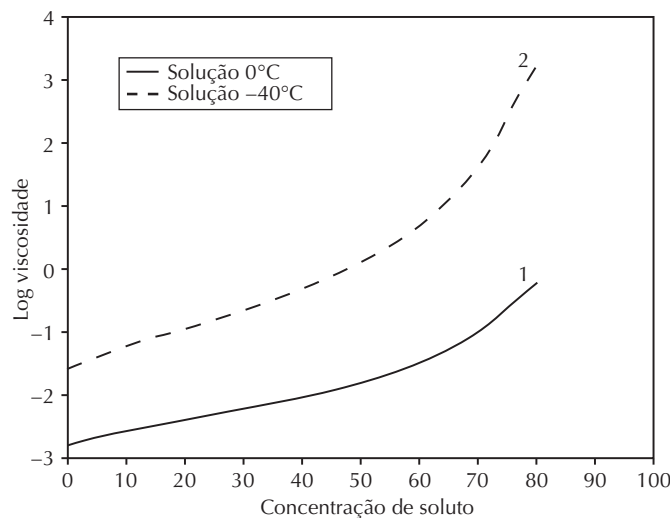


FIGURA 2.25 Comparação do efeito da concentração sobre a viscosidade de soluções aquosas, entre duas temperaturas diferentes: (1) 0° C e (2) -40° C.

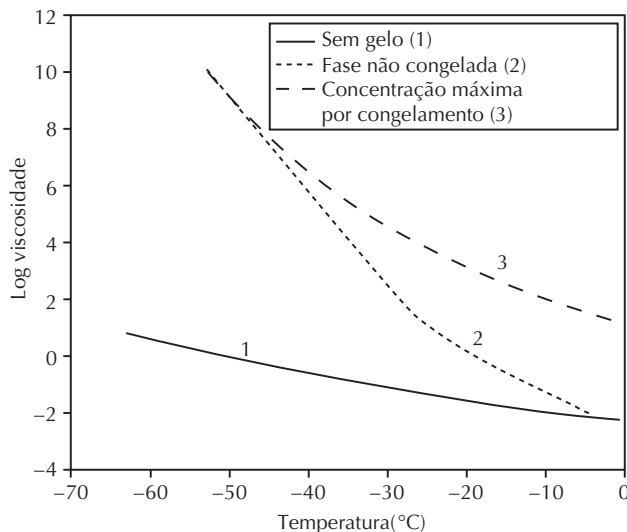


FIGURA 2.26 Viscosidades previstas em sistemas aquosos em função da temperatura: (1) sem formação de gelo no resfriamento; (2) com separação de gelo, de modo que a concentração de fase da solução alcança a linha T_m^L ; (3) a concentração do sistema é C_g^* .

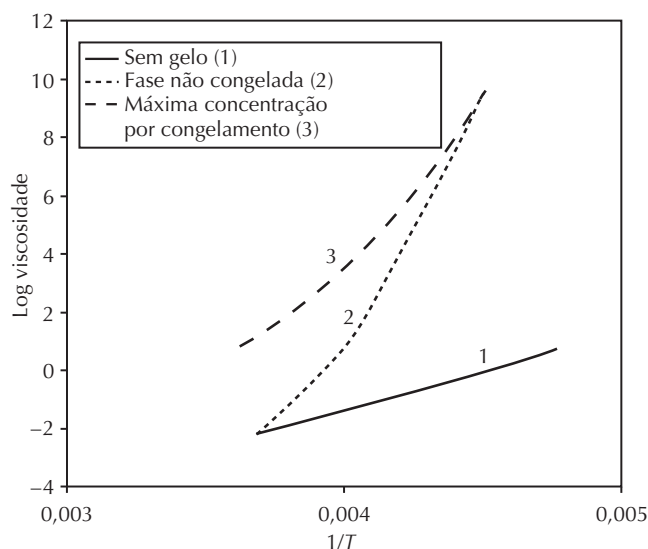


FIGURA 2.27 Gráficos do recíproco da temperatura dos dados da Figura 2.26.

incomum que gráficos de Arrhenius que incorporam temperaturas que atravessam T_m^S exibam mudanças no declive ao redor de T_m^S . Entre T_m^S e T_g^* , o sistema pode ser descrito como elástico. Deve-se observar que há uma rápida diminuição de mobilidade ao se diminuir a temperatura, o que se reflete em uma mudança rápida nas velocidades de reação. Nessa região, na qual se torna difícil a proposição de uma aproximação uniforme, observou-se que as taxas de muitos eventos físicos aproximam-se melhor à equação da forma WLF que da Arrhenius. Para reações químicas, a dependência de mobilidade molecular está sujeita ao tipo de reação, sendo que nem a cinética de WLF nem a de Arrhenius descrevem todas as reações nessa zona. Observe-se que essa discussão não se aplica a alimentos congelados (concentrações menores que C_g^*), pois não leva em conta a influência do aumento de con-

centração da matriz não congelada (à medida que o conteúdo de gelo aumenta) sobre as propriedades da matriz não congelada, ilustradas nas Figuras 2.26 e 2.27.

2.10.8 Aplicações práticas

2.10.8.1 Desenvolvendo o diagrama de estado

Tendo discutido a aplicabilidade do diagrama de estado e a equação de WLF para a compreensão da estabilidade do produto, é apropriado que sejam abordados, com mais detalhes, os desafios envolvidos na determinação do diagrama de estado, bem como na aplicação da equação de WLF. O diagrama de estado é construído por meio de instrumentos, identificando-se temperaturas de “mudança” para sistemas

em diversas concentrações. Técnicas como DSC e DMTA têm sido úteis, mas requerem instrumentos especiais e a interpretação dos dados obtidos. Em cada caso, faz-se um gráfico da resposta instrumental em função da temperatura. Em seguida, as temperaturas nas quais há uma quebra das tendências de resposta são graficadas. Enquanto Levine e Slade demonstraram inicialmente que é possível obter-se estimativas de T'_m para muitos sistemas, determinando-se a curva de derretimento por DSC para soluções congeladas de concentrações globais de 20% de solutos e 80% água, a determinação da concentração da fase de concentração máxima de gelo é um desafio já que, para isso, é necessária a determinação de T'_m . Considerando-se antes de mais nada o problema da determinação da T'_m , é melhor que sejam estudadas soluções iniciais em uma faixa de concentrações, pois, dessa forma, a influência de artefatos instrumentais, bem como a cristalização lenta, podem ser minimizadas. Os ciclos de temperatura também são uma ferramenta útil. Ciclos acima e abaixo de T_g^* e ao redor de T'_m colaboram para aproximar a formação máxima de gelo durante os ciclos de resfriamento. A obtenção de valores consistentes para T'_m para faixas de concentrações de solução inicial permite um nível de confiança relacionado ao valor. A estimativa de C_g^* é muito difícil. A aproximação inicial utilizada por Levine e Slade consistiu em estimar a quantidade de gelo presente no sistema depois da formação do estado vítreo de concentração máxima por congelamento. Infelizmente, seu método inicial de estimativa do conteúdo de gelo apresentou um erro grave. Utilizando-se soluções com uma concentração inicial de 20% de soluto, o conteúdo de gelo foi determinado por meio da área do pico que corresponde ao derretimento do gelo em um termograma de aquecimento. Para isso, Levine e Slade consideraram a entalpia de derretimento do gelo como sendo a do gelo a 0°C. No entanto, tal entalpia depende da temperatura, diminuindo com a redução da temperatura. Consequentemente, esse método subestima a quantidade de gelo e, portanto, o valor de C_g^* obtido é baixo. Outros pesquisadores sugeriram modos de estimar melhor o conteúdo de gelo, considerando a dependência da entalpia de fusão em relação à temperatura. Eles também indicaram que métodos que empregam diversas concentrações de solução inicial são mais robustos, uma vez que, na estimativa de T'_m , as semelhanças entre os resultados obtidos para amostras de diversas concentrações iniciais geram mais confiabilidade à estimativa [72,80–82]. Assim como no caso da T'_m , a aplicação de um protocolo de ciclo de temperaturas antes do aquecimento final de varredura, utilizado para estimar o conteúdo de gelo, leva a uma melhor aproximação do sistema que contém a concentração máxima de gelo e, assim, proporciona uma estimativa melhor de C_g^* . A determinação de T_g em sistemas vítreos com a composição da solução inicial é um desafio muito maior que a determinação da T'_m . Como já foi mencionado, mesmo com um resfriamento muito rápido, é difícil que se evite toda a cristalização do gelo, com exceção de concentrações iniciais próximas de C_g^* . Por isso, é necessário que se calcule a T_g (no lugar de se medir) para uma determinada concentração de soluto. Existem diversas equações para esse fim. A mais antiga e simples é a de Gordon e Taylor, que para o sistema binário é

$$T_g = \frac{w_1 T_{g1} + k w_2 T_{g2}}{w_1 + k w_2} \quad (2.11)$$

onde w_1 é a fração de massa da espécie 1, w_2 é a fração de massa da espécie 2, T_{g1} é a temperatura de transição vítrea para a espécie pura 1, T_{g2} é a temperatura de transição vítrea para a espécie pura 2 e k é uma constante.

O desenvolvimento inicial da abordagem da mobilidade molecular para a estabilidade dos alimentos por Frank, Levine e Slade focou-se principalmente no entendimento do comportamento de sistemas com predominância de carboidratos. Muitos conceitos importantes foram derivados da observação do comportamento dos carboidratos, que é o principal componente dos alimentos. Empiricamente, em sistemas congelados, descobriu-se que T'_m depende da massa molecular do soluto. A T'_m aumenta junto ao aumento da massa molecular. O efeito das características moleculares sobre açúcares de mesma massa molecular é menor. O gráfico de T'_m vs. massa molecular para açúcares, glicosídeos e polióis (Figura 2.28) mostra que a T'_m aumenta em proporção ao aumento da massa molecular do soluto. Esse evento é esperado, pois a mobilidade translacional das moléculas diminui com o aumento do tamanho, de forma que moléculas maiores requerem temperaturas maiores que moléculas menores para se movimentarem. Para massas moleculares acima de 3.000, a T'_m parece tornar-se independente da massa molecular (Figura 2.29). Alguns dados sobre açúcares, coletados por Levine e Slade, são mostrados na Tabela 2.6. Além disso, apresentam-se dados para açúcares desidratados. Deve-se ter muito cuidado ao se coletar esses dados, pois traços de umidade podem diminuir significativamente a T_g por meio de plastificação. Considerando-se uma desidratação aceitável, a T_g dos açúcares desidratados também depende da massa molecular, bem como da natureza do açúcar.

A concentração da matriz com concentração máxima por congelamento, C_g^* , depende, até certo ponto, da massa molecular, mas sua medida exata pode ser um problema desafiador, como já foi discutido. Considerando-se que a mobilidade molecular é um fator importante, diferenças em T'_m , e, mais particularmente, em C_g^* , para moléculas de mesma massa molecular podem causar efeitos muito diferentes à estabilidade do produto. Isso pode explicar, em parte, as diferenças da eficácia entre glicose e frutose e entre lactose e trealose como açúcares estabilizadores.

2.10.8.2 Processo de congelamento, alimentos congelados

A conservação dos alimentos por meio de congelamento é um dos melhores métodos de conservação a longo prazo. Um fator fundamental que proporciona a estabilidade desse método é que as taxas de reação tendem a diminuir com a diminuição da temperatura. No entanto, a formação de gelo nos alimentos é, de certa forma, uma faca de dois gumes. Há duas consequências adversas importantes na formação de gelo para as células do alimento e os géis alimentícios. Em primeiro lugar, os componentes não aquosos são concentrados na fase líquida (não congelada) e, em segundo lugar,

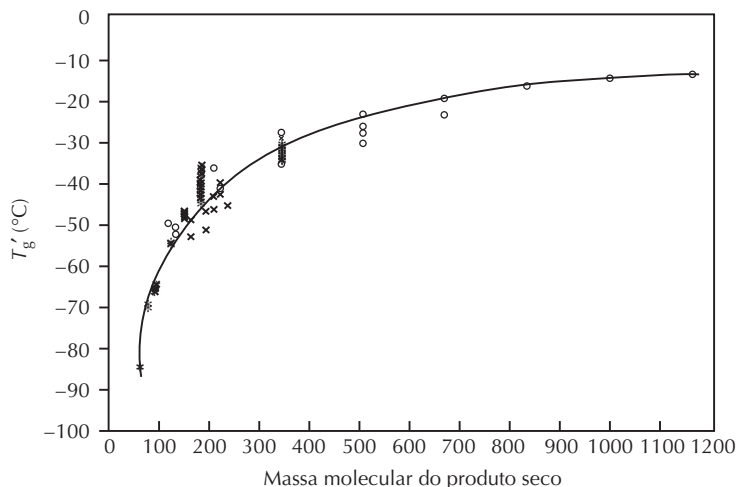


FIGURA 2.28 Resultados típicos de Levine e Slade para T_g' (T_m') em função da massa molecular do soluto: de uma solução de açúcar (o), glicosídeo (x), poliol (*).

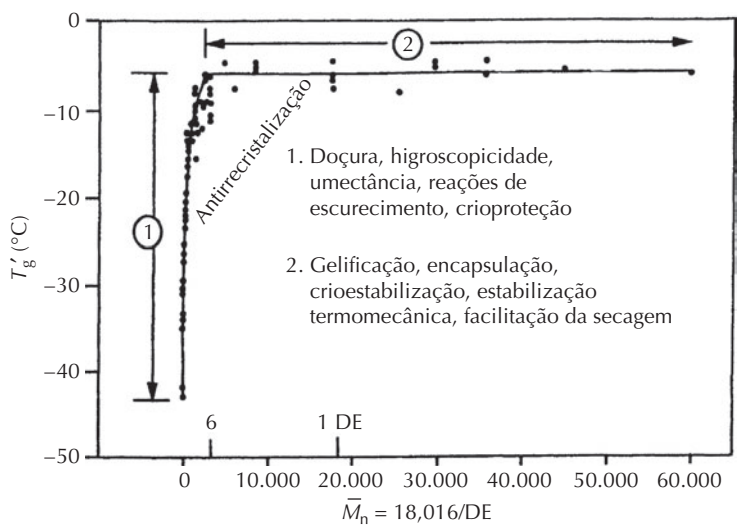


FIGURA 2.29 Resultados típicos de Levine e Slade sobre a influência do equivalente de dextrose (DE) e massa molecular média de produtos comerciais de hidrólise de amido sobre a T_g' .

ocorre um aumento de volume de cerca de 9% associado à transformação da água líquida em gelo.

Durante o congelamento, a água transforma-se em gelo de alto grau de pureza. Conseqüentemente, os solutos na fase aquosa coexistem com uma quantidade decrescente de água como solvente. Esse processo é semelhante à desidratação, exceto pelo fato de que a temperatura é menor e de que a água separada permanece no local (mas em forma de gelo), não sendo fisicamente removida do ambiente local. A composição da fase não congelada, a qualquer temperatura, é próxima à definida pelos diagramas de estado apropriados.

À medida que o processo de congelamento prossegue, propriedades da fase não congelada, como pH, acidez titulável e força iônica, mudam significativamente. Se os solutos cristalizam, as taxas de soluto mudarão, fazendo com que o pH possa mudar de maneira significativa. Além disso,

gases dissolvidos também podem ser expelidos. Em concentrações maiores, induzidas pelo congelamento, as macromoléculas forçadas a se aproximarem podem agregar-se. Como já foi mencionado, embora o efeito da temperatura seja de redução das taxas de reação, as taxas de reação globais, em especial a temperaturas superiores de subcongelamento, podem aumentar ou diminuir menos que o esperado, como resultado das concentrações maiores dos reagentes, provenientes da concentração por congelamento. Isso pode ocorrer, embora o total de reagente de uma amostra particular permaneça o mesmo da quantidade inicial. Sob essas condições complexas, não é surpreendente que as taxas de reação a temperaturas de subcongelamento nem sempre sigam as cinéticas de Arrhenius ou de WLF. A temperaturas inferiores de subcongelamento, as concentrações maiores, resultantes da concentração por congelamento, bem como a

TABELA 2.6 Valores de transição vítrea e propriedades associadas de carboidratos puros

Carboidrato	Massa molecular	Propriedades do açúcar desidratado			Propriedades do açúcar em solução aquosa T'_m (K)
		T_m (K)	T_g (K)	T_m/T_g	
Glicerol	92,1	291	180	1,62	208
Xilose	150,1	426	282–287	1,49	225
Ribose	150,1	360	260–263	137	226
Glicose	180,2	431	304–312	1,39	230
Frutose	180,2	397	280–290	1,39	231
Galactose	180,2	443	303–305	1,45	232
Sorbitol	182,2	384	269–271	1,45	229
Sacarose	342,3	465	325–343	1,40	241
Maltose	342,3	402	316–368	1,19	243
Trealose	342,3	476	350–352	1,35	243
Lactose	342,3	487	374	1,37	245
Maltotriose	504,5	407	349	1,17	250
Maltopentose	828,9		398–438		257
Malto-hexose	990,9		407–448		259
Malto-heptose	1.153,0		412		260

Fonte: Levine, H. e L. Slade (1988) Em *Food Structure—Its Creation and Evaluation* (J.M.V. Blanshard e J.R. Mitchell, Eds.), Butterworths: London, pp. 149–180 e Slade, L. e H. Levine (1995) *Adv. Food Nutr. Res.* **38**: 103–269.

proximidade de T'_m , costumam levar a taxas de reação reduzidas e aumento da validade.

É interessante que se aborde detalhadamente o processo de congelamento em alimentos congelados, com a ajuda de diagramas de estado apropriados. Deve-se considerar, em

primeiro lugar, o congelamento lento de um alimento complexo. O congelamento lento leva à conformidade máxima de equilíbrio sólido-líquido e à aproximação da concentração máxima por congelamento. Iniciando-se no ponto A da Figura 2.30, a remoção do calor sensível do produto leva-se

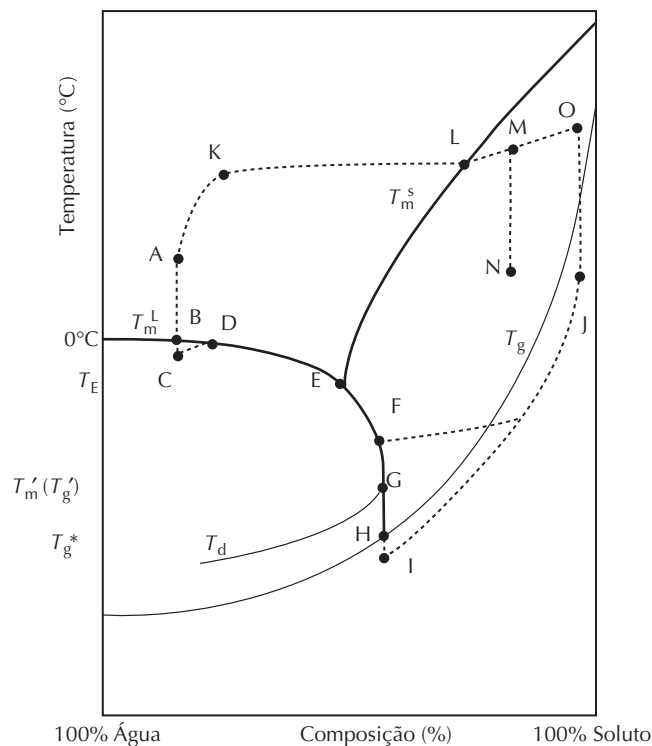


FIGURA 2.30 Diagrama de estado de um sistema binário mostrando vias possíveis para o congelamento (seqüência instável ABCDEF; seqüência estável ABCDEFGHI), secagem (seqüência instável AKLMN; seqüência estável AKLMO) e liofilização (seqüência instável ABCDEFJ; seqüência estável ABCDEFGHIJ). A escala da temperatura é esquemática facilitando a entrada dos dados.

ao ponto B, que é o ponto de equilíbrio de início do congelamento da amostra. Como a nucleação é um processo difícil, remoções posteriores de calor resultam em super-resfriamento em vez de congelamento, até que o ponto C é atingido, iniciando-se a nucleação. O crescimento dos cristais é seguido imediatamente pela nucleação, liberando o calor latente de cristalização e fazendo com que a temperatura atinja o ponto D. A remoção posterior de calor gera a formação adicional de gelo; a concentração da fase não congelada movimenta-se ao longo da linha de T_m^L , de D para E, na T_E . Em um alimento complexo, T_E representa $T_{E\max}$ para o soluto com o maior ponto eutético (menor solubilidade). Solutos em alimentos complexos congelados raramente cristalizam em seus pontos eutéticos ou abaixo deles. Uma exceção ocasional é a cristalização da lactose em algumas sobremesas congeladas, que leva ao defeito de textura conhecido como “arenosidade”.

Considerando-se que os eutéticos não são formados, a formação adicional de gelo conduz à supersaturação meta-estável de muitos solutos, sendo que a composição segue a linha a partir ponto E até o ponto F, que é a temperatura recomendada para armazenamento. Para a maioria dos alimentos, F está acima de T_m' , indicando que suas mobilidades moleculares ainda serão altas e que as propriedades químicas e físicas limitadas pela difusão ainda serão muito dependentes da temperatura. Empiricamente, descobriu-se que as taxas de mudança são proporcionais à diferença de temperatura ($T - T_m'$), em um intervalo de 20° C ao redor de T_m' .

Se o resfriamento for continuado, além do ponto F, haverá formação adicional de gelo e concentração por congelamento, até que a concentração alcance a de T_m' (ponto G). Resfriamentos posteriores não levarão à formação adicional de gelo e, em temperatura T_g^* (ponto H), a fase não congelada supersaturada será convertida em estado vítreo, estando embebida em cristais de gelo formados durante o processo de resfriamento. A T_g^* é uma T_g quase invariável, sendo a da matriz não congelada de máxima concentração por congelamento. A T_g^* depende das taxas de soluto da amostra, mas não das concentrações iniciais de soluto. A concentração máxima por congelamento raramente ocorre no ciclo de res-

friamento inicial. Desse modo, a T_m' observada não depende apenas das taxas de soluto, mas também, em certa medida, do conteúdo de água inicial da amostra, pois o alcance da concentração máxima por congelamento é influenciada por diversos fatores cinéticos. Ciclos de temperatura apropriados ao redor de T_m' costumam conduzir à melhor aproximação de C_g^* e, em consequência disso, a T_m' medida é menor.

É importante a observação de que a não cristalização do gelo não se trata de uma consequência da redução da mobilidade da água. As moléculas de água ainda são móveis e são trocadas livremente. O processo limitante é a falha das moléculas de soluto em se trasladar e rotar na escala de tempo aplicável, prevenindo a adição posterior de moléculas de água ao gelo já existente. Nessa situação (congelamento rápido) as moléculas de água ainda podem entrar e sair do gelo.

Como a T_m' representa a temperatura abaixo da qual a remoção de gelo da matriz (no resfriamento) ou a dissolução do gelo dentro da matriz (no aquecimento) torna-se inicialmente possível, na escala das medições realizadas, ela define a temperatura na qual M_m é reduzida de maneira significativa durante o resfriamento, o que faz com que as propriedades limitadas pela difusão exibam uma excelente estabilidade. Alguns valores de T_m' para diversos materiais são mostrados nas Tabelas 2.6 a 2.9. A nova questão é sobre o que acontece quando são empregadas taxas maiores de resfriamento. A Figura 2.31 ilustra o efeito de taxas de resfriamentos maiores. A princípio, seria esperado que a fase não congelada localizasse T_m^L depois de algum subresfriamento. Conforme a temperatura diminui e a concentração da fase não congelada aumenta, a M_m dos solutos diminui. O tempo necessário para a geração de agrupamentos de água pura, rejeitando ao mesmo tempo, o soluto do volume a ser ocupado pela água, pode exceder o tempo disponível. Em consequência disso, forma-se menos gelo que o necessário pela linha T^L e a concentração da fase líquida não congelada, C_T^L , na temperatura T , é menor que a prevista pela linha T_m^L . Como o calor latente que deveria estar associado à formação desse gelo “perdido” não é liberado, com a remoção contínua de calor a taxa de redução da temperatura aumenta, reduzindo então a M_m e resultando em desvios cada vez maiores de C_T^L .

TABELA 2.7 T_m' e DE para produtos comerciais selecionados de hidrólise de amido (PHA)

PHA	Produtor	Fonte	DE	T_m' (K)
Staley 300	Staley ^a	Milho	35	249
Maltrin M250	GPC ^b	Milho (rico em amido)	25	255
Maltrin M150	GPC	Milho (rico em amido)	15	259
Paselli SA-10	Avebe ^c	Batata	10	263
Star Dri 5	Staley	Milho (rico em amido)	5	265
Crystal gum	National ^d	Tapioca	5	267
Stadex 9	Staley	Milho (rico em amido)	3,4	268
AB 7436	Anheuser-Busch	Milho ceroso	0,5	269

^a Produzido por A.E. Staley.

^b Grain Processing Corporation.

^c Avebe America.

^d National Starch Corporation.

Fonte: Levine, H. e L. Slade (1988) Em *Food Structure—Its Creation and Evaluation* (J.M.V. Blanshard e J.R. Mitchell, Eds.), Butterworths: London, pp. 149–180.

TABELA 2.8 T'_m para proteínas selecionadas

Proteína	T'_m (K)
Albumina sérica bovina	260
Lisozima	256
α -lactoalbumina	262
α -caseína	260
Caseinato de sódio	263
Gelatina bloom 300	263
Gelatina bloom 250	262
Gelatina bloom 175	261
Gelatina bloom 50	260

Fonte: Levine, H. e L. Slade (1990) Em *Thermal Analysis of Foods* (V.R. Harwalkar e C.-Y. Ma, Eds.), Elsevier Applied Science: London, pp. 221–305.

TABELA 2.9 Estimativa de T'_m para alimentos selecionados

Alimento	T'_m (K)		Alimento	T'_m (K)	
	Levine e Slade ^a	Outros pesquisadores		Levine e Slade ^a	Outros pesquisadores
<i>Lácteos</i>			<i>Vegetal</i>		
Queijo <i>cottage</i>	252		Brócolis	246	252 ^d
Queijo <i>cheddar</i>	249		Couve-flor	248	253 ^d
Nata	250		Batata	257–262	
Sorvete	232–246		Espinafre	256	239 ^d
Leite desnatado	246	241 ^b	Milho doce	259–265	
Leite integral	251		Tomate	232	
<i>Frutas frescas</i>			<i>Carne e peixe</i>		
Maçã	231	245 ^d	Músculo bovino		261 ^c , 260 ^d
Banana	238		Músculo suíno		257 ^d
Mirtilo	232		Frango		251 ^d
Pêssego	237	244 ^d	Peru		253 ^d
Morango	232–239		Músculo de bacalhau		262 ^c , 256 ^d
<i>Sucos de frutas</i>			Bagre		256 ^d
Maçã	233	243 ^d	Pescada		261 ^d
Limão	230		Salmão		256 ^d
Laranja	236	243 ^d	Camarão		241 ^d
Pera	233				
Abacaxi	232	241 ^d			

^a Levine, H. e L. Slade (1990) Em *Thermal Analysis of Foods* (V.R. Harwalkar e C.Y.Ma,Eds.),Elsevier Applied Science: London, pp. 221–305 e Levine, H. e L. Slade (1989) *Comments Agric. Food Chem.* 1: 315–396.

^b Jouppila, K. e Y.H. Roos (1994) *J. Dairy Sci.* 77: 2907-2915.

^c Brake, N. e O. Fennema, não publicado.

^d Hsu, J. e D. Reid, não publicado.

em comparação ao que foi definido pela linha T'_m . O desvio de C_T^L das previsões da linha de T'_m aumenta com a taxa de resfriamento e com a redução da temperatura.

2.10.8.3 Processo de secagem

O diagrama de estado da Figura 2.30 também pode ser utilizado para ilustrar outros que envolvem processos de mudanças no estado ou na quantidade de água no sistema. Utilizando-o, as diferenças entre a secagem por ar e a liofilização a uma vácuo podem ser melhor observadas.

Em primeiro lugar, deve-se considerar a desidratação por ar a uma temperatura constante. Partindo do ponto A, a secagem por ar aumentará a temperatura e removerá a umidade, até que o produto atinja as propriedades descritas pelo ponto K (a temperatura de bulbo úmido do ar). A remoção posterior da umidade faz com que o produto chegue até o ponto L, passando por ele, na curva de solubilidade. Nesse ponto, alcança-se a saturação em DS. A cristalização não acontece imediatamente, sendo que o produto torna-se supersaturado em DS e em qualquer outro soluto com temperatura de saturação acima de DS. Todas essas soluções supersatura-

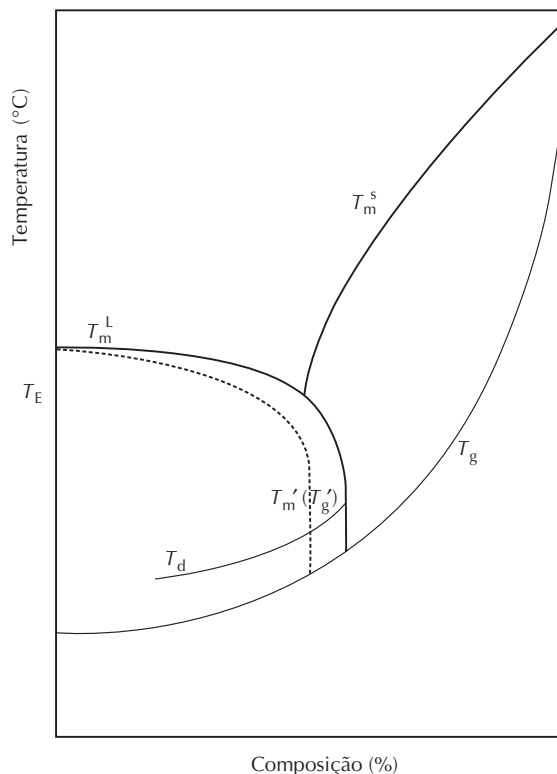


FIGURA 2.31 Efeito do resfriamento rápido sobre a composição e o estado da fase não congelada.

das podem ser considerada como fases líquidas amorfas. Continuando-se a remoção de água, o sistema pode passar pelo ponto M, que corresponde à temperatura de bulbo seco e, após, pelo ponto O. O resfriamento do sistema no ponto M leva ao ponto N, que está acima da curva T_g , o resfriamento a partir do ponto O leva ao ponto J, que está abaixo da curva T_g . Isso indica que a secagem deve continuar além da temperatura de bulbo seco (M), pois se a secagem for interrompida em M, o produto a N, que se encontra acima de T_g , apresentará Mm relativamente alta e, em consequência disso, pouca estabilidade às propriedades limitadas pela difusão, as quais são muito dependentes da temperatura (cinética WLF). A interrupção da secagem no ponto O faz com que o produto no ponto J fique abaixo de T_g , com uma Mm muito reduzida, propriedades limitadas pela difusão estáveis e pouca dependência de temperatura.

As vias de liofilização a vácuo também são ilustradas na figura. A primeira fase de liofilização coincide de forma bastante próxima com a do congelamento lento, ABCDEF. A temperatura do produto não deve baixar do ponto F durante a sublimação (liofilização primária), sendo que o caminho FJ será típico. As fases iniciais de FJ envolvem sublimação de gelo. Em algum ponto, a uma concentração próxima de C_g^* , a sublimação de gelo estará completa, culminando em uma fase de dessecção. Como a amostra está sobre a curva T_g , é possível que haja colapso, em particular em produtos que inicialmente eram fluidos, existindo, portanto, possibilidade de que isso aconteça em tecidos alimentares. O colapso é possível uma vez que não há gelo para o fornecimento de apoio

estrutural, além disso, o produto T está sobre T_g e apresenta Mm suficiente para impedir a rigidez. O colapso resulta em produtos com menos qualidade. Há redução de porosidade, resultando em lenta secagem e características mais pobres de re-hidratação. Para que se previna o colapso, deve-se seguir o caminho ABCDEFGHIJ, em que a porção HI representa o resfriamento abaixo de T_g^* .

Quando ocorre a cristalização máxima de gelo (concentração máxima por congelamento), a temperatura crítica para o colapso da estrutura, T_c , que é a temperatura mais alta em que o colapso ainda pode ser evitado durante a fase primária da liofilização, estará em um ponto entre T_m' e T_g^* . A temperatura exata dependerá da taxa de secagem e, por isso, do período de tempo durante o qual o colapso é possível. Quanto mais lento o processo, menor será a T_c . Se a cristalização de gelo não for máxima, a temperatura mais alta na qual o colapso pode ser evitado será próxima de T_d .

Se a composição do produto que será liofilizado pode ser ajustada, é desejável que se aumente a T_m' tanto quanto possível. Isso pode ser realizado pela adição de polímeros de alto peso molecular, o que permite a utilização de temperaturas de liofilização mais altas. Aumentando-se a C_g^* (que aumenta a quantidade de gelo formado) também se aumenta a rigidez estrutural, minimizando-se a extensão potencial do colapso.

2.11 ISOTERMAS DE SORÇÃO

A abordagem sob o ponto de vista da mobilidade molecular não é a única abordagem que explica a estabilidade dos ali-

mentos em função do conteúdo de água. Em virtude da capacidade de determinação do conteúdo de água e da RVP, é interessante que se considere a informação que pode ser deduzida ao se examinar a dependência aparente do conteúdo de água com a RVP. Esse enfoque é anterior à abordagem sob o ponto de vista da mobilidade molecular.

2.11.1 Definições e zonas

A curva do conteúdo de água de um alimento (expressa como massa de água por unidade de massa de matéria seca) *versus* $(p/p^0)_T$ é conhecida como isoterma de sorção de umidade (ISU). As informações derivadas das ISUs são úteis (1) para estudar e controlar processos de concentração e desidratação, pois a facilidade ou dificuldade para a remoção de

água estão relacionadas à RVP; (2) para formular misturas de alimentos de modo a evitar a transferência de umidade entre os ingredientes; (3) para determinar as propriedades de barreira de umidade necessárias ao material de embalagem necessário à proteção de um sistema em particular, (4) para determinar o conteúdo de umidade que reduzirá o crescimento de microrganismos de interesse em um sistema e, (5) para prever a estabilidade física e química dos alimentos em função de mudanças em seu conteúdo de água.

A Figura 2.32 mostra a ISU para um alimento com alto conteúdo de umidade que mostra toda a faixa de umidade. O tipo de gráfico não é muito útil, pois os dados de maior interesse (os da região de baixa umidade) não são suficientemente detalhados. A omissão da região de alta umidade com a expansão da região de baixa umidade, que é uma prática comum, fornece ISUs que são muito mais úteis (Figura 2.33).

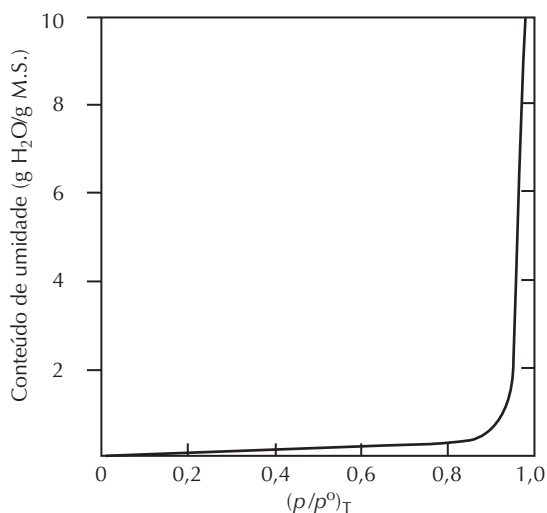


FIGURA 2.32 Isoterma de sorção que inclui uma faixa ampla de conteúdos de umidade.

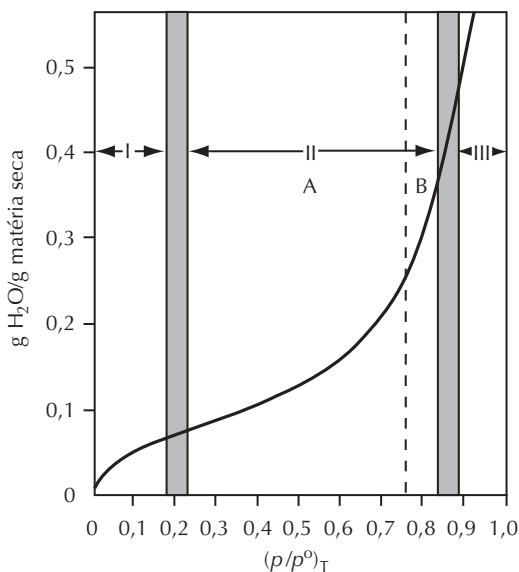


FIGURA 2.33 Isoterma de sorção de umidade generalizada para segmento de baixa umidade de um alimento (20° C).

As isotermas de sorção têm diversos formatos, muitos dos quais permitem pelo menos uma interpretação qualitativa. Como exemplo disso, a Figura 2.34 mostra as isotermas de sorção associadas a diversas substâncias que possuem ISUs de formatos muito diferentes. Tratam-se de isotermas de adsorção (ou ressorção), preparadas pela adição de água a amostras previamente desidratadas. As isotermas de dessorção também são comuns. A correspondência entre isotermas de adsorção e dessorção será discutida na Seção 2.11.3. As isotermas com forma sigmoide são características da maioria dos alimentos. Entretanto, alimentos que contêm grandes quantidades de açúcar e outras moléculas solúveis pequenas (como frutas, produtos de confeitaria e extrato de café), que, além disso, não são ricos em materiais poliméricos hidrofílicos pouco solúveis, podem exibir isotermas do tipo J, mostrado como curva 1 na Figura 2.34. As formas e as posições das isotermas são determinadas por diversos fatores, como composição da amostra (incluindo distribuição de massa molecular e características hidrofílicas/hidrofóbicas dos solutos), estrutura física da amostra (i.e., se é cristalina ou amorfa), pré-tratamentos da amostra, temperatura e metodologia.

Muitas tentativas foram realizadas com o intuito de modelar ISUs, mas tem sido difícil obter sucesso na modelação adequada da faixa inteira com dados precisos de ISU. O modelo mais antigo e mais conhecido é o modelo de Brunauer, Emmett e Teller (BET), derivado para a sorção de gás não polar [83], mas aplicado a sistemas aquosos com algumas redefinições de termos-chave. Um dos melhores modelos é o desenvolvido por Guggenheim [84], Anderson [85] e De Boer [86], conhecido como modelo GAB. Em sistemas alimentares, pode-se pensar que ambos os modelos, apesar de úteis, fornecem apenas ajustes empíricos. Os modelos cita-

dos têm parâmetros que descrevem sistemas muito simples. Para a interpretação das isotermas de sorção costuma ser apropriada sua divisão conceitual em zonas, como indicado na Figura 2.33. À medida que se adiciona água (adsorção), a composição da amostra movimenta-se gradualmente da zona I (seca) para a zona III (de alta umidade) e as propriedades da água associadas a cada zona diferem de modo significativo. Essas propriedades características são descritas adiante, sendo resumidas na Tabela 2.10. Deve-se considerar que, mesmo dentro de uma das zonas, a água é intercambiada livremente e, portanto, as propriedades médias da água dentro de uma zona dependem da extensão exata da quantidade de sítios potenciais dentro da zona. As propriedades da água dentro de zonas diferentes, no entanto, são distintas o suficiente, sendo que, no início de uma zona com maior quantidade de água, mesmo com troca facilitada de água entre as zonas, pode-se observar propriedades médias diferentes entre elas.

A água presente em quantidades abaixo do limite da zona I da isoterma pode ser considerada mais fortemente ligada e menos móvel. É provável que essa água esteja associada a sítios por meio de interações água-íon ou água-dipolo. Ela permanece não congelada mesmo a uma temperatura de -40°C , não age como solvente e não está presente em quantidades suficientes ao ponto de exercer efeitos plastificantes sobre o sólido. Ela se comporta simplesmente como uma parte do sólido.

O limite de umidade superior da zona I (limite entre as zonas I e II) corresponde ao valor de umidade de “monocamada BET” do alimento. Dessa forma, esse valor pode ser considerado como a quantidade de água necessária para a formação de uma monocamada de água sobre os sítios de fácil acesso, grupos altamente polares da matéria seca. No

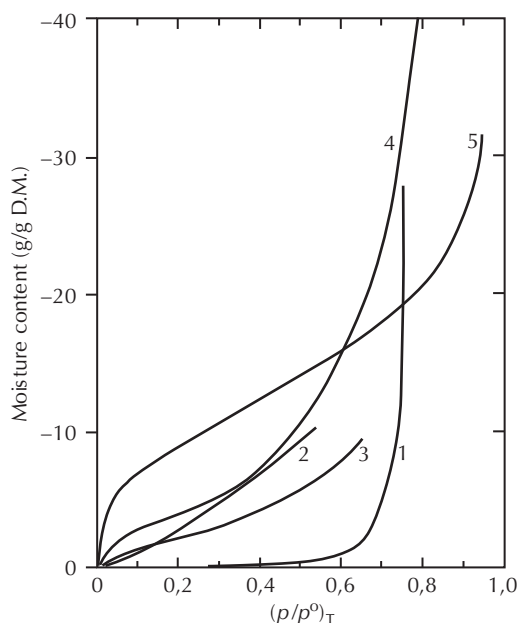


FIGURA 2.34 Isoterma de adsorção para vários alimentos e substâncias biológicas. A temperatura é de 20°C , exceto para o número 1, em que é de 40°C . (1) produto de confeitaria (o principal componente é a sacarose em pó), (2) extrato de chicória liofilizada, (3) café colombiano tostado, (4) pó de extrato de pâncreas suíno e (5) amido de arroz nativo. (De: van den Berg, C. e S. Bruin (1981) *Em Water Activity: Influences on Food Quality* (L.B. Rockland e G.F. Stewart, Eds.). Academic Press: New York, pp. 1–61.)

caso do amido, trata-se de uma molécula de HOH por unidade de glicose anidra. A água da zona I tem a quantidade que corresponde a uma pequena fração do total da água presente em um alimento com alta umidade. Essa quantidade de água é obviamente menor que os “sítios de sorção” potenciais, representados por todos os grupos polares ou outros grupos ativos das moléculas de soluto. Quantidades de água adicionais, que não excedam o limite da zona II, podem ser consideradas como ocupantes dos sítios adicionais disponíveis da primeira camada. A segunda camada de água, a qual é provável que se associe a moléculas de água vizinhas da primeira camada e a moléculas de soluto, principalmente por pontes de hidrogênio, é um pouco menos móvel que a água maciça, sendo que sua maior parte permanece sem congelar a -40°C . A umidade adicionada à proximidade do limite de baixa umidade da zona II exerce efeitos plastificantes significativos sobre solutos, diminuindo suas temperaturas de transição vítrea e causando inchaço incipiente da matriz sólida. Aumenta-se o intercâmbio entre todas as moléculas de água, mas tornam-se evidentes dois grupos nos experimentos de espectroscopia de relaxamento. Esse fato, em conjunto com o início do processo de solubilidade, leva ao aumento da taxa da maioria das reações devido ao aumento da interação e da acessibilidade. A quantidade de água que ocupa totalmente as zonas I e II constitui menos de 5% da água presente em alimentos de alta umidade. Deve-se observar que as zonas individuais são definidas apenas para conteúdos de água abaixo dos limites de zona superiores, já que, nessas concentrações de água, novos tipos de água começam a surgir. Isso inicia processos de troca que permitem (em altos conteúdos de água), intercâmbios de moléculas de água, mesmo sendo de tipos diferentes. Esse processo também é consequência da influência do inchaço e do conteúdo de água maiores do ambiente com maior conteúdo de água sobre o acesso a sítios de interação potenciais, especialmente restritos (ou de outra forma) nos estágios iniciais da sorção a partir do material desidratado por completo. Embora agora sejam intercambiáveis, as frações identificáveis de água podem ser consideradas como portadoras das características das zonas I e II. A quantificação de cada zona é desafiadora, sendo que as melhores estimativas talvez sejam as obtidas por meio de espectroscopia de relaxamento. Lillford e colaboradores [87] mostraram que a espectroscopia de relaxamento em alimentos exibe uma curva de decaimento complexa, a qual pode ser interpretada em termos de populações de moléculas de água e trocas entre as populações. Hills e colaboradores [88–91] ampliaram essa abordagem mais adiante a fim de proporcionar a quantificação e a caracterização das populações de água que mudam em diferentes ambientes, em alimentos e sistemas-modelo, principalmente em sistemas amilolíticos. Schmidt [4] realizou uma discussão detalhada sobre esses estudos. Os resultados mostram uma complexidade maior que dos modelos simples de três zonas, confirmando que esse modelo fornece uma estrutura simples, sobre a qual pode-se obter explicações.

À medida que o conteúdo de água aumenta nas proximidades da junção das zonas II e III, a quantidade de água é suficiente para completar uma monocamada verdadeira de

hidratação para macromoléculas individuais como proteínas globulares, sendo, ainda, suficiente para diminuir a temperatura de transição vítrea das macromoléculas hidratadas, uma vez que a temperatura da amostra e a T_g são iguais. Uma terceira população detectável aparece separadamente na figura. A adição posterior de água (zona III) causa a transição do estado vítreo-elástico em amostras que contêm regiões vítreas, o que é evidenciado pela grande diminuição de viscosidade decorrente do aumento da mobilidade molecular e das taxas de muitas reações. Somente a partir do conteúdo de água no qual inicia a terceira população, a água adicionada pode congelar. Além disso, a água da zona III está disponível como solvente e para o desenvolvimento de microrganismos. Em conteúdos de água que ultrapassam o limite da zona III, a água adicional comporta-se como água de fase maciça (Tabela 2.10). Sua adição ao sistema não altera as propriedades dos solutos existentes, mas, como antes, todas as moléculas de água são intercambiadas livremente. As zonas podem ser bem definidas como populações de água envolvidas em classes particulares de interação com o soluto. Os estudos de espectroscopia de relaxamento mostram que, conforme o conteúdo de água aumenta, as diversas populações intercambiáveis mudam de tamanho. A fração de água na qual uma nova população começa a surgir nem sempre define o tamanho máximo da população anterior, em um conteúdo mais alto de água total.

Em géis ou sistemas celulares, a água da fase maciça é capturada fisicamente, de modo que o fluxo macroscópico é impedido. No entanto, em todos os demais aspectos essa água possui propriedades similares às da água em soluções salinas diluídas. Isso é razoável, uma vez que uma molécula típica de água, que ocupa a zona III, é “isolada” dos efeitos das moléculas de soluto por várias camadas de moléculas das zonas I e II. A população de água da fase maciça da zona III, tanto capturada como livre, costuma constituir mais de 95% da água total em alimentos de alta umidade, um fato que não está evidente na Figura 2.33.

A importância dos efeitos das diferenças das propriedades da água sobre a estabilidade dos alimentos será discutida em uma seção posterior. Nesse ponto, é suficiente dizer que a fração de água mais móvel de qualquer alimento costuma controlar sua estabilidade.

2.11.2 Dependência de temperatura

Como já mencionado, a RVP é dependente da temperatura. Sendo assim, as ISUs também o são. A Figura 2.35 mostra essa dependência de temperatura utilizando o exemplo de fatias de batata. Em um dado conteúdo de umidade, a $(p/p^0)_T$ do alimento aumenta com o aumento da temperatura, em geral, conforme à equação de Clausius-Clapeyron, embora essa conformidade não indique um estado de equilíbrio verdadeiro.

2.11.3 Histerese

A discussão precedente indicou que as ISUs podem ser obtidas tanto por meio de protocolos de adsorção como de

TABELA 2.10 Níveis de hidratação de proteínas

Propriedade	Aumento do conteúdo de água no sistema					
	Água constitucional ^a		Campo hidratado (≤3 Å a partir da superfície)		Água da fase maciça	
					Livre ^b	Capturada ^c
Pressão de vapor relativa (p/p^0)	< 0,02 p/p^0	0,02–0,2 p/p^0	0,2–0,75 p/p^0	0,75–0,85 p/p^0	> 0,85 p/p^0	> 0,85 p/p^0
“Zona” da isoterma ^d	Extrema esquerda, zona I	Zona I	Zona IIA	Zona IIB	Zona III	Zona III
mol H ₂ O/mol proteína seca	< 8	8–56	56–200	200–300	> 300	> 300
g H ₂ O/g proteína seca (h)	< 0,01	0,01–0,07	0,07–0,25	0,25–0,58	> 0,58	> 0,58
Porcentagem de peso com base na lisozima (%)	1	1–6,5	6,5–20	20–27,5	> 27,5	> 27,5
Características da água: estrutura	Parte crítica da estrutura proteica nativa	A água interage principalmente com grupos carregados (~2HOH/grupo). A 0,07 h transição na organização da água de superfície; aparecimento de agrupamentos associados à complexação de grupos de hidratação carregados	A água interage principalmente com grupos carregados (~1HOH/sítio polar). Centros de agrupamentos de água em sítios polares carregados. Os agrupamentos variam em tamanho e arranjo. A 0,15 h, atinge-se alta conectividade da água de superfície	A 0,25 h, a água começa a condensar nas regiões com ligações fracas da superfície da proteína. A 0,38 h, a “monocamada” de água cobre toda a superfície da proteína. Começam a surgir diferentes fases de água; local de transição vítreo-elástica		
Características da água: propriedades de transferência termodinâmica ^e						
ΔG (kJ/mol)	> – 6	– 6	– 0,8	Próximo da água livre		
ΔH (kJ/mol)	> – 17	– 70	– 2,1	Próximo da água livre		
Tempo de residência (mobilidade aproximada)	$10^{-2} - 10^{-8}$ s	< 10^{-8} s	< 10^{-9} s	$10^{-9} - 10^{-11}$ s	$10^{-11} - 10^{-12}$ s	$10^{-11} - 10^{-12}$ s
Congelabilidade	Não congelável	Não congelável	Não congelável	Não congelável	Normal	Normal
Pó solvente	Nenhum	Nenhum	Leve	Moderada	Normal	Normal
Características da proteína: estrutura	Estado empacotado, estável	Regiões amorfas tornando-se plastificadas pela água	Plastificação posterior de regiões amorfas			
Características da proteína: mobilidade (reflete na atividade enzimática)	Atividade enzimática negligenciável	Atividade enzimática negligenciável	Intercâmbio de prótons aumenta de 1/1000 a 0,04 h a solução total a 0,15h Algumas enzimas desenvolvem atividade entre 0,1 e 0,15h	A 0,38 h a atividade da lisozima é 0,1 daquela em solução diluída	Atividade máxima	Atividade máxima

^a Moléculas de água que ocupam lugares específicos no interior da macromolécula de soluto.

^b fluxo macroscópico fisicamente não impedido pela matriz macromolecular.

^c fluxo macroscópico fisicamente impedido pela matriz macromolecular.

^d Ver Figura 2.33.

^e Valores molares parciais para transferência de água da fase maciça para o envelope de hidratação.

Nota: Considera-se que a água constitucional está presente na proteína desidratada, no início do processo de desidratação. A água é primeiramente absorvida a sítios ionizados carboxílicos e amino das cadeias, com cerca de 40 mol água/mol lisozima associados dessa forma. A absorção posterior de água resulta em hidratação gradual de sítios menos atrativos, principalmente grupos amida carbonil da coluna da proteína. A 0,38 h, a cobertura da monocamada é alcançada por meio da associação da água aos sítios da superfície, os quais são ainda menos atrativos. Nesse estágio da hidratação de proteínas, tem-se, em média, 1HOH/20 Å² de superfície de proteína. Em conteúdos de água acima de 0,58 h, a proteína é considerada totalmente hidratada.

Fonte: Dados, principalmente sobre lisozima, de Franks, F. (1988) Em *Characteristics of Proteins* (F. Franks, Ed.), Humana Press: Clifton, NJ, pp. 127–154; Lounnas, V. e B.M. Pettitt (1994) *Proteins: Struct. Func. Genet.* **18**: 133–147; Rupley, J.A. e G. Careri (1991) *Adv. Protein Chem.* **41**: 37–172; Otting, G. et al. (1991) *Science* **254**: 974–980; e Lounnas, V. e B.M. Pettitt (1994) *Proteins: Struct. Func. Genet.* **18**: 148–160.

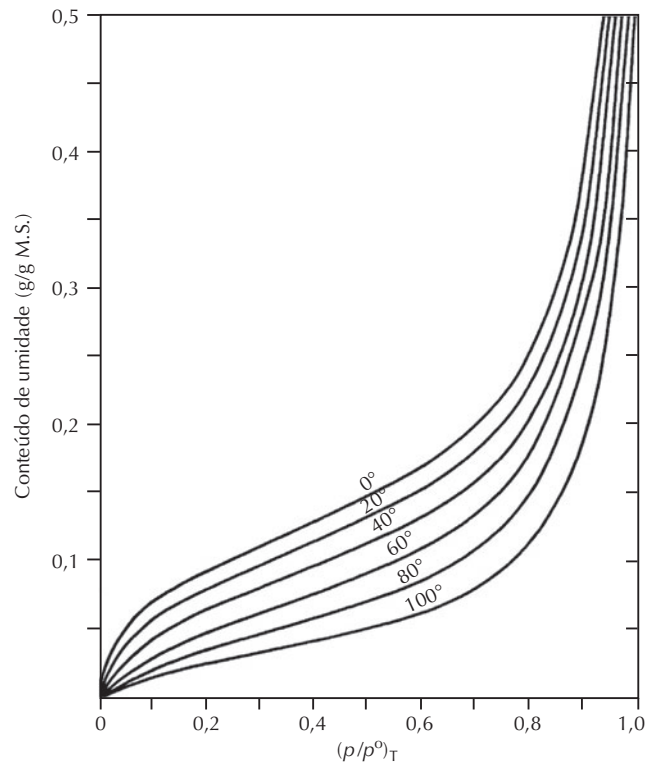


FIGURA 2.35 Isoterma de dessorção de batatas em diversas temperaturas (Readaptada de Gorling, P. (1958) Em *Fundamental Aspects of the Dehydration of Foodstuffs*. Society of Chemical Industry: London pp. 42–53.)

dessorção. No entanto, há um problema adicional a essa discussão sobre ISUs. Uma ISU preparada pela adição de água (adsorção) a amostras secas nem sempre se sobreporá a isoterma preparada por dessorção. A falta de sobreposição é chamada de “histerese”, sendo apresentada na Figura 2.36 um exemplo esquemático. Tipicamente, a uma dada $(p/p^0)_T$, o conteúdo de água de uma amostra será maior durante a dessorção que durante a adsorção. As ISUs de polímeros, compostos de baixo peso molecular e muitos alimentos exibem essa histerese de sorção [52, 92].

A dimensão da histerese, a forma das curvas, bem como o início e o fim de seus pontos podem variar consideravelmente dependendo de fatores como natureza do alimento; mudanças físicas ocorrentes quando a água é removida ou adicionada; temperatura; taxa de dessorção e grau de remoção da água durante a dessorção [92]. O efeito da temperatura é notável: a histerese geralmente não é detectada em temperaturas altas ($\sim 80^\circ\text{C}$) e costuma tornar-se mais evidente com a diminuição da temperatura.

Diversas teorias qualitativas foram desenvolvidas com o fim de explicar o fenômeno da histerese de sorção [52,92]. Essas teorias envolvem fatores como fenômenos de inchaço, domínios locais metaestáveis, quimiossorção, transições de fase, fenômenos de capilaridade e o fato de que estados de não equilíbrio tornam-se mais persistentes com a diminuição da temperatura. A explicação definitiva (ou as explicações) para a histerese de sorção ainda não foi elaborada.

A histerese de sorção é mais que uma curiosidade laboratorial. Labuza e colaboradores [93] demonstraram que a

oxidação de lipídeos em carne moída de frango e porco, a valores de $(p/p^0)_T$ na faixa entre 0,75 e 0,84, ocorre com muito mais rapidez se a amostra é ajustada ao valor desejado de $(p/p^0)_T$, privilegiando-se a dessorção em detrimento da adsorção. As amostras obtidas por dessorção, como já foi citado, contêm mais água para uma determinada $(p/p^0)_T$ que as amostras obtidas por adsorção. Isso faz com que a amostra com mais umidade apresente menos viscosidade, o que, por sua vez, gera maior mobilidade catalítica, maior exposição de sítios catalíticos (devido ao inchaço da matriz) e maior difusão de oxigênio que na amostra com menos umidade (amostra de adsorção). Em outro estudo, Labuza e colaboradores [94] descobriram que a $(p/p^0)_T$ necessária para cessar o desenvolvimento de diversos microrganismos é significativamente menor se o produto é preparado por dessorção em vez de adsorção. Além disso, a existência de histerese é uma evidência adicional de que, como normalmente determinado, as isotermas de sorção definem sistemas de estado estacionário (considerando-se que se permitiu tempo suficiente para que o sistema atingisse tal estado) em detrimento de estados de equilíbrio verdadeiro.

Nesse momento, deve estar claro que as ISUs são bastante específicas para cada produto; que a ISU de um determinado produto pode mudar significativamente em virtude de sua forma de preparação, e que esses pontos são de extrema importância. Discussões adicionais sobre a determinação e a utilidade de ISUs podem ser encontradas nas referências 48 e 95–98; uma compilação de ISUs típicas é encontrada na referência 99.

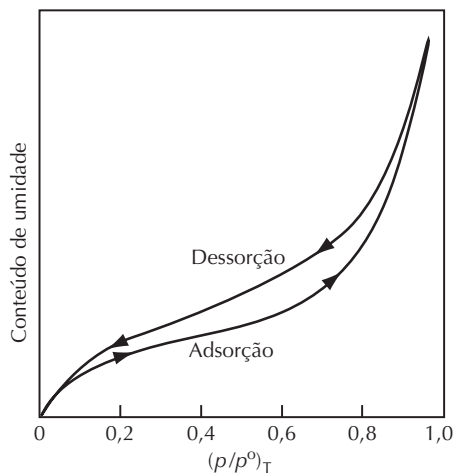


FIGURA 2.36 Histerese de uma ISU.

2.11.4 Sequência de hidratação de uma proteína

É instrutivo que se considere a absorção adicional de água por um componente alimentício, bem como o local e as propriedades da água, em cada estado do processo. Escolheu-se a lisozima para esse exercício, pois as proteínas são de grande importância aos alimentos, já que contêm a maioria dos tipos de grupos funcionais importantes para a hidratação. Além disso, a lisozima contém uma certa quantidade de água constitucional, que é uma parte integral da estrutura. Essa quantidade é de cerca de 8 mol água/g de proteína seca. Ao se aumentarem os níveis de RVP, a água é adsorvida primeiro nos sítios ionizados, no ácido carboxílico e no amino das cadeias. Isso requer cerca de 40 mol água/mol de lisozima seca, e corresponde, aproximadamente, ao conteúdo de água da monocamada de BET, o limite entre as zonas I e IIA, a uma RVP por volta de 0,2. O aumento posterior da RVP para cerca de 0,25 (final da zona IIA) leva à sorção em sítios menos ativos, como carbonilas amidas, enquanto a continuação da sorção para RVP de 0,75 (final da zona IIB) resulta no recobrimento total da superfície com um conteúdo de água de 0,38. Nesse ponto (limite entre as zonas IIB e III), todos os sítios disponíveis da superfície são considerados cobertos [100]. Acima dessa RVP (zona III), a água é constituída por água de multicamada (maciça). Observa-se atividade enzimática acima da “monocamada de BET”, sendo que a atividade máxima é alcançada no ponto de recobrimento total da superfície. Essas observações ajudam a ilustrar a importância da descrição das zonas da ISU na categorização dos efeitos de hidratação. No entanto, deve-se lembrar que, em um conteúdo de água qualquer, todas as moléculas de água podem ser intercambiadas livremente entre as regiões, gerando comportamentos diversos à medida que o conteúdo de água aumenta.

2.12 PRESSÃO DE VAPOR RELATIVA E ESTABILIDADE DOS ALIMENTOS

Historicamente, tem-se demonstrado que a estabilidade e a $(p/p^0)_T$ dos alimentos encontram-se muito relacionadas em di-

versas situações. Os dados das Figuras 2.20, 2.37 e da Tabela 2.1 fornecem exemplos dessas relações. Na Tabela 2.11 são apresentados vários microrganismos comuns e a faixa de RVP que permite seu crescimento [101]. Também é encontrada a classificação de diversos alimentos de acordo com sua RVP.

Os dados da Figura 2.37 representam relações típicas entre a velocidade de reação e a $(p/p^0)_T$, na faixa de temperatura entre 25 e 45° C. Para efeitos de comparação apresenta-se também uma isoterma típica na Figura 2.37f. É importante lembrar que as velocidades de reação exatas e as posições e os formatos das curvas da Figura 2.37 podem ser alterados por composição, estrutura e estado físico da amostra, composição da atmosfera (especialmente oxigênio), temperatura e efeitos de histerese. O leitor também deve ser alertado de que essa relação empírica está entre um parâmetro termodinâmico e um parâmetro cinético, e de que não há nenhuma razão teórica intrínseca que justifique a correlação entre esses parâmetros, pois a termodinâmica lida com posições de equilíbrio e a cinética com taxas. A termodinâmica é previsível e a cinética é empírica.

A relação incomum entre a velocidade de oxidação lipídica e a $(p/p^0)_T$, em valores muito baixos de $(p/p^0)_T$, merece alguns comentários (Figura 2.37). Iniciando-se no extremo esquerdo da isoterma, a adição de água diminui a taxa de oxidação até que se atinja um conteúdo de água equivalente ao valor de monocamada de BET. Pode-se observar, portanto, que a desidratação intensa de amostras sujeitas à oxidação resultará em menos estabilidade. Karel e Yong [102] propuseram as seguintes interpretações para esse comportamento. Acredita-se que a primeira água adicionada a uma amostra muito desidratada liga-se aos hidroperóxidos, interferindo em sua decomposição e impedindo, assim, o progresso da oxidação. Além disso, essa água hidrata os íons metálicos que catalisam a oxidação, reduzindo aparentemente sua efetividade.

A adição de água além do limite das zonas I e II (Figura 2.37) resulta no aumento das taxas de oxidação. Karel e Yong indicaram que a água adicionada a essa região da isoterma acelera a oxidação pelo aumento da solubilidade do oxigênio e por permitir o inchaço de macromoléculas, expondo, as-

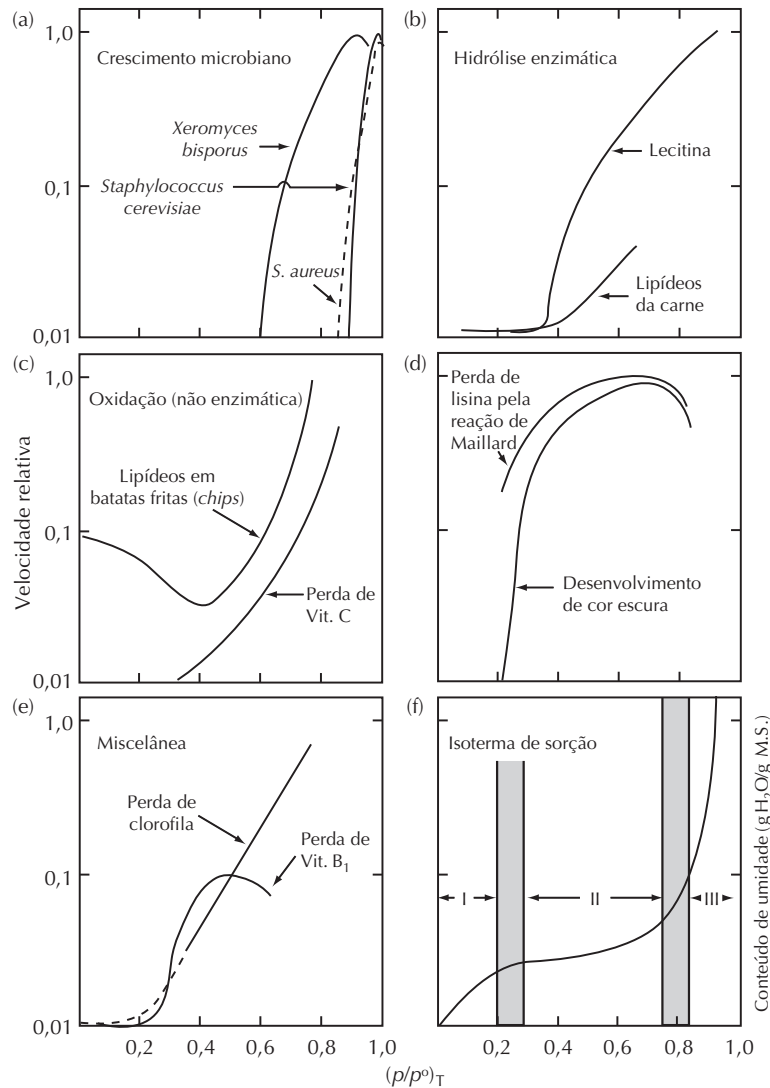


FIGURA 2.37 Relações entre pressão relativa de vapor de água, estabilidade dos alimentos e isothermas de sorção. (a) crescimento microbiano vs. $(p/p^0)_T$, (b) hidrólise enzimática vs. $(p/p^0)_T$, (c) oxidação (não enzimática) vs. $(p/p^0)_T$, (d) escurecimento de Maillard vs. $(p/p^0)_T$, (e) velocidades de reações diversas vs. $(p/p^0)_T$ e (f) conteúdo de água vs. $(p/p^0)_T$. Todas as ordenadas são “velocidades relativas”, com exceção da F. Dados obtidos a partir de diversas fontes.

sim, mais sítios catalíticos. A valores de $(p/p^0)_T$ ainda maiores ($> \sim 0,80$), a água adicionada pode retardar as taxas de oxidação devido à diluição dos catalisadores, reduzindo sua eficiência.

Deve-se notar que as curvas para reação de Maillard, degradação da vitamina B₁ e crescimento microbiano exibem sua taxa máxima em valores intermediários de $(p/p^0)_T$ (Figura 2.37). Duas possibilidades foram levantadas com o intuito de explicar o declínio da taxa de reação ocasionado pelo aumento da RVP, em alimentos com conteúdos de umidade moderados a altos:

1. Para as reações em que a água é um produto, o aumento no conteúdo de água pode resultar na inibição do produto.
2. Quando o conteúdo de água de uma amostra é encontrado de tal modo que solubilidade, acessibilidade

de (superfícies das macromoléculas) e mobilidade dos constituintes que aumentam a taxa não a limitam mais, a adição de água só serve para diluir esses constituintes e diminuir a taxa de reação.

Como o valor de monocamada de BET de um alimento costuma fornecer uma primeira estimativa do conteúdo de água no qual se tem a estabilidade máxima de um produto desidratado, o conhecimento desse valor é de importância prática. Sua determinação para um alimento específico pode ser realizada de forma relativamente fácil se os dados da ISU de baixa umidade estiverem disponíveis. Pode-se utilizar a equação desenvolvida por Brunauer e colaboradores [83] para se obter o valor de monocamada:

$$\frac{a_w}{m(1 - a_w)} = \frac{1}{m_1c} + \frac{c - 1}{m_1c} a_w \tag{2.12}$$

TABELA 2.11 Potencial de crescimento microbiano em alimentos sob diferentes pressões relativas de vapor

Faixa de p/p^0	Microrganismos geralmente inibidos pela p/p^0 mais baixa da faixa	Alimentos geralmente dentro da faixa de p/p^0
1,00–0,95	<i>Pseudomonas</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , alguns fungos	Alimentos altamente perecíveis (frescos), frutas enlatadas, vegetais, carne, pescado e leite; linguiças cozidas e pão; alimentos que contêm até 7% (m/m) de cloreto de sódio ou 40% de sacarose
0,95–0,91	<i>Salmonella</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>C. Botulinum</i> , <i>Serratia</i> , <i>Lactobacillus</i> , alguns bolores, leveduras (<i>Rhodotorula</i> , <i>Pichia</i>)	Alguns queijos (<i>Cheddar</i> , Suíço, <i>Muenster</i> , Provolone), carnes curadas (presunto), alguns sucos concentrados, alimentos que contêm até 12% (m/m) de cloreto de sódio ou 55% de sacarose
0,91–0,87	Muitas leveduras (<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Hansenula</i> , <i>Micrococcus</i>)	Linguiças fermentadas (salame), bolos, queijos secos, margarina, alimentos que contêm até 15% (m/m) de cloreto de sódio ou sacarose saturada (65%)
0,87–0,80	A maioria dos bolores (<i>penicillia</i> micotoxigênicas), <i>Staphylococcus aureus</i> , a maioria das <i>Saccharomyces (bailii)</i> spp., <i>Debaryomyces</i>	A maioria dos sucos concentrado, leite condensado, xarope de chocolate, xaropes de frutas; farinha, arroz, sementes com 15–17% de umidade; tortas de fruta; presuntos coloniais, bombons
0,80–0,75	A maioria das bactérias halofílicas, <i>asperilli</i> micotoxigênicos	Geleia, marmelada, marzipã, frutas glaceadas, alguns <i>marshmallows</i> .
0,75–0,65	Bolores xerofílicos (<i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>A. candidus</i> , <i>Wallemia sebi</i>) <i>Saccharomyces bisporus</i>	Aveias laminadas com 10% de umidade; torrone, chocolate, <i>marshmallows</i> , geleias, melados, açúcar de cana, algumas frutas secas, nozes
0,65–0,60	Leveduras osmofílicas (<i>Sacchaomyces rouxii</i>), poucos bolores (<i>Aspergillus echinulatus</i> , <i>Monascus bisporus</i>)	Frutas secas com 15–20% de umidade, balas de leite e caramelos, mel
0,60–0,50	Sem proliferação microbiana	Macarrão com 12% de umidade, temperos com 10% de umidade
0,50–0,40	Sem proliferação microbiana	Ovo em pó com 5% de umidade
0,40–0,30	Sem proliferação microbiana	Biscoitos, bolachas, crosta de pão e alimentos com 3–5% de umidade.
0,30–0,20	Sem proliferação microbiana	Leite em pó integral com 2–3% de umidade; vegetais desidratados com 5% de umidade, flocos de milho com 5% de umidade, biscoitos coloniais e bolachas.

Fonte: Beuchat, L. R. (1981) *Cereal Foods World* 26: 345-349

onde a_w é a atividade de água, m é o conteúdo de umidade (g H₂O/g matéria seca), m_1 é o valor de monocamada de BET e c é uma constante. Na prática, os valores de $(p/p^0)_T$ são usados na Equação 2.12 no lugar dos valores de a_w .

A partir dessa equação, torna-se evidente que o gráfico de $a_w/m(1-a_w)$ vs. a_w , conhecido como gráfico de BET, terá o formato de uma reta. Um exemplo que utiliza amido de batata nativo, no qual a_w foi substituída por $(p/p^0)_T$, é apresentado na Figura 2.38. A relação linear, como costuma ser chamada, começa a perder seu formato em valores de $(p/p^0)_T$ maiores que 0,35.

O valor de monocamada de BET pode ser calculado da seguinte forma:

$$\text{Valor de monocamada} = m_1 = 1/((y \text{ intercepto}) + (\text{tangente}))$$

A partir da Figura 2.38, o y intercepto é 0,6. O cálculo da tangente fornece o valor de 10,7. Portanto:

$$m_1 = 1/(0,6 + 10,7) = 0,088 \text{ g H}_2\text{O/g matéria seca}$$

Nesse exemplo particular, o valor de monocamada de BET corresponde à $(p/p^0)_T$ de 0,2. A equação de GAB fornece um valor de monocamada similar.

Além de influenciar nas reações químicas e no crescimento microbiano, a $(p/p^0)_T$ também influencia na textura de alimentos secos ou semidesidratados. Por exemplo, deseja-se um valor baixo de RVP quando se quer manter a crocância de biscoitos, pipoca ou batatas *chips*; deseja-se evitar a aglu-

tação de açúcar granulado, leite em pó ou café instantâneo; e deseja-se prevenir a aderência de doces duros. O valor máximo tolerável de $(p/p^0)_T$ em materiais desidratados, para que não ocorra perda de propriedades desejáveis, encontra-se entre 0,35 e 0,5, dependendo do produto [103]. Além disso, necessitam-se altos valores de $(p/p^0)_T$ em alimentos de textura mole para que não ocorra endurecimento indesejável.

2.13 COMPARAÇÕES

2.13.1 Relações entre RVP, Mm e aproximação da ISU para entendimento do papel da água nos alimentos

A temperatura de congelamento de equilíbrio de um sistema fornece a medida de sua a_w , pois, no ponto de congelamento, a_w é igual à da água pura congelada em mesma temperatura. Tendo isso em mente, é possível que se construa um diagrama de estado (Figura 2.39) para mapear as relações entre RVP, Mm e as aproximações da ISU para entendimento do papel da água nos alimentos. A aproximação da Mm já foi discutida em detalhes por meio de diagramas de estado apropriados. Na Figura 2.39, a área na qual a RVP é mais utilizada é a parte superior esquerda. Considerando sistemas de RVP = 0,8, os quais encontram-se à esquerda da linha que representa a composição do sistema com T_m^L de -22°C , temperatura em que a

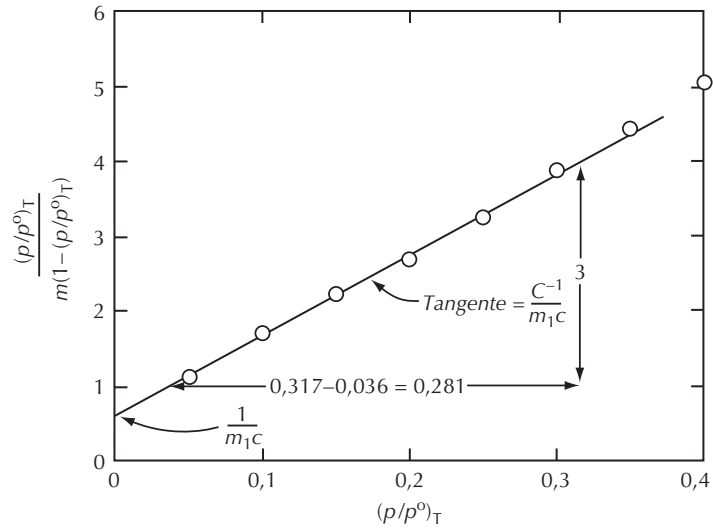


FIGURA 2.38 Gráfico de BET para amido de batata nativo (dados de adsorção, 20° C). (Dados de van den Berg, C. (1981) *Vapour Sorption Equilibria and Other Water-Starch Interactions: A Physico-Chemical Approach*. Wageningen Agricultural University: Wageningen, The Netherlands.)

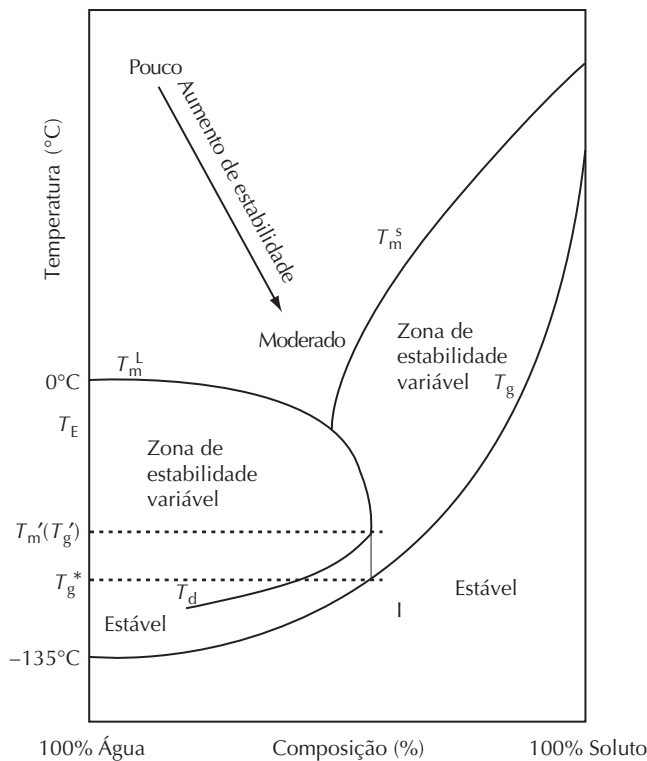


FIGURA 2.39 Diagrama de estado de um sistema binário que mostra estabilidades potenciais em diferentes zonas.

RVP do gelo é 0,8. A região de aplicabilidade primária da RVP à estabilidade microbiana é representada pela região hachurada. Ela encontra-se longe das linhas de T_d e de T_g , indicando que a M_m tanto do soluto como do solvente é suficiente para permitir o rearranjo rápido e o ajuste a uma condição de estado estacionário longo a uma temperatura constante. Em RVP menores, que representam sistemas hipotéticos de temperatu-

ras de congelamento de equilíbrio abaixo de -30°C , a RVP correspondente é menor que 0,75. Nesses sistemas, a mobilidade dos solutos é reduzida, tornando mais difícil a obtenção do estado estacionário prolongado. Na RVP abaixo de 0,6 a T_m^L hipotética estará ao redor de -52°C . Esses sistemas raramente alcançam o equilíbrio, sendo difícil (se não impossível) medir-se uma RVP significativa de estado estacionário.

Na ISU, são utilizados tanto dados de sorção como de dessorção. Considere-se, primeiramente, a sorção. As curvas do lado direito do digrama de estado representam a sorção de um produto desidratado, sendo que os eixos desse lado representam o produto desidratado. A condição do produto desidratado define qual linha, T_g ou T_m^s , é apropriada para a descrição do estado-limite ao se aumentar o conteúdo de umidade. No produto desidratado, costuma ocorrer cristalização parcial, sendo que essas porções de produto são consideradas apropriadas em termos de cada uma das linhas, definindo uma mudança no estado físico. Ao se entrar na parte mais móvel, ocorre o estado fluido, com baixas mobilidades, no início. Os processos de mudança podem ser lentos. A água penetra o produto primeiro em sua superfície, resultando em gradientes de mobilidade, sendo que, com mais umidade, a mobilidade superficial aumenta (e a T_g da superfície diminui). Para a dessorção, a composição das amostras muda da esquerda para a direita no diagrama, sendo que o sistema mais fluido começa a perder mobilidade à medida que a dessorção progride. Logo, dessorções rápidas causarão menos cristalização de solutos que dessorções lentas.

2.14 CONCLUSÃO

Cada uma das abordagens da estabilidade de produtos descritos apresenta sua melhor aplicabilidade sob condições determinadas. Portanto, é apropriado que todas elas sejam utilizadas, a fim de que se obtenha melhor compreensão sobre o papel da água nos alimentos e, ainda, sobre os mecanismos pelos quais a água e o conteúdo de água podem influenciar na estabilidade dos produtos. Tanto Schmidt [4] como Sherwin e Labuza [104] proporcionaram, em artigos recentes, uma discussão sobre a importância relativa de cada abordagem, sob uma série de condições diferentes. A água desempenha um papel fundamental nos processos químicos e físicos nos alimentos. Apesar da aparente simplicidade da molécula de água, torna-se evidente que a natureza complexa das ligações por ponte de hidrogênio da água e entre a água e solutos, além de outras influências nos arranjos intermoleculares da água, são essenciais ao funcionamento de sistemas biológicos e às propriedades dos alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Franks, F. (2000) *Water, a Matrix of Life*. Royal Society of Chemistry: London.
2. Fennema, O. (1973) Water and ice. In *Low Temperature Preservation of Foods and Living Matter* (O. Fennema, W.D. Powrie, and E.H. Marth, Eds.), Marcel Dekker: New York, pp. 1–77.
3. Chaplin, M. (2001) Water, its importance to life. *Biochem. Mol. Educat.* **29**: 54–59.
4. Schmidt, S.J. (2004) Water and solids mobility in foods. *Adv. Food Nutr. Res.* **48**: 1–101.
5. Hobbs, P.V. (1974) *Ice Physics*. Clarendon Press: Oxford.
6. Rontgen, W.C. (1882) VIII Über die constitution des flüssigen wassers. *Ann. Phys. Chem.* **281**: 91–97.
7. Ball, P. (2001) *Life's Matrix, a Biography of Water*. University of California Press: Berkeley, CA.
8. Guillot, B. (1991) A molecular-dynamics study of the far infrared spectrum of liquid water. *J. Chem. Phys.* **95**: 1543–1551.
9. Errington, J.R. and P.G. Debenedetti (2001) Relationship between structural order and the anomalies of liquid water. *Nature (London)* **409**: 318–321.
10. Guillot, B. (2002) A reappraisal of what we have learned during 3 decades of computer simulations on water. *J. Mol. Liquids* **101**: 219–260.
11. Bertoluzza, A., C. Fagnano, M.A. Morelli, A. Tinti, and M.R. Tosi (1993) The role of water in biological systems. *J. Mol. Struct.* **297**: 425–437.
12. Luck, W.A.P. (1981) Structures of water in aqueous systems. In *Water Activity: Influences on Food Quality* (L.B. Rockland and G.F. Stewart, Eds.), Academic Press: New York, pp. 407–434.
13. Sceats, M.G. and S.A. Rice (1982) Amorphous solid water and its relationship to liquid water: a random network model for water. In *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 83–214.
14. Stillinger, F.H. (1980) Water revisited. *Science* **209**: 451–457.
15. Brady, G.W. and W.J. Romanov (1960) Structure of water. *J. Chem. Phys.* **32**: 106.
16. Morgan, J. and B.E. Warren (1938) X-ray analysis of the structure of water. *J. Chem. Phys.* **6**: 666–673.
17. Cheftel, J.C., J. Levy, and E. Dumay (2000) Pressure-assisted freezing and thawing: principles and potential applications. *Food Rev. Int.* **16**: 453–483.
18. Cheftel, J.C., M. Thiebaut, and E. Dumay (2002) High pressure–low temperature processing of foods: a review. *Advances in high pressure bioscience and biotechnology II, Proceedings of the International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology*, Dortmund, Germany, September 16–19, pp. 327–340.
19. Luyet, B. (1960) On various phase transitions occurring in aqueous solutions at low temperature. *Ann. NY Acad. Sci.* **85**: 549–569.
20. Luyet, B.J. (1966) Anatomy of the freezing process in physical systems. In *Cryobiology* (H.T. Meryman, Ed.), Academic Press: New York, pp. 115–138.
21. Rapatz, G. and B. Luyet (1972) Patterns of ice formation and rates of ice growth in gelatin solutions. *Biodynamica* **11**: 117–123. Fennema's Food Chemistry
22. Rey, L.R. (1958) *Etude Physiologique et Physico-Chimique de l'Action des Basses Température sur les Tissus Animaux*. Université de Paris: Paris, France.
23. Simatos, D. and L. Rey (1965) Freeze-drying of biologic materials. *Fed. Proc.* **24**: 213–215.
24. Berendsen, H.J.C. (1971) The molecular dynamics of water in biological systems. *Proc. First Europ. Biophys. Cong.* **1**: 483–488.
25. Kuntz, I.D. and W. Kauzmann (1974) Hydration of proteins and polypeptides. *Adv. Protein Chem.* **28**: 239–345.
26. Geiger, A. (1981) Molecular dynamics simulation study of the negative hydration effect in aqueous electrolyte solutions. *Berichte der Bunsen-Gesellschaft* **85**: 52–63.
27. Eagland, D. (1975) Nucleic acids, peptides and proteins. In *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum: New York, pp. 305–518.
28. Lewin, S. (1974) *Displacement of Water and its Control of Biochemical Reactions*. Academic Press: London.
29. Tait, M. J., A. Suggett, F. Franks, S. Ablett, and P. A. Quickenden (1972) Hydration of monosaccharides. Study by dielectric and nuclear magnetic relaxation. *J. Solution Chem.* **1**: 131–151.
30. Franks, F. (1988) Protein hydration. In *Characteristics of Proteins* (F. Franks, Ed.), Humana Press: Clifton, NJ, pp. 127–154.
31. Franks, F. (1975) The hydrophobic interaction. In *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 1–94.
32. Davidson, D.W. (1973) Clathrate hydrates. In *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 115–234.
33. Koga, K., H. Tanaka, and K. Nakanishi (1994) Stability of polar guest-encaging clathrate hydrates. *J. Chem. Phys.* **101**: 3127–3134. Water and Ice
34. Koga, K., H. Tanaka, and K. Nakanishi (1994) On the stability of clathrate hydrates encaging polar guest molecules: contrast in the hydrogen bonds of methylamine and methanol hydrates. *Mol. Simul.* **12**: 241–252.

35. Gerstein, M. and R.M. Lynden-Bell (1993) Simulation of water around a model protein helix. 1. Two-dimensional projections of solvent structure. *J. Phys. Chem.* **97**: 2982–2990.
36. Uedaira, H. (1995) Properties and structure of water. *Kagaku to Kyoiku* **43**: 494–500.
37. Head-Gordon, T. (1995) Is water structure around hydrophobic groups clathrate-like? *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **92**: 8308–8312.
38. Teeter, M.M. (1991) Water–protein interactions: theory and experiment. *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **20**: 577–560.
39. Lounnas, V. and B.M. Pettitt (1994) A connected cluster of hydration around myoglobin. Correlation between molecular dynamics simulations and experiment. *Proteins: Struc. Func. Genet.* **18**: 133–147.
40. Edelhoch, H. and J.J.C. Osborne (1976) The thermodynamic basis of the stability of proteins, nucleic acids and membranes. *Adv. Protein Chem.* **30**: 183–250.
41. Oakenfull, D. and D.E. Fenwick (1977) Thermodynamics and mechanism of the hydrophobic interaction. *Aust. J. Chem.* **30**: 741–752.
42. Ashbaugh, H. S., T. M. Truskett, and P. G. Debenedetti (2002) A simple molecular thermodynamic theory of hydrophobic hydration. *J. Chem. Phys.* **116**: 2907–2921.
43. Johnson, M.R. and R.C. Lin (1987) FDA views on the importance of *a_w* in good manufacturing practice. In *Water Activity: Theory and Applications to Food* (L.B. Rockland and L.R. Beuchat, Eds.), Marcel Dekker: New York, pp. 287–294.
44. Scott, W.J. (1953) Water relations of *Staphylococcus aureus* at 30 °C. *Aust. J. Biol. Sci.* **6**: 549–556.
45. Scott, W.J. (1957) Water relations of food spoilage organisms. *Adv. Food Res.* **7**: 83–127.
46. Chirife, J. (1994) Specific solute effects with special reference to *Staphylococcus aureus*. *J. Food Eng.* **22**: 409–419.
47. Gal, S. (1981) Recent developments in techniques for obtaining complete sorption isotherms. In *Water Activity: Influence on Food Quality* (L.B. Rockland and G.F. Stewart, Eds.), Academic Press: New York, pp. 89–110.
48. Spiess, W.E.L. and W. Wolf (1987) Critical evaluation of methods to determine moisture sorption isotherms. In *Water Activity: Theory and Application to Foods* (L.B. Rockland and L.R. Beuchat, Eds.), Marcel Dekker: New York, pp. 215–233.
49. van den Berg, C. (1981) *Vapour Sorption Equilibria and Other Water–Starch Interactions: A Physico-Chemical Approach*. Wageningen Agricultural University: Wageningen, The Netherlands.
50. van den Berg, C. and S. Bruin (1981) Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In *Water Activity: Influences on Food Quality* (L.B. Rockland and G.F. Stewart, Eds.), Academic Press: New York, pp. 1–61.
51. Reid, D.S., A. Fontana, S. Rahman, S. Sablami, and T. Labuza (2005) Vapor pressure measurements of water. In *Handbook of Food Analytical Chemistry* (R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith, and P. Sporns, Eds.), Wiley: New York, pp. Section A2.
52. Kapsalis, J.G. (1987) Influences of hysteresis and temperature on moisture sorption isotherms. In *Water Activity: Theory and Applications to Food* (L.B. Rockland and L.R. Beuchat, Eds.), Marcel Dekker: New York, pp. 173–213.
53. Fennema, O. and L.A. Berny (1974) Equilibrium vapor pressure and water activity of food at subfreezing temperatures. In *Fourth Int. Congress of Food Science and Technology*. Madrid, Spain.
54. Williams, M.L., R.F. Landel, and J.D. Ferry (1955) The temperature dependence of relaxation mechanisms in amorphous polymers and other glass-forming liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **77**: 3701–3707.
55. Ferry, J.D. (1980) *Viscoelastic Properties of Polymers*, 3rd edn. John Wiley & Sons: New York.
56. White, G.W. and S.H. Cakebread (1966) The glassy state in certain sugar-containing food products. *J. Food Technol.* **1**: 73–82.
57. White, G.W. and S.H. Cakebread (1969) Importance of the glassy state in certain sugar-containing food products. *Food Sci. Technol. Proc. Int. Congr.*, 1st, pp. 227–235.
58. Duckworth, R.B., J.Y. Allison, and H.A. Clapperton (1976) The aqueous environment for change in intermediate moisture foods. In *Intermediate Moisture Foods* (R. Davies, G.G. Birch, and K.J. Parker, Eds.), Applied Science: London, pp. 89–99.
59. Franks, F. (1995) Aqueous solutions—a new perspective. Amorphous carbohydrates: science and application technology. *J. Solution Chem.* **24**: 1093–1097.
60. Slade, L. and H. Levine (1991) A food polymer science approach to structure–property relationships in aqueous food systems: non-equilibrium behavior of carbohydrate–water systems. *Adv. Exptl Med. Biol.* **302**: 29–101.
61. Slade, L. and H. Levine (1991) Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **30**: 115–360.
62. Levine, H. and L. Slade (1988) “Collapse” phenomena—a unifying concept for interpreting the behavior of low moisture foods. In *Food Structure—Its Creation and Evaluation* (J.M.V. Blanshard and J.R. Mitchell, Eds.), Butterworths: London, pp. 149–180.
63. Levine, H. and L. Slade (1988) Water as a plasticizer: physico-chemical aspects of low moisture polymeric systems. *Water Sci. Rev.* **3**: 79–185.
64. Slade, L. and H. Levine (1995) Polymer science approach to water relationships in foods. In *Food Preservation by Moisture Control* (G.V. Barbosa-Canovas and J. Weltri-Chanos, Eds.), Technomic Press: Lancaster, PA, pp. 33–132.
65. Slade, L. and H. Levine (1995) Glass transitions and water–food structure interactions. *Adv. Food Nutr. Res.* **38**: 103–269.
66. Shalaev, E.Y. and A.N. Kanev (1994) Study of the solid–liquid state diagram of the water–glycine–sucrose system. *Cryobiology* **31**: 374–382.
67. Liu, B., Z. Hua, and H. Ren (1996) The glassy state storage of frozen food. *Zhileng Xuebao* 26–31.
68. Boutron, P., P. Mehl, A. Kauffmann, and P. Angibaud (1986) Glass-forming tendency and stability of the amorphous state in the aqueous solutions of linear polyalcohols with four carbons. I. Binary systems water–polyalcohol. *Cryobiology* **23**: 453–469.
69. Levine, H. and L. Slade (1988) Thermomechanical properties of small-carbohydrate–water glasses and “rubbers”: kinetically metastable systems at sub-zero temperatures. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1: Phys. Chem. Condens. Phases* **84**: 2619–2633.
70. Roos, Y. (1993) Melting and glass transitions of low molecular weight carbohydrates. *Carbohydr. Res.* **238**: 39–48.
71. Hatley, R.H.M. and A. Mant (1993) Determination of the unfrozen water content of maximally freeze concentrated carbohydrate solutions. *Int. J. Macromol.* **15**: 227–232.
72. Reid, D.S., J. Hsu, and W.L. Kerr (1993) Calorimetry. In *The Glassy State in Foods* (J.M.V. Blanshard and P.J. Lillford, Eds.), Nottingham University Press: Loughborough, pp. 123–132.
73. Roos, Y.H. and M. Karel (1993) Effect of glass transitions on dynamic phenomena in sugar containing food systems. In *The Glassy State in Foods* (J.M.V. Blanshard and P.J. Lillford, Eds.), Nottingham University Press: Loughborough, pp. 207–222.
74. Simatos, D. and G. Blond (1991) DSC studies and stability of frozen foods. *Adv. Exptl Med. Biol.* **302**: 139–155.
75. Slade, L., H. Levine, J. Ievolella, and M. Wang (1993) The glassy state phenomenon in applications for the food industry: application of the food polymer science approach to structure–function relationships of sucrose in cookie and cracker systems. *J. Sci. Food Agric.* **63**: 133–176.
76. Angell, C.A. (1997) Entropy and fragility in supercooling liquids. *J. Res. Natl Inst. Stand. Technol.* **102**: 171–185.
77. Angell, C.A. (2001) Water, what we know and what we don't. In *Water Science for Food, Health Agriculture and Environment* (Z. Berk, R.B. Leslie, P.J. Lillford, and S. Mizrahi, Eds.), Technomic: Lancaster, PA, pp. 1–30.
78. Kerr, W.L., M.H. Lim, D.S. Reid, and H. Chen (1993) Chemical reaction kinetics in relation to glass transition temperatures in frozen food polymer solutions. *J. Sci. Food Agric.* **61**: 51–56.
79. Kerr, W.L. and D.S. Reid (1994) Temperature dependence of the viscosity of sugar and maltodextrin solutions in coexistence with ice. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie* **27**: 225–231.
80. Matveev, Y.I. and S. Ablett (2002) Calculation of the *C_g* and *T_g* intersection point in the state diagram Fennema's Food Chemistry gg of frozen solutions. *Food Hydrocoll.* **16**: 419–422.

81. Roos, Y. and M. Karel (1991) Nonequilibrium ice formation in carbohydrate solutions. *Cryo-Letters* **12**: 367–376.
82. Roos, Y. and M. Karel (1991) Phase transitions of amorphous sucrose and frozen sucrose solutions. *J. Food Sci.* **56**: 266–267.
83. Brunauer, S., H.P. Emmett, and E. Teller (1938) Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* **60**: 309–319.
84. Guggenheim, E.A. (1966) *Applications of Statistical Mechanics*. Clarendon Press: Oxford, pp. 186–206.
85. Anderson, R.B. (1946) Modifications of the Brunauer, Emmett, and Teller equation. *J. Am. Chem. Soc.* **68**: 686–691.
86. De Boer, J.H. (1968) *The Dynamical Character of Adsorption*, 2nd edn. Clarendon Press: Oxford, UK, pp. 200–219.
87. Lillford, P.J., A.H. Clark, and D.V. Jones (1980) *Distribution of Water in Heterogeneous Food and Model Systems*. ACS Symposium Series 127, pp. 177–195.
88. Belton, P.S. and B.P. Hills (1988) The effects of exchange and interfacial reaction in two-phase systems on NMR line shapes and relaxation processes. *Mol. Phys.* **65**: 313–326.
89. Hills, B.P. (1992) The proton exchange cross-relaxation model of water relaxation in biopolymer systems. *Mol. Phys.* **76**: 489–508.
90. Hills, B.P. (1990) Multinuclear relaxation studies of water in carbohydrate and protein systems. *Spectroscopy* (Amsterdam, Netherlands) **8**: 149–171.
91. Hills, B.P. and K.P. Nott (1999) NMR studies of water compartmentation in carrot parenchyma tissue during drying and freezing. *Appl. Magn. Resonance* **17**: 521–535.
92. Karel, M. (1988) Role of water activity. In *Food Properties and Computer-Aided Engineering of Food Processing Systems* (R.P. Singh and A.G. Medina, Eds.), Kluwer Academic: Dordrecht, The Netherlands, pp. 135–155.
93. Labuza, T.P., L. McNally, D. Gallagher, J. Hawkes, and F. Hurtado (1972) Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation. *J. Food Sci.* **37**: 154–159.
94. Labuza, T.P., S. Cassil, and A.J. Sinskey (1972) Stability of intermediate moisture foods. II. Microbiology. *J. Food Sci.* **37**: 160–162.
95. Leisen, J., H.W. Beckham, and M. Benham (2002) Sorption isotherm measurements by NMR. *Solid State Nucl. Magn. Resonance* **22**: 409–422.
96. Mauer, L.J., D.E. Smith, and T.P. Labuza (2000) Effect of water content, temperature and storage on the glass transition, moisture sorption characteristics and stickiness of β -casein. *Int. J. Food Properties* **3**: 233–248.
97. Schaller-Povolny, L.A., D.E. Smith, and T.P. Labuza (2000) Effect of water content and molecular weight on the moisture isotherms and glass transition properties of inulin. *Int. J. Food Properties* **3**: 173–192.
98. Teoh, H.M., S.J. Schmidt, G.A. Day, and J.F. Faller (2001) Investigation of cornmeal components using dynamic vapor sorption and differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.* **66**: 434–440.
99. Iglesias, H.A. and J. Chirife (1982) *Handbook of Food Isotherms: Water Sorption Parameters for Food and Food Components*, Academic Press: New York, p. 347.
100. Rupley, J.A. and G. Careri (1991) Protein hydration and function. *Adv. Protein Chem.* **41**: 37–172.
101. Beuchat, L.R. (1981) Microbial stability as affected by water activity. *Cereal Foods World* **26**: 345–349.
102. Karel, M. and S. Yong (1981) Autoxidation-initiated reactions in foods. In *Water Activity: Influences Food Quality* (L.B. Rockland and G.F. Stewart, Eds.), Academic Press: New York, pp. 511–529.
103. Labuza, T.P. and R. Contreras-Medellin (1981) Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Foods World* **26**: 335–344.
104. Sherwin, C.P. and T.P. Labuza (2005) Beyond water activity and glass transition: a broad perspective on the manner by which water can influence reaction rates in foods. In *Water Properties of Food, Pharmaceutical and Biological Materials* (M.P. Buera, J. Welti-Chanos, P.J. Lillford, and H.R. Corti, Eds.), CRC Press: Boca Raton, FL, pp. 343–371.
105. Suggett, A. (1976) Molecular motion and interactions in aqueous carbohydrate solutions. III. A combined nuclear magnetic and dielectric-relaxation strategy. *J. Solution Chem.* **5**: 33–46.
106. Berendsen, H.J.C. (1975) Specific interaction of water with biopolymers. In *Water, a Comprehensive Treatise* (F. Franks, Ed.), Plenum Press: New York, pp. 293–349.
107. van den Berg, C. and H.A. Leniger (1978) The water activity of foods. In *Miscellaneous Papers 15*. Wageningen Agricultural University: Wageningen, The Netherlands, pp. 231–244.
108. Fennema, O. (1978) Enzyme kinetics at low temperature and reduced water activity. In *Dry Biological Systems* (J.H. Crowe and J.H. Clegg, Eds.), Academic Press: New York, pp. 297–322.
109. Gorling, P. (1958) Physical phenomena during the drying of foodstuffs. In *Fundamental Aspects of the Dehydration of Foodstuffs*. Society of Chemical Industry: London, pp. 42–53.
110. Lide, D.R. (ed.) (1993/1994) *Handbook of Chemistry and Physics*, 74 edn. CRC Press: Boca Raton, FL.
111. Mason, B.J. (1957) *The Physics of Clouds*. Clarendon Press: Oxford, p. 445.
112. Levine, H. and L. Slade (1990) Cryostabilization technology. In *Thermal Analysis of Foods* (V.R. Harwalkar and C.-Y. Ma, Eds.), Elsevier Applied Science: London, pp. 221–305.
113. Otting, G., B. Liepinsh, and K. Wuthrich (1991) Protein hydration in aqueous solution. *Science* **254**: 974–980.
114. Lounnas, V. and B.M. Pettitt (1994) Distribution function implied dynamics versus residence times and correlations: solvation shells of myoglobin. *Proteins: Struct. Func. Genet.* **18**: 148–160.
115. Levine, H. and L. Slade (1989) A food polymer science approach to the practice of cryostabilization technology. *Comments Agric. Food Chem.* **1**: 315–396.
116. Jouppila, K. and Y.H. Roos (1994) Glass transitions and crystallization in milkpowders. *J. Dairy Sci.* Fennema's Food Chemistry **77**: 2907–2915.