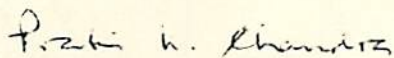


JAIME VILELA DE RESENDE

**REDUÇÃO DE DANOS DE CONGELAMENTO EM
FRUTOS DE MELÃO (*Cocumis melo L. Inodorus*)
UTILIZANDO SUBSTÂNCIAS CRIOPROTETORAS
DE CONCENTRAÇÕES E ORIGENS DIVERSAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para obtenção do grau de MESTRE.

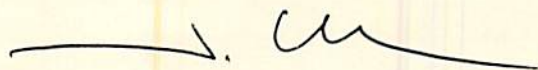
APROVADA em 05 de Abril de 1995



Prof. Dr. Prabir Kumar Chandra



Prof.^a. Dr.^a. Lisete Chamma Davide



Prof. Dr. José Cal-Vidal
(Orientador)

A DEUS

Aos meus pais Sebastião e Nirce,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e em particular ao Departamento de Ciência dos Alimentos pela oportunidade oferecida para a realização do curso.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. José Cal-Vidal pela amizade e orientação.

A Prof^a. Amazile Biagioni R. de Abreu Maia (DEQ-EEUFMG) pelas facilidades ao acesso a equipamentos necessários para a conclusão deste projeto.

Ao Departamento de Engenharia Metalúrgica da EEUFMG na pessoa do Prof. Dagoberto Brandão Santos e das técnicas Patrícia e Edilene pela utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura e pelo auxílio técnico no preparo das amostras.

A Prof^a. Lisete Chamma Davide pela utilização de instrumentos e instalações laboratoriais do Departamento de Biologia.

Ao colega Rogério Amaro Gonçalves pelo valioso auxílio e sugestões durante a fase experimental deste trabalho.

Ao Tales Márcio de Oliveira Giarola pela valiosa ajuda nas análises microscópicas.

Ao Prof. Adimilson Bosco Chitarra pela assistência e colaboração durante a execução deste trabalho.

Aos colegas Eduardo, Lanamar e Marcos Vinicius pela amizade, auxílio, incentivo e proveitosas discussões.

Aos funcionários do DCA e todos os amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xv
INTRODUÇÃO.....	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Danos de congelamento em tecidos vegetais.....	5
2.2 A desidratação osmótica como um tratamento para amenizar os danos de congelamento...	10
2.3 Efeito da velocidade de congelamento sobre as propriedades mecânicas e microestruturais de frutos congelados.....	11
2.4 Cristalização inicial da água em tecidos vegetais.....	15
2.4.1 Superresfriamento em tecidos vegetais.....	15
2.4.2 Controle da cristalização (nucleação e crescimento de cristais de gelo) da água - princípio da crioproteção.....	17
2.5 Microscopia aplicada a tecidos congelados.....	26
2.5.1 Microscopia ótica.....	26
2.5.2 Microscopia Eletrônica.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Preparo das amostras.....	30
3.2 Obtenção de dados físico químicos e microestruturais do fruto <i>in natura</i>	31
3.2.1 Determinação do teor de matéria seca e teor de água.....	31
3.2.2 Determinação de sólidos solúveis totais.....	32
3.2.3 Determinação da textura.....	32
3.2.4 Microestrutura.....	32

3.3 Pré-tratamentos.....	33
3.4 Congelamento	35
3.4.1 Congelamento em ar estático(AE).....	36
3.4.2 Congelamento em imersão em pasta de dióxido de carbono + etanol (IDC).....	36
3.4.3 Congelamento por imersão em nitrogênio líquido (INL).....	37
3.5 Descongelamento.....	38
3.6 Propriedades de retenção de água.....	38
3.7 Microscopia ótica.....	40
3.8 Microscopia eletrônica.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Curvas de congelamento tempo-temperatura.....	44
4.1.1 Efeito da adição de crioprotetores sobre a temperatura de congelamento inicial dos sistemas.....	49
4.1.2 Efeito da adição de crioprotetores sobre a taxa de cristalização do gelo.....	54
4.2 Efeito da adição de crioprotetores sobre as propriedades físico-químicas do fruto após o descongelamento.....	72
4.2.1 Efeito da adição de crioprotetores sobre o teor de água final do fruto após o descongelamento.....	72
4.2.2 Efeito da adição de crioprotetores sobre a perda de fluido celular (exsudação) após o descongelamento.....	77
4.2.3 Efeito da adição de crioprotetores sobre o teor de sólidos solúveis totais do fruto após congelamento/descongelamento.....	84
4.2.4 Efeito da adição de crioprotetores como pré-tratamentos anteriores ao processo de congelamento sobre a textura de frutos descongelados	91
4.2.5 Efeito da adição de crioprotetores sobre a capacidade de retenção de água na microestrutura do fruto após o descongelamento.....	95
4.3 Efeito da adição de crioprotetores sobre a microestrutura celular de frutos.....	101
4.3.1 Características microestruturais do fruto “in natura”.....	101
4.3.2 Características microestruturais de frutos tratados com crioprotetores após o congelamento.....	104
4.3.2.1 Danos mecânicos causados a estrutura celular pelo crescimento de cristais de gelo.....	104
4.3.2.2 Características microestruturais dos sistemas de hidrocolóides junto a estrutura celular do fruto.....	116
5 CONCLUSÕES.....	124
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126
APÊNDICE.....	131

LISTAS DE TABELAS

Tabela	Página
1 Composição das soluções utilizadas como pré-tratamentos anterior ao processo de congelamento.....	35
2 Técnica de emblocamento reduzida utilizada em frutos carnosos.	41
3 Estrutura fatorial mostrando os fatores e níveis de fatores considerados no plano experimental.....	43
4 Composição aproximada de melões Honeydew.....	50
5 Parâmetros de composição de frutos após o pré-tratamento com sistemas de hidrocolóides e aditivos antes de serem submetidos ao congelamento.....	53
6 Coeficientes de equações de regressão para valores da fração de água não congelada em função do tempo para frutos congelados em ar estático tratados com vários sistema de hidrocolóides.....	63
7 Análise das médias do teor de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamentos com géis de natureza diferente.....	75
8 Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados submetidos a pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose (15%).....	75
9 Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativos géis x açúcares.....	76
10 Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo géis x cálcio.....	76

11	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com géis de naturezas diferentes.....	78
12	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose (15%).....	78
13	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	79
14	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x açúcares.....	79
15	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos escongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x cálcio.....	80
16	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo açúcar x cálcio.....	80
17	Análise da porcentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistema que envolvem o efeito interativo géis x açúcar x cálcio.....	81
18	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com géis de polissacarídeos de natureza.....	86
19	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose.....	86
20	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo géis x açúcares.....	87
21	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo géis x cálcio.....	87
22	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo açúcares x cálcio.....	88

23	Análise do teor médio de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo géis x açúcar x cálcio.....	88
24	Análise do valor médio de resistência à penetração (kg - sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose (15%).....	94
25	Análise do valor médio de resistência à penetração (kg - sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	94
26	Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com géis de polissacarídeos de naturezas diferentes.....	97
27	Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos sem e com a adição de sacarose (15%).....	97
28	Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	98
29	Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito géis x cálcio.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Regiões de concentração de ligações iônicas (“egg box”), com ions cálcio atuando como pontes iônicas entre os resíduos galacturonatos carregados negativamente.....	8
2 Diagrama de estado para um sistema binário sacarose-água.....	24
3 Diagrama de blocos mostrando as principais etapas envolvidas no experimento.....	31
4 Desenho esquemático mostrando a posição das amostras no interior do recipiente no processo de infusão a vácuo.....	33
5 Curvas temperatura-tempo para sistemas de hidrocolóides usados como pré-tratamentos em frutos submetidos ao congelamento em ar estático.....	45
6 Curvas temperatura-tempo obtidas durante o congelamento de frutos em ar estático submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides de natureza diferente mostrando o efeito destes aditivos na região de transição de fase.....	46
7 Curvas temperatura-tempo para frutos congelados por imersão em pasta de dióxido de carbono + etanol submetidos a pré-tratamentos com sistemas de hidrocolóides de diferente natureza.....	47
8 Curvas temperatura-tempo para frutos congelados por imersão em nitrogênio líquido submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides de diferente natureza.....	48
9 Curvas da fração de água não congelada estimada em função da temperatura para frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóide de natureza diferente.....	56
10 Curvas da fração de água não congelada estimada em função da temperatura para frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides adicionados de sacarose (15%) e nitrato de cálcio.(0,5%).....	57

11	Curvas da fração de água não congelada estimada em função do tempo para frutos congelados em ar estático submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides de natureza diferente.....	61
12	Diagrama para o teor de água de frutos após o descongelamento e drenagem submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose 15%	73
13	Diagrama para o teor de água de frutos após o descongelamento e drenagem submetidos a pré-tratamentos com sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	73
14	Diagrama para a perda de fluido por exsudação (%P/P) após o descongelamento de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose 15%.....	83
15	Diagrama para a perda de fluido por exsudação após o descongelamento (%P/P) de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio.....	83
16	Diagrama para a perda de fluido por exsudação após o descongelamento (%P/P) de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo os sistemas gel + sacarose + cálcio.....	84
17	Diagrama para o teor de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	89
18	Diagrama para o teor de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	89
19	Diagrama para o teor de sólidos solúveis totais (°BRIX) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio.....	90
20	Diagrama para os valores da resistência à penetração de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	92
21	Diagrama para os valores da resistência à penetração de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose (15%).....	92
22	Diagrama para os valores da resistência à penetração de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio.....	93
23	Diagrama para o índice de difusão por capilaridade de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose (15%).....	99

24	Diagrama para o índice de difusão por capilaridade de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de nitrato de cálcio (0,5%).....	99
25	Diagrama para o índice de difusão por capilaridade de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas gel + sacarose + cálcio.....	100
26	A-Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica do fruto fresco antes de ser submetido aos processos de congelamento.mostrando a conformação da estrutura da parede celular.....	102
	B-Fotomicrografia obtida por microscopia ótica do fruto fresco antes de ser submetido aos processos de congelamento mostrando em detalhes espaços intercelulares.....	103
27	Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados sem pré-tratamentos com hidrocolóides, e pré-tratados apenas com solução de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	105
28	Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de pectina (1%) sem e com a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	110
29	Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de CMC (0,5%)+CM(0,1%) com e sem a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	112
30	Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de amido gelatinizado (5%) com e sem a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	114
31	Fotomicrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização do fruto congelado e sem pré-tratamentos com hidrocolóides.....	118
32	Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos congelados em ar estático submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de pectina (1%) com e sem a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	119
33	Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos congelados em ar estático submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de CMC (0,5%) + CM (0,1%) com e sem a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	120
34	Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos em ar estático submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de amido gelatinizado (5%) com e sem a adição de sacarose (15%) e/ou nitrato de cálcio (0,5%).....	121

RESUMO

RESENDE, Jaime Vilela de. **Redução de danos de congelamento em frutos de melão (*Cocumis melo L. Inodorus*) utilizando substâncias crioprotetoras de concentrações e origens diversas.** Lavras: UFLA, 1995. 136p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos)*.

A adição de sistemas de hidrocolóides constituídos de pectina (1%), carboximetilcelulose (CMC) (0,5%) e amido gelatinizado (5%) adicionados ou não de sacarose (15%) e nitrato de cálcio (0,5%) foram testados com o objetivo de se avaliar a influência destes sobre o crescimento de cristais de gelo no interior da microestrutura celular de melões congelados, com diferentes velocidades de resfriamento. A ocorrência de uma possível interação destes sistemas com componentes da parede celular, e, as consequências destes efeitos sobre as propriedades texturométricas e microestruturais dos frutos descongelados também foram avaliados.

Foram avaliados parâmetros físico-químicos para se estabelecer a extensão dos danos celulares tais como a fração de água não congelada, taxa de cristalização, sólidos solúveis totais, perda de fluido por exsudação, capacidade de retenção de água após o descongelamento. As

* Orientador: Prof. Dr. José Cal-Vidal. Membros da banca: Prof. Dr. Prabir Kumar Chandra e Prof. Dr^a Lisete Chamma Davide.

rupturas do tecido causadas pelo crescimento de cristais de gelo foram visualizadas por fotomicrografias obtidas por microscopia ótica e as disposições dos sistemas de hidrocolóides junto a parede celular puderam ser analisadas por microscopia eletrônica de varredura do material congelado e liofilizado.

Os tratamentos com sistemas constituídos de amido gelatinizado e pectina, adicionados de sacarose e íons cálcio foram os que apresentaram melhores resultados na manutenção da estrutura, menor perda de líquido e melhor textura do material descongelado. Os tratamentos com cálcio, foram os principais responsáveis pela manutenção da firmeza dos frutos. Sistemas constituídos de CMC apresentaram uma grande capacidade de retenção de água após o descongelamento mas mostraram-se ineficientes quanto a manutenção da microestrutura celular e textura.

Os parâmetros físico-químicos e análises microscópica da estrutura celular, permitiram estabelecer alguns efeitos interativos entre sistemas de hidrocolóides e parede celular responsáveis pela obtenção de estruturas menos danificadas. Estudos histológicos por microscopia ótica permitiram verificar os efeitos das interações sobre o aumento da resistência da parede ao rompimento celular causado por cristais de gelo, e, a influência da velocidade de congelamento sobre os aspectos microestruturais do tecido. A mobilidade da água necessária ao crescimento dos cristais de gelo em sistemas de hidrocolóides foi discutida em termos da fração de água não congelada.

SUMMARY

REDUCING FRUIT DAMAGE DURING FREEZING OF MELON (*Cocumes melo L. Inodorus*) USING CRYOPROTECTANTS FROM DIFFERENT SOURCES

Fruits submitted to the freezing process normally suffer mechanical damage as a result of the action of ice crystals on their cellular walls. In this research the addition of hydrocolloid systems made up of pectin (1%), Carboxymethylcellulose (CMC) (0.5%) and gelatinized starch (5%) added to sucrose (15%) and calcium salts (0.5%) was tested to evaluate the influence of these compounds on the growth rate of ice crystals inside the cells of frozen melons, under several cooling rates. A possible interaction of these compounds with cell wall components and the consequences of such effects on the textural and microstructural properties of the thawed fruits were also considered.

Physicochemical parameters were evaluated to establish the extension of cellular damage. Some of these indices were: unfrozen water fraction, crystallization rates, soluble solids content, loss of cellular fluid by exudation, and water holding capacity after thawing. Tissue disruption due to ice crystal growth was determined through optical microscopy and the physical

distribution of gels on the cell walls was examined by Scanning Electron Microscopy on frozen and freeze-dried materials.

Starch and pectin systems, with the addition of sucrose and calcium ions presented the best results as structure builders, best texture promoters and the highest cell water retention. Calcium treatments were responsible for the firmness found in fruits after freezing. Hydrocolloid systems made up of CMC presented samples with a high water retention capacity after freezing, but seemed to be ineffective in keeping the cellular microstructure and texture.

Physicochemical parameters and microscopic analyses of cellular structure, permitted to establish some interactive effects between hydrocolloid systems and the cell wall responsible for less damaged fruit structures. In addition, histological studies by optical microscopy permitted the verification of a possible increase on the wall resistance to ice crystal damage, and, the influence of cooling rates on the maintenance of cellular microstructure. The water mobility required for the ice crystal growth in the hydrocolloid systems was discussed in terms of unfrozen water fraction.

1 INTRODUÇÃO

Frutos e hortaliças se deterioram rapidamente quando armazenados à temperatura ambiente. Além disto, a produção é sazonal em muitas partes do mundo. Logo, é necessário que se desenvolvam métodos de preservação essenciais que prolonguem este período de armazenamento. O ideal é que sua estrutura original e composição química sejam mantidas intactas, tais quais as encontradas no momento da colheita.

O congelamento tem sido um método eficaz no armazenamento de frutos e hortaliças, diminuindo os efeitos de deterioração quando o alimento é exposto a altas temperaturas. Tal deterioração é devida principalmente a reações químicas, a ações enzimáticas ou a processos de degradação biológica como por exemplo os oriundos da ação de microorganismos. O congelamento embora eficiente produz efeitos prejudiciais que dependem da velocidade e do meio congelante.

O congelamento e descongelamento em células e tecidos vegetais promovem certos prejuízos à estrutura e às funções celulares. Uma das formas de prejuízo mais frequentemente encontrada se relaciona com as mudanças de permeabilidade das membranas manifestadas pela

perda de turgor, perda de fluido e a incapacidade das células para mudarem de volume sob a ação de soluções hiper e hipotônicas.

A formação de cristais de gelo em tecidos vegetais pode levar a danos irreversíveis da parede celular, lamela média e protoplastos. Com tais danos estruturais, as propriedades texturométricas podem ser muito inferiores àsquelas do tecido original.

Segundo Fennema, Powrie e Marth (1973), o desenvolvimento de cristais de gelo extracelulares pode causar separação celular na região da lamela média, ruptura da parede celular, e contração celular do material congelado (shrinkage).

Vários estudos (Luyet, 1968; Fennema, Powrie e Marth, 1973; Ahmed, Mirza e Arreola, 1991) têm mostrado que a extensão do dano texturométrico está relacionada com o grau de rompimento do tecido. O tipo e extensão do criodano no tecido é dependente da localização e tamanho do cristal de gelo, e, isto é governado pela velocidade de congelamento e condições de armazenamento.

Quando o tecido é congelado lentamente, os cristais de gelo estão localizados predominantemente nas regiões extracelulares (Fennema, Powrie e Marth, 1973; Bomben e King, 1982). Espaços intercelulares são provavelmente os locais onde a cristalização do gelo é primeiramente iniciada. Estes espaços contêm indubitavelmente vapor d'água que condensa nas paredes celulares como pequenas gotículas e subsequentemente se convertem em cristais de gelo à temperatura de congelamento. A formação de gelo extracelular cria um gradiente de pressão de vapor e energia livre fazendo com que a água intracelular se mova através da parede celular e contribua para o crescimento de gelo extracelular.

No congelamento rápido, não há tempo suficiente para que ocorra a mobilidade da água necessária para o crescimento de grandes cristais de gelo. O que ocorre, é a formação de pequenos

cristais intracelulares, amenizando desta forma os danos quando comparados àqueles causados pelo congelamento lento. Isto pode provocar a morte de células vivas, mas tal situação é preferida para a manutenção da qualidade organoléptica do alimento.

Diversos trabalhos (Cox e McMasters, 1941; Brown, 1967; Sterling, 1968; Fuster, Prestamo e Spinosa, 1982a; Fuster, Prestamo, e Canet, 1982b; Main, Morris, e Wehnt, 1986; Garrote e Bertone, 1989) têm sido desenvolvidos com a finalidade de evitar ou diminuir tais criodanos prejudiciais à qualidade texturométrica e microestrutural do alimento descongelado. Estes trabalhos incluem, congelamento rápido, uso de substâncias crioprotetoras, desidratação osmótica, armazenamento a baixa temperatura e descongelamento rápido.

Denomina-se substâncias crioprotetoras, aquelas capazes de reduzirem os danos celulares provocados por efeitos físicos e mecânicos devido ao crescimento de cristais de gelo durante o processo de congelamento.

Pesquisas têm sido feitas com substâncias crioprotetoras em células vivas, porém, existe pouca informação disponível sobre substâncias químicas que efetivamente protegem a qualidade texturométrica de alimentos, e, em particular de frutos e hortaliças, durante o congelamento, armazenamento e descongelamento. O pouco uso de crioprotetores em frutos e hortaliças é devido a uma série de fatores, entre eles podemos destacar o fato de que muitos frutos e hortaliças podem ser congelados satisfatoriamente na ausência de crioprotetores e a toxidez da substância crioprotetora.

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivos:

- selecionar algumas substâncias crioprotetoras na tentativa de evitar ou diminuir danos causados pelo congelamento à microestrutura de frutos tropicais; e
- avaliar a influência da velocidade de congelamento à microestrutura após o pré-tratamento com substâncias crioprotetoras;

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Danos de congelamento em tecidos vegetais

As mudanças que ocorrem em células vegetais durante o congelamento estão fortemente ligadas à estrutura celular. Em tecidos fibrosos como por exemplo feixes vasculares e células de paredes espessas, observa-se que o congelamento tem efeitos menores. Segundo Spies (1980), os distúrbios das propriedades funcionais de células causadas pelo processo de congelamento ocorrem especialmente em células finas do parênquima de frutos e podem ser citados a seguir:

- coagulação do plasma (plasmólise), levando à separação do plasma da parede celular, e à liberação irreversível de água do sistema celular (perda de suco);
- perda da semi-permeabilidade das membranas, resultando, por exemplo em uma diminuição do turgor celular e perda de importantes propriedades texturométricas, mistura dos compostos celulares (degradação de substâncias essenciais e formação de substâncias indesejáveis) e perda de constituintes importantes por lixiviação.

- Relaxamento do tecido devido a danos a substâncias tais como a pectina. A extensão do dano depende do estado fisiológico da célula e da velocidade de congelamento. Células jovens e tecidos com vacúolos pequenos e teor de matéria seca relativamente alto, tais como células contendo amido ou tecido fibroso, geralmente mostram mudanças menos severas à mesma velocidade de congelamento que células velhas, com grandes vacúolos e com um baixo teor de matéria seca (Spies, 1979).

Vários trabalhos foram feitos com o objetivo de determinar os danos microestruturais de tecidos vegetais, especialmente aqueles responsáveis pela qualidade textuométrica de frutos após o descongelamento. Estudos histológicos com esta finalidade foram feitos por Cox e McMasters (1941) para pêssegos, Brown (1967) para feijões verdes, Sterling (1968) para maçãs, Ahmed, Mirza, e Arreola (1991) para cenouras e Marti e Aguilera (1991) para "blueberries" e "wild blackberries". As seções microscópicas mostraram alterações estruturais que apareceram após o descongelamento. A perda da firmeza foi atribuída aos danos causados aos tecidos devido a perda de materiais pécticos pela laméla média, ruptura da parede celular e separação das células. Os tecidos enfraqueceram a medida que sua coesividade foi destruída pelo crescimento da massa de gelo cristalina nos espaços extracelulares.

A parede celular pode ser considerada como um sistema de três fases, uma cristalina ou de componentes fibrilares semi-cristalinos, a celulose; um componente tipicamente amorfo, a matriz, consistindo de polissacarídeos pécticos e uma quantidade significativa de proteínas; e, por último, um componente de recheio. Na parede celular primária este componente é a água que pode ser responsabilizada por mais da metade do peso total da parede (Hall, 1979; Melford e Dey, 1986).

As propriedades mecânicas da parede celular em materiais vegetais refletem as propriedades mecânicas dos respectivos tecidos. A elasticidade, resistência e rigidez dos tecidos de frutos, por exemplo, são atribuídos às propriedades e interações dos componentes da parede celular. A natureza poli-hidroxílica dos principais polímeros da parede refletem que, provavelmente, uma grande quantidade de pontes de hidrogênio se formarão na parede celular, o que é estruturalmente significativo quando um número substancial de ligações se forma entre duas macromoléculas. (Brett e Waldron, 1990).

As ligações de hidrogênio descritas acima provavelmente são intensificadas na ausência de água, visto que ligações de hidrogênio polissacarídeo-água competirão com as ligações polissacarídeo-polissacarídeo. Portanto, paredes em que o teor de água é baixo, mostrarão maior resistência devido ao aumento de ligações de hidrogênio.

Ligações iônicas também ocorrem entre dois resíduos de ácidos galacturônicos próximos, com ions cálcio atuando como pontes iônicas entre os ions galacturonatos carregados negativamente (Figura 1). Regiões de concentração de ligações, chamadas "egg box", provavelmente são de comprimento limitado, mas pode ocorrer com frequência bastante para surgir uma estrutura gélica na parede semelhante àquela encontrada na pectina isolada (Hall, 1979; Melford e Dey, 1986; Brett e Waldron, 1990).

No processamento, não é possível fazer generalizações sobre o efeito de técnicas comumente usadas como pré-tratamentos sobre a textura e estrutura da parede celular. Porém, os processos onde ions Ca^{2+} incluídos para prevenir o amolecimento de frutos podem facilmente ser relacionados aos efeitos destes tratamentos à estrutura da parede celular. É bem conhecido que elementos das cadeias de polissacarídeos pécticos podem acondicionar-se de forma intermolecular em associação com o cálcio para formarem géis. O cálcio se fixa dentro de

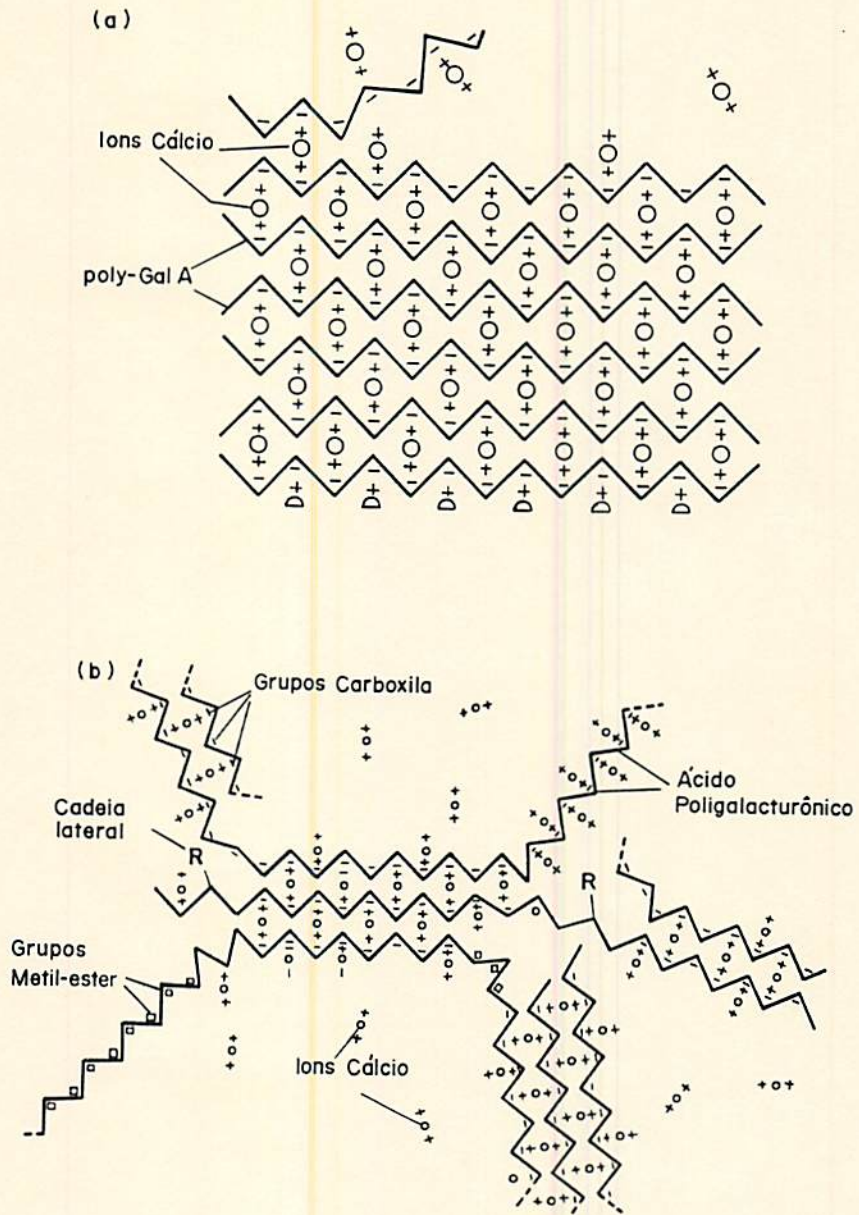


FIGURA 1 - Regiões de concentração de ligações iônicas ("egg box"), com ions cálcio atuando como pontes iônicas entre os resíduos galacturonatos carregados negativamente.

cavidades entre as cadeias ligando-se a grupos carboxilatos e outros átomos eletronegativos que são ligantes favoráveis. A formação de géis de polissacarídeos resulta em textura mais firme e aumento da estabilidade das interligações entre os componentes celulose/hemicelulose e o restante da matriz. (Hall, 1979).

Outros processos que provavelmente influenciam a estrutura da parede celular principalmente por reações na lamela média e conseqüentemente se relacionam à adesão celular envolvem o uso de enzimas capazes de desesterificar polissacarídeos pécticos aumentando os sítios de ligações sendo pré-tratamentos a baixa temperatura usados para aumentar tal desesterificação. O controle do pH e seus efeitos sobre os componentes poligalacturônicos também tem sido mencionado. As ligações de hidrogênio na interface celulose/hemicelulose podem ser afetados pela transferência a um pH ácido. (Hall, 1979)

De uma maneira geral, em frutos, a utilização de soluções de açúcares, géis de polissacarídeos, sais de cálcio e sódio, e, associações e misturas envolvendo estes tem sido os indicados como substâncias que aumentam a resistência da estrutura celular ao congelamento. Grande parte destes compostos atuam seja interagindo com os componentes da parede celular ou reduzindo o crescimento de cristais de gelo, mantendo a integridade da microestrutura após o descongelamento.

Trabalhos feitos adicionando sais de cálcio antes do congelamento com o objetivo de se obter uma boa textura após o descongelamento foram realizados por Fuster, Prestamo, e Canet (1982a) tratando morangos. Os morangos foram processados antes do congelamento em soluções de vários colóides com concentração de 0,1 a 0,4%. Os colóides (pectina, alginato e extrato de agar) em presença de açúcares mostraram um melhoramento na textura o mesmo ocorrendo com soluções de pequenas concentrações de sais de cálcio. O efeito da adição de sais de cálcio na

manutenção da textura e estrutura celular do tecido de maçãs, morangos e cogumelos congelados também são apresentados por Fuster, Prestamo e Spinosa (1982a) e por Paoletti e Menessatti (1993) após pré-tratamentos com ions Ca^{2+} (CaCl_2) anterior ao congelamento de maçãs. Os resultados demonstraram novamente que a presença de ions Ca^{2+} melhorara a textura característica dos frutos quando comparadas às amostras não tratadas.

2.2 A desidratação osmótica como um tratamento para amenizar os danos de congelamento

A desidratação osmótica é uma técnica útil para a concentração do teor de sólidos solúveis de frutos, realizada colocando o fruto, inteiro ou em pedaços, em soluções aquosas hipertônicas. Devido a uma pressão osmótica superior da solução, surge uma força motriz para a remoção de água do fruto.

Isto dá origem a dois escoamentos simultâneos em contra-corrente: - um é o escoamento de água do fruto para a solução, e o outro, é a transferência ao mesmo tempo do soluto para o interior do fruto, ambos devido ao gradiente de atividade entre água e soluto através da membrana celular. (Yang e LeMaguer, 1992; Torreggiani, 1993)

A remoção parcial da água do fruto anterior ao processo de congelamento leva à concentração dos componentes citoplasmáticos no interior das células, à redução do teor de água livre, a queda do ponto de congelamento e ao aumento do grau de superresfriamento. Todos estes fatores permitem uma redução do calor latente global de congelamento, uma velocidade de congelamento superior, um aumento do fenômeno de microcristalização devido à menor proporção sólido/cristal, uma redução do peso e volume do fruto congelado, menor perda de fluido com o

descongelamento e melhor textura e sabor quando o fruto é descongelado (Khan, Eapen e Seneca, 1982; Pinnavaia, Dalla Rosa e Lericci, 1989).

Bastante informação existe acerca dos processos que combinam osmose direta-congelamento, também chamados "osmo-dehydrofreezing" aplicados a frutos. Geralmente se usam soluções de açúcares de altas concentrações e a influência da concentração é avaliada levando em conta a transferência de massa e a cinética da secagem e do congelamento/descongelamento e algumas medidas características de frutos (tais como textura e retenção de aroma) antes e após o processamento.

O uso de soluções de açúcares como pré-tratamento antes do processo de congelamento resulta em uma grande perda de água e num aumento no teor de sólidos resultantes da desidratação osmótica e a penetração dos solutos protege parcialmente os tecidos dos danos de congelamento, reduzindo a perda por exsudação durante o descongelamento (Garrote e Bertone, 1989).

2.3 Efeito da velocidade de congelamento sobre as propriedades mecânicas e microestruturais de frutos congelados

A qualidade e quantidade de alimentos congelados são ambos influenciados por fatores relacionados a velocidade de congelamento. Muitas características de qualidade de um alimento congelado são influenciadas pelo tamanho do cristal que é uma função da velocidade de congelamento.

O tamanho e localização dos cristais de gelo formados durante o processo de congelamento afetam a textura final do fruto descongelado. Em um congelamento rápido, a velocidade de congelamento é rápida o bastante para que a plasmólise não ocorra e forme gelo

intracelular. Neste tipo de congelamento, a velocidade de crescimento dos cristais de gelo iniciais é insuficiente para manter o equilíbrio com a velocidade de resfriamento, assim se produz um superresfriamento e uma maior nucleação. O resultado é um aumento no número de cristais formados com uma diminuição do seu tamanho. O congelamento lento geralmente causa um crescimento de cristais de gelo a nível extracelular entre a membrana citoplasmática e a parede celular, o que dá lugar a grandes cristais, máximo deslocamento de água, perda de turgência e qualidade final do fruto deficiente (Reid, 1983; Marti & Aguilera, 1991).

Muitos dos trabalhos relacionando qualitativamente a estrutura do gelo e velocidade de congelamento foram feitos visualizando seções microscópicas do tecido de frutos congelados. (Brown, 1967; Sterling, 1968; Marti e Aguilera, 1991). Quando o congelamento foi lento estes registraram a existência de grandes estruturas de gelo, células encolhidas e paredes celulares rompidas. No congelamento rápido as células não sofreram danos visíveis na estrutura celular, reduzindo a degradação da textura.

Mazur (1963) citado por Bomben e King (1982), foi considerado o primeiro a examinar quantitativamente o transporte de água envolvido no congelamento celular. Ele aplicou conceitos de termodinâmica básica e transferência de massa ao redor de uma célula individual circundada por um meio infinito de uma solução aquosa. Os cálculos de Mazur mostraram que o resfriamento lento de uma célula permite tempo para a água sair da célula por permeação através do plasmalema e portanto manter a solução intracelular próxima à concentração de soluto que tem um ponto de congelamento de equilíbrio na temperatura corrente. Se a célula é resfriada rapidamente a água não pode permear rápido o bastante, assim, a solução intracelular afasta-se acentuadamente da concentração de equilíbrio, e a probabilidade de nucleação intracelular é aumentada.

Quando uma célula congela intracelularmente, o líquido torna-se uma solução superresfriada na qual, tendo sido nucleada de alguma forma, o gelo cresce por toda parte. O mecanismo de nucleação não é claro e uma teoria foi postulada com base na hipótese de que com velocidades de congelamento rápidas, o gelo formado extracelularmente tem um raio de curvatura suficientemente pequeno para nuclear a solução através dos poros que existem nas membranas celulares (Mazur, (1963) citado por Bomben e King, 1982)

A morfologia do gelo em tecidos de maçãs congelados como uma função da velocidade de congelamento foi examinada por Bomben e King (1982) usando microscopia eletrônica de varredura (SEM-Cold Stage). A análise dos resultados permitiu fazer uma interpretação quantitativa das observações feitas com o SEM. Velocidades de congelamento rápidas (>10 K/min) levam completamente a gelo intracelular no tecido de maçãs e nenhum "shrinkage" apreciável no volume celular. Com velocidades de congelamento mais lentas (<1 K/min) os cálculos mostraram plasmólise das células, levando à formação de gelo extracelular e de células drasticamente danificadas. Velocidades de congelamento intermediárias ($1 < V < 10$ K/min) mostraram evidências de gelo extracelular, células parcialmente danificadas e gelo intracelular.

Durante o congelamento de tecidos, com a formação de gelo, a fase da solução remanescente torna-se mais concentrada. Se as membranas celulares estão intactas e resistem a passagem do gelo, existe uma conseqüente força motriz para a desidratação das células por um processo osmótico. Dependendo da velocidade de resfriamento da parede celular à água, o conteúdo celular pode superresfriar. Com o resfriamento suficientemente rápido, as células podem congelar internamente. Com o resfriamento lento, apenas gelo extracelular é formado e as células desidratam. Se sais são precipitados, podem mudar o pH. Tecidos diferentes podem exibir comportamentos diferentes. A complexidade do processo de congelamento, contudo, não é apenas

devida a variabilidade dos tecidos. O mecanismo da formação do gelo durante o resfriamento até mesmo de uma solução simples é muito complexo e é uma consequência da interação de uma série de fatores tais como o resfriamento do meio, a nucleação dos cristais de gelo e o subsequente crescimento e recristalização destes cristais juntamente com a possível formação de outras fases sólidas (Reid, 1983).

Com o resfriamento, uma concentração ocorre quando a maior parte da água original é sequestrada localmente como cristais de alta pureza, forçando assim todos os constituintes não aquosos no interior de uma pequena quantidade de água que permanece não congelada. Esta concentração altera dramaticamente a fase não congelada com relação a propriedades tais como o pH, força iônica, ponto de congelamento, pressão osmótica e potencial de oxi-redução.

O grau de deslocamento da água para a formação de cristais de gelo depende da velocidade de congelamento. O congelamento rápido, devido à quantidade numerosa de cristais resulta em menos deslocamento que no congelamento lento. Os cristais de gelo produzidos durante o congelamento estão em um estado de não equilíbrio com os cristais, sendo os cristais resultantes do congelamento rápido removidos mais rapidamente do equilíbrio que aqueles produzidos pelo congelamento lento. O congelamento rápido pode inibir a formação do gelo e portanto aumentar a probabilidade do estado de não equilíbrio sólido-líquido; e, o congelamento rápido cria uma grande área interfacial (pequenos cristais, frequentemente dendríticos) e cristais possuindo um alto nível de energia livre interna (estruturas imperfeitas). Além disso o estado dos cristais de gelo é instável e sofre alterações físicas movendo-os para mais próximo do equilíbrio termodinâmico. Com o passar do tempo, os cristais de gelo crescem em tamanho, agregam, diminuem em número e assumem morfologias mais compactas e estruturas internas mais perfeitas na tentativa de atingir um estado de equilíbrio caracterizado por energia livre mínima e potenciais

químicos equalizados em todas as fases. Este processo é referido como maturação ou recristalização sendo acelerado sob flutuações de temperatura. (Reid, 1983; Fennema, 1991).

2.4 Cristalização inicial da água em tecidos vegetais

2.4.1 Superresfriamento em tecidos vegetais

A cristalização, ou a transformação da água em gelo, é a transição de fase básica que ocorre durante o congelamento de alimentos. O estágio inicial da cristalização determina a temperatura mais baixa em que o armazenamento refrigerado de alimentos, incluindo frutos é possível.

Um fenômeno complexo que antecede o congelamento é o superresfriamento. A retirada de calor da água líquida reduzirá permanentemente sua temperatura à abaixo de 0 °C, mas o gelo não se formará necessariamente. O superresfriamento ocorrerá frequentemente e somente em circunstâncias particulares formarão cristais de gelo, e, quando se formam, o calor latente de cristalização causa a diminuição da velocidade de resfriamento do sistema ou a interrompe até a mudança de fase estar completa (Reid, 1983).

O superresfriamento da água em frutos é dependente de uma série de fatores físicos e termodinâmicos tais como a composição química e concentração de sólidos (especialmente de açúcares, ácidos e pectina), a variedade e estado fisiológico do produto, a viscosidade do protoplasma, a estrutura histológica dos tecidos, as dimensões das células, a permeabilidade de suas membranas atuando as vezes como sérios obstáculos à cristalização, a temperatura do meio refrigerante e o coeficiente de transferência de calor (Guegov, 1981).

Guegov (1981) em seu trabalho de revisão faz uma série de colocações sobre o fenômeno de superresfriamento que devem ser mencionadas:

- é impossível a cristalização de um líquido sem superresfriamento;
- em tecidos vegetais o superresfriamento pode sempre ser observado a uma velocidade de congelamento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$;
- durante o congelamento de frutos frescos com uma velocidade de $40\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, o superresfriamento anterior a nucleação é observado em todos os casos;
- o limite máximo de superresfriamento não excede $6.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ em sistemas modelos (agar, géis de gelatina e soluções de proteínas), e, em géis de gelatina contendo menos que 35% de água, nenhum gelo aparece até mesmo a baixas temperaturas;
- a temperatura de superresfriamento de tecidos vegetais não pode ser inferior a -5 a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, normalmente não excedendo 2 a $3\text{ }^{\circ}\text{C}$, e, de acordo com Popmarinov (1964) (citado por Guegov, 1981), frutos podem ser superresfriados de -5 a $-6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- pesquisas com uvas demonstram que a temperatura de superresfriamento correlaciona com o teor de sólidos solúveis totais de frutos e outras condições semelhantes, sendo que quanto maior é o teor de sólidos solúveis totais, mais baixa é a temperatura de superresfriamento;
- a estabilidade do superresfriamento varia em diferentes frutos, sendo que quanto mais alta a densidade e condutividade térmica do produto, mais curto será o período para o fruto permanecer no estado superresfriado.

2.4.2 Controle da cristalização (nucleação e crescimento de cristais de gelo) da água -

Princípio da crioproteção

A cristalização inicia quando condições favoráveis são alcançadas para a agregação em um arranjo ordenado de um grupo de moléculas formando partículas chamadas núcleos de cristalização. Estas condições são determinadas pela correlação entre temperatura, velocidade de resfriamento, concentração de solutos e magnitude das forças orientando as moléculas no líquido (Guegov, 1981).

Dois tipos de cristalização inicial são possíveis: homogênea e heterogênea (catalítica). Os centros de cristalização homogênea são formados durante uma agregação aleatória de moléculas de água em estruturas de gelo acima de um tamanho crítico. A nucleação homogênea é aquele processo onde agregados de moléculas surgem espontaneamente por flutuações de densidades aleatórias. Em termos termodinâmicos, o ponto de equilíbrio do congelamento ($T_E = 273,16$ K) indica a temperatura na qual as energias livres de Gibbs (potenciais químicos) das fases líquida e gelo são as mesmas. A formação de um núcleo leva a um desequilíbrio, energia superficial positiva (σ^{iw}) e uma energia livre de volume negativa (A). A soma destas duas componentes e as contribuições relativas destas à energia livre global com o aumento do raio é a razão para a existência de um tamanho de núcleo crítico a uma dada temperatura. De acordo com a teoria clássica da nucleação a energia livre de formação (ΔF) de um agregado de moléculas de água (considerada uma esfera de raio r) é dada por:

$$\Delta F(r) = \frac{4}{3}\pi r^3 A + 4\pi r^2 \sigma^{iw} \quad (1)$$

onde A é a energia livre de formação da unidade de gelo a partir da solução (negativa) e σ^{iw} é a energia superficial da interface gelo-solução (positiva). A diferenciação mostra que o raio crítico existe

fazendo $\frac{\partial F}{\partial r} = 0$ tem-se:

$$r^* = - \frac{2\sigma^{iw}}{A} \quad (2)$$

agregados com $r < r^*$ são instáveis, mas agregados que atinjam r^* por uma flutuação oportuna atuará como núcleo de crescimento para o gelo. O raio crítico (r^*) diminui com a redução da temperatura e a probabilidade de nucleação aproxima da unidade por volta de -41 °C que é a temperatura de nucleação homogênea.

Para a nucleação homogênea a taxa de formação de núcleos por unidade de volume é uma função da temperatura da seguinte forma:

$$J \propto \exp(-\Delta T^{-2} T^{-3}) \quad (3)$$

onde ΔT é o superresfriamento ($\Delta T = T_E - T$) e T é a temperatura absoluta.

Com velocidades de congelamento rápidas, a velocidade de propagação de gelo inicial é insuficiente para manter o equilíbrio com a taxa de retirada de calor e um aumento no superresfriamento (ΔT) ocorre. Acompanhando este superresfriamento está um aumento na frequência de nucleação formando núcleos mais ativos. Durante o congelamento lento a propagação do gelo pode manter o equilíbrio com a retirada de calor e o resultado são poucos núcleos ativos, e, pequena quantidade de grandes cristais de gelo são formados (Guegov, 1981; Reid, 1983; Muhr, Blanshard e Sheard, 1986; Blanshard e Franks, 1987).

A nucleação heterogênea ocorre quando partículas sólidas atuam como sítios para a formação do cristal. A presença de uma superfície ativa de uma partícula dentro do sistema

introduz uma região de energia livre superficial que aumenta a probabilidade de formação de um agregado de dimensões críticas. Normalmente estas partículas são substâncias que são insolúveis em água e seu tamanho, localização e características moleculares determinam o caráter de formação do gelo visto que o número de moléculas de água que necessitam ordenação inicial é muito mais baixo, a temperatura de nucleação é mais alta que aquela da nucleação homogênea.

Em sistemas biológicos a presença de membranas celulares interfere substancialmente no curso normal da cristalização inicial ao lado das células. Se sob congelamento a célula permanece intacta, a cristalização intracelular não pode ocorrer antes que uma determinada temperatura seja atingida, quando o raio crítico do cristal é menor que o raio dos poros na parede celular e a cristalização possa penetrar no interior do citoplasma (Guegov, 1981).

O crescimento do cristal de gelo é possível uma vez que ocorra nucleação. Enquanto a nucleação exige vários graus de superresfriamento, o crescimento do cristal ocorre com o mínimo superresfriamento. A velocidade de resfriamento é o fator básico na obtenção de certo tipo de estrutura cristalina, e, é mais significativa para o crescimento do que a temperatura. O crescimento do gelo a partir da água pura é um processo complexo e a introdução de solutos aumenta ainda mais os níveis de complexidade. A viscosidade da solução desempenha uma importante função neste processo, mas outros fatores também estão envolvidos. Estes fatores incluem a rejeição do soluto a partir da interface de crescimento do gelo e também, possivelmente, a adsorção seletiva dos solutos na interface de crescimento. As três taxas potenciais importantes nas etapas determinantes para o crescimento do cristal são a transferência de calor, a transferência de massa e a cinética das reações na interface (Reid, 1983; Muhr e Blanshard, 1986).

Em vista da importância da formação de cristais de gelo em alimentos congelados como um fator na modificação da textura e do rompimento da estrutura celular, consideráveis esforços

para controlar o tamanho do cristal de gelo com a presença de aditivos tem sido motivo de extensos estudos.

Com base nos fatores responsáveis pela nucleação e crescimento de cristais de gelo, uma série de estratégias, dependentes dos objetivos finais e dos produtos ou sistemas biológicos congelados, são propostos por Blanshard e Franks (1987) para o controle da cristalização da água em sistemas alimentares. Estas propostas incluem as estratégias citadas a seguir.

- 1) **A inibição da nucleação.** Onde existe uma redução constante na temperatura de congelamento, existem os benefícios de uma minimização dos processos físicos e químicos sem os efeitos deletérios do congelamento e "freeze-concentration". O ponto de congelamento do produto é abaixado pela introdução de quantidades massivas de materiais osmoticamente ativos, como por exemplo açúcares.
- 2) **O controle da nucleação.** Visto que a nucleação e crescimento são taxas de processos dependentes da temperatura com pontos de ótimos a diferentes temperaturas, então as taxas relativas de nucleação e crescimento dos cristais de gelo podem ser manipuladas explorando apropriadamente as velocidades de transferência de calor e as condições dos parâmetros físico-químicos dos sistemas.
- 3) **O controle do crescimento do cristal de gelo.** A presença e acúmulo de aditivos micro- e macromoleculares podem modificar as propriedades de difusão/coligativas na interface água-cristal de gelo e por meio desta limitar o crescimento extensivo do cristal de gelo ou a recristalização. Indubitavelmente, em alguns sistemas alimentares as macromoléculas (proteínas e/ou polissacarídeos) formam uma rede de gel a baixas ou a temperatura ambiente que, como tem sido demonstrado, reduzem severamente o crescimento e modificam os hábitos do cristal.

Muhr e Blanshard (1986) estudaram a nucleação e crescimento de cristais de gelo em soluções de sacarose contendo goma xantana, alginato de sódio, derivados de celulose e outros géis tais como a gelatina. Não encontraram evidências para suportar a observação de que estes hidrocolóides afetam a quantidade de gelo formada ou que tais estabilizadores por si próprio aumentaram o processo de nucleação homogênea ou heterogênea em soluções de sacarose concentradas em alguma forma que possa explicar a redução observada no tamanho do cristal de gelo. Alguma redução na taxa de crescimento do cristal foi notada quando hidrocolóides estavam presentes em altas concentrações de sacarose e uma profunda alteração do tipo de cristal e velocidade de crescimento foi observada onde as condições permitiram a formação de uma estrutura de gel no sistema. Isto aconteceu quando da gelificação de soluções de alginato de sódio na presença de cálcio, resultando em géis mais firmes, diminuído substancialmente o crescimento dos cristais de gelo e modificando o tipo de estrutura cristalina quando comparada à mesma amostra não gelificada. A redução observada na velocidade de crescimento dos cristais de gelo com polissacarídeos na presença de sacarose parece ser uma consequência do fato de se ter um sistema ternário. A sacarose produziria estabilizadores mais efetivos influenciando na diminuição do ponto de congelamento ou reduzindo a taxa de difusão das moléculas de polissacarídeos. A difusão de macromoléculas seria retardada pelo aumento da microviscosidade devido a presença de moléculas de sacarose predominando na frente da interface do gelo (Blanshard e Franks, 1987).

A redução drástica da taxa de crescimento de cristais de gelo pela presença de uma rede géllica é discutida em termos da interação da frente do cristal de gelo com as fibras (malhas) do gel, que reduzem o ponto de congelamento levando à ruptura das fibras. Um modelo que

identifica os parâmetros relevantes da ruptura das fibras sofridas por géis devido à penetração do gelo na rede foi proposto por Everett e Haynes (1965) e descrito por Muhr e Blanshard (1986).

A capacidade de vários hidrocolóides de inibirem a cristalização da água como influenciada pela temperatura e pela viscosidade foi estudada por Budiaman e Fennema (1987a) e (1987b). Carboximetilcelulose (CMC), gelatina, celulose microcristalina, alginato de sódio e algumas gomas foram testadas quanto a capacidade de reduzir a velocidade de cristalização da água em função da temperatura de superresfriamento inicial. Todas as amostras exibiram um aumento na taxa de cristalização com a redução da temperatura de superresfriamento (ΔT) e com a diminuição da concentração dos hidrocolóides, mas os efeitos variaram com a natureza do hidrocolóide. As gomas exibiram maior dependência da temperatura enquanto CMC + sacarose e alginato de sódio apresentaram dependência mínima. A adição de celulose microcristalina a hidrocolóides mostrou um efeito muito pequeno sobre a taxa de cristalização linear da água. Contudo a adição de sacarose a suspensões de CMC e gomas diminuiu dramaticamente a taxa de cristalização linear da água. Quanto a capacidade dos vários hidrocolóides para inibirem a taxa de cristalização, as gomas mostraram maior efeito inibitório enquanto alginato de sódio mostrou efeito mínimo. A razão para estes resultados foi justificada pelo fato das gomas possuírem numerosos grupos de galactose laterais, que facilitam a hidratação e provavelmente inibem a cristalização da água e os alginatos são polissacarídeos lineares que faltam grupos laterais de tamanhos substanciais. Os resultados levaram a concluir que os hidrocolóides são menos efetivos que a sacarose em retardar a velocidade de cristalização da água.

Quando estudaram a influência da viscosidade sobre a velocidade de cristalização linear da água, Budiaman e Fennema (1987b) notaram que estes hidrocolóides retardaram a velocidade de cristalização da água, e, entre os hidrocolóides testados a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e viscosidade de

3,0 Pa.s, as gomas foram as mais efetivas. Quando na presença de sacarose, concluíram que a sacarose foi um inibidor mais efetivo que qualquer dos hidrocolóides testados, e, a celulose microcristalina teve uma capacidade relativamente pequena para retardar a velocidade de cristalização sob as condições testadas. Para um dado hidrocolóide, a taxa de cristalização linear diminuiu com o aumento da viscosidade, mas várias suspensões de hidrocolóides mostraram valores da taxa de cristalização bastante diferentes à mesma viscosidade e temperatura sugerindo que a viscosidade não é um bom preditor da capacidade dos hidrocolóides de inibirem a cristalização.

O fato dos valores da velocidade de cristalização não serem constantes a viscosidades constantes para várias suspensões de hidrocolóides foi justificado em termos de que a viscosidade reflete a resistência ao escoamento de uma camada flúida sobre a outra com as menores unidades funcionais sendo a molécula de um simples hidrocolóide e sua esfera de hidratação. A resistência a cristalização pode, contudo, depender das associações moleculares (intrapoliméricas, água-polímero) no interior de uma molécula simples do hidrocolóide, e estas não devem refletir no valor da viscosidade.

A ineficiência dos hidrocolóides em retardar a cristalização da água também foi observada por Ferrero, Martino, e Zaritzky (1993) adicionando goma xantana a pastas de amido anterior ao congelamento. Os resultados mostraram que a adição de goma xantana não teve um efeito significativo sobre o crescimento do cristal de gelo.

4) A exploração do estado vítreo. O estado vítreo é caracterizado pela mobilidade molecular extremamente reduzida. Um critério relacionado e largamente citado é que o estado vítreo é um sistema desordenado com uma viscosidade não menor que 10^{14} Pa s. Tal sistema presumivelmente minimizaria qualquer processo quimicamente deteriorativo. O valor potencial do estado vítreo é

visto mais facilmente analisando um diagrama de estado como na Figura 2 para o sistema água-sacarose. A região vítrea é sombreada, e embora com água pura este ocorre apenas à temperaturas abaixo de $-133\text{ }^{\circ}\text{C}$, com sacarose pura, T_g' é $52\text{ }^{\circ}\text{C}$. Deve ser enfatizado, contudo, que o estado vítreo é facilmente atingido apenas por um número limitado de sistemas, principalmente aqueles onde o soluto não cristaliza facilmente das soluções mas ao contrário forma soluções supersaturadas sob concentração.

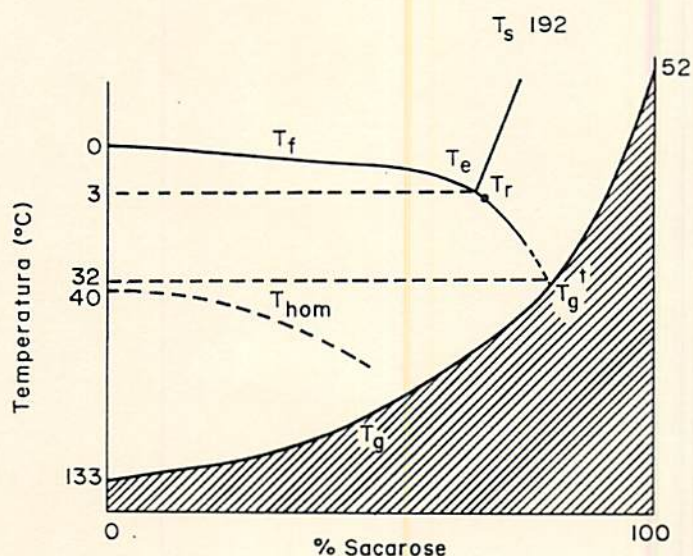


FIGURA 2 - Diagrama de estado para um sistema binário sacarose-água

Com o resfriamento do produto o gelo começa a formar e virtualmente os constituintes não aquosos são rejeitados dos cristais de gelo e permanecem como parte da fase não congelada. Consequentemente, a concentração dos solutos na fase não congelada aumenta e seu ponto de congelamento diminui. Com o resfriamento contínuo a formação de gelo associada à concentração da fase não congelada, os solutos eventualmente atingem suas respectivas concentrações de saturação. A temperatura com que um soluto atinge a saturação é o ponto eutético e esta temperatura é específica para cada soluto.

No diagrama de fase para um sistema binário, a temperatura eutética ocorre na interseção das curvas de ponto de congelamento e de solubilidade. A formação de um eutético consiste da cristalização simultânea de gelo e solutos em proporção constante. A formação de um eutético marca o fim dos processos de concentração.

O resfriamento de um sistema binário a uma temperatura abaixo da temperatura eutética do soluto pode resultar em duas possibilidades: 1) uma mistura eutética pode se formar de acordo com as condições de equilíbrio sólido-líquido ou 2) os solutos podem persistir em um estado metaestável de supersaturação em violação ao estado termodinâmico favorável ao equilíbrio sólido-líquido.

Mais comumente a temperatura eutética está bem abaixo do ponto de congelamento inicial da amostra e quando é atingida, a fase não congelada será muito viscosa porque é rica em solutos e está a uma baixa temperatura. Esta alta viscosidade impede movimentos moleculares necessários para a nucleação de solutos, tornando improvável a formação de um eutético. Na ausência da nucleação de solutos, o soluto permanece em um estado metaestável de supersaturação.

A fase não congelada pode se transformar durante o resfriamento de um estado borracha (“rubbery”) não congelada a um estado vítreo. A conversão é mais provável se a temperatura é baixa e substâncias de alto peso molecular estão presentes.

A temperatura com a qual a fase não congelada passa de um estado borracha a um estado vítreo é referida como a temperatura de transição vítrea, T_g' . Quando a máxima cristalização do gelo ocorre durante o congelamento, a composição do sistema binário segue a curva do ponto de congelamento.

A característica mais notável do estado vítreo é sua viscosidade incrivelmente alta. A criação deste estado de alta viscosidade é de considerável importância visto que inibe a velocidade com que mudanças físicas e químicas podem ocorrer (Fennema, 1991).

Levine e Slade (1989) têm demonstrado que a T_g' varia com o peso molecular e tem discutido como o uso de formulações apropriadas permite manipular T_g' e portanto promover a estabilidade do produto minimizando ou controlando o crescimento do cristal de gelo. Produtos da hidrólise do amido de altos pesos moleculares têm sido comprovados como agentes especialmente efetivos para elevar a temperatura com a qual a transição ocorre.

2.5 Microscopia aplicada a tecidos congelados

2.5.1 Microscopia ótica

O maior problema na observação de tecidos congelados é a importância da localização e tamanho dos cristais de gelo no tecido e como o tecido será afetado após o descongelamento. A preservação de estruturas com cristas de gelo intactos constitui um problema. A fixação do tecido

descongelado ou a fixação durante o descongelamento não apenas pode falhar ao preservar distorções causadas pela formação e crescimento de cristais de gelo mas pode também permitir ao tecido retornar a um estado próximo ao seu estado original, causando perda de informações sobre o tamanho dos cristais de gelo.

O exame de tecidos congelados por microscopia ótica mostra diferenças na estrutura celular em relação à localização dos cristais de gelo e ruptura de estruturas. Este exame pode ser desenvolvido de duas formas: 1) observação direta dos cristais de gelo formados no tecido (microscópio equipado com "Cryostage") e, 2) observação indireta que considera os vazios como representantes dos espaços ocupados pelos cristais de gelo no produto (técnicas de liofilização e freeze-substituição).

A freeze-substituição é baseada na dissolução do gelo no interior do tecido a baixas temperaturas com um solvente líquido contendo agentes químicos fixativos que contribuem para a preservação morfológica e histoquímica do tecido. Os agentes fixativos atuam principalmente introduzindo novas ligações no interior e entre as moléculas dos constituintes do tecido, imobilizando sua estrutura (Feder e Sidman, 1958; citados por Martino e Zaritzky, 1986).

Um método de fixação que não atrapalha a conformação dos cristais de gelo no interior do tecido é o da isoterma de "freeze-fixation" (fixação a frio). Neste método, a técnica preserva estruturas e retém as relações conformacionais da fase gelo em equilíbrio termodinâmico com o tecido congelado. Esta condição é alcançada com uma solução fixativa com um ponto de fusão à temperatura de fixação (que é a temperatura na qual o tecido foi pré-resfriado) e a manutenção destas condições durante o período de fixação. Estas formulações interagem com os componentes do tecido conferindo rigidez a matriz e assegurando que o molde do gelo seja preservado. (Lampila, Mohr e Reid, 1985; Martino e Zaritzky, 1986; Ferrero, Martino e Zaritzky, 1992).

Os aspectos mais discutidos desta técnica são a contração da matriz durante a desidratação química e a seleção de um fixador que minimize este problema.

Segundo Ferrero, Martino e Zaritzky (1992), uma contração acentuada das amostras foi observada com fixadores que apresentam altas concentrações de etanol absoluto, tais como o líquido de Carnoy; o que é atribuído à diferença de pressão osmótica entre a amostra e a solução fixativa. Fixadores formulados com a mínima concentração de etanol compatíveis com a queda do ponto de congelamento mostraram grande versatilidade que permitem a modificação do ponto de congelamento para minimizar as distorções do sistema congelado.

2.5.2 Microscopia eletrônica

Em anos mais recentes a microscopia eletrônica de varredura ou SEM (Scanning Electron Microscopy) tem proporcionado bastante informação sobre a estrutura e orientação celular de frutos visto que a profundidade e a aparência tridimensional das imagens produzidas proporcionam detalhes sobre o arranjo, concavidades e aspectos estruturais da parede celular.

Diversos trabalhos foram realizados com o objetivo de avaliar características microestruturais de tecido vegetais por microscopia eletrônica. Pomeranz, (1976) em um extenso trabalho descreve as principais aplicações e técnicas desenvolvidas para a análise em SEM de materiais voltados para a área alimentar. Trakoontivakorn (1988) visualizou estruturas celulares de maçãs de diferentes cultivares por SEM e analisou as diferenças quanto a áreas celulares, comprimento e espaços intercelulares. Bolin e Huxsoll (1987) observaram mudanças físicas na estrutura celular de maçãs quando o turgor celular foi modificado e mudanças configuracionais nas células foram observadas durante armazenamento, secagem, rehidratação e tratamento químico.

Luo, Patterson e Swanson (1992) estudaram as mudanças estruturais e distribuição de microorganismos através de observações por SEM de tecidos de maçãs tratados com papaína. Lapsley, Escher e Hoehn (1992) examinaram maçãs de diferentes cultivares por microscopia eletrônica convencional (SEM) e SEM "Cold-stage" (CryoSEM) usando vários procedimentos preparativos e discutiram as vantagens, limitações e artefatos de cada técnica.

De acordo com Lapsley, Escher e Hoehn (1992), SEM de maçãs preparadas com fixação em glutaraldeído e "critical-point-drying" mostraram distorções mínimas e aquelas preparadas por liofilização sem fixação do tecido mostraram colapso celular e a diferença de textura entre as cultivares não puderam ser diferenciadas.

Para tecidos congelados, quando se quer observar a morfologia e tamanho de cristais de gelo em maior detalhe, as técnicas usuais de preparação são a freeze-substituição ou a liofilização para observação por SEM, ou então a observação direta usando um SEM-Cold-stage. Na freeze-substituição o gelo é deslocado por um solvente, tal como o metanol, e então o tecido é observado. O problema com esta técnica é que os solutos celulares, bem como o gelo, se dissolverão no solvente. Assim a estrutura dos solutos solidificados desaparecerão e a morfologia dos dendritos de gelo será perdida. Quando a liofilização é usada como técnica de preparação, a perda de solutos é evitada, mas os solutos, especialmente os carboidratos solúveis são susceptíveis a colapso durante a liofilização. Este colapso destrói a estrutura detalhada do gelo. A microscopia eletrônica usando um SEM Cold-stage é a mais conveniente para a observação da morfologia do gelo visto que as amostras congeladas são visualizadas diretamente (Bomben e King, 1982).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A Figura 3, a seguir, apresenta um fluxograma geral esquematizando as principais etapas que envolvem o experimento.

3.1 Preparo das amostras

A princípio, a seleção do fruto tropical para o desenvolvimento do experimento foi feita com base em estudos prévios levando em consideração a sazonalidade de produção, uniformidade da estrutura celular e, principalmente, a sensibilidade do fruto quando submetido ao congelamento, observando o seu comportamento após o descongelamento.

Discos de 3.0 mm de espessura e 25,0 mm de diâmetro foram obtidos a partir de seções medianas de cilindros cortados perpendicularmente à direção axial de melões frescos (*Cocum es melo L. Inodorus*) usando instrumento de corte apropriado. Os discos foram dispostos em uma bandeja, misturados e divididos em quantidades adequadas destinadas à obtenção de dados físico-químicos e microestruturais do fruto "in natura", e, ao pré-tratamento seguido dos processos de congelamento/descongelamento.

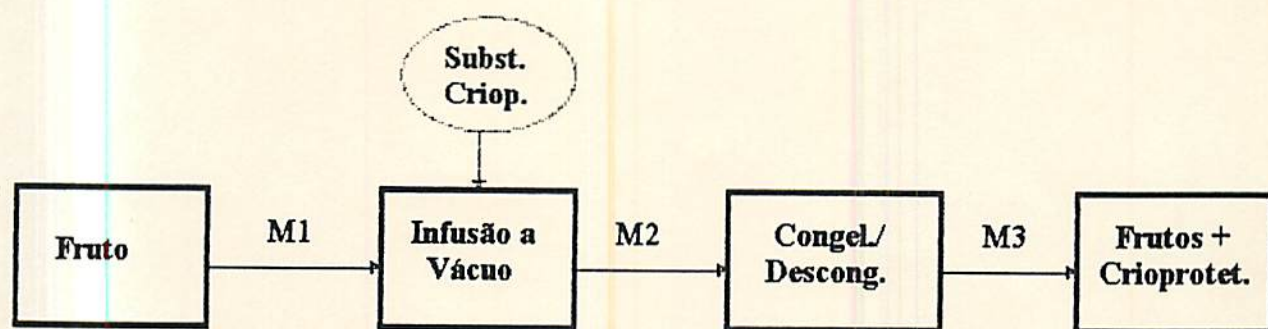


FIGURA 3 - Diagrama de blocos mostrando as principais etapas envolvidas no experimento.
M1 = Massa de frutos antes do pré-tratamento, M2 = Massa de frutos após pré-tratamento com crioprotetores, e, M3 = Massa de frutos após o congelamento/descongelamento.

3.2 Obtenção de dados físico-químicos e microestruturais do fruto "in natura"

Foram processados 32 frutos obtidos no comércio local escolhidos de forma a se obter uniformidade quanto ao estágio de maturação observando os critérios de tamanho, coloração, injúrias e teor de açúcares.

Após o corte, parte dos discos foram submetidos a análises objetivando a determinação do teor de matéria seca e teor de água, sólidos solúveis totais, textura e fixação para a visualização de parâmetros microestruturais.

3.2.1 Determinação do teor de matéria seca e teor de água

Para cada fruto foram feitas pesagens em duplicata de amostras de seis discos, colocadas a seguir, em placas de vidro e submetidas à secagem em estufa a 105 °C até adquirirem peso constante.

3.2.2 Determinação de Sólidos Solúveis Totais (SST)

Pedaços do fruto foram processados em um multiprocessador, a polpa obtida foi filtrada e o teor de sólidos solúveis totais foi determinado por leitura direta em refratômetro de bancada tipo Abeé utilizando o suco filtrado obtido anteriormente.

3.2.3 Determinação da textura

A determinação da textura foi feita utilizando um penetrômetro (Fruit Pressure Tester - Itália) com sonda de 7/16 in de diâmetro e um suporte constituído de uma placa de poliestireno de 35 mm de espessura com furos circulares que se ajustavam exatamente ao diâmetro dos discos do fruto. Os discos foram empilhados no interior destas perfurações e o penetrômetro aplicado na região central dos discos. Os valores da resistência do fruto à penetração foram obtidos por leitura no aparelho.

3.2.4 Microestrutura

Cubos de 5 mm de arestas foram colocados em uma solução fixativa de álcool 70 °GL e FAA (Alcool 70° GL ,Ácido Acético, Formaldeído 10%; 3: 1: 1) à temperatura ambiente destinados ao preparo de amostras para microscopia ótica. As demais etapas serão sucintamente descritas posteriormente.

3.3 Pré-tratamentos

Quatro amostras constituídas de 6 discos foram primeiramente pesadas e dispostas em um recipiente (a partir do fundo) de forma a ficarem isoladas durante o processo de infusão. Para a separação das amostras, foram utilizadas peneiras de material plástico de malha fina cortadas com o mesmo diâmetro do recipiente. Uma quantidade maior de discos do fruto foi colocada na parte superior do recipiente, acima das amostras mencionadas anteriormente e este procedimento está esquematizado na Figura 4.

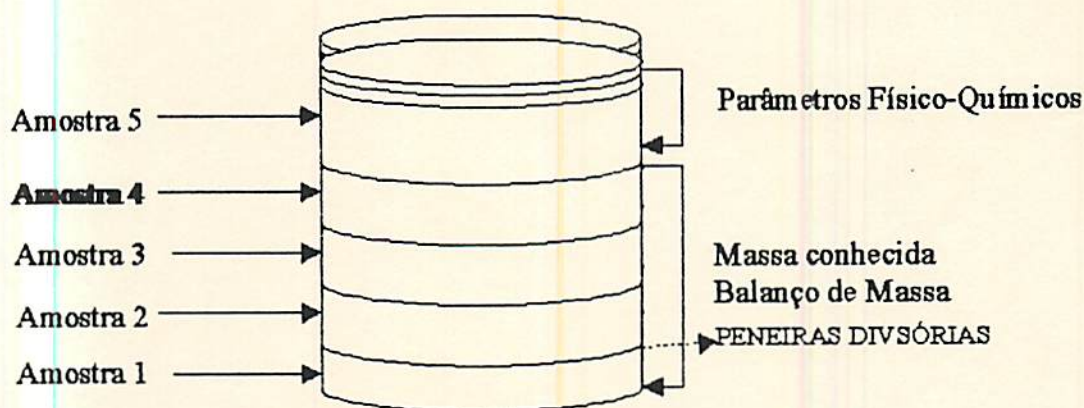


FIGURA 4 - Desenho esquemático mostrando a disposição dos discos no interior do recipiente submetido ao processo de infusão a vácuo.

A separação das amostras de peso conhecido tornou possível a obtenção de dados de incorporação e saída de materiais do sistema (discos do fruto) e conseqüentemente, através de um balanço de massa, uma visualização global do processo. A porção localizada na parte superior do

recipiente foi destinada à obtenção dos dados físicos após os processos de infusão e congelamento/descongelamento.

Após estas montagens, as soluções crioprotetoras utilizadas como pré-tratamentos foram despejadas lentamente nos recipientes que foram subsequentemente levados a um dessecador acoplado a uma bomba de vácuo (70 lb/in²). As amostras ficaram expostas ao pré-tratamento sob vácuo por um período de seis horas à temperatura ambiente. A composição das soluções usadas nos pré-tratamentos estão listadas na Tabela 1.

As soluções foram preparadas adicionando as substâncias formadoras de géis inicialmente à pequenas quantidades de água destilada e deionizada até a dissolução com o auxílio de um agitador magnético. Os demais componentes foram adicionados posteriormente e o volume aferido em balão volumétrico. Nos sistemas gel + sacarose os componentes foram adicionados simultaneamente o que facilitou a dissolução. Os sistemas a base de amido foram preparados suspendendo o amido em pequena quantidade de água destilada e deionizada fria. A gelatinização foi realizada aquecendo 400 ml de água até a temperatura de 80 °C , a partir de então a suspensão em água fria e os demais componentes foram adicionados à água quente e o volume aferido.

A proporção **Volume de fruto:Volume de solução** usada no processo de infusão foi de 1:3 e cada procedimento foi realizado em triplicata.

Após o pré-tratamento as amostras foram cuidadosamente separadas, drenadas, pesadas, embaladas em sacos de polietileno, seladas, e, em seguida, submetidas aos processos de congelamento. Também foram retiradas amostras para se avaliar o teor de água e matéria seca , sólidos solúveis totais e textura como nos métodos descritos em 3.2.

TABELA 1 - Composição das soluções usadas como pré-tratamentos anterior ao processo de congelamento.

Substância	Concentração (%P/P)
A - Géis	
1 - Carboximetilcelulose (3000 SF)+ Celulose Microc. 0,1%	0,5 + 0,1
2 - Pectina (SIGMA - Teor de metoxilas 9,5%)	1
3 - Amido Solúvel P.A. (REAGEN - Quimibras)	5
B - Açúcares	
1 - Sacarose	15
C - Sais de Cálcio	
1 - Nitrato de Cálcio	0,5
D - Combinações:	
A + B	
A + C	
B + C	
A + B + C	

3.4 Congelamento

Após serem embalados os frutos foram congelados seguindo três métodos de congelamento com o objetivo de se obter diferentes velocidades e temperaturas finais de congelamento.

- (a) Congelamento em ar estático (AE).
- (b) Congelamento por imersão em uma pasta de dióxido de carbono + álcool (IDC).
- (c) Congelamento por imersão em nitrogênio líquido (INL).

3.4.1 Congelamento em ar estático (AE)

No congelamento em ar estático, os sacos de polietileno contendo os frutos previamente tratados foram colocados sobre um suporte (grade) metálico suspenso na região central no interior de um congelador (freezer) doméstico (METALFRIO-Brasil). Este tipo de congelamento é o aqui denominado congelamento lento e utiliza refrigeração mecânica em câmara de ar frio com temperaturas do ar variando entre $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

O acompanhamento térmico do processo foi feito com termopares Cu-Constantan acoplados a um registrador de temperatura. Procurou-se neste tipo de congelamento o fluxo de calor unidirecional e paralelo ao eixo das amostras cilíndricas através do isolamento lateral feito com poliestireno expandido. Foram colocados dois termopares, um na superfície e outro no centro térmico de um corte cilíndrico do fruto (Diâmetro = 25 mm e altura = 25 mm)

3.4.2 Congelamento por imersão em pasta de dióxido de carbono + etanol (IDC)

No segundo método de congelamento, as amostras foram mergulhadas em uma pasta obtida pela mistura de 0,5 kg de dióxido de carbono sólido e 700 ml de álcool comercial (96 °GL) colocados em um recipiente cilíndrico de zinco galvanizado revestido externamente por uma parede de 35 mm de espessura de isolante térmico a base de poliuretano para evitar perdas

térmicas. A temperatura do meio refrigerante neste sistema variou em torno de -72 ± 3 °C e o histórico da variação de temperatura durante o processamento foi traçado utilizando termopares (tipo K), colocados no centro térmico de um corte cilíndrico de 25 mm de diâmetro e 25mm de altura, ligados a uma impressora de dados que fornecia leituras de temperatura em intervalos de tempo de 15 segundos.

3.4.3 Congelamento por imersão em nitrogênio líquido (INL)

Para o congelamento por imersão em nitrogênio líquido (-196 °C) (terceiro método), foi feito um utensílio de aço inoxidável semelhante a um cesto de arame com as dimensões definidas para ser introduzido no interior de um botijão criogênico sem grandes dificuldades. As amostras foram colocadas no interior do cesto e submersas no nitrogênio líquido no interior do botijão. Para evitar um congelamento violento os frutos foram mantidos em nitrogênio líquido por dois segundos e retirados durante 28 segundos equilibrando-se a temperatura ambiente e continuando este ciclo até alcançar uma temperatura de congelamento no centro térmico de -30 a -35 °C (Marti e Aguilera, 1991). O acompanhamento da variação de temperatura durante a execução deste método também foi feita utilizando os mesmos instrumentos, parâmetros e condições descritas no método do gelo seco.

Para os três métodos descritos anteriormente, após o congelamento, as amostras, exceto aquelas destinadas à microscopia eletrônica que foram armazenadas em nitrogênio líquido e microscopia ótica que foram fixadas imediatamente após o congelamento; foram armazenadas a -30 °C em um congelador por um período de 12 horas até o momento de serem analisadas.

3.5 Descongelamento

O descongelamento é um parâmetro importante na manutenção da microestrutura e é desejável que o descongelamento das amostras seja o mais rápido possível. O descongelamento foi feito colocando as embalagens de polietileno contendo as amostras em contato direto com a água de um banho termostático (BROOKFIELD ENGLAB. - MOD. EX200) à 38 ± 2 °C. O descongelamento foi considerado completo quando a temperatura do centro térmico passou dos 5°C.

Após o descongelamento as amostras foram pesadas, e, feitas novas avaliações e leituras do teor de água e matéria seca, sólidos solúveis totais e textura conforme métodos descritos em 3.2. A perda de suco ou fluido celular por exsudação avaliada como a perda de massa após o congelamento/descongelamento (Figura 3) é determinada por:

$$EM3 = \frac{M3 - M2}{M2} \times 100 \quad (4)$$

onde,

EM3 = Perda de fluido celular por exsudação (% P/P).

M3 = Massa de frutos após congelamento/descongelamento.

M2 = Massa de frutos após pré-tratamento.

3.6 Propriedades de retenção de água (Produção de exsudato)

Após o pré-tratamento, três amostras de seis discos do fruto de 25mm de diâmetro e 3 mm de espessura de peso conhecido foram embaladas em sacos de polietileno e congeladas

individualmente seguindo um dos três métodos de congelamento: (a) ar estático; (b) dióxido de carbono + álcool e (c) imersão em nitrogênio líquido até alcançarem uma temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, e, em seguida, descongeladas em banho termostático à uma temperatura de $38 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. A capacidade de retenção de água pelo gel foi medida nas amostras descongeladas.

Métodos comuns para medir propriedades de retenção de água em alimentos são baseados na aplicação de pressão, centrifugação, ou sucção por capilaridade de um material poroso em contato com a amostra (Schnepf, 1989; Ferrero, Martino e Zaritzky, 1993). O método utilizado neste trabalho é baseado na difusão do líquido no interior de um sistema capilar ou na habilidade do alimento para liberar água.

As amostras descongeladas foram retiradas de suas embalagens e os diâmetros dos discos foram medidos, usando um paquímetro, e colocados sobre um papel de filtro Whatman No. 1 (diâmetro = 150 mm). O tempo de contato entre a amostra e o papel de filtro foi de 1 minuto e o aumento da área úmida foi avaliado. Os resultados foram expressos de acordo com a equação (Ferrero, Martino e Zaritzky (1993), adaptada para as condições experimentais):

$$IDPF = \left(\frac{D_d}{D_{od}} - \frac{D_t}{D_o} \right) \times 100 \quad (5)$$

onde,

IDPF = Índice de difusão no sistema capilar.

D_d = Diâmetro equivalente médio (mm) das áreas úmidas produzidas pelas amostras congeladas com uma determinada velocidade de congelamento e descongeladas sob condições controladas.

D_{od} = Diâmetro equivalente médio (mm) das amostras após o congelamento no tempo de contato inicial.

D_i = Diâmetro equivalente médio (mm) da área úmida produzida pela amostra sem tratamentos. ("in natura").

D_o = Diâmetro equivalente (mm) no tempo de contato inicial da amostra sem pré-tratamento.

As áreas úmidas foram medidas com um planímetro (BON - Budapest). Foram feitas quatro leituras para cada uma das seis amostras submetidas ao teste, e, o diâmetro equivalente foi definido como o diâmetro de um círculo que tem a mesma área superficial à da área medida. A área medida foi tomada como a área média obtida a partir das 24 leituras feitas para cada teste.

3.7 Microscopia ótica

Amostras submetidas ao pré-tratamento, cortadas a partir dos discos em cubos de 5.0 mm de arestas foram congeladas à uma temperatura final de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ segundo os três métodos descritos anteriormente. Após o congelamento seis amostras escolhidas aleatoriamente foram colocadas em uma solução fixativa (alcool etílico absoluto:formaldeído 38%: água, 45:10:45) pré-resfriada à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Freeze-fixation).

Uma vez fixadas, as outras etapas no processamento das amostras foram conduzidas à temperatura ambiente. A desidratação foi realizada com uma série de concentrações de etanol aumentando gradualmente de 70% a absoluto. As etapas seguintes constituíram-se de parafinização, iniciada com sistemas com aumento de concentrações graduais de xileno:alcool e parafina até o emblocamento final em parafina histológica. A descrição detalhada de todo o

procedimento contendo cada etapa, concentrações, temperatura e tempo de permanência em cada passo do processo está apresentada na Tabela 2.

TABELA 2 - Técnica de emblocamento reduzida utilizada em frutos carnosos.

Temperatura Ambiente	Tempo de exposição (min)
1 - Álcool 70 °GL	15
2 - Álcool 80 °GL	30
3 - Álcool 90 °GL	30
4 - Álcool 100 °GL	60
5 - Álcool 100 °GL	60
6 - Álcool 100 °GL : Xilol (3:1 V/V)	30
7 - Álcool 100 °GL : Xilol (1:1 V/V)	30
8 - Álcool 100 °GL : Xilol (1:3 V/V)	30
9 - Xilol I	15
Temperatura = 60 °C	
10 - Xilol II	15
11 - Xilol III	15
12 - Parafina I	30
13 - Parafina II	15
14 - Parafina III	15
15 - Emblocamento (Parafina Histológica)	

Os cortes foram feitos em micrótomo rotativo (REICHERT - WEIN, Alemanha) com seções de 13 μm , corados com fucsina básica, montados em lâminas semipermanentes e fotografados em um microscópio Olympus CBA-K com sistema para fotomicrografias PM-6. Para efeito comparativo, também foram feitos cortes manuais do fruto fresco, corados com vermelho neutro e azul de orto-toluidina, montados em lâminas provisórias e fotografados no microscópio mencionado acima.

3.8 Microscopia eletrônica

A partir de frutos pré-tratados, foram cortadas amostras cilíndricas de 10 mm de diâmetro e 5 mm de altura que foram embaladas em triplicata em folha de papel laminado (de alumínio) e congeladas seguindo os três métodos descritos anteriormente. Após o congelamento, as amostras provenientes dos três tipos de congelamento foram armazenadas em nitrogênio líquido (o crescimento de cristais de gelo cessa a uma temperatura abaixo de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e nenhuma mudança na estrutura do gelo após o armazenamento é verificada (Guegov, 1981; Bomben e King, 1982)) até o momento da liofilização que foi feita em um liofilizador (EDWARDS, MOD. L4KR), após o que, foram embaladas em filme de polietileno laminado, seladas, e armazenadas à vácuo em dessecadores contendo sílica-gel.

Após a remoção do dessecador, as amostras foram recobertas com carbono e ouro em um evaporador à vácuo (JEOL, MOD. JEE-4X/5B) com vácuo de 10^{-5} Torr, e visualizadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL (MOD. JSM 35C) à uma tensão de aceleração de 20 KV.

3.9 Análise estatística

O experimento foi montado seguindo uma estrutura fatorial com quatro fatores em um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e todos os resultados gerados com a mesma tendência. Um teste para verificar a normalidade dos erros foi aplicado a todos os parâmetros, e, os dados foram analisados usando o pacote Sistema de Análise Estatística (SANEST - IAC). A significância das variações nos tipos e níveis dos fatores foi determinada usando análise de variância e um teste de média, o teste de Duncan foi usado para determinar a significância das diferenças entre tratamentos. Um esquema mostrando a estrutura fatorial detalhada do experimento apresentando os fatores e níveis envolvidos está mostrado Tabela 3.

TABELA 3 - Estrutura fatorial mostrando fatores e níveis de fatores usados no planejamento experimental.

FATORES	NÍVEIS
1 - Substâncias formadoras de géis	1 - Pectina 2 - Carboximetil celulose + Celulose Microcristalina 3 - Amido 4 - Sem Gel
2 - Açúcares	1 - Sacarose 2 - Sem Sacarose
3 - Sais de Cálcio	1 - Nitrato de Cálcio 2 - Sem Nitrato de Cálcio
4 - Velocidade de Congelamento	1 - Lenta (Freezer) 2 - Semi-rápida (CO ₂ + Alcool) 3 - Rápida (Nitrogênio Líquido)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Curvas de congelamento tempo-temperatura

As Figuras 5 a 8 representam curvas temperatura-tempo obtidas pela média de três repetições que constituem o histórico das mudanças de temperatura do centro térmico no interior de frutos submetidos aos processos de congelamento em ar estático (AE), imersão em pasta formada pela mistura de dióxido de carbono e etanol (IDC) e imersão em nitrogênio líquido (INL) após serem pré-tratados com diferentes soluções de hidrocolóides.

O centro térmico seria definido como aquele ponto na estrutura do fruto onde a diminuição da temperatura e o congelamento ocorreria por último.

Como se pode observar, as curvas temperatura-tempo apresentam três regiões distintas, a primeira região corresponde ao resfriamento da água líquida dentro dos tecidos ou à remoção de calor sensível; a segunda região corresponde ao período em que se congela a maior parte da água, ou a região de transição de fase que apresenta temperaturas por volta de 0 °C; e, a terceira região em que a velocidade de congelamento é rápida devido a uma maior liberação de calor de cristalização por congelar uma menor proporção de água (Marti e Aguilera, 1991).

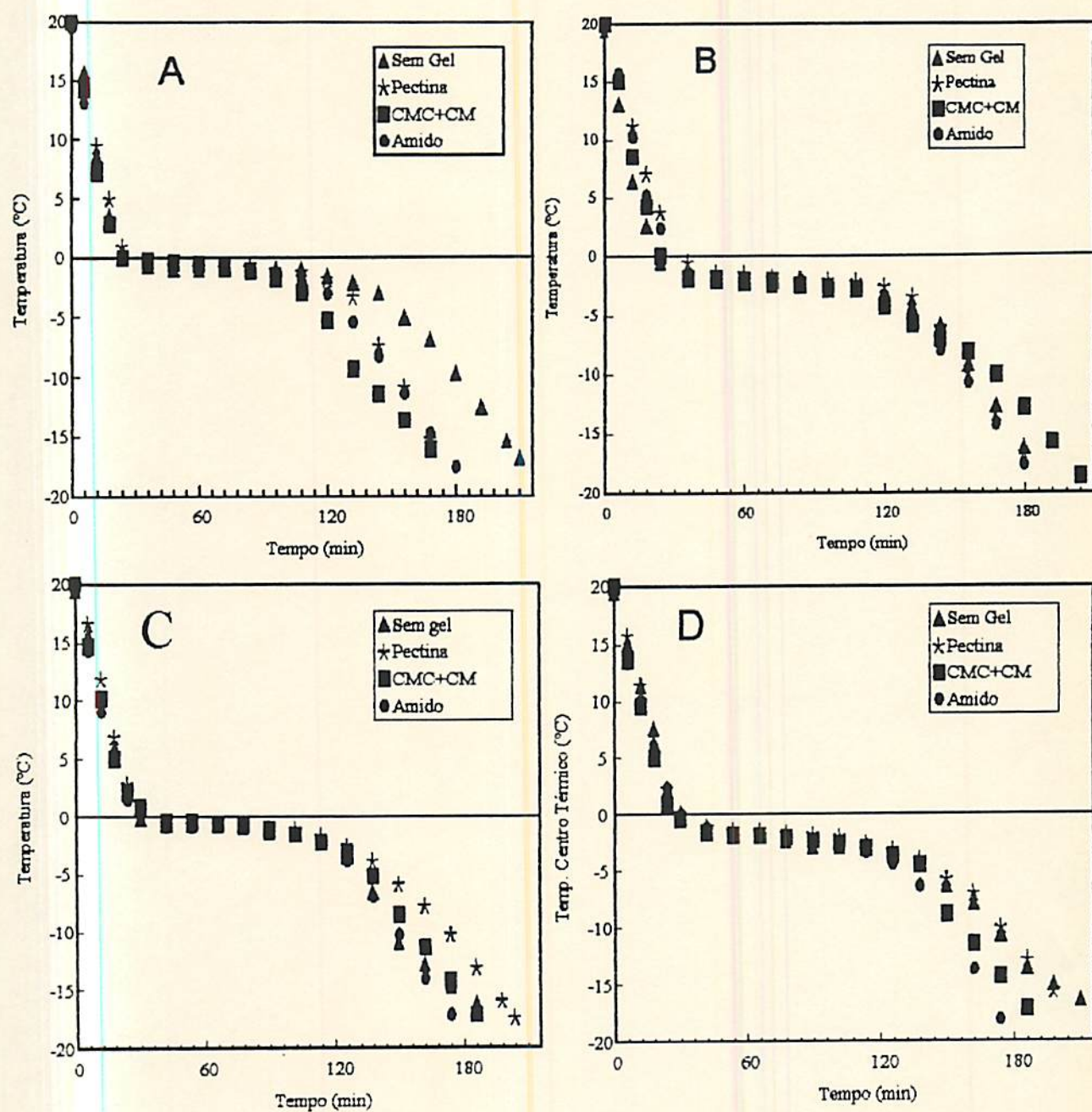


FIGURA 5- Curvas temperatura-tempo para sistemas de hidrocolóides constituídos de (A) géis, (B) géis + sacarose 15%, (C) géis + nitrato de cálcio 0,5% e (D) géis + sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5% usados como pré-tratamentos em frutos submetidos ao congelamento em ar estático.

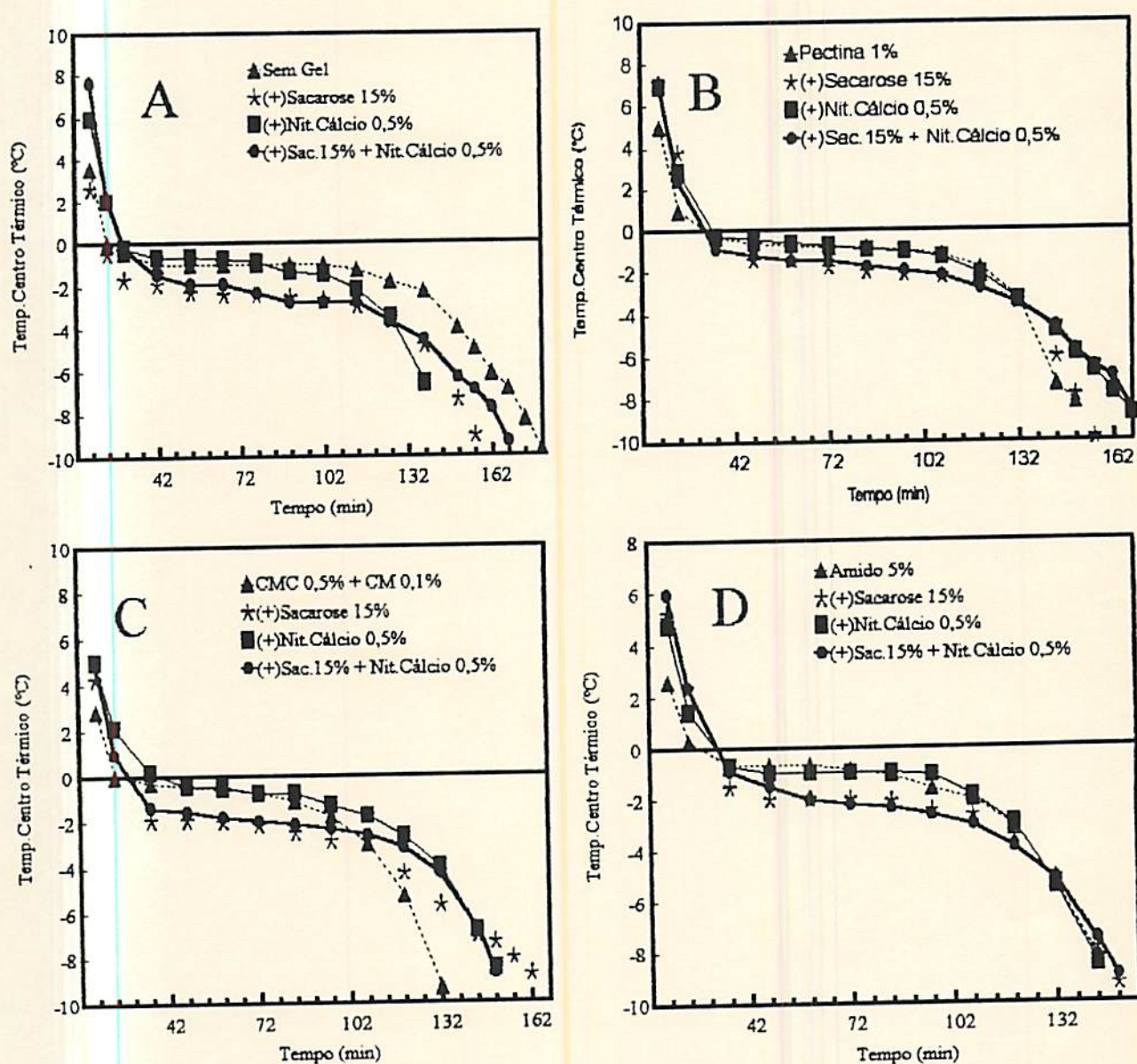


FIGURA 6 - Curvas temperatura-tempo para sistemas de hidrocolóides mostrando o efeito destes aditivos na região de transição de fase sendo estes constituídos de (A) sem tratamentos com géis, (B) pectina 1%, (C) CMC 0,5%+CM 0,1% e (D) amido gelatinizado 5% adicionados de sacarose 15% e/ou nitrato de cálcio 0,5% usados como pré-tratamentos para frutos congelados em ar estático(AE).

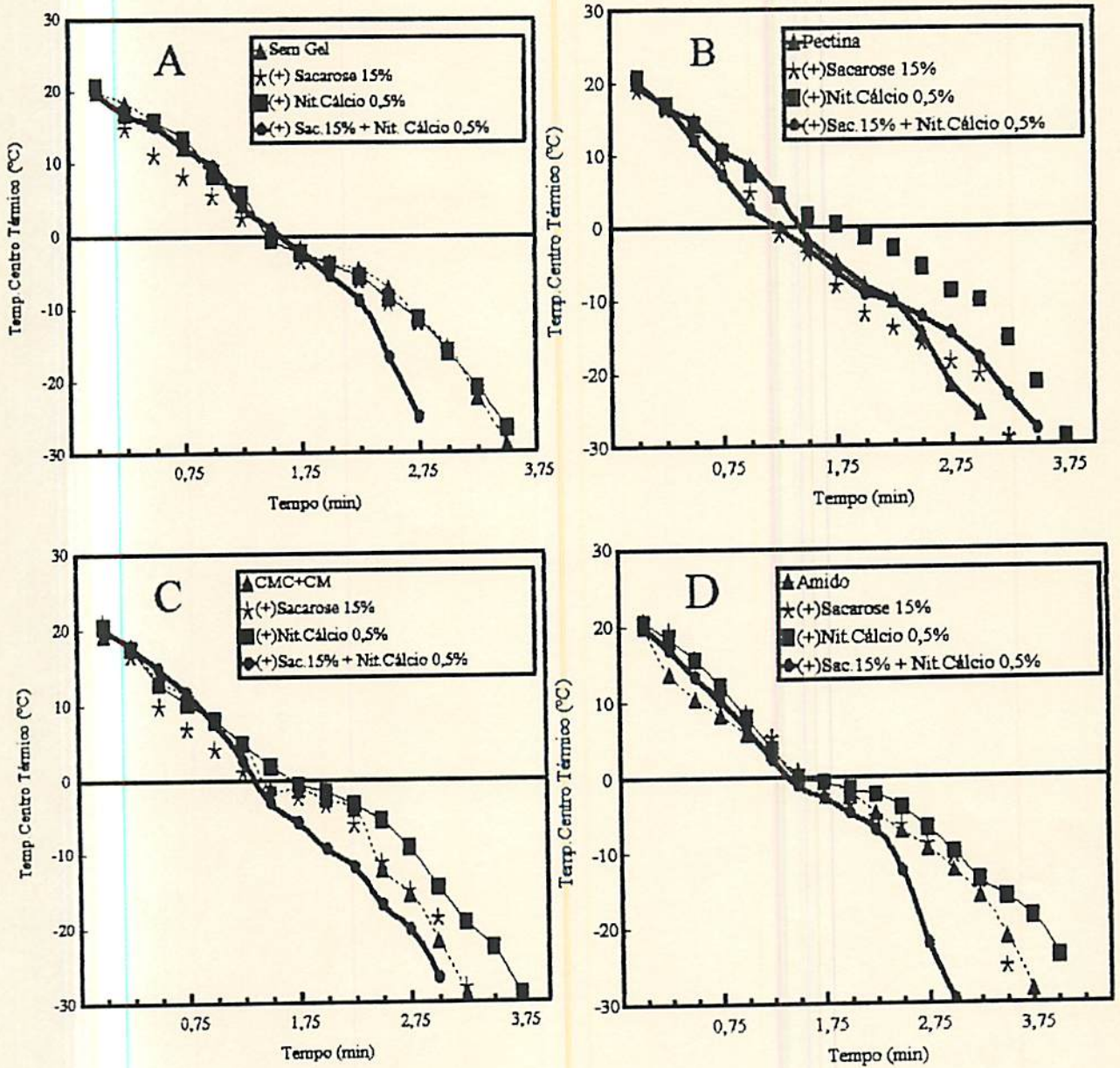


FIGURA 7 - Curvas temperatura-tempo para sistemas de hidrocolóides constituídos de (A) sem tratamentos com géis, (B) pectina 1%, (C) CMC 0,5%+CM 0,1% e (D) amido gelatinizado 5% adicionados de sacarose 15% e/ou nitrato de cálcio 0,5% usados como pré-tratamentos para frutos congelados por imersão em pasta de dióxido de carbono + etanol (IDC).

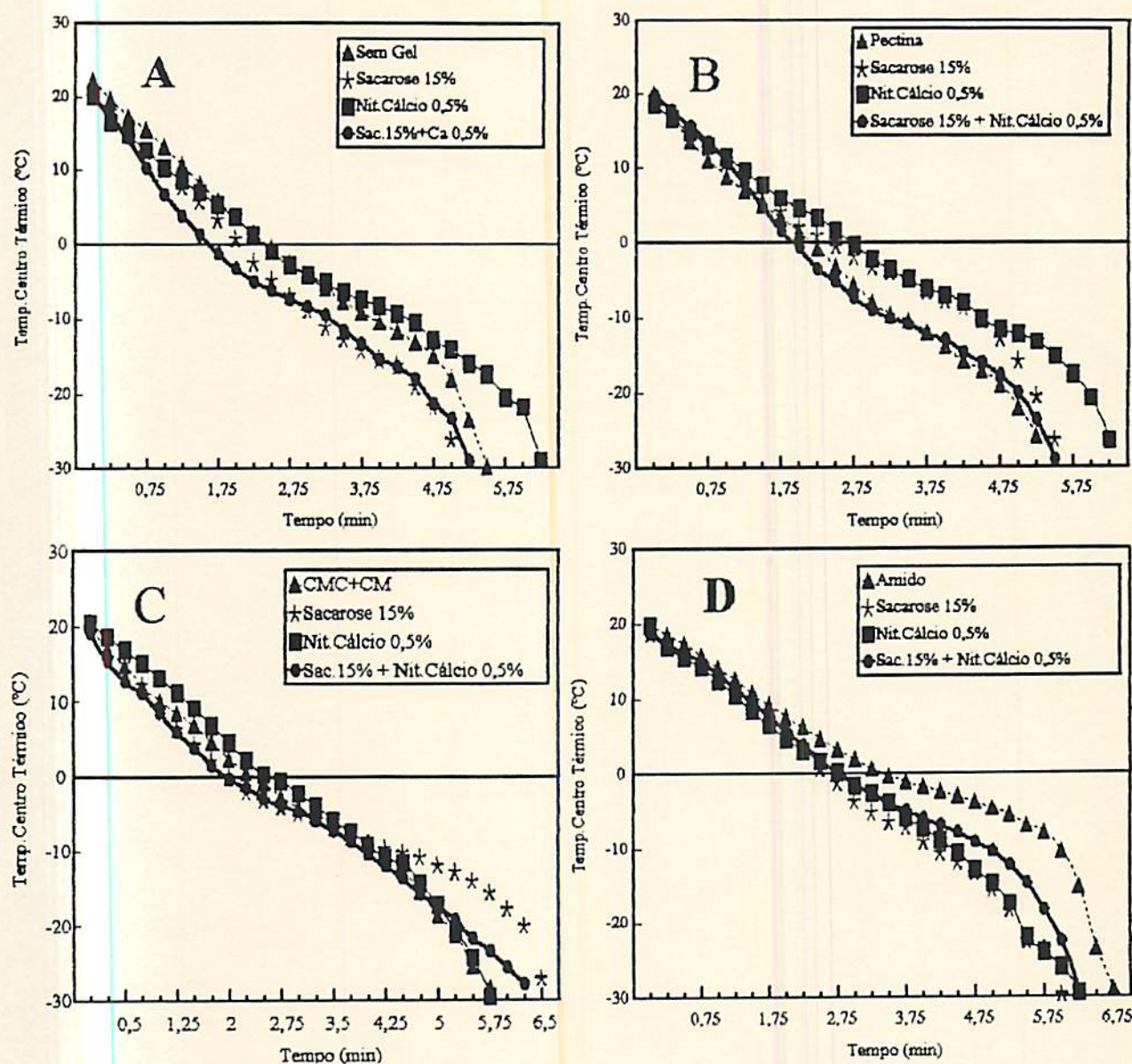


FIGURA 8 - Curvas temperatura-tempo para sistemas de hidrocolóides constituídos de (A) sem tratamentos com géis, (B) pectina 1%, (C) CMC 0,5%+CM 0,1% e (D) amido gelatinizado 5% adicionados de sacarose 15% e/ou nitrato de cálcio 0,5% usados como pré-tratamentos para frutos congelados em nitrogênio líquido (INL).

Segundo Heldman (1992), uma característica que se observa quando se compara o congelamento de sistemas alimentares com o congelamento da água pura, é que a temperatura do produto com a qual os cristais de gelo são formados é diminuída a temperaturas mais baixas que aquela observada na cristalização inicial do gelo na água pura e a magnitude da queda da temperatura de congelamento é uma função da composição do produto. Tal comportamento pode ser visualizado claramente nas curvas apresentadas nas Figuras 3 a 6 observando que a forma da curva temperatura-tempo varia com a composição do fruto modificada após pré-tratamento com diferentes sistemas de hidrocolóides.

A Tabela 4 apresenta a composição aproximada de melões "Honeydew" extraída da literatura.

O efeito de géis de poliassacarídeos, sacarose e nitrato de cálcio sobre as propriedades físico-químicas do sistema durante o congelamento pode ser visualizado analisando os diferentes comportamentos das curvas de congelamento características de cada tratamento, o que é atribuído ao intercâmbio de materiais na estrutura do fruto durante o processo de infusão a vácuo o que resulta em profundas mudanças na composição do sistema fruto-crioprotetores influenciando as propriedades que determinam a cristalização e crescimento de cristais de gelo.

4.1.1 Efeito da adição de crioprotetores sobre a temperatura de congelamento inicial dos sistemas.

A queda da temperatura de congelamento é uma das propriedades físico-químicas que envolve a relação entre a composição do produto e a temperatura, isto é, a magnitude da queda de temperatura é uma função da composição do produto influenciando o grau de superresfriamento e

TABELA 4 - Composição aproximada de melões Honeydew¹

Comp. aprox. g/100g polpa	Média
Proteína	0,51
Umidade	89,97
Gordura	0,03
Cinzas	0,66
Sólidos e teor de açúcares de melões Honeydew²	
Sólidos Totais	11,27
Sólidos Solúveis	9,78
Açúcares Redutores	4,32
Sacarose	5,40
Açúcares Totais	10,00

Fonte: 1 - Eintemiller al. (1985)

2 - Rosa. (1928)

a taxa de nucleação dos cristais de gelo. De acordo com Guegov (1981), as temperaturas de congelamento de soluções ideais de mono- e bicomponentes podem ser descritas pela lei de Raoult e a complexidade da composição bioquímica e textura de frutos exige uma investigação experimental específica da temperatura crioscópica de cada espécie. A temperatura crioscópica de frutos depende dos mesmos fatores descritos para soluções ideais sendo o teor de sólidos de importância básica. Quanto mais alto o teor de sólidos, mais baixo será o ponto de congelamento incipiente.

Pode-se observar pelos gráficos das Figuras 3 a 6 que a presença de géis de polissacarídeos de alto peso molecular praticamente não exerce efeito algum sobre a queda da temperatura de congelamento, mas influencia ligeiramente o tempo de congelamento do fruto no centro térmico. Ao contrário, a presença de substâncias tais como sacarose e nitrato de cálcio, que têm suas moléculas dispersas em solução aquosa, diminuem notavelmente a temperatura de congelamento inicial do sistema. Resultados similares foram observados por Hoo & McLellan (1987), estudando a adição de pectina ao suco de maçã de diferentes concentrações e por Budiaman e Fennema (1987a), medindo a temperatura crioscópica de hidrocolóides dentre eles CMC em presença de sacarose 4%.

Uma interpretação matemática da correlação entre a temperatura crioscópica e a composição química de frutos é descrita por Guegov (1981). Foi estabelecido que existe uma dependência correlativa entre o teor de sólidos solúveis e a temperatura de congelamento expressa pela equação:

$$T_A = 0,36 - 0,175\xi \quad (6)$$

que reflete a influência do teor de sólidos solúveis (ξ) sobre o valor da temperatura (T_A) de 40 frutos e hortaliças sem consideração de espécies ou variedades. Esta equação é válida na faixa de teor de sólidos de 3,5 a 27% com um intervalo de confiança de $\pm 0,05$ a $\pm 0,2$ °C.

Os valores do teor de sólidos solúveis de melões após serem submetidos aos diferentes tratamentos por infusão a vácuo, antes de serem congelados e os respectivos valores da temperatura de congelamento estimados pela equação (6) estão apresentados na Tabela 5.

Observando as Figuras 3 a 6, obtidas graficando diretamente os valores medidos experimentalmente, e, os valores obtidos para a temperatura de congelamento inicial em função do teor de sólidos solúveis através da equação (6) e considerando os sistemas fruto-crioprotetores como frutos modelo verifica-se que existe compatibilidade dos resultados quando se analisa a temperatura crioscópica da equação (6) e a faixa de temperatura com que ocorre grande parte do processo de transição de fase para cada sistema. Considerando o teor de umidade inicial e generalizando para frutos e hortaliças, os valores da temperatura inicial de congelamento para melões submetidos aos diferentes pré-tratamentos estão próximos daqueles calculados por métodos diferentes que determinam a queda do ponto de congelamento utilizando parâmetros de composição e umidade como os propostos por Riedel (1950), Chen (1985), apresentados por Succar e Hayakawa (1990). Como exemplo para frutos e hortaliças com teores de umidade em torno de 96%, os valores do ponto de congelamento encontrados pelos métodos de Riedel, Chen, e Succar e Hayakawa foram -0,4, -0,4 e -0,39 °C respectivamente, que são valores próximos aos encontrados para frutos tratados com sistemas constituídos por CMC+CM e pectina em presença de nitrato de cálcio 0,5 % que ao final do pré-tratamento apresentaram este teor de umidade e forneceram temperaturas de início de congelamento de -0,43 e -0,54 °C respectivamente dentro do intervalo proposto pela equação (6).

TABELA 5 - Parâmetros da composição de frutos após o pré-tratamento com sistemas de hidrocolóides e aditivos antes de serem submetidos ao congelamento.

Tratamentos *	Teor de água (%P/P)	ζ	T _A (°C)	M _S
I - Sist. Gel				
I.1 - Sem gel	91,46	8,89	-1,19	144,47
I.2 - Pectina	95,83	4,97	-0,51	159,07
I.3 - CMC+CM	97,44	4,00	-0,34	142,83
I.4 - Amido	94,55	6,53	-0,78	137,30
II - Sist. Gel + Sacarose 15%				
II.1 - Sem gel	90,18	11,18	-1,59	125,32
II.2 - Pectina	91,78	9,40	-1,28	128,40
II.3 - CMC+CM	91,30	9,97	-1,38	126,29
II.4 - Amido	89,84	12,17	-1,76	117,71
III - Sist. Gel + Nit.Cálcio 0,5%				
III.1 - Sem gel	96,02	4,49	-0,42	181,23
III.2 - Pectina	95,90	5,17	-0,54	147,22
III.3 - CMC+CM	96,65	4,53	-0,43	147,92
III.4 - Amido	94,86	5,95	-0,68	146,80
I - Sist. Gel + Sacarose 15% + Nit.Cálcio 0,5%				
IV.1 - Sem gel	91,28	9,32	-1,27	138,08
IV.2 - Pectina	89,86	10,39	-1,46	142,03
IV.3 - CMC+CM	90,47	10,36	-1,45	133,54
IV.4 - Amido	89,75	11,50	-1,65	126,43

* Valores obtidos pela média de três repetições

4.2 - Efeito da adição de crioprotetores sobre a taxa de cristalização do gelo

A fração de água não congelada é um outro parâmetro que diminui gradualmente com a temperatura durante o congelamento a medida que o calor latente é removido da água no interior do produto. Esta é uma função da temperatura inicial de congelamento e da composição do fruto e permite avaliar o estado de equilíbrio da água nos sistemas a uma dada temperatura. A relação pode ser estimada usando a equação derivada por Heldman e Singh (1981) citada por Helldman e Steffe (1985), e, Heldman (1992) explicada em termos da equação de queda da temperatura de congelamento para uma solução ideal. A equação é apresentada a seguir:

$$\ln X_A = \frac{\lambda}{R} \left[\frac{1}{T_{A0}} - \frac{1}{T_A} \right] \quad (7)$$

onde,

T_{A0} = ponto de fusão do líquido puro (A) ($T_{A0} = 273,15$ K para a água pura);

T_A = temperatura no ponto de congelamento da solução (K);

R = Constante universal dos gases ($R = 8,314$ J/mol.K)

λ = calor latente molar de fusão da água ($\lambda = 6003$ J/mol).

A equação (7) ilustra a relação entre a fração molar (X_A) da água no interior do produto e a temperatura absoluta T_A (K) com a qual ocorre a formação do cristal de gelo como uma função do calor latente molar da água e a constante universal dos gases. A fração molar da água no interior do produto pode ser definida como:

$$X_A = \frac{m_A / M_A}{m_A / M_A + m_s / M_s} \quad (8)$$

onde m_A é a fração de massa da água, M_A é o peso molecular da água, m_s é a fração de sólidos e M_s é o peso molecular efetivo dos sólidos. O procedimento para o cálculo da fração de água não congelada utilizando as equações (7) e (8) têm como parâmetros de entrada as temperaturas de congelamento inicial calculada pela equação (6) e apresentados na Tabela 5 que permite a determinação do peso molecular efetivo dos sólidos substituindo o valor de X_A obtido na temperatura crioscópica, na equação (8). Os valores de M_s encontrados para os diferentes sistemas em função dos teores de umidade obtidos experimentalmente também estão apresentados na Tabela 5.

Conhecendo M_s os valores da fração de água não congelada em função da temperatura para os diferentes sistemas são obtidos reutilizando as equações (7) e (8) sendo a temperatura dos sistemas agora o único parâmetro de entrada. Valores estimados da fração de água não congelada em função da temperatura do sistema para melões congelados em ar estático após pré-tratamentos com hidrocolóides de naturezas diferentes com e sem a adição de sacarose e nitrato de cálcio estão apresentados nos gráficos das Figuras 9 e 10. As estimativas consideram que cristais de gelo puro são formados durante o congelamento e que todo o soluto está concentrado na água não congelada.

Na faixa de temperatura compreendida entre -16 e -20 °C, característica do final do congelamento lento realizado com refrigeração mecânica (freezer doméstico), podem ser observados a partir dos gráficos das Figuras 9 e 10 os diferentes comportamentos das curvas que descrevem os valores da fração de água não congelada para os diferentes sistemas. Verifica-se pelos gráficos A, B, C e D da Figura 9 que em tratamentos com sistemas que envolvem a adição de sacarose, nesta faixa de temperatura, os valores estimados da fração de água não congelada são notavelmente superiores àqueles obtidos com os demais

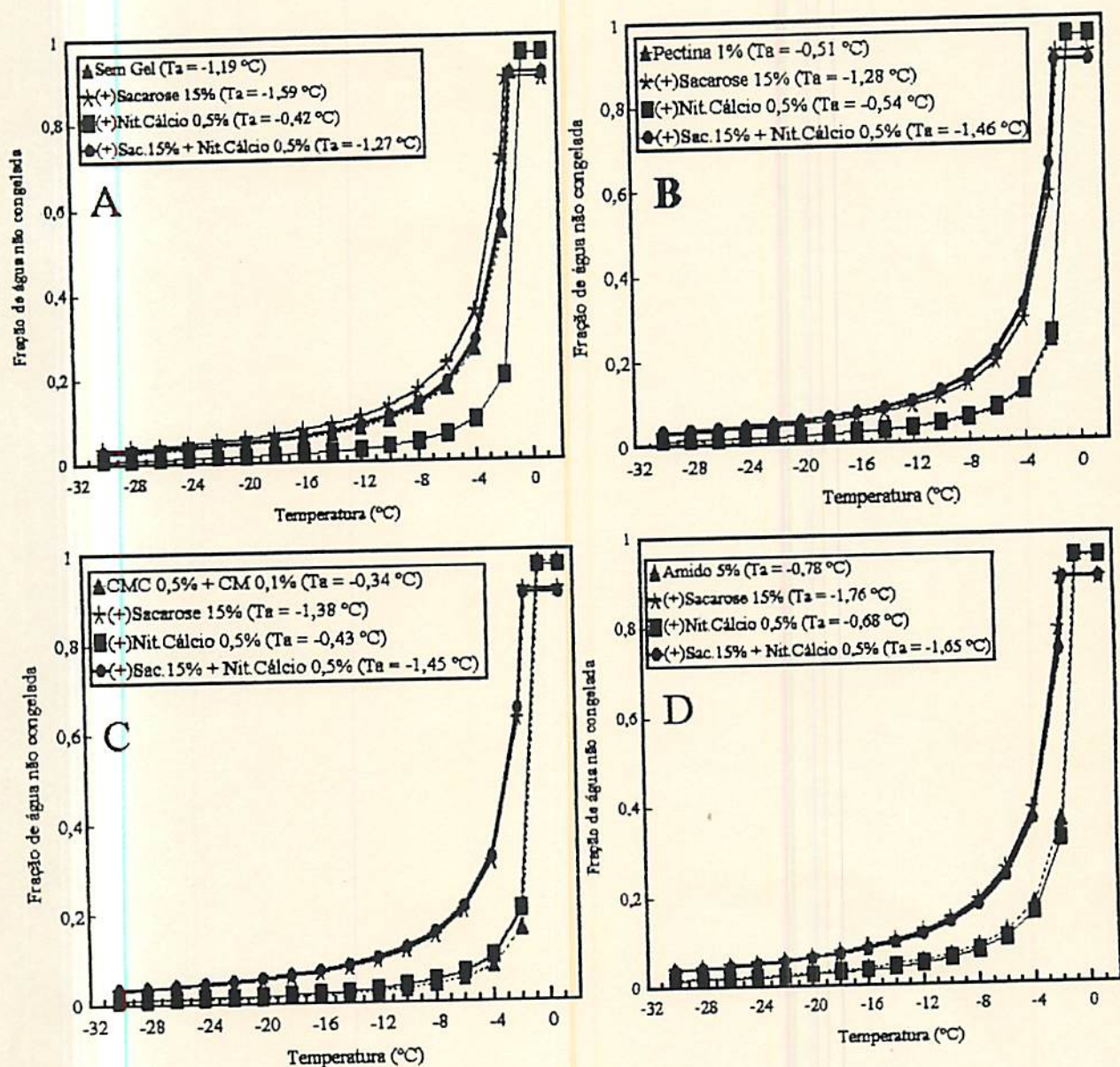


FIGURA 9 - Fração de água não congelada estimada em função da temperatura para frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides de naturezas diferentes com e sem a adição de sacarose e nitrato de cálcio. Os gráficos se referem a (A) tratamentos sem hidrocolóides, (B) com pectina 1%, (C) com CMC+CM e (D) amido gelatinizado.

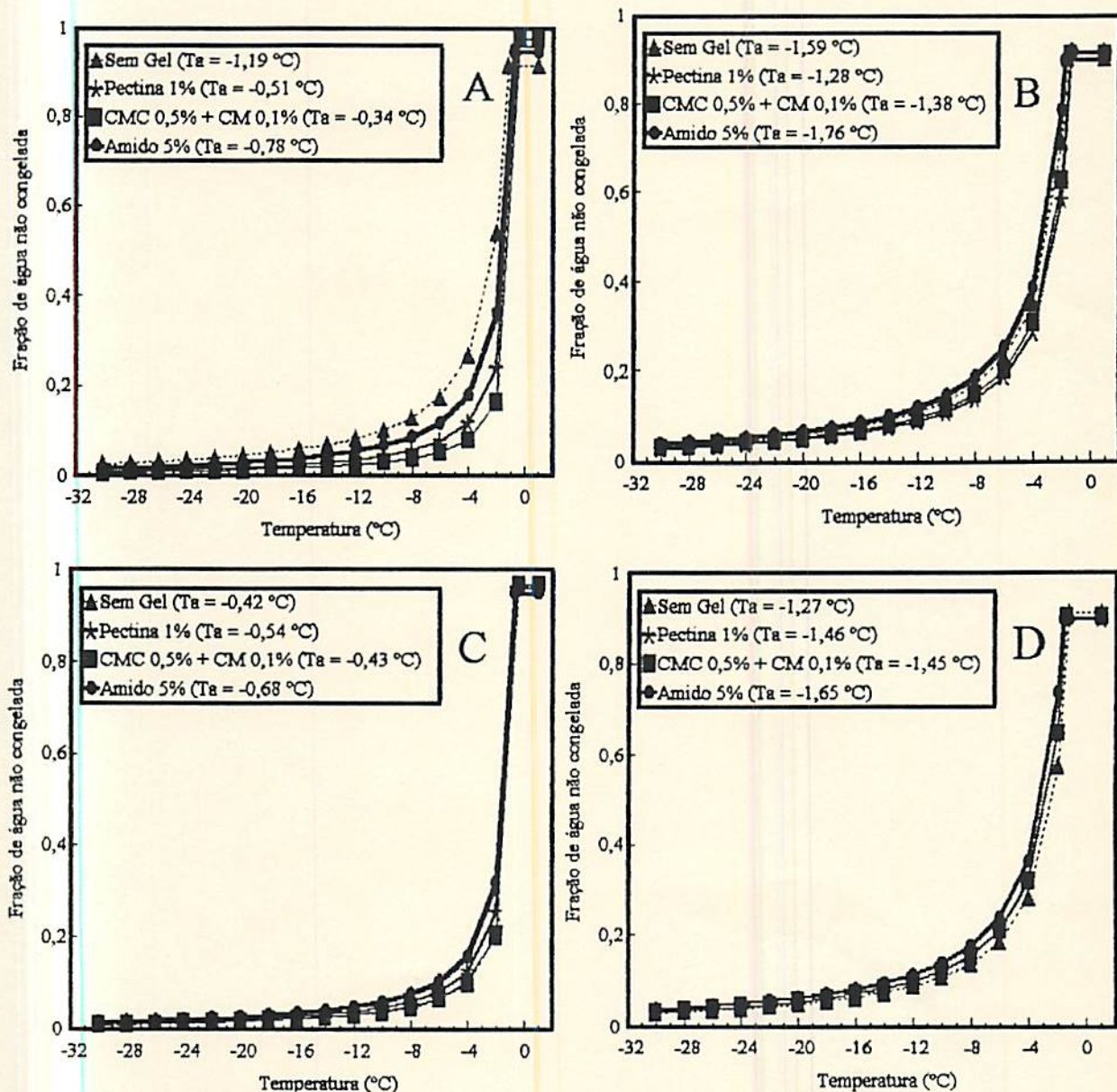


FIGURA 10- Fração de água não congelada estimada em função da temperatura para frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides em sistemas constituídos de (A) hidrocolóides, (B) hidrocolóides + sacarose 15%, (C) hidrocolóides + nit. cálcio 0,5% e (D) hidrocolóides + sacarose 15% + nit. Cálcio 0,5%.

tratamentos como os que acontecem com géis adicionados de nitrato de cálcio que apresentam fração de água não congelada em patamares bem mais baixos.

Quando se compara a variação da fração de água em função da temperatura levando em consideração a natureza dos hidrocolóides (Figura 10) observa-se que tratamentos feitos com amido gelatinizado, pectina e CMC+CM, apresentam nesta ordem, valores mais altos da fração de água não congelada, sendo este efeito mais pronunciado quando na presença de sacarose.

Este comportamento está associado à diferença na composição do fruto principalmente em relação ao teor de água. Quanto mais baixo for o teor de água do fruto após o pré-tratamento mais alta será a fração de água descongelada a uma dada temperatura. Tratamentos feitos com sistemas constituídos de baixa concentração de solutos inferiores a concentração de sólidos solúveis totais do fruto "in natura" durante o processo de infusão induzem à introdução de água por osmose na microestrutura celular, tornando a célula rígida após o pré-tratamento, com seu teor de água aproximando o comportamento do sistema ao constituído apenas de água pura. Este se apresenta com temperatura de congelamento inicial mais alta e maior velocidade de formação de cristais de gelo verificada pela queda acentuada da fração de água não congelada em função da temperatura. Como resultado tem-se baixa fração de água não congelada atribuída à facilidade de cristalização da água no interior da microestrutura tornando o fruto mais propenso a danos mecânicos causados pelo crescimento de grandes cristais de gelo junto à estrutura celular.

Os tratamentos feitos com géis na presença de sacarose, principalmente aqueles que envolvem os sistemas amido + sacarose, pectina + sacarose e CMC+CM + sacarose, na ordem, permitem a incorporação de materiais durante o processo de infusão a vácuo, provavelmente nos espaços intercelulares aumentando o teor de sólidos solúveis no interior da microestrutura e

diminuindo o teor de água celular que se movimenta em direção à solução que se encontra um pouco mais concentrada.

Para frutos tratados com estes sistemas, quando congelados, estima-se um valor mais alto da fração de água não congelada a uma determinada temperatura quando comparados aos demais sistemas. Isto se justifica pela dificuldade de crescimento dos cristais de gelo formados no interior do sistema atribuído à concentração de solutos, entre eles sacarose e géis de alto peso molecular na fração de água não congelada proporcionando uma região altamente viscosa na qual a mobilidade molecular da água é drasticamente retardada.

Segundo Fennema (1991), em sistemas complexos, quando a temperatura eutética é alcançada a fase não congelada é muito viscosa pela presença de solutos e esta viscosidade impede movimentos moleculares necessários para a nucleação de solutos, e, na ausência de nucleação, os solutos permanecerão em um estado metaestável de supersaturação. O comportamento desta fase não congelada e supersaturada pode ter um profundo efeito sobre a estabilidade do alimento uma vez que reações químicas e mudanças físicas como a recristalização são também controladas pela mobilidade molecular da água nesta fase.

Com o resfriamento, a fase não congelada pode se transformar para um estado vítreo onde a mobilidade molecular é ainda mais fortemente impedida. Esta transformação é mais provável a baixas temperaturas e na presença de substâncias de alto peso molecular (Levine e Slade 1989; Fennema, 1991).

É possível também avaliar o efeito dos sistemas constituídos de géis de polissacarídeos sobre a taxa de formação de cristais de gelo avaliando e associando os parâmetros de congelamento medidos experimentalmente com aqueles estimados. Pelos gráficos A, B, C e D da Figura 6 observa-se que a introdução de géis de polissacarídeos na microestrutura por si só não

influencia propriedades como a queda de temperatura, mas apresenta diferenças quanto ao tempo necessário para que o centro térmico atinja uma determinada temperatura (T), principalmente em sistemas envolvendo pectina e CMC+CM como formadores de géis. Em sistemas constituídos de amido gelatinizado este efeito é menos pronunciado. Considerando a mesma temperatura (T), mas agora analisando os resultados da Figura 9, observa-se que a presença de hidrocolóides sem aditivos, reduz acentuadamente a fração de água não congelada quando comparada com aqueles tratamentos feitos com a presença de sacarose. O que se tem trabalhado nos dados obtidos para a construção dos gráficos das duas figuras (Figuras 6 e 9) simultaneamente a uma temperatura (T) específica é a variação da fração de água não congelada estimada como uma função do tempo; o que pode ser traduzido como a taxa de cristalização da água nos sistemas uma vez que os constituintes não aquosos são rejeitados dos cristais de gelo e permanecem como parte da fase não congelada.

Os gráficos da Figura 11 foram obtidos interpolando os valores da fração de água não congelada estimada a partir das equações (7) e (8) a uma determinada temperatura (T) e do tempo necessário para que o centro térmico do fruto atinja esta temperatura (parâmetro obtido a partir das curvas de congelamento - Figuras 5 e 6). Para um melhor entendimento do que foi feito considerem-se as seguintes funções:

$$T = f(t) \quad (9)$$

é a variação da temperatura em função do tempo representada nos gráficos das Figuras 5 e 6 para sistemas congelados em ar estático.

$$m_A = g(T) \quad (10)$$

é a variação da fração de água não congelada em função da temperatura obtida a partir das equações (7) e (8) e representada nos gráficos das Figuras 9 e 10.

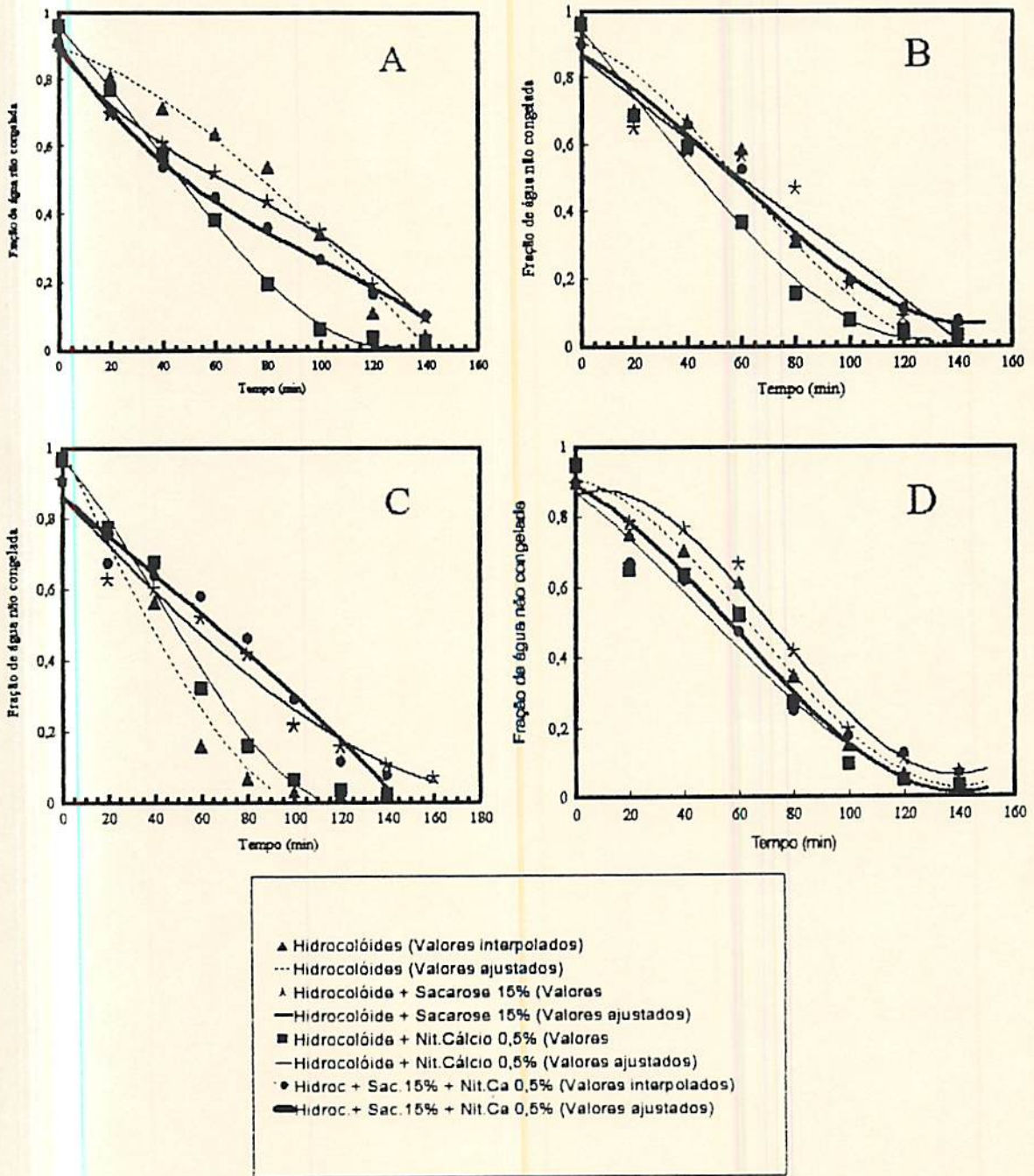


FIGURA 11 - Fração de água estimada em função do tempo para frutos congelados em ar estático submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides de natureza diferente apresentados na seguinte seqüência; (A) tratamentos sem hidrocolóides, (B) pectina, (C) CMC + CM e (D) amido gelatinizado.

As curvas traçadas nos gráficos da Figura 11 representam a variação da fração de água não congelada em função do tempo que pode ser representada pela função:

$$m_A = g(f(t)) \quad (11)$$

Um modelo de regressão cúbica relacionando a fração de água não congelada estimada em função do tempo foi o que melhor se ajustou aos resultados obtidos e as equações que descrevem o efeito para os diferentes sistemas e os respectivos coeficientes de determinação estão apresentados na Tabela 6. Na Figura 11 estas equações estão representadas pelas curvas características para cada sistema de hidrocolóides. O tempo zero representa a fração de água não congelada na temperatura do ponto de congelamento onde se inicia o processo de cristalização do água. Os valores plotados no gráfico referem-se à fração de água não congelada no centro térmico.

O gráfico A da Figura 11 se refere a frutos congelados tratados na ausência de hidrocolóides sem e com a adição de sacarose, nitrato de cálcio e ambos. Para o fruto “in natura” pode ser observada a presença de uma resistência à formação de gelo mantendo uma baixa taxa de cristalização até um certo instante (por volta de 80 min). A partir de então a taxa de cristalização aumenta acentuadamente, ou pelo gráfico, a fração de água não congelada diminui até atingir seu menor valor a 140 minutos. Este comportamento provavelmente se justifica analisando o crescimento dos cristais de gelo nos espaços intercelulares preenchidos inicialmente por ar e vapor d’água. Com o resfriamento, a formação dos primeiros cristais junto à parede celular cria um gradiente de energia livre e pressão de vapor induzindo a mobilidade da água intracelular através da membrana promovendo o crescimento de grandes cristais de gelo que rompem a parede celular ou favorecem a plasmólise. Com o rompimento do tecido o processo de cristalização deve ser favorecido pela diminuição dos obstáculos que impedem a migração da água intracelular e

TABELA 6 - Coeficientes de equações de regressão para valores da fração de água não congelada (Y) em função do tempo (X) para frutos congelados em ar estático tratados com vários sistemas de hidrocolóides.

Modelo da equação		$Y = a + bX + cX^2 + dX^3$
Sistemas	Coeficientes	Coef. determinação
Sem Hidrocolóides (SH)	$a = 0,8968$ $b = -2,5477 \times 10^{-3}$ $c = -3,9162 \times 10^{-5}$ $d = 0,8553 \times 10^{-7}$	0,9861
SH + Sacarose 15%	$a = 0,8875$ $b = -9,3058 \times 10^{-3}$ $c = 7,0076 \times 10^{-5}$ $d = -3,1937 \times 10^{-7}$	0,9938
SH + Nit. Cálcio 0,5%	$a = 0,9597$ $b = -8,7439 \times 10^{-3}$ $c = -4,1682 \times 10^{-5}$ $d = 4,0580 \times 10^{-7}$	0,9989
SH + Sac. 15% + Nit. Ca 0,5%	$a = 0,9073$ $b = -1,1446 \times 10^{-2}$ $c = 7,4769 \times 10^{-5}$ $d = -2,4819 \times 10^{-7}$	0,9978
Pectina 1% (PEC)	$a = 0,9076$ $b = -3,0364 \times 10^{-3}$ $c = -9,9842 \times 10^{-5}$ $d = 5,3936 \times 10^{-7}$	0,9662
PEC + Sacarose 15%	$a = 0,8682$ $b = -6,6231 \times 10^{-3}$ $c = 9,4826 \times 10^{-6}$ $d = -4,0097 \times 10^{-8}$	0,9458
PEC + Nit. Cálcio 0,5%	$a = 0,9427$ $b = -9,7770 \times 10^{-3}$ $c = -1,9361 \times 10^{-5}$ $d = 3,0821 \times 10^{-7}$	0,9890

TABELA 6 - Continuação

PEC+ Sac.15%+ Nit.Ca 0,5%	a = 0,8698 b = $-4,4245 \times 10^{-3}$ c = $-5,4199 \times 10^{-5}$ d = $3,1995 \times 10^{-7}$	0,9850
CMC 0,5% + CM 0,1% (CMC)	a = 1,0000 b = $-1,3645 \times 10^{-2}$ c = $-4,0693 \times 10^{-6}$ d = $3,1899 \times 10^{-7}$	0,9766
CMC + Sacarose 15%	a = 0,8653 b = $-6,9262 \times 10^{-3}$ c = $5,4412 \times 10^{-6}$ d = $3,9668 \times 10^{-8}$	0,9702
CMC + Nit.Cálcio 0,5%	a = 0,9693 b = $-7,2179 \times 10^{-3}$ c = $-7,8860 \times 10^{-5}$ d = $5,9404 \times 10^{-7}$	0,9856
CMC+Sac.15%+Nit.Ca 0,5%	a = 0,8637 b = $-5,7783 \times 10^{-3}$ c = $8,6613 \times 10^{-6}$ d = $-6,7528 \times 10^{-8}$	0,9712
Amido 5% (AM)	a = 0,9070 b = $-1,6115 \times 10^{-3}$ c = $-1,1116 \times 10^{-4}$ d = $5,5635 \times 10^{-7}$	0,9793
AM + Sacarose 15%	a = 0,8645 b = $2,7957 \times 10^{-3}$ c = $-1,6370 \times 10^{-4}$ d = $7,3513 \times 10^{-7}$	0,9826
AM + Nit. Cálcio	a = 0,8875 b = $-3,8126 \times 10^{-3}$ c = $-7,8892 \times 10^{-5}$ d = $4,3932 \times 10^{-7}$	0,9405
AM+Sac.15%+Nit.Ca 0,5%	a = 0,8713 b = $-6,0017 \times 10^{-3}$ c = $-4,0447 \times 10^{-5}$ d = $2,8126 \times 10^{-7}$	0,9818

pelo aumento da área superficial da interface gelo-água aumentando a velocidade de cristalização e diminuindo a fração de água não congelada.

Considerando o mesmo gráfico, para os demais tratamentos, o comportamento se justifica pela incorporação de materiais por infusão a vácuo. A infusão do fruto em solução de nitrato de cálcio de baixa concentração (0,5%), promove a incorporação de mais água no interior dos espaços intercelulares pela retirada do ar do interior do tecido forçando a entrada da solução nestes espaços anteriormente ocupados pelo ar, e ao interior das células por osmose devido ao gradiente de concentração. O resultado é que com o abaixamento da temperatura, devido a grande quantidade de água e pouca de soluto o processo de cristalização é favorecido e a fração de água não congelada diminui rapidamente.

A infusão do fruto em solução de sacarose (Figura 11-A) permite a incorporação de materiais não aquosos no interior do fruto, confirmada pelo aumento nos teores de sólidos solúveis e matéria seca após os pré-tratamentos. Frutos tratados com estes sistemas, como pode ser observado, apresentam uma queda substancial na fração de água não congelada no início do resfriamento. Esta queda é amenizada e a curva adquire um comportamento mais suave quanto à diminuição na fração de água não congelada. Este comportamento é atribuído a um processo de cristalização rápido no início do resfriamento que é reduzido com o aumento gradativo da viscosidade a medida que a fração não congelada se torna mais concentrada dificultando a mobilidade molecular da água. Para frutos tratados com sistemas constituídos de sacarose + nitrato de cálcio, verifica-se que a taxa de cristalização da água é mais alta ou a fração de água não congelada é mais baixa quando comparada a sistemas constituídos apenas pela adição de sacarose. Isto pode ser explicado em termos da presença de ions Ca^{2+} atuarem como agentes nucleantes aumentando o número de núcleos de cristalização da água por um processo de

nucleação heterogênea em um intervalo de tempo mais curto. Este resultado pode ser compatibilizado com aqueles obtidos por Muhr, Blanshard e Sheard (1986) obtidos avaliando o efeito de polissacarídeos estabilizadores sobre a taxa de nucleação do gelo.

Os gráficos B, C e D da Figura 11 mostram a fração de água não congelada estimada em função do tempo, de frutos tratados com sistemas constituídos de hidrocolóides sem e com a adição de sacarose e nitrato de cálcio. Verifica-se que as curvas apresentam formas diferentes principalmente na região correspondente ao tempo final de congelamento onde se observa uma menor fração de água não congelada. Hidrocolóides que apresentam curvas com uma forma côncava ou uma inclinação próxima a horizontal, e uma fração de água não congelada superior nesta região, deverão provavelmente ser mais efetivos na inibição do crescimento de cristais de gelo na temperatura do sistema. Sistemas constituídos de pectina + sacarose + nitrato de cálcio no gráfico B, amido gelatinizado + sacarose no gráfico D (Figura 11) apresentam este tipo de comportamento.

Frutos submetidos à infusão em sistemas constituídos apenas por géis de baixa concentração não exercem efeitos satisfatórios sobre o aumento da fração de água não congelada no seu interior com o decorrer do tempo. Ao contrário, aumentam a taxa de cristalização da água, sendo este efeito mais pronunciado com tratamentos feitos com CMC+CM seguidos de pectina e amido. Esta diferença observada, levando em consideração a natureza do gel, pode ser devida ao caráter hidrofílico dos grupos responsáveis pela ligação e retenção das moléculas de água na rede, responsável pela viscosidade e firmeza do gel. Não se pode descartar a possibilidade da existência de um mecanismo interativo entre estes géis e componentes presentes na microestrutura do fruto.



The following text is extremely faint and largely illegible. It appears to be a multi-paragraph document, possibly a report or a letter. The text is oriented vertically on the page.

The first paragraph discusses the importance of maintaining accurate records and the role of the relevant authority. It mentions the need for transparency and accountability in the process.

The second paragraph details the specific steps and procedures that must be followed to ensure compliance with the applicable regulations. It emphasizes the need for thoroughness and attention to detail.

The third paragraph addresses the potential challenges and risks associated with the proposed plan or action. It suggests ways to mitigate these risks and ensure a successful outcome.

The fourth paragraph concludes the document by summarizing the key points and reiterating the commitment to high standards of performance and integrity.

Sistemas constituídos de pectina e amido gelatinizado adicionados de nitrato de cálcio apresentam comportamentos semelhantes quanto a taxa de cristalização da água. A queda da fração de água não congelada ocorre mais rapidamente quando comparada àquelas mostradas nas curvas características dos sistemas formados unicamente por estes géis; sendo o efeito mais visível em sistemas contendo pectina. Uma queda bem mais acentuada é observada para sistemas contendo CMC+CM. Isto pode ser justificado em termos da perda do caráter hidrofílico dos géis de polissacarídeos quando na presença de ions cálcio, fenômeno visível observado com o gel (principalmente CMC) até mesmo antes do processo de infusão. A presença do ion Ca^{2+} atua junto aos grupos eletronegativos reduzindo a capacidade do hidrocolóide de se ligar a água, isto é, pontes de hidrogênio são quebradas e menos moléculas de água se ligarão à cadeia polimérica (Ganz, 1973).

Tratamentos de frutos realizados com sistemas constituídos de hidrocolóides + sacarose foram os que apresentaram os melhores resultados, quando se pensa aqui em obter substâncias que promovam a mínima cristalização da água durante o período de congelamento. A adição de sacarose a sistemas de hidrocolóides usados como pré-tratamentos muda drasticamente o comportamento das curvas que estimam a variação da fração de água não congelada na microestrutura de frutos durante o congelamento quando comparados aos demais sistemas.

Verifica-se que a composição de melões é bastante modificada após o pré-tratamento com sistemas hidrocolóides-sacarose-cálcio, e, que o método de infusão a vácuo promove uma boa incorporação de tais sistemas no interior dos frutos não sendo muito afetada pelos altos pesos moleculares, polimerização e viscosidade dos sistemas. Vários parâmetros medidos envolvendo a transferência de massa durante o processo comprovam a efetividade da incorporação dos constituintes. Estes parâmetros incluem o aumento e diminuição do teor de sólidos solúveis, ganho

e perda de massa, água e matéria seca após o pré-tratamento e ainda a presença visível de estruturas de géis, como é o caso de estruturas de amido cristalizado, no interior das amostras após o descongelamento.

Portanto, trata-se de um sistema complexo de multicomponentes envolvendo compostos celulares e sistemas de crioprotetores em que a determinação exata das propriedades físico-químicas do congelamento se torna difícil ou impossível. O que se faz, é a estimativa de alguns parâmetros baseada na análise das composições obtidas por medidas experimentais e por balanço de massa, utilizando equações derivadas de soluções ideais e sistemas binários com o objetivo de avaliar a eficiência dos pré-tratamentos em diminuir a mobilidade molecular da água no interior da microestrutura e sua capacidade em inibir o crescimento de cristais de gelo.

Considerando os sistemas constituídos de hidrocolóides como os responsáveis pelos resultados obtidos, tem-se que a redução da taxa de cristalização da água avaliada em termos da fração de água não congelada nestes sistemas é verificada. Estes resultados são explicados por efeitos interativos nos sistemas hidrocolóides-sacarose-água; sendo atribuído ao estado físico da sacarose sua funcionalidade na determinação da mobilidade molecular da água.

De acordo com Chinachoti (1993), a sacarose quando supersaturada diminui a mobilidade da água devido ao aumento da viscosidade e possível interação sacarose-água. A diminuição da mobilidade da água em soluções de glicose ou maltose tem sido atribuída a interação água-açúcar e a quantidade de água envolvida varia de açúcar para açúcar. O fator mais óbvio para a interação são os grupos superficiais sobre o substrato que podem formar pontes de hidrogênio com a água, tais como os grupos -OH dos açúcares.

Este comportamento pode ser observado nos gráficos da Figura 11 pela forma côncava nas curvas em que a sacarose está presente, apresentando uma inclinação acentuada nas regiões de

baixa concentração onde a mobilidade da água é maior, tornando-se mais suave a medida que a fração de água não congelada se torna mais concentrada. A determinação de um ponto de mínimo, seja pela observação a partir dos gráficos ou derivando as equações ajustadas, permite estimar o momento em que o sistema atinge a fração mínima de água não congelada, onde a taxa de cristalização da água é anulada.

Observando a Figura 11 para sistemas de hidrocolóides, verifica-se que estes pontos acontecem mais rapidamente e com uma fração de água não congelada mais rica em solutos para sistemas constituídos de pectina + sacarose + nitrato de cálcio e amido gelatinizado + sacarose. Em sistemas preparados com amido gelatinizado este ponto é atingido quase que simultaneamente, sendo o que varia é a fração de água não congelada.

Uma outra característica que merece atenção quando se observam estes gráficos é a variação da fração de água não congelada para os sistemas gel + sacarose + nitrato de cálcio. Para o gráfico B (Figura 11), a adição de cálcio dá uma forma à curva que descreve a fração de água não congelada que é favorável a uma menor taxa de cristalização da água que pode ser justificada pela interação entre os componentes do sistema sendo os ions Ca^{2+} responsáveis por ligações nos grupos carboxila livres entre as cadeias de pectina aumentando as forças de ligação interpoliméricas favorecendo a formação da rede géllica. Este fato e mais a presença da sacarose fornecem como resultados géis mais firmes com viscosidade crescente a medida que a temperatura é reduzida.

Para as curvas dos sistemas CMC+CM observa-se uma queda quase linear da fração de água não congelada quando adicionados de nitrato de cálcio e sacarose. A estrutura do gel é composta de água fortemente ligada por ligações de hidrogênio ao hidrocolóide sendo imobilizada pela formação da rede o que confere textura ao sistema. A adição de sacarose aumenta a

viscosidade provavelmente interagindo com a água livre (não ligada) do sistema. A adição de ions Ca^{2+} compete com a água estrutural provocando a quebra de ligações de hidrogênio e liberação de água no sistema com conseqüente diminuição da viscosidade. Este comportamento está de acordo com Ganz (1973) e justifica a disponibilidade de água necessária para a taxa de cristalização da água observada na Figura 11-C.

O congelamento de amido gelatinizado permite o aumento da associação de moléculas poliméricas através de ligações de hidrogênio. Este processo libera moléculas de água no interior do sistema que quando descongelado deixa uma estrutura sólida microporosa (Chan e Toledo, 1976; Luallen, 1985; Ferrero, Martino e Zaritzky, 1993). Esta presença de água livre no sistema supostamente explica a queda rápida quase linear da fração de água não congelada para os sistemas constituídos de amido gelatinizado apresentados no gráfico D da Figura 11. A adição de sacarose provavelmente atua diminuindo a viscosidade sequestrando ou inibindo a liberação de moléculas de água através de processos interativos amido-sacarose e sacarose-água como aqueles apresentados por Chinachoti (1993) e Chinachoti e Steinberg (1984).

O efeito da adição de ions Ca^{2+} pode provavelmente ser justificado pelo mesmo mecanismo descrito para os sistemas CMC+CM adicionados de nitrato de cálcio.

O efeito da adição de sacarose em presença de polissacarídeos estabilizadores sobre a taxa de crescimento de cristais de gelo foi observada por Muhr e Blamshard (1986). A velocidade de cristalização foi dita ser governada pela velocidade de difusão das moléculas de sacarose, e a adição de polissacarídeos causa apenas uma retardação extra. Acredita-se que este efeito seja uma conseqüência do fato de se ter um sistema ternário. A sacarose produziria estabilizadores mais efetivos levando a uma queda do ponto de congelamento, e à redução da taxa de difusão do estabilizador. A difusão das macromoléculas seria retardada pelo aumento da microviscosidade

devido a presença de moléculas de sacarose que permanecem a frente da interface do gelo (Blanshard e Franks, 1987).

Resultados sobre a taxa de crescimento de cristais de gelo também foram obtidos por Budiaman e Fennema (1987a, 1987b) que justificaram as diferentes capacidades de vários hidrocolóides, entre eles CMC, de inibirem a taxa de cristalização linear da água em termos das cadeias de hidrocolóides possuírem grupos laterais que facilitam a hidratação e possivelmente inibem a cristalização da água.

Deve-se salientar que os resultados da Figura 11 devem ser interpretados como um acompanhamento da mobilidade da água durante o processo de congelamento de forma que ao final do processo seja desejável a maior fração de água não congelada como resultado da baixa fração de água cristalizada na forma de gelo no interior da microestrutura, resultado do efeito crioprotetor dos tratamentos. Para efeito de armazenamento, uma alta fração de água não congelada é indesejável, visto que trata-se de uma fase em condições de não equilíbrio onde reações químicas e mudanças físicas como a recristalização se desenvolvem com o tempo de armazenamento e flutuações de temperatura.

4.2 Efeito da adição de crioprotetores sobre as propriedades físico-químicas do fruto após o descongelamento

4.2.1 Efeito da adição de crioprotetores sobre o teor de água final do fruto após o descongelamento

O conteúdo de água final do fruto após o descongelamento obtido por balanço de massa da secagem reflete a quantidade de material sólido retido no interior da microestrutura. O conhecimento deste parâmetro permite avaliar a relação entre o aumento no teor de sólidos na estrutura celular decorrente do processo de infusão e a resistência do tecido à ruptura durante o congelamento.

A adição de substâncias tais como géis, açúcares e os efeitos interativos gel + cálcio influenciam significativamente o teor de água do fruto descongelado, como pode ser observado pelo teste de Fisher apresentado no Quadro 1A ($P < 0,01$). Pode-se afirmar também, porém com menor convicção, que a interação envolvendo os sistemas gel + açúcar também contribui para o teor de água do fruto após o descongelamento ($P < 0,05$).

De uma maneira geral, os níveis do fator gel produzem resultados diferentes quanto ao teor de água final do produto. CMC+CM e pectina têm comportamentos iguais quanto a retenção de sólidos no interior do fruto. Os tratamentos feitos com a adição de amido produzem frutos após o descongelamento com o menor teor de água quando comparados aos demais géis, como pode ser observado nas Figuras 12 e 13. A adição de sacarose diminui ainda mais o teor de água do fruto descongelado mas não altera o comportamento dos géis, isto é, sistemas envolvendo soluções de amido gelatinizado em soluções de sacarose produzem os melhores resultados quanto ao menor

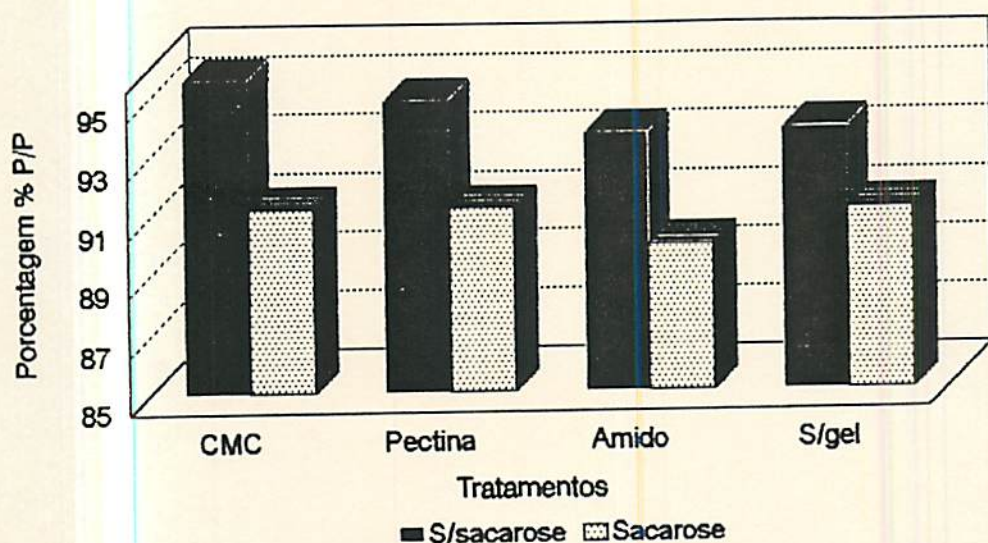


FIGURA 12 - Teor de água de frutos após o descongelamento e drenagem submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose (15%).

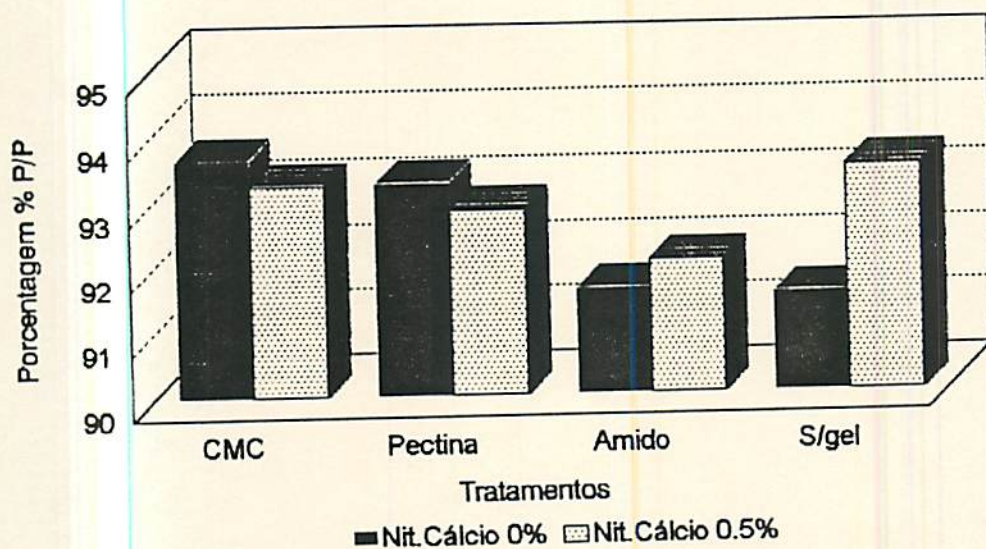


FIGURA 13 - Teor de água de frutos após o descongelamento e drenagem submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio 0,5%

teor de água após o descongelamento ao contrário daqueles tratados com CMC+CM + sacarose e pectina respectivamente. As Tabelas 7, 8, 9 e 10 mostram as significância entre os diferentes tratamentos e as interações entre os fatores que ocorreram no experimento.

Tratamentos feitos com sacarose 15% permitem a incorporação de sólidos pelo processo de infusão e promovem uma pequena retirada de água intracelular por osmose. Durante o congelamento a formação de gelo no interior dos frutos se dá em menor quantidade devido a ação inibidora da sacarose frente a formação de cristais de gelo. Entre os géis, quando em presença de sacarose, apenas o amido pode ser dito quanto à diferença de comportamento produzindo estruturas com menores teores de água. Quando sistemas constituídos de amido gelatinizado são submetidos ao processo de congelamento/descongelamento, a água usada na preparação do gel se separa devido à tendência das moléculas de amido a se reassociarem. Haverá liberação de água no sistema causando a formação de grandes cristais de gelo; isto produz altas concentrações poliméricas locais e permite a cristalização das cadeias de amilose e amilopectina. A estrutura celular após o descongelamento é vista toda envolvida por grânulos de amido cristalizado (Chan e Toledo, 1976; Ferrero, Martino e Zaritzky, 1993) contribuindo para o aumento no teor de matéria seca da estrutura dos frutos após o descongelamento.

A adição de nitrato de cálcio afeta com diferença apenas quando se compara os tratamentos feitos com e sem a adição de géis comprovando o efeito interativo existente entre estas duas substâncias, mas não se observa resultados diferentes quando se considera a natureza dos géis. Nestes sistemas também se observa que os sistemas contendo amido produzem frutos com menor teor de água após o descongelamento. A combinação amido gelatinizado + sacarose é atribuído o menor valor do teor de água do fruto descongelado. A velocidade de congelamento e demais interações não foram significativas para a análise deste parâmetro.

TABELA 7 - Análise das médias do teor de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamentos com géis de naturezas diferentes.

Gel	Repet.	Médias ¹	5%	1%
CMC + CM	36	93,4425	a	A
Pectina	36	93,0726	a	AB
Sem gel	36	92,5105	b	BC
Amido	36	91,8437	c	C

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 8 - Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados submetidos a pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 0%	72	94,5548	a	A
Sacarose 15%	72	90,8798	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 9 - Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamento com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x açúcares.

Gel	Sacarose 15%				Sacarose 0%			
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Rep.	Médias ¹	5%	1%
CMC+CM	18	91,2294	a	A	18	95,6556	a	A
Pectina	18	91,2205	a	A	18	94,9248	a	AB
Sem Gel	18	91,1344	a	A	18	93,8866	b	BC
Amido	18	89,9350	b	B	18	93,7524	b	C

¹Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 10 - Análise do teor médio de água de frutos congelados/descongelados e drenados produzidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo géis x cálcio.

Gel	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%				
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sem Gel	18	93,4770	a	A	CMC+CM	18	93,6492	a	A
CMC+CM	18	93,2357	a	A	Pectina	18	93,2898	a	A
Pectina	18	92,8554	a	AB	Amido	18	91,6452	b	B
Amido	18	92,0422	b	B	Sem Gel	18	91,5439	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

A adição de sacarose provavelmente interfere durante a associação interpolimérica, responsável pela liberação de água no sistema por efeitos interativos amido-sacarose e sacarose-água. Ao contrário, a adição de cálcio promove quebra de ligações de hidrogênio entre a água e a estrutura do gel, tendo como consequência a formação de grandes cristais de gelo, deterioração da estrutura e diminuição do teor de sólidos provavelmente causada pela lixiviação de componentes celulares durante o descongelamento como exposto por Spies, (1979).

4.2.2 Efeito da adição de crioprotetores sobre a perda de fluido celular (exsudação) após o descongelamento.

Sistemas que envolvem a adição de géis de polissacarídeos, açúcar e sais de cálcio e suas interações produzem um efeito acentuado sobre a perda de fluido celular após o descongelamento atribuída à danos mecânicos causados à microestrutura pelo crescimento de cristais de gelo.

De acordo com o teste de Fisher, apresentado no Quadro 2A, frutos tratados com sistemas que envolvem a adição de açúcares, ions Ca^{2+} e os sistemas interativos gel + açúcar, gel + cálcio, açúcar + cálcio e a interação entre os três fatores gel + açúcar + cálcio produzem diferenças significativas quanto a perda de fluido por exsudação ($P < 0,01$).

Como se pode observar pelos testes de médias (Tabelas 11 a 17) considerando fixo o fator gel e a significância entre tratamentos, a natureza do gel influencia de forma distinta a perda de fluido após o descongelamento, de uma maneira geral, CMC+CM e pectina são os géis de polissacarídeos que apresentam o maior percentual de perda de fluido por exsudação. Tratamentos preparados com polissacarídeos adicionados de sacarose apresentam redução

TABELA 11 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com géis de naturezas diferentes.

Gel	Repet.	Médias ¹	5%	1%
CMC + CM	36	48,8331	a	A
Pectina	36	47,8104	ab	A
Amido	36	45,9595	b	A
Sem gel	36	45,8996	b	A

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 12 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 0%	72	52,7075	a	A
Sacarose 15%	72	41,5439	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 13 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Nit. Cálcio 0%	72	49,7117	a	A
Nit. Cálcio 0,5%	72	44,5396	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 14 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x açúcares.

Sacarose 15%					Sacarose 0%				
Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sem Gel	18	42,5239	a	A	CMC+CM	18	56,5311	a	A
Pectina	18	42,0943	a	A	Pectina	18	53,5266	ab	AB
CMC+CM	18	41,1351	a	A	Amido	18	51,4970	bc	AB
Amido	18	40,4221	a	A	Sem Gel	18	49,2754	c	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 15 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x cálcio.

Gel	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%				
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Rep.	Médias ¹	5%	1%	
CMC+CM	18	46,0173	a	A	CMC+CM	18	51,6490	a	A
Sem Gel	18	45,6947	a	A	Amido	18	50,8521	a	AB
Pectina	18	45,3796	a	A	Pectina	18	50,2413	a	AB
Amido	18	41,0670	b	A	Sem Gel	18	46,1046	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 16 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo açúcar x cálcio.

Açúcar	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%			
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 0%	36	52,3540	a	A	36	53,0610	a	A
Sacarose 15%	36	36,7253	b	B	36	46,3624	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 17 - Análise da percentagem média de perda de fluido celular (%P/P) por frutos descongelados após pré-tratamentos que envolvem o efeito interativo entre três fatores (gel x açúcar x cálcio).

Açúcar	Gel	Rep.	Nit.Cálcio 0,5%			Nit.Cálcio 0%				
			Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 15%	CMC+CM	9	38,9417	a	A	Sem Gel	9	48,3263	a	A
	Pectina	9	37,1652	a	A	Pectina	9	47,0234	a	A
	Sem Gel	9	36,7215	a	A	Amido	9	46,7715	a	A
	Amido	9	34,0727	a	A	CMC + CM	9	43,3285	a	A
Sacarose 0%	Sem Gel	9	54,6678	a	A	CMC + CM	9	59,9695	a	A
	Pectina	9	53,5940	a	A	Amido	9	54,9327	ab	A
	CMC + CM	9	53,0928	ab	A	Pectina	9	53,4591	b	A
	Amido	9	48,0613	b	A	Sem Gel	9	43,8829	c	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

acentuada do percentual de perda de suco quando comparados àqueles tratados sem a adição de géis, sendo a redução maior verificada nos tratamentos que utilizam amido gelatinizado como formador da rede gélica como mostrado na Figura 14. CMC+CM e pectina são estatisticamente iguais frente aos tratamentos com a adição de sacarose.

A adição de cálcio a sistemas de géis de polissacarídeos também interage reduzindo a perda de fluido celular após o descongelamento, mas não se pode afirmar dentre os três diferentes polissacarídeos, qual aquele que apresenta efeito interativo mais forte com ions Ca^{2+} que permita uma maior redução do percentual de perda de suco após o descongelamento, isto é, o comportamento dos géis é semelhante nestes sistemas. O que se pode observar é que o efeito

interativo existe no sistema gel x cálcio e é significativo quando comparado àqueles tratamentos feitos na ausência de géis (Figura 15).

Resultados semelhantes foram obtidos por Fuster, Prestamo e Canet (1982b) tratando morangos com solução de 0,28% de CaCl_2 + 0,5% de NaCl. Isto é atribuído à interação do cálcio com componentes da parede celular principalmente substâncias pécticas conferindo resistência e mantendo a integridade da estrutura celular durante o congelamento.

Quando os três fatores (géis de polissacarídeos, açúcar e ions cálcio) estão presentes no mesmo sistema a redução no percentual de perda de suco após o descongelamento é mais pronunciada, e isto, é atribuído ao efeito da interação dos três fatores entre si e provavelmente entre componentes da parede celular reduzindo os danos mecânicos causados à estrutura celular e/ou impedindo o crescimento de cristais de gelo na microestrutura. Considerando o sistema de três fatores, pode-se observar que frutos submetidos a tratamentos com amido + sacarose + cálcio foram os que apresentaram o menor percentual de perda de flúido celular com uma redução de aproximadamente 23% quando comparados com o percentual de perda do fruto "in natura" congelado sem algum tipo de tratamento (Figura 16).

Um outro tipo de interação que deve ser considerado e analisado é aquele que trata de sistemas que envolvem a adição sacarose + cálcio. Frutos tratados com soluções de sacarose adicionadas de cálcio apresentam menor percentual de perda de suco após o descongelamento quando comparados àqueles tratados com soluções de sacarose sem a adição de cálcio.

A adição de sacarose promove uma ligeira remoção de água do interior do fruto e um aumento no teor de sólidos resultantes da desidratação osmótica e a penetração dos solutos protege parcialmente os tecidos dos danos de congelamento, reduzindo a perda por exsudação durante o congelamento (Garrote & Bertone, 1989).

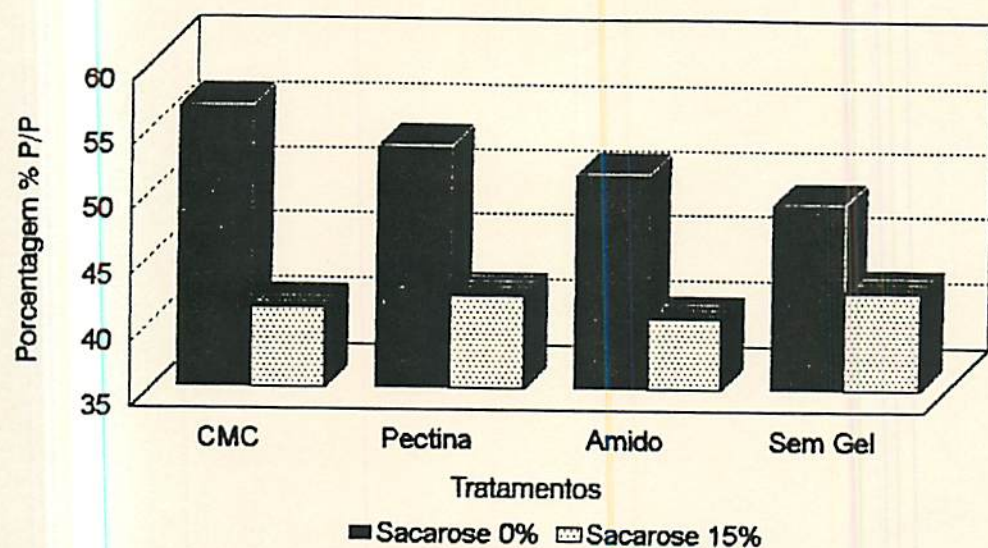


FIGURA 14 - Perda de fluido por exsudação (%P/P) após o descongelamento de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-cálcio sem e com adição de sacarose 15%.

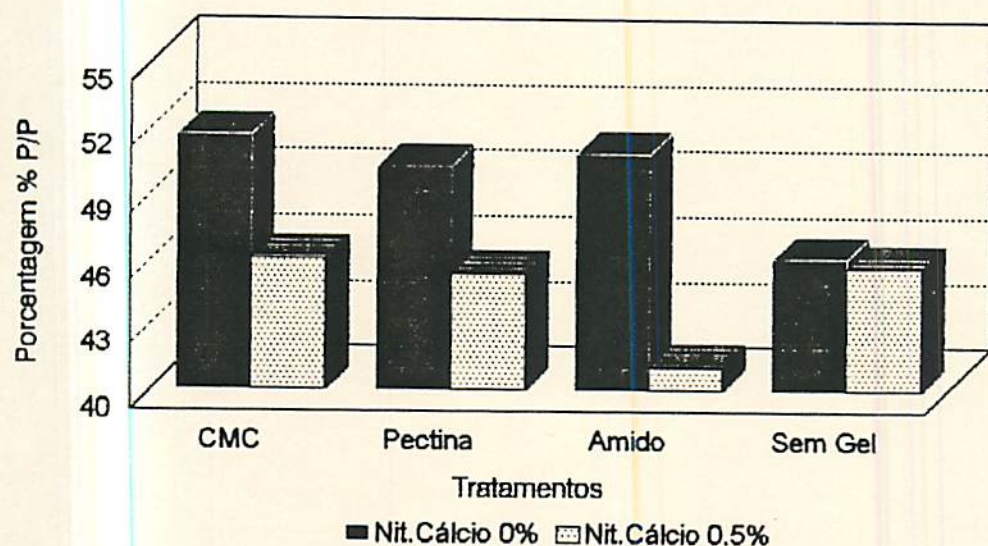


FIGURA 15 - Perda de fluido celular após o descongelamento (%P/P) de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio 0,5%.

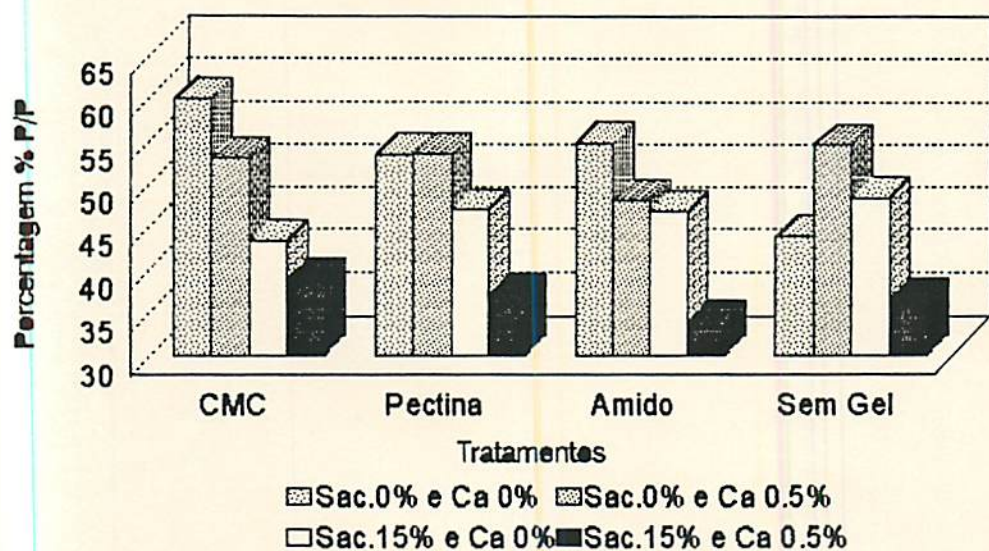


FIGURA 16 - Perda de flúido celular após o descongelamento (%P/P) de frutos submetidos Na pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio mostrando o efeito da adição de sacarose 15%, nitrato de cálcio 0,5% e ambos a um sistema interativo de três fatores onde o fator gel é considerado fixo.

4.2.3 Efeito da adição de crioprotetores sobre o teor de Sólidos Solúveis Totais (SST) do fruto após congelamento/descongelamento

O teor de sólidos solúveis totais é um parâmetro que influencia diretamente as propriedades físico-químicas responsáveis pela cristalização do gelo tais como ponto de congelamento, grau de superesfriamento, nucleação e crescimento de cristais de gelo. Como pode ser observado pelo Quadro 3A, a adição de crioprotetores como alguns sistemas constituídos de géis de polissacarídeos, açúcares e ions cálcio, por infusão; no interior do fruto, produzem efeitos com diferenças significativas sobre o teor de SST após o congelamento/descongelamento.

O efeito é mais pronunciado em frutos tratados com géis, açúcares e sistemas interativos que incluem os fatores géis x açúcar, géis x cálcio ($P < 0,01$), açúcar x cálcio e o sistema com a interação dos três fatores (géis x açúcar x cálcio) ($p < 0,05$).

Analisando as médias obtidas para os diferentes tratamentos, e, levando em conta a significância entre tratamentos, e, considerando o fator gel como fator fixo (Tabelas 18 a 23), observa-se que a natureza do gel formado por diferentes polissacarídeos produz resultados diferentes quanto ao teor de SST após o descongelamento. Frutos tratados com amido gelatinizado apresentam o maior valor de SST ao contrário do que acontece com tratamentos com géis formados por pectina e CMC+CM, resultando em frutos com os menores teores de SST pós-congelamento.

Em sistemas onde a sacarose está presente, o gradiente de concentração existente entre o fruto e os componentes da solução, provoca um aumento notável no teor de SST como um resultado da incorporação de materiais por osmose à microestrutura do fruto durante o processo de infusão a vácuo. A adição de sacarose a sistemas constituídos por amido como substância formadora de gel foi o tratamento que resultou em frutos com teores de SST mais elevados após o descongelamento (Figura 17).

A adição de cálcio por si só, não influencia o teor de SST após o descongelamento, mas as interações dos ions Ca^{2+} com os fatores géis, açúcares e gel x açúcar apresentam resultados apreciáveis. Pode-se observar que em tratamentos onde o fator géis não está presente o teor de SST é reduzido drasticamente com a adição de cálcio (Figura 18).

O efeito da interação entre os três fatores também pode ser observado a partir dos resultados obtidos. Tratamentos preparados formando os sistemas géis + sacarose + cálcio produzem frutos descongelados com maiores teores de SST. Um valor do teor de SST maior foi

TABELA 18-Análise do teor médio de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com géis de polissacarídeos de naturezas diferentes.

Gel	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Amido	36	8,3838	a	A
Sem Gel	36	8,1088	ab	AB
Pectina	36	7,4425	bc	BC
CMC + CM	36	6,9958	c	C

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 19 - Análise do teor médio de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 15%	72	9,5661	a	A
Sacarose 0%	72	5,8989	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 20 - Análise do teor médio de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados produzidos após pré-tratamentos com sistemas que envolvem o efeito interativo géis x açúcares.

Sacarose 15%					Sacarose 0%				
Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Amido	18	10,5128	a	A	Sem Gel	18	7,1206	a	A
CMC+CM	18	9,3306	b	AB	Amido	18	6,2527	ab	AB
Pectina	18	9,3239	b	AB	Pectina	18	5,5611	bc	BC
Sem Gel	18	9,0972	b	B	CMC+CM	18	4,6611	c	C

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 21 - Análise do teor médio de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo entre os fatores géis x cálcio.

Nit.Cálcio 0,5%					Nit.Cálcio 0%				
Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Amido	18	8,3544	a	A	Sem Gel	18	9,5567	a	A
Pectina	18	7,9044	a	AB	Amido	18	8,4111	b	A
CMC+CM	18	7,4611	ab	AB	Pectina	18	6,9806	c	B
Sem Gel	18	6,6611	b	B	CMC+CM	18	6,5306	c	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 22 - Análise do teor de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo entre os fatores açúcares x cálcio.

Açúcar	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%			
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 15%	36	9,6961	a	A	36	9,4361	a	A
Sacarose 0%	36	5,4944	b	B	36	6,3033	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 23 - Análise do teor médio de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos congelados/descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo dos fatores géis x açúcar x cálcio.

Açúcar	Gel	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%				
		Rep.	Médias ¹	5%	1%	Rep.	Médias ¹	5%	1%	
Sacarose 15%	Amido	9	10,4478	a	A	Amido	9	10,5778	a	A
	Pectina	9	10,0922	a	A	Sem Gel	9	9,6389	ab	AB
	CMC+CM	9	9,6889	ab	A	CMC+CM	9	8,9722	b	AB
Sacarose 0%	Sem Gel	9	8,5555	b	A	Pectina	9	8,5556	b	B
	Amido	9	6,2611	a	A	Sem Gel	9	9,4744	a	A
	Pectina	9	5,7167	ab	A	Amido	9	6,2445	b	B
	CMC + CM	9	5,2333	ab	A	Pectina	9	5,4056	bc	BC
	Sem Gel	9	4,7667	b	A	CMC+CM	9	4,0889	c	C

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

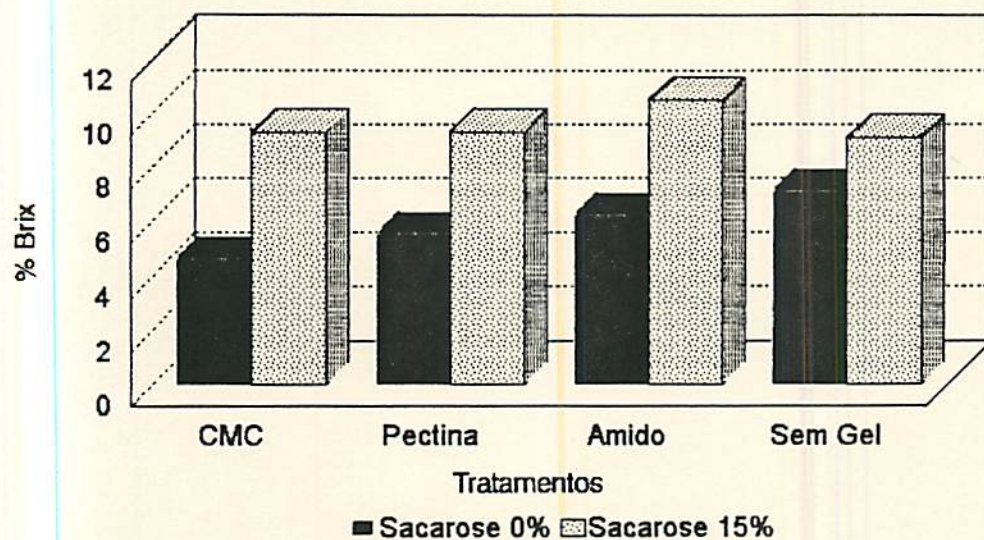


FIGURA 17 - Teor de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose 15%.

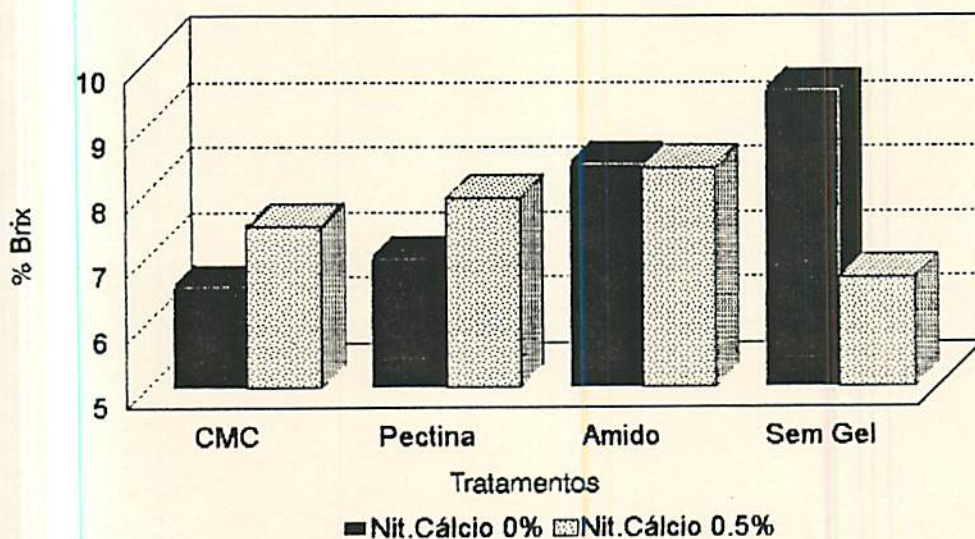


FIGURA 18 - Teor de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio 0,5%.

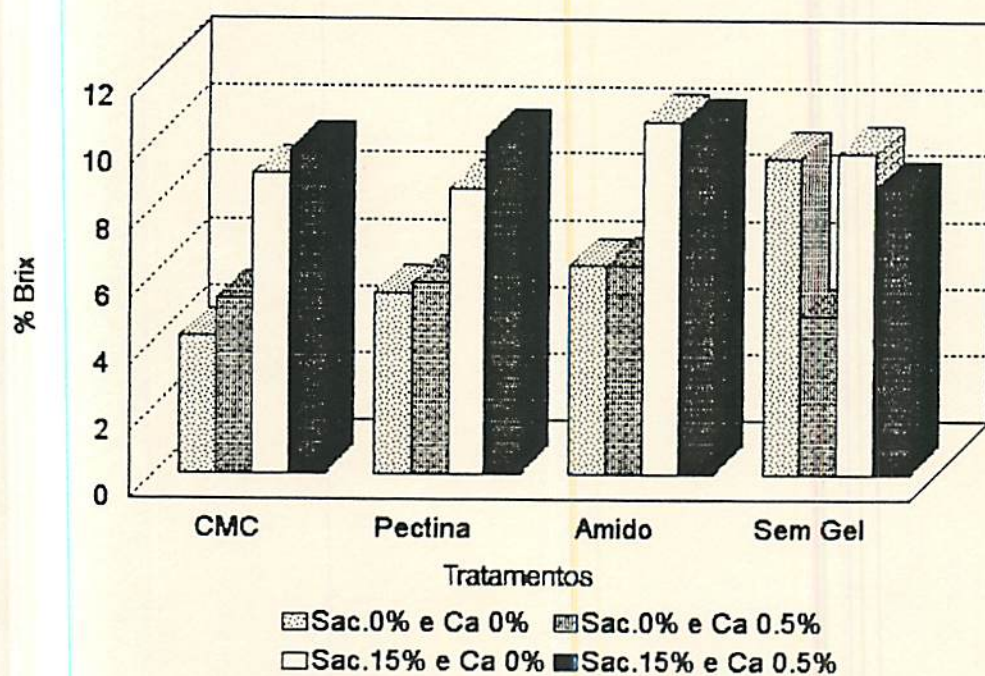


FIGURA 19 - Teor de Sólidos Solúveis Totais (°BRIX) após o descongelamento de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio mostrando o efeito da adição de sacarose 15%, nitrato de cálcio 0,5% e ambos a um sistema interativo de três fatores onde o fator gel é considerado fixo.

4.2.4 Efeito da adição de crioprotetores como pré-tratamentos anteriores ao processo de congelamento sobre a textura de frutos descongelados.

A obtenção de parâmetros texturométricos após o descongelamento permite avaliar o grau de ruptura do tecido de frutos causados pelo crescimento de cristais de gelo e assim verificar entre os diferentes pré-tratamentos, qual aquele que se mostrou mais efetivo na manutenção das características microestruturais. Para os dados experimentais obtidos, de acordo com o teste de Fisher apresentado no Quadro 4A, pode ser observado que apenas os tratamentos onde os fatores açúcar e cálcio estão presentes os resultados são significativos, ou seja, influenciam o valor da textura após o descongelamento ($P < 0,01$). A natureza do gel não influencia o valor final da resistência à penetração oferecida por frutos submetidos à pré-tratamentos após o descongelamento. Os fatores que contribuem para um maior valor da firmeza de frutos após o congelamento/descongelamento são a adição de sacarose e a adição de nitrato de cálcio sendo este último atribuído como o principal responsável pela manutenção das propriedades texturométricas após o descongelamento (Figuras 20, 21).

Não se verifica a ocorrência de interações entre fatores atuando de forma significativa como agentes responsáveis pela manutenção da qualidade da textura de frutos processados. Pode-se afirmar que a adição de nitrato de cálcio resulta em altos valores de resistência do fruto à penetração. A adição de sacarose, em um nível menor, também contribui para a manutenção das propriedades texturométricas. Uma análise mais geral das médias da força de resistência oferecida pelos frutos tratados com estes fatores pode ser feita observando os resultados apresentados nas Tabelas 24 e 25

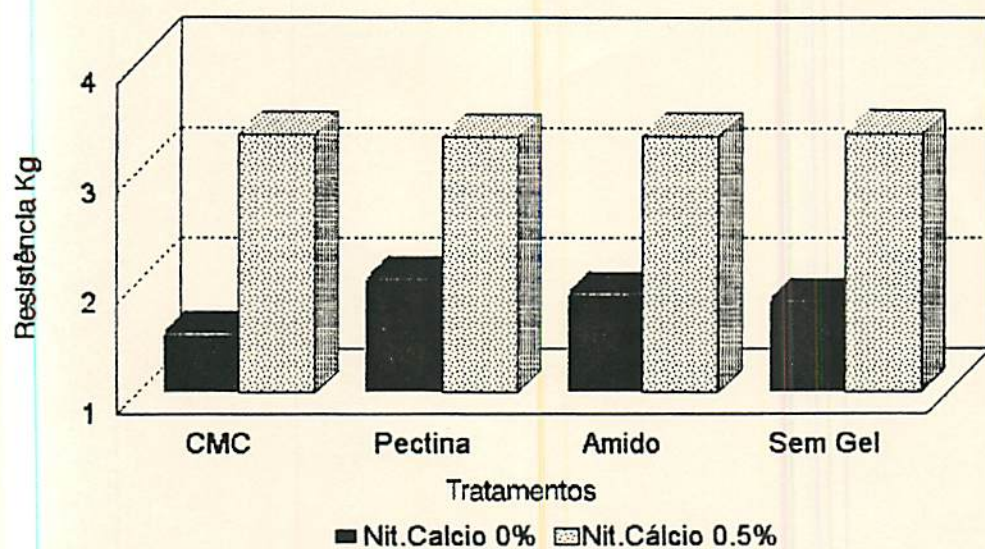


FIGURA 20 - Valores da resistência à penetração (kg - sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio 0,5%.

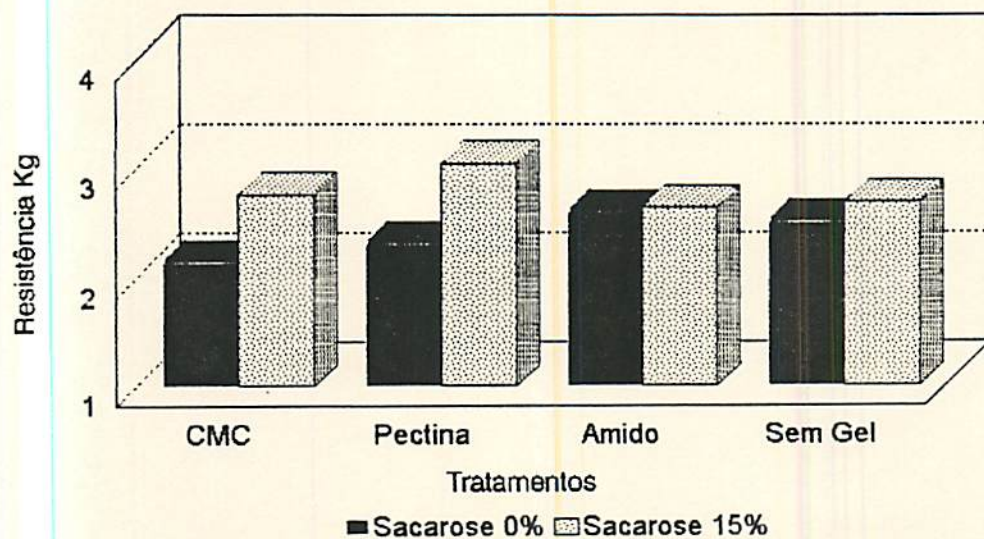


FIGURA 21 - Valores da resistência à penetração (kg - sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose 15%.

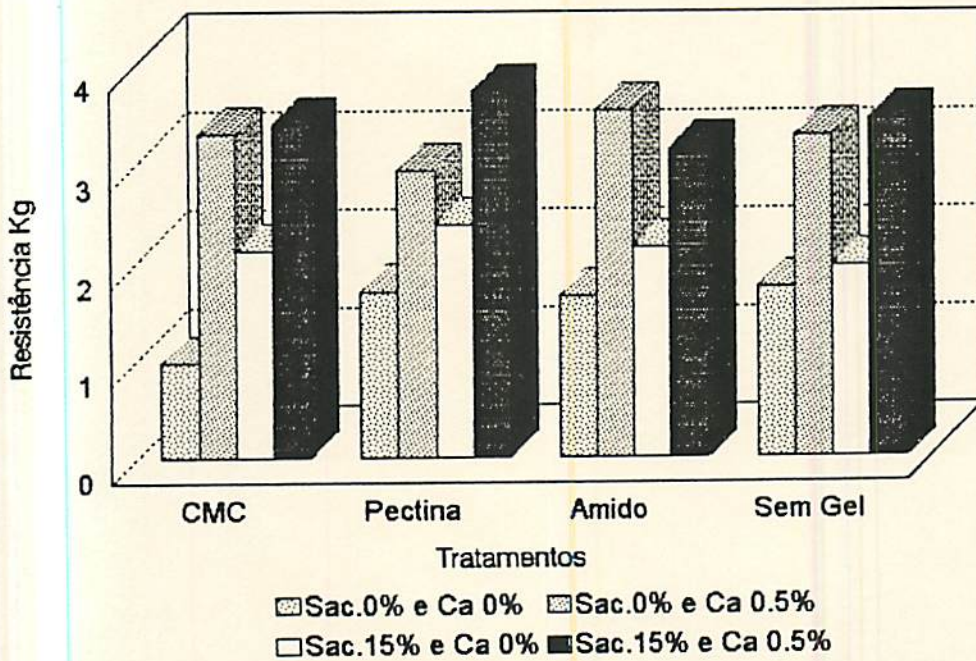


FIGURA 22 - Valor da resistência à penetração (kg - Sonda D = 7/16 in) após o descongelamento de frutos submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio mostrando o efeito da adição de sacarose 15%, nitrato de cálcio 0,5% e ambos a um sistema de três fatores onde o fator gel é considerado fixo.

TABELA 24 - Análise do valor médio de resistência à penetração (kg - Sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de sacarose.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 15%	72	2,7822	a	A
Sacarose 0%	72	2,3862	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 25 - Análise do valor médio da resistência à penetração (kg - sonda D = 7/16 in) de frutos descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Nit. Cálcio 0,5%	72	3,3406	a	A
Nit. Cálcio 0%	72	1,8278	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

Este efeito é justificado tendo em vista a relação entre o cálcio e componentes da parede celular. Os elementos das cadeias de polissacarídeos pécnicos podem acondicionar-se de forma intermolecular em associação com o cálcio ou com outros cations para formar géis. O cálcio se fixa dentro de cavidades entre as cadeias ligando-se a grupos carboxilatos e a outros átomos de oxigênio eletronegativos que são ligantes favoráveis. A formação de géis de polissacarídeos pécnicos resulta em textura mais firme e aumento da estabilidade das interligações entre os componentes da parede celular. A contribuição da sacarose sobre o parâmetro textura é atribuído à remoção de água intracelular, inibindo o crescimento e diminuindo a quantidade de gelo formada responsável por danos mecânicos à estrutura celular. Estes resultados são compatíveis com aqueles obtidos por Fuster, Prestamo e Spinosa (1982); Fuster, Prestamo e Canet (1982); Main, Morris e Wehunt (1986) e Paoletti e Menesatti (1993).

4.2.5 Efeito da adição de crioprotetores sobre a capacidade de retenção de água na microestrutura do fruto após o descongelamento.

A determinação do índice de difusão do suco por capilaridade (IDPF) é uma técnica que permite uma avaliação da capacidade de retenção de água pelo material após o descongelamento e uma idealização dos aspectos microestruturais do fruto descongelado quanto à porosidade, cavidades deixadas por cristais de gelo e influência da adição de géis sobre a rede microestrutural formada após o descongelamento. Com base nos resultados experimentais obtidos, pode-se observar, de acordo com o teste de Fisher (Quadro 5A), que os fatores géis, sacarose e cálcio influenciam significativamente a velocidade com que o material libera água por difusão em

um meio capilar ($P < 0,01$), e, em um nível mais baixo, a interação gel x cálcio também influenciou consideravelmente os valores deste índice ($P < 0,05$).

Analisando os testes de significância entre tratamentos (Tabelas 26 a 29) e considerando o fator gel como um fator fixo, de um modo geral, pode-se verificar que a adição de géis reduz notavelmente o índice de difusão em um meio capilar, e, quando se considera a natureza dos géis, observa-se uma diferença significativa quanto ao comportamento de géis formados por amido gelatinizado comparados àqueles formados com pectina e CMC+CM. Na ordem CMC+CM, pectina e amido, apresentam valores do IDPF mais baixos quando comparados aos tratamentos realizados na ausência de géis. A presença de gel diminui a velocidade de difusão (ou perda) do fluido celular após o descongelamento. Tratamentos feitos com CMC+CM e pectina apresentaram comportamentos praticamente iguais quanto aos valores do IDPF resultantes após o descongelamento.

A adição de sacarose a um sistema gel-cálcio reduz acentuadamente a velocidade de difusão do suco do fruto quando em contato com o material capilar, mas não se pode afirmar dentre os sistemas de géis de polissacarídeos em presença de sacarose 15%, qual aquele que proporciona o efeito mais pronunciado quanto ao valor do IDPF (Figura 23)

A adição de cálcio aumenta a velocidade de difusão do fluido celular no meio capilar. Nestes sistemas, tratamentos constituídos de pectina e CMC+CM apresentam comportamentos estatisticamente iguais e são os que resultam em menores valores para o IDPF do fruto após o descongelamento (Figura 24). Ainda considerando a natureza do gel, tratamentos com amido gelatinizado são os que produzem o maior índice de difusão e diferem significativamente daqueles realizados com géis de pectina que resultam nos valores mais baixos do IDPF quando em presença de nitrato de cálcio.

TABELA 26 - Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos com géis de polissacarídeos de naturezas diferentes.

Gel	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sem Gel	36	43,1513	a	A
Amido	36	23,9689	b	B
Pectina	36	17,0769	c	C
CMC + CM	36	16,8837	c	C

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 27 - Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos sem e com a adição de sacarose.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Sacarose 0%	72	32,3914	a	A
Sacarose 15%	72	18,1490	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 28 - Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade(%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados obtidos após pré-tratamentos com e sem a adição de nitrato de cálcio.

Tratamentos	Repet.	Médias ¹	5%	1%
Nit. Cálcio 0,5%	72	28,3400	a	A
Nit. Cálcio 0%	72	22,2004	b	B

¹Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

TABELA 29 - Análise do índice médio de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados obtidos após pré-tratamentos com sistemas envolvendo o efeito interativo entre os fatores géis x cálcio.

Gel	Nit.Cálcio 0,5%				Nit.Cálcio 0%				
	Rep.	Médias ¹	5%	1%	Gel	Rep.	Médias ¹	5%	1%
Sem Gel	18	49,6189	a	A	Sem Gel	18	36,6836	a	A
Amido	18	28,4471	b	B	Amido	18	19,4908	b	B
CMC+CM	18	19,4838	c	BC	Pectina	18	18,3437	b	B
Pectina	18	15,8101	c	C	CMC+CM	18	14,2837	b	B

¹ Médias verticais seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado, pelo teste de Duncan.

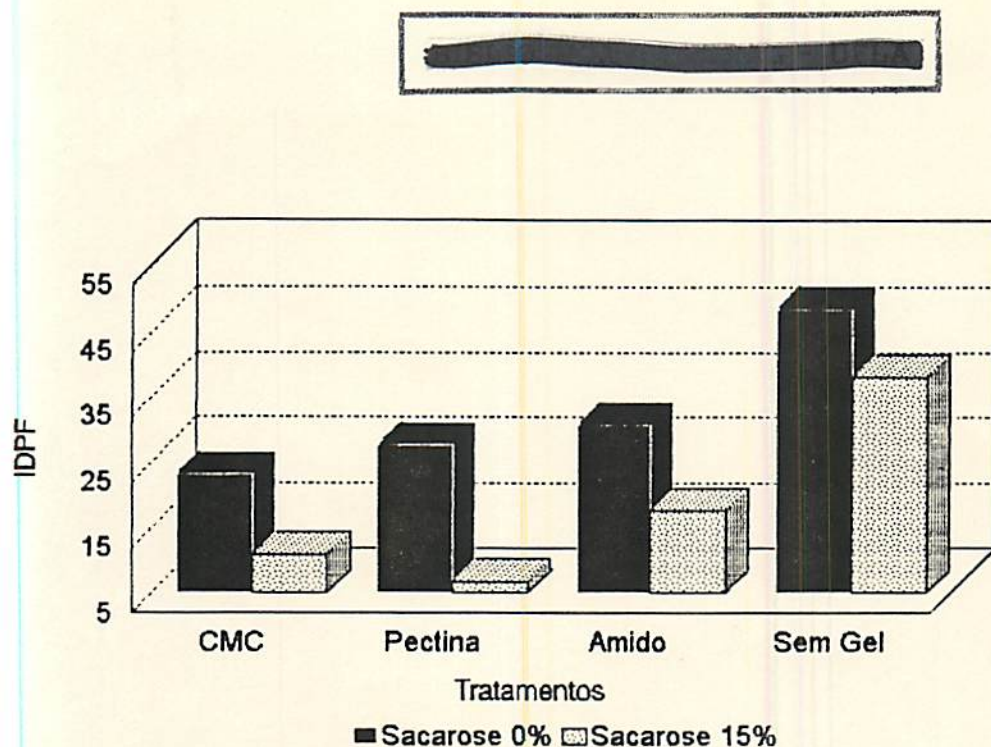


FIGURA 23 - Índice de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-cálcio sem e com a adição de sacarose 15%.

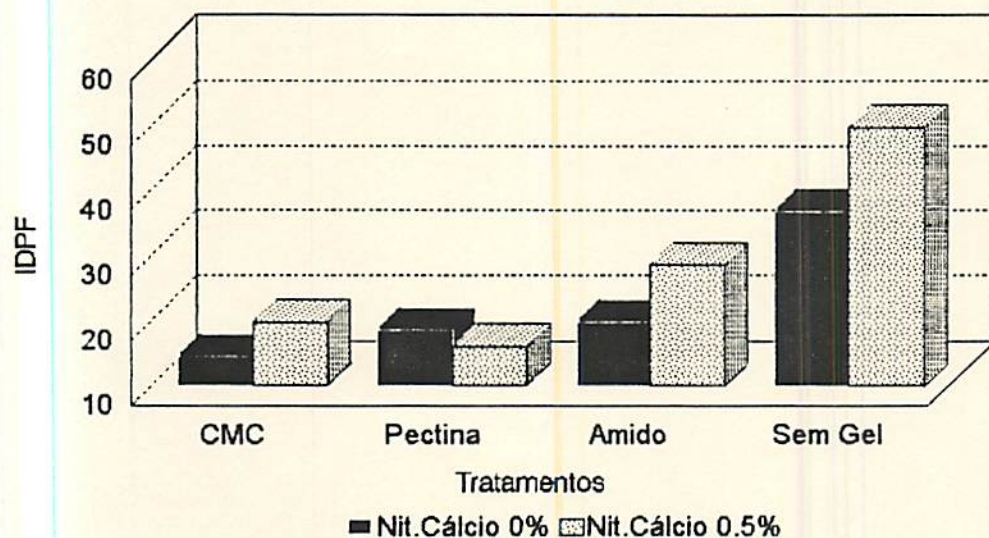


FIGURA 24 - Índice de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos descongelados submetidos a pré-tratamentos constituídos de sistemas gel-sacarose sem e com a adição de nitrato de cálcio 0,5%.

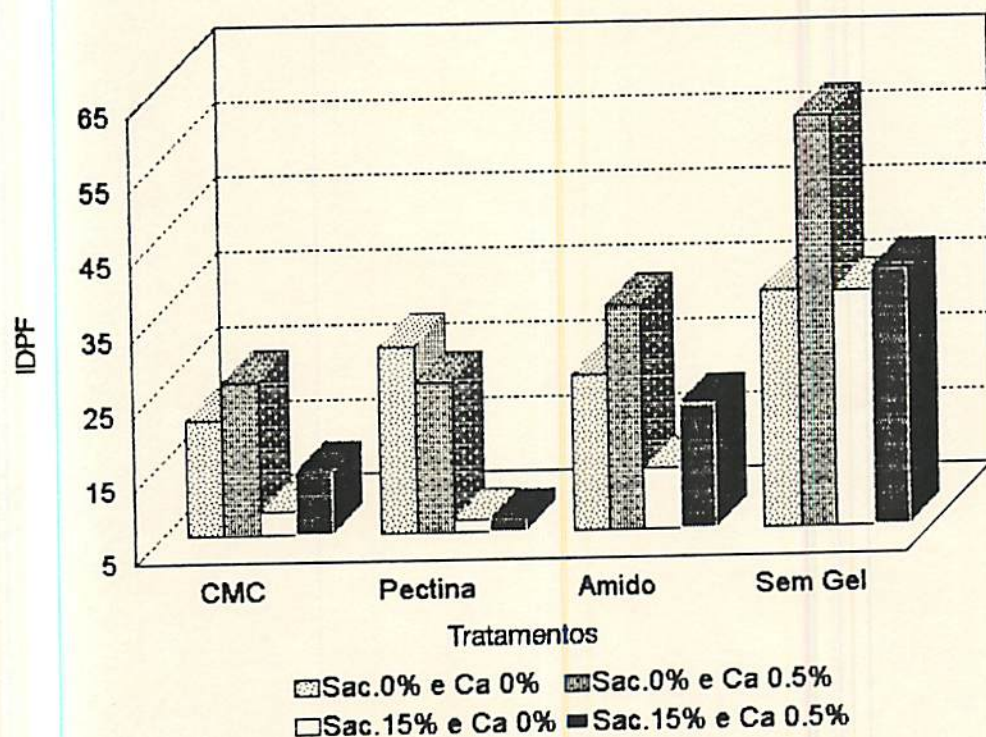


FIGURA 25 - Índice de difusão do fluido celular por capilaridade (%) (IDPF) de frutos congelados/descongelados submetidos a pré-tratamentos envolvendo sistemas gel + sacarose + cálcio mostrando o efeito da adição de sacarose 15%, nitrato de cálcio 0,5% e ambos a um sistema de três fatores onde o fator gel é considerado fixo.

Não se verifica para este parâmetro a existência de fortes interações entre os diferentes fatores envolvidos nos sistemas. A única interação observada ($P < 0,05$), trata-se daquela envolvendo os fatores géis x cálcio onde a adição de nitrato de cálcio provoca um aumento diferenciado, dependente da natureza do gel, dos valores do índice de difusão em um meio capilar após o processo de congelamento/descongelamento (Figura 25).

Uma justificativa para estes resultados pode ser feita analisando os parâmetros responsáveis pelas condições com que a água está disponível no sistema. As diferenças entre os IDPF's observados entre géis provavelmente são devidas ao caráter hidrofílico ou a afinidade com que o hidrocolóide se liga à água, ou seja a força de hidratação. A sacarose contribui interagindo com a água não ligada diminuindo a mobilidade molecular da água e interferindo nos processos de interações interpoliméricas dos hidrocolóides. A adição de cálcio é favorável à formação de géis em sistemas constituídos de pectina aumentando a viscosidade, e, proporciona mais água ao sistema por competição com a água estrutural ligada às demais moléculas poliméricas. O resultado é uma menor viscosidade, maior quantidade de água disponível no sistema, maior formação de gelo durante o congelamento e menor capacidade de retenção de água após o descongelamento.

4.3 Efeito da adição de crioprotetores sobre a microestrutura celular de frutos

4.3.1 Características microestruturais do fruto "in natura"

A Figura 26-A apresenta fotomicrografias obtidas por microscopia ótica do fruto fresco antes de ser submetido aos processos de pré-tratamento e congelamento. A Figura 26-B mostra detalhes dos espaços intercelulares encontrados em melões frescos onde supostamente as substâncias crioprotetoras são inseridas durante a infusão a vácuo, e, ^{quando a} a cristalização e crescimento dos cristais de gelo é iniciada.

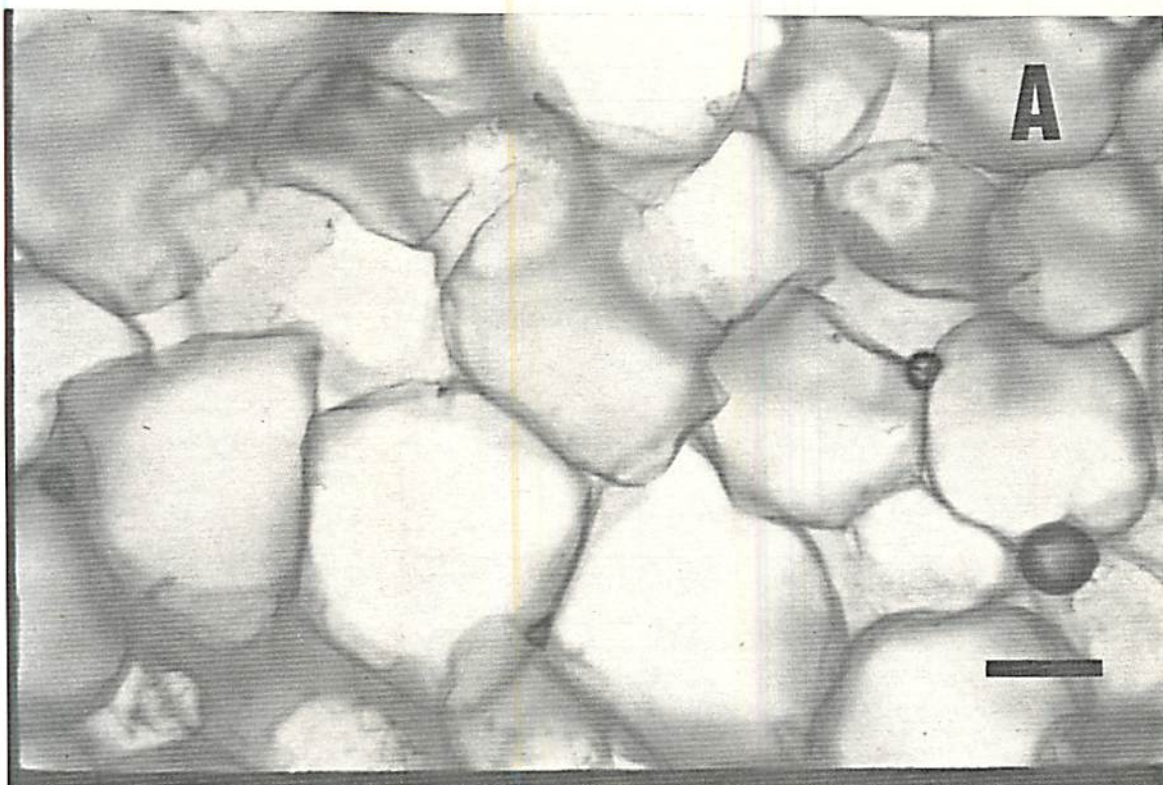


FIGURA 26-A - Fotomicrografia obtida por microscopia ótica do fruto fresco antes de ser submetido aos processos de congelamento mostrando a conformação da estrutura da parede celular (barra = 80 μm).

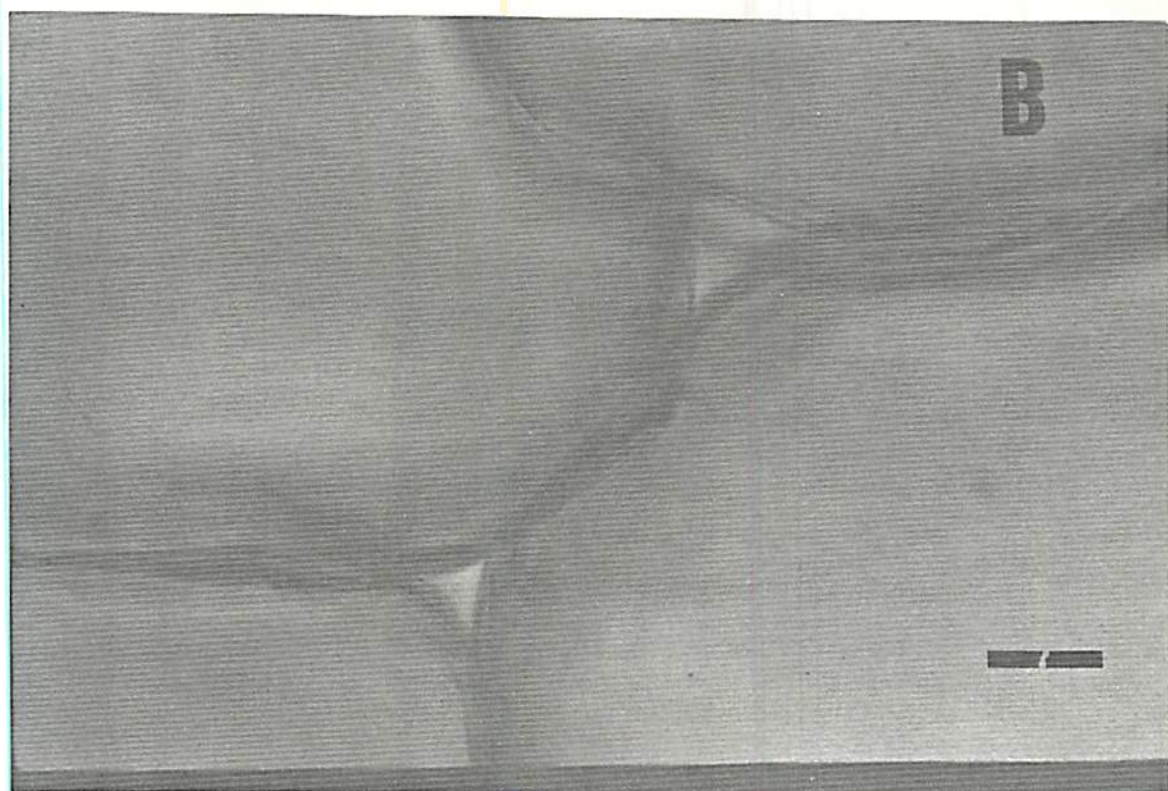


FIGURA 26-B - Fotomicrografia obtida por microscopia ótica do fruto fresco antes de ser submetido aos processos de congelamento mostrando em detalhe espaços intercelulares presentes na estrutura celular de melões frescos (barra= 20 μm).

4.3.2 Características microestruturais de frutos tratados com crioprotetores após o congelamento

4.3.2.1 Danos mecânicos causados na estrutura celular pelo crescimento de cristais de gelo

A Figura 27 apresenta fotomicrografias de cortes do fruto de melão sem tratamentos com hidrocolóides e submetidos aos três métodos de congelamento, ou seja, na ordem, da esquerda para a direita, congelamento em ar estático (AE), por imersão em pasta de dióxido de carbono + etanol (IDC) e imersão em nitrogênio líquido (INL); representados pelos subíndices 1, 2 e 3 respectivamente, fixados a técnica de freeze-substituição ou freeze-fixação a -20°C .

A fixação isotérmica a frio preserva estruturas e retém as relações de conformação da fase gelo em equilíbrio termodinâmico com o material congelado. Esta condição é conseguida com uma solução fixativa com um ponto de fusão à temperatura de fixação (que é a temperatura na qual o material foi pré-resfriado) e a manutenção destas condições durante o período de fixação. Estas formulações interagem com os componentes do material conferindo rigidez à matriz e assegurando que o modelo do gelo seja preservado. (Lampila, Mohr e Reid., 1985; Martino e Zaritzky, 1986; Ferrero, Martino e Zaritzky, 1992).

As Figuras 27-A₁, 27-A₂, e 27-A₃ apresentam fotomicrografias do fruto congelado sem qualquer pré-tratamento em AE, IDC e INL. Pode-se observar através destas figuras, um alto grau de ruptura da estrutura celular para o fruto congelado em AE e um maior número de estruturas

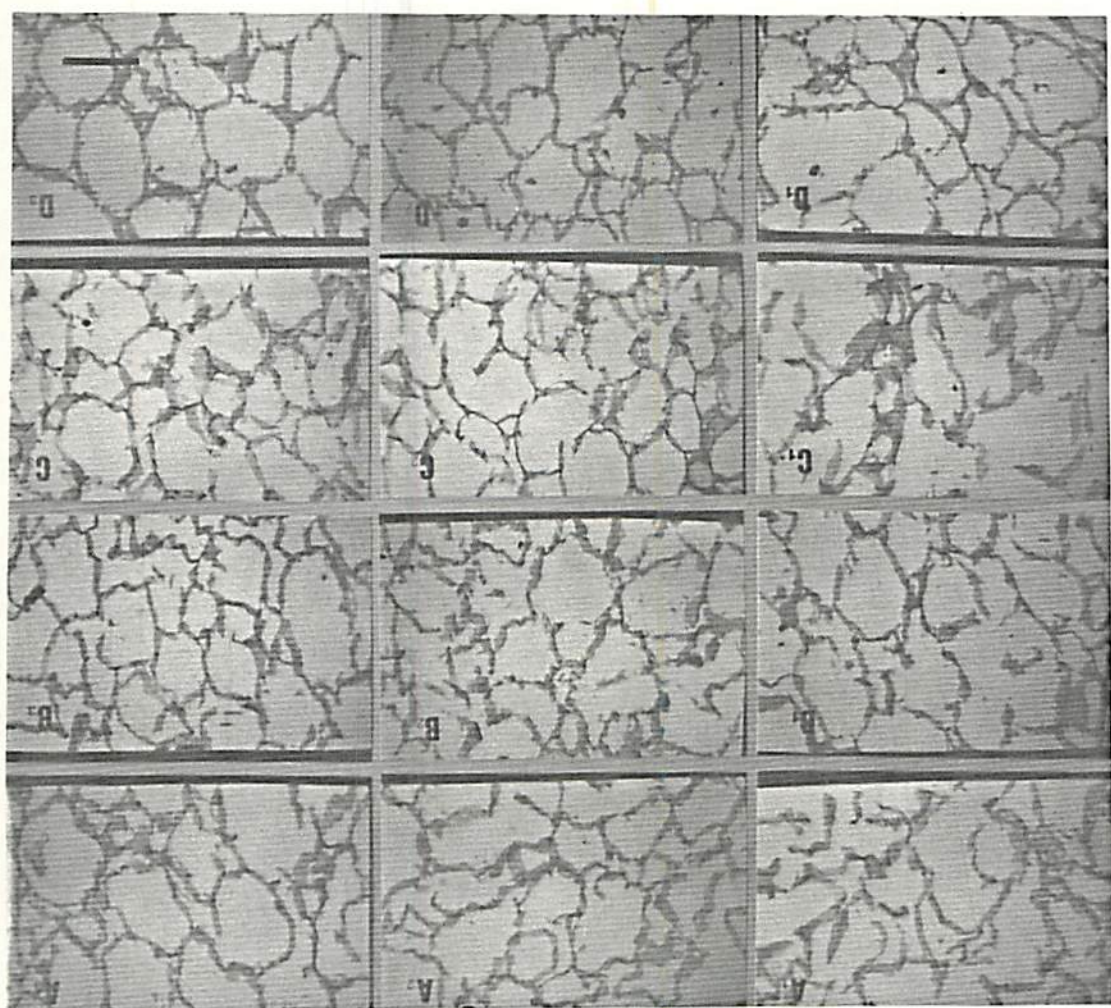


FIGURA 27 - Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados (AE, IDC e INL) (A) sem pré-tratamentos com hidrocolóides, (B) fruto congelado submetido a pré-tratamento em solução de sacarose 15%, (C) solução de nitrato de cálcio 0,5% e (D) solução de sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 160 μ m).

íntegras nos congelamentos feitos com IDC e INL, onde a velocidade de congelamento é mais rápida.

As fotomicrografias mostradas nas Figuras 27-B₁, 27-B₂ e 27-B₃ referem-se a frutos submetidos à infusão em solução de sacarose 15%, as apresentadas nas figuras 27-C₁, 27-C₂ e 27-C₃ a frutos tratados com solução de nitrato de cálcio e as das figuras 27-D₁, 27-D₂ e 27-D₃ a frutos tratados com sistemas envolvendo a adição de sacarose e nitrato de cálcio.

Quando se compara o efeito dos diferentes tratamentos (sentido vertical de A para D na figura 27) observa-se um alto grau de ruptura e separação em pedaços das paredes celulares em frutos congelados sem qualquer tipo de tratamento e naqueles tratados com soluções de nitrato de cálcio, sendo este efeito mais visível quando congelados em AE. Estruturas mais íntegras são observadas com tratamentos constituídos pela adição de sacarose e um efeito interativo frutocrioprotetores pode ser observado analisando as estruturas das Figuras 27-D₁, 27-D₂ e 27-D₃ que mostram estruturas mais bem definidas principalmente aquelas correspondentes ao fruto congelado em nitrogênio líquido.

A deterioração da microestrutura, chegando até mesmo a uma completa desintegração da parede celular, é atribuída à presença de cristais de gelo extracelulares que produzem tensões locais que induzem os danos mecânicos irreversíveis dos componentes celulares. O tipo e extensão do dano no tecido é dependente da localização e tamanho do cristal de gelo, e, isto é governado pela velocidade de congelamento. (Fennema, Powrie e Marth, 1973, Marti e Aguilera, 1991; Ahmed, Mirza e Arreola, 1991).

Quando os pedaços do fruto são submetidos à infusão à vácuo em soluções de baixa concentração, como no caso de soluções de nitrato de cálcio, ocorre a formação de um gradiente de concentração entre os componentes celulares e a solução induzindo a entrada de água no

interior do fruto por osmose aumentando o teor de água celular tornando a célula túrgida. Quando congelado, este fruto-modelo sofre severos danos porque o alto teor de água é favorável a formação de grandes cristais de gelo extracelulares sendo este efeito dependente da velocidade de congelamento como mostrado nas Figuras 27-C₁ a C₃. A desintegração completa da estrutura celular é observada em frutos congelados em AE (Figura 27-C₁) e um efeito deteriorativo menor é verificado no congelamento em IDC e INL (Figuras 27-C₂ e 27-C₃).

Quando soluções de sacarose estão presentes no sistema, o gradiente de concentração atua no sentido inverso ao exposto na situação anterior. O que ocorre, é uma remoção parcial da água intracelular e uma incorporação de materiais sólidos no interior do fruto. A concentração de sólidos no fruto resultante do processo osmótico reduz o crescimento de cristais de gelo protegendo parcialmente os tecidos dos danos de congelamento (Garrote e Bertone, 1989).

A adição de nitrato de cálcio a sistemas constituídos de sacarose resulta em estruturas ainda mais íntegras, principalmente aquelas processadas nos meios que proporcionam velocidades de congelamento mais rápidas. O efeito do comportamento destes sistemas pode provavelmente ser justificado pela interação dos íons Ca^{2+} junto aos componentes da parede celular aumentando o número de associações iônicas interpoliméricas conferindo maior resistência à estrutura, e, a redução da taxa de cristalização da água microestrutural devido a presença de um teor mais alto de componentes sólidos que diminuem a quantidade e mobilidade da água necessária para o crescimento de grandes cristais de gelo.

Em todos os casos na Figura 27, verifica-se a relação direta entre a velocidade de congelamento e o grau de ruptura da estrutura celular que pode ser justificada pela consideração de que em um congelamento rápido, a velocidade de congelamento é rápida o bastante para que a plasmólise não ocorra, promovendo a formação de gelo intracelular. Neste tipo de congelamento,

a velocidade de crescimento dos cristais de gelo iniciais é insuficiente para manter o equilíbrio com a velocidade de resfriamento, assim se produz um superresfriamento e uma maior nucleação intracelular. O resultado é um aumento no número de cristais formados com uma diminuição do seu tamanho no líquido citoplasmático no interior das células provocando uma menor distorção e ruptura da parede celular. O congelamento lento oferece oportunidade para a água passar do interior das células para os espaços extracelulares causando o crescimento de cristais de gelo a nível extracelular entre a membrana citoplasmática e a parede celular, o que dá lugar a grandes cristais de gelo, máximo deslocamento de água, plasmólise, perda de turgescência e células drasticamente danificadas (Reid, 1973; Bomben e King, 1982; Marti e Aguilera, 1991).

As Figuras 28-A₁, 28-A₂ e 28-A₃ apresentam fotomicrografias de frutos tratados com sistemas constituídos de pectina submetidos aos três métodos de congelamento, respectivamente AE, IDC e INL; 28-B₁, 28-B₂ e 28-B₃ a frutos tratados com sistemas constituídos de pectina adicionados de sacarose; 28-C₁, 28-C₂ e 28-C₃ a frutos tratados com sistemas pectina + nitrato de cálcio e 28-D₁, 28-D₂ e 28-D₃ a sistemas constituídos de pectina + sacarose + nitrato de cálcio.

Como se pode observar pelas Figuras 28-A₁, 28-A₂ e 28-A₃ tratamentos realizados com pectina apenas, não reduzem satisfatoriamente o grau de rompimento do tecido causado pelo crescimento de cristais de gelo. A infusão de frutos em géis de baixa concentração promove a incorporação de água no sistema e sua capacidade de hidratação é pouco efetiva na retenção de água favorável ao crescimento de grandes cristais de gelo. Tal situação muda quando na presença de sacarose que compete pela água de hidratação, removendo parte da água intracelular e impedindo movimentos moleculares da água durante o processo de cristalização por efeitos de microviscosidade além de uma possível interação com a rede géllica. Os resultados são estruturas celulares íntegras e bem definidas como se verifica pelas Figuras 28-B₁, 28-B₂ e 28-B₃.

A adição de ions Ca^{2+} é favorável à gelificação da pectina produzindo géis mais firmes além de ser passível de uma possível interação junto aos componentes da parede celular promovendo uma estrutura mais rígida e resistente a danos causados por cristais de gelo. Ao exposto pode ser atribuído os resultados obtidos e observados nas Figuras 28-C₁, 28-C₂ e 28-C₃ que retratam estruturas com grau de ruptura relativamente baixo quando comparados aos tratamentos realizados com pectina na ausência de nitrato de cálcio (Figuras 28-A₁, A₂ e A₃).

Estruturas íntegras também são observadas nas Figuras 28-D₁, 28-D₂ e 28-D₃, que mostram frutos tratados com sistemas pectina + sacarose + cálcio. Estes resultados são provavelmente devidos à interação dos três fatores, ou seja, retenção de água pela rede géllica, diminuição da mobilidade molecular pelo aumento da viscosidade a medida que a temperatura é abaixada sendo tal efeito atribuído principalmente à presença de sacarose; e, a presença de ions Ca^{2+} aumentando a rigidez do gel além de uma possível interação com componentes da parede celular; todos estes fatores contribuindo para uma baixa taxa de cristalização e crescimento de cristais de gelo e uma resistência maior da parede celular aos danos causados por estes cristais.

A velocidade de congelamento é novamente reconhecida como um fator responsável pela manutenção das características microestruturais do material celular congelado.

As fotomicrografias apresentadas na Figura 29 referem-se a frutos congelados submetidos a pré-tratamentos constituídos por CMC+CM com e sem a adição de sacarose e nitrato de cálcio.

De uma maneira geral, pode-se observar que tratamentos feitos com este hidrocolóide não são muito efetivos na manutenção das características microestruturais de frutos congelados até mesmo quando se utilizam métodos que envolvem o congelamento rápido do material. Pode-se observar uma completa desintegração da parede celular com praticamente nenhuma característica

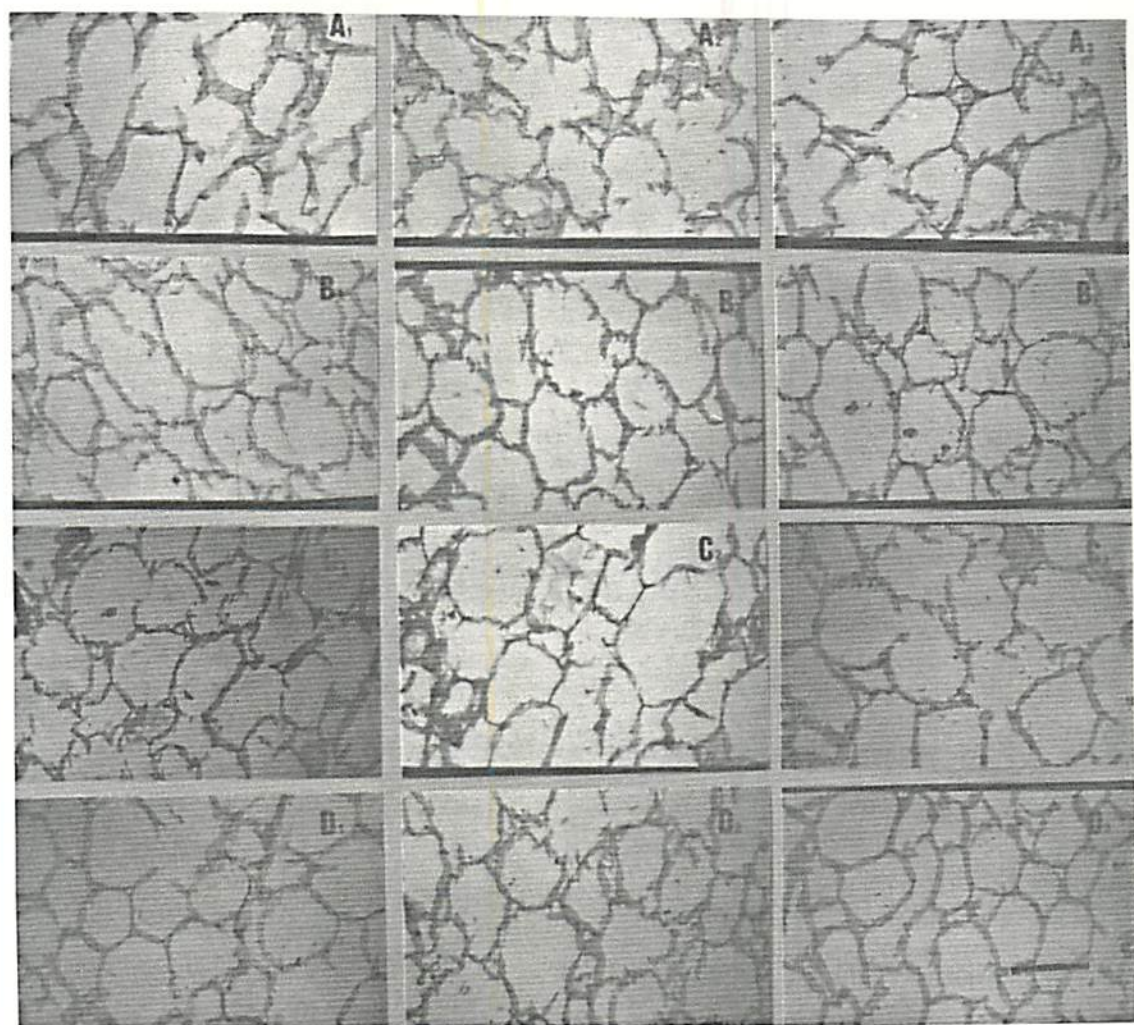


FIGURA 28 - Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados (AE, IDC e INL) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) Pectina 1% e adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrato de cálcio (0,5%) e (D) sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 160 μ m).

crioprotetora quando frutos são tratados com sistemas que envolvem apenas CMC+CM (Figuras 29-A₁, 29-A₂ e 29-A₃). Quando em presença de sacarose algum grau de manutenção da estrutura é verificado quando os frutos são submetidos a métodos de congelamento rápido (Figuras 29-B₂ e 29-B₃). O mesmo se verifica quando o cálcio é adicionado ao sistema contendo o hidrocolóide. A manutenção da estrutura pela adição de sacarose pode provavelmente ser justificada pelo aumento da viscosidade à medida que a temperatura é reduzida, mas pela adição de cálcio, este efeito é supostamente devido ao cálcio e sua capacidade de interagir junto aos componentes da estrutura celular e não pela presença do hidrocolóide.

Como mencionado anteriormente, em géis de baixa concentração, somente o caráter hidrofílico não é suficiente para reter moléculas de água em seus grupos laterais de forma a impedir satisfatoriamente o crescimento de cristais de gelo. A adição de sacarose aumenta a viscosidade do sistema diminuindo a mobilidade molecular da água, e, a adição de ions cálcio, particularmente neste tipo de hidrocolóide, desestrutura a rede gélica liberando moléculas de água no sistema diminuindo a viscosidade e favorecendo o crescimento de cristais de gelo. Este comportamento justifica os efeitos deteriorativos observados na Figura 29 e o pequeno efeito crioprotetor verificados em sistemas onde a sacarose está presente.

Na Figura 30 estão apresentadas fotomicrografias de frutos tratados com sistemas constituídos de amido gelatinizado (Figuras 30-A₁, 30-A₂ e 30-A₃), amido + sacarose (Figuras 30-B₁, 30-B₂ e 30-B₃), amido + cálcio (Figuras 30-C₁, 30-C₂ e 30-C₃) e amido + sacarose + cálcio (Figuras 30-D₁, 30-D₂ e 30-D₃) submetidos aos três métodos de congelamento. Uma análise global da figura 30 permite avaliar a eficiência dos tratamentos realizados com amido gelatinizado, principalmente em presença de sacarose e nitrato de cálcio, como agentes protetores da estrutura celular aos danos causados pelo crescimento de cristais de gelo. Frutos tratados com sistemas que

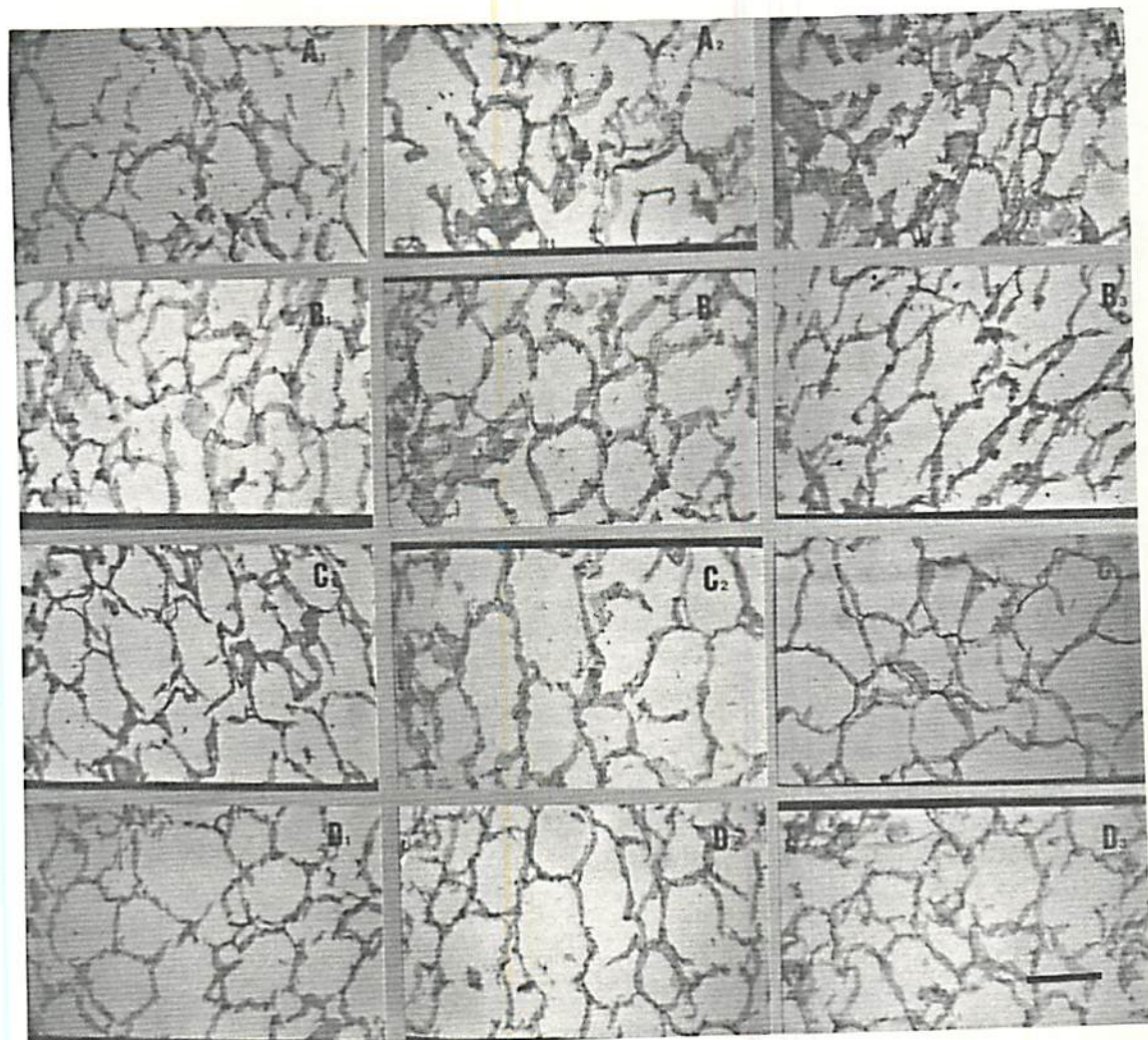


FIGURA 29 - Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados (AE, IDC e INL) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) CMC 0,5% + CM 0,1% e adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrato de cálcio (0,5%) e (D) sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 160 μ m).

envolvem somente a presença de amido gelatinizado apresentam um alto grau de deterioração da estrutura com extensos rompimentos das paredes celulares (Figuras 30-A₁, 30-A₂ e 30-A₃). A extensão dos rompimentos é amenizada quando os frutos são tratados com amido gelatinizado + sacarose anterior ao processo de congelamento. Obtém-se estruturas mais íntegras sendo este efeito mais pronunciado quando se utiliza métodos de congelamento rápidos (Figuras 30-B₁, 30-B₂ e 30-B₃). A adição de cálcio também promove uma boa manutenção das características microestruturais do fruto quando congelado rapidamente, onde pouquíssimas rupturas de parede celular são observadas (Figuras 30-C₁, 30-C₂ e 30-C₃).

Observa-se uma apreciável integridade estrutural com células bem definidas e praticamente nenhuma ruptura de parede celular para frutos tratados com sistemas que envolvem amido gelatinizado + sacarose + cálcio (Figuras 30-D₁, 30-D₂ e 30-D₃), sendo estas características verificadas independentemente da velocidade de congelamento a que o sistema foi processado.

Quando sistemas constituídos de amido gelatinizado são submetidos ao processo de congelamento, a água usada na preparação do gel se separa devido a tendência das moléculas de amido de se reassociarem, formando agregados insolúveis. Ocorre a liberação de água no sistema devido a quebra de ligações de hidrogênio e formação de grandes cristais de gelo quando congelados lentamente. A velocidade de congelamento tem um efeito significativo sobre a formação de gelo e liberação de água nos sistemas constituídos de amido durante o congelamento (Ferrero, Martino e Zaritsky, 1993). Baseado nestas considerações, pode-se justificar as características estruturais em relação ao grau de rompimento causado por cristais de gelo observados nas Figuras 30-A₁, 30-A₂ e 30-A₃ onde provavelmente ocorre esta reassociação, e, nas Figuras 30-C₁, 30-C₂ e 30-C₃, onde a presença de cálcio também compete com a água

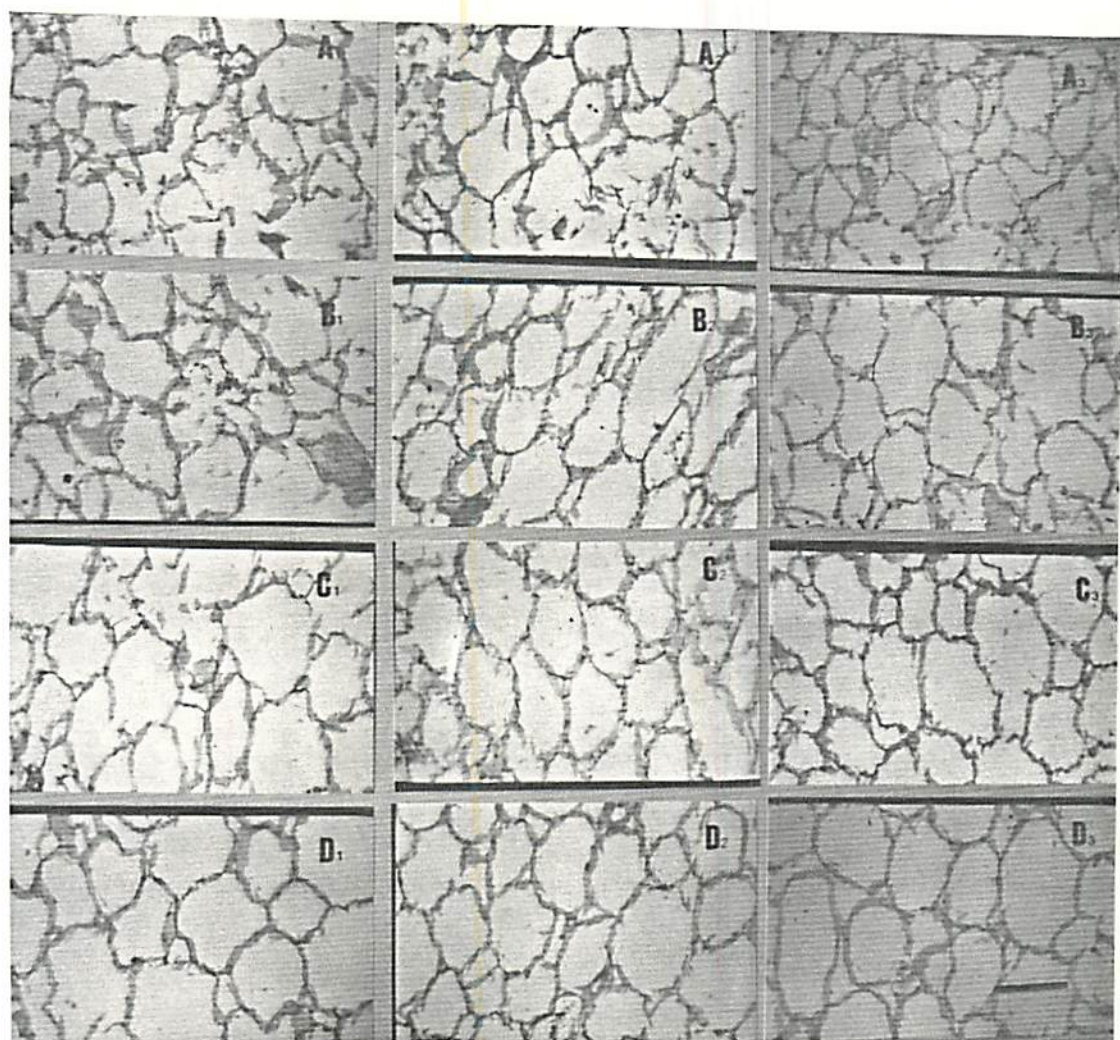


FIGURA 30 - Fotomicrografias obtidas por microscopia ótica de frutos congelados (AE, IDC e INL) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) Amido gelatinizado 5% e adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrato de cálcio (0,5%) e (D) sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 160 μ m).

estrutural do gel favorecendo a formação de cristais de gelo quando o sistema é congelado lentamente.

Os resultados apresentados nas Figuras 30-D₁, 30-D₂ e 30-D₃ podem ser justificados em termos de interações entre os componentes do sistema de hidrocolóide, como os descritos por (1993) Chinachoti e Steinberg (1984) e Chinachoti (1993), não se esquecendo também de possíveis interações que possam ocorrer entre os complexos sistemas fruto-crioprotetores.

Quando se comparam os sistemas quanto a natureza dos hidrocolóides utilizados (Figuras 27, 28, 29 e 30) com o objetivo de se avaliar qual deles se mostra mais efetivo na preservação da microestrutura celular, observa-se que tratamentos feitos com pectina e amido gelatinizado como formadores de géis apresentaram melhores resultados. Frutos tratados com sistemas envolvendo hidrocolóides + sacarose + nitrato de cálcio, principalmente pectina + sacarose, pectina + sacarose + nitrato de cálcio quando submetidos ao congelamento rápido, e, amido gelatinizado + sacarose + nitrato de cálcio independentemente do processo de congelamento mostram estruturas íntegras e praticamente sem rupturas de paredes celulares dando mais suporte a probabilidade da existência de um efeito interativo entre os diversos componentes do sistemas fruto-crioprotetores.

Em todos os casos verifica-se a influência da velocidade de congelamento sobre a manutenção das características microestruturais dos tecidos congelados e estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos através de estudos histológicos realizados com tecidos vegetais como os de Brown (1967) para feijões verdes, Sterling (1968) para maçãs e Marti e Aguilera (1991) para "blueberries" e "wild blackberries".

4.3.2.2 Características microestruturais dos sistemas de hidrocolóides junto a estrutura celular do fruto

Os aspectos microestruturais dos sistemas de hidrocolóides junto a estrutura celular de frutos congelados em AE e em seguida liofilizados de um ponto de vista tridimensional foram obtidos por microscopia eletrônica de varredura ou SEM (Scanning Electron Microscope) e são mostrados nas fotomicrografias apresentadas nas Figuras 31 a 34.

A Figura 31 mostra a estrutura de um fruto "in natura" congelado em AE sem qualquer tipo de pré-tratamento. A Figura 32 apresenta microestruturas de frutos congelados em AE submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de pectina com e sem a adição de sacarose e nitrato de cálcio; a Figura 33, frutos submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de CMC+CM e a Figura 34, frutos pré-tratados com sistemas constituídos de amido gelatinizado.

De uma maneira geral, pode-se observar que as estruturas relativas a frutos tratados com hidrocolóides (Figuras 32, 33 e 34) diferem notavelmente quando comparadas àquela do fruto congelado sem pré-tratamento (Figura 31). Estas diferenças podem ser caracterizadas pela porosidade, aderência à estrutura, estruturas amorfas, espessura, cavidades e conformação da rede.

Estruturas características obtidas por tratamentos específicos podem ser identificadas nas fotomicrografias apresentadas, como aquelas resultantes após pré-tratamentos com hidrocolóide em presença de sacarose. Observam-se estruturas amorfas, compactas com pequenas cavidades e uma alta densidade da rede fruto-crioprotetores. Estas estruturas, visualizadas nas Figuras 32-B, 32-D, 33-B, 33-D, 34-B e 34-D são típicas da presença de sacarose que se

apresenta em um estado amorfo quando liofilizadas (White e Cakebread (1966), citados por Chinachoti e Steinberg (1984)).

Tratamentos realizados apenas com hidrocolóides apresentam estruturas diferentes que podem ser observadas analisando as Figuras 32-A, 33-A e 34-A. Tratamentos feitos com amido gelatinizado (Figura 34-A) resultam em estruturas com grandes cavidades e pouca integridade do material celular após congelamento e liofilização. Pré-tratamentos com pectina e CMC+CM (Figuras 32-A e 33-A) respectivamente, resultam em estruturas mais íntegras e compactas quando comparadas a estrutura obtida após pré-tratamentos com amido gelatinizado. Em ambas as situações (pectina e CMC+CM, principalmente pectina) observa-se a presença de uma estrutura aderida à rede com o aspecto de uma espuma.

Frutos congelados submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides em presença de nitrato de cálcio após a liofilização resultam em estruturas que estão apresentadas nas Figuras 32-C, 33-C e 34-C. Quando se compara os hidrocolóides, pectina, amido gelatinizado e CMC+CM respectivamente, em presença de nitrato de cálcio apresentam, nesta ordem, estruturas mais compactas, rígidas e com um aspecto quebradiço. Estruturas de frutos resultantes de pré-tratamentos com amido gelatinizado mostram estruturas mais íntegras mas com grandes rupturas que podem provavelmente ter sido causadas por cristais de gelo. Tratamentos feitos com CMC+CM em presença de nitrato de cálcio produzem estruturas com enormes cavidades (Figura 33-C) e uma baixa densidade de rede gélica que quase não diferem daquelas obtidas para frutos congelados sem pré-tratamentos. Os aspectos de estruturas amorfas não são tão visíveis nestas estruturas.

A espessura e densidade da rede observadas nas fotomicrografias de frutos congelados e liofilizados é aumentada quando estes são tratados com hidrocolóides adicionados de sacarose e



FIGURA 31 - Fotomicrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após liofilização do fruto congelado e sem pré-tratamentos com hidrocolóides. (barra = 100 μm).

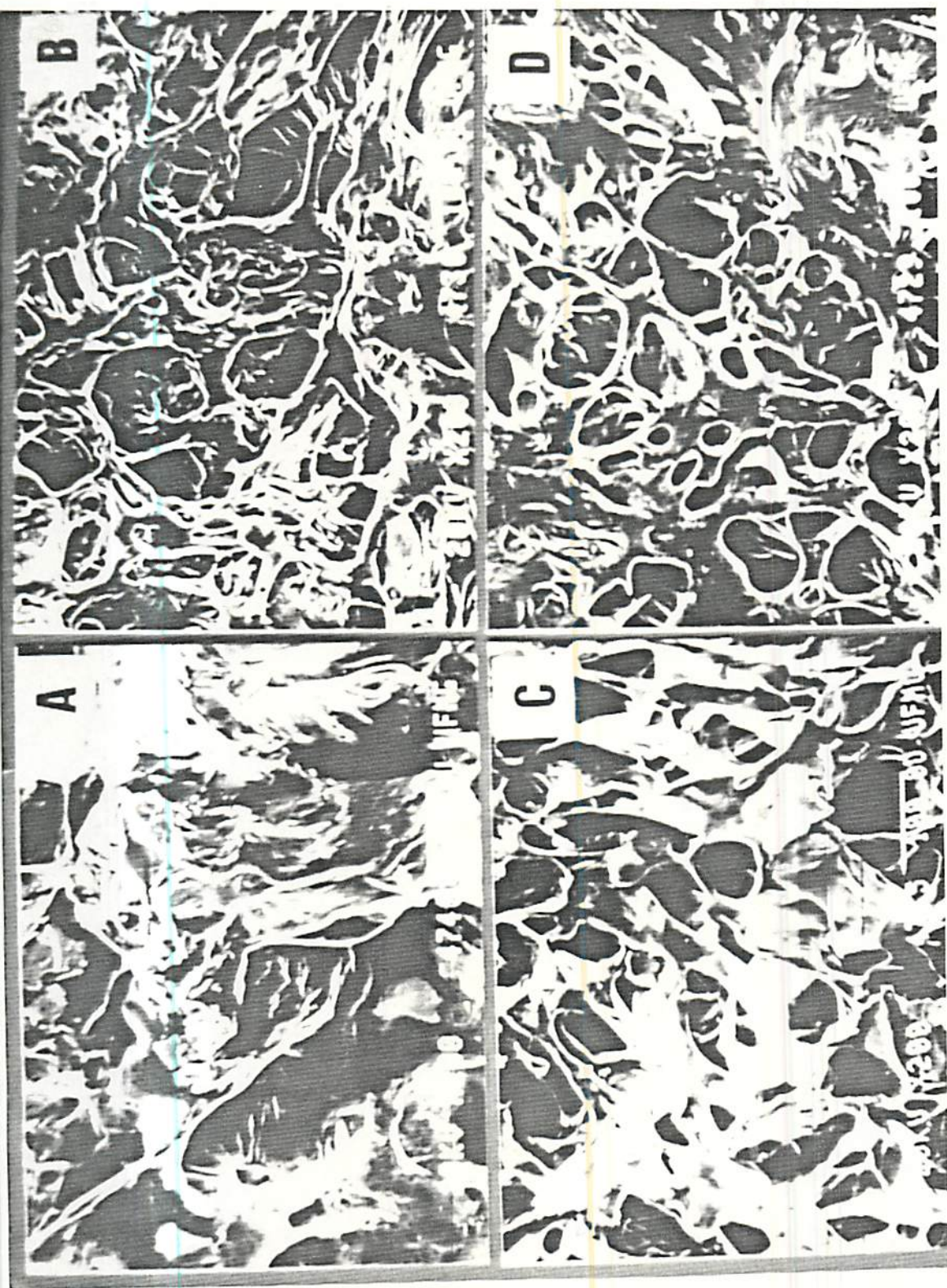


FIGURA 32 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos congelados em ar estático (AE) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) pectina 1% adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrato de cálcio 0,5% e (D) sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 100µm)

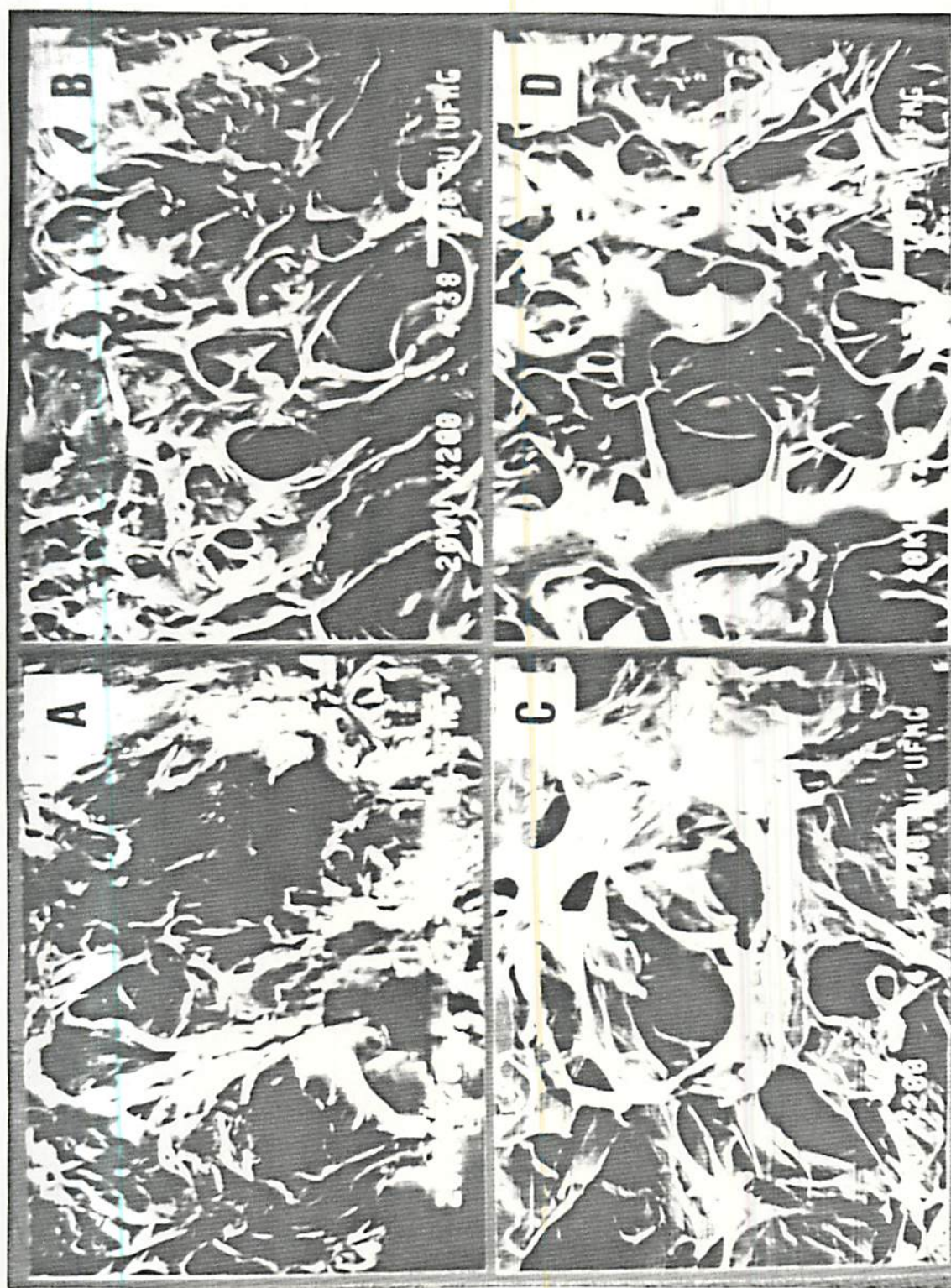


FIGURA 33 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos congelados em ar estático (AE) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) CMC 0,5% + CM 0,1% adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrato de cálcio 0,5% e (D) sacarose 15% + nitrato de cálcio 0,5%. (barra = 100µm).

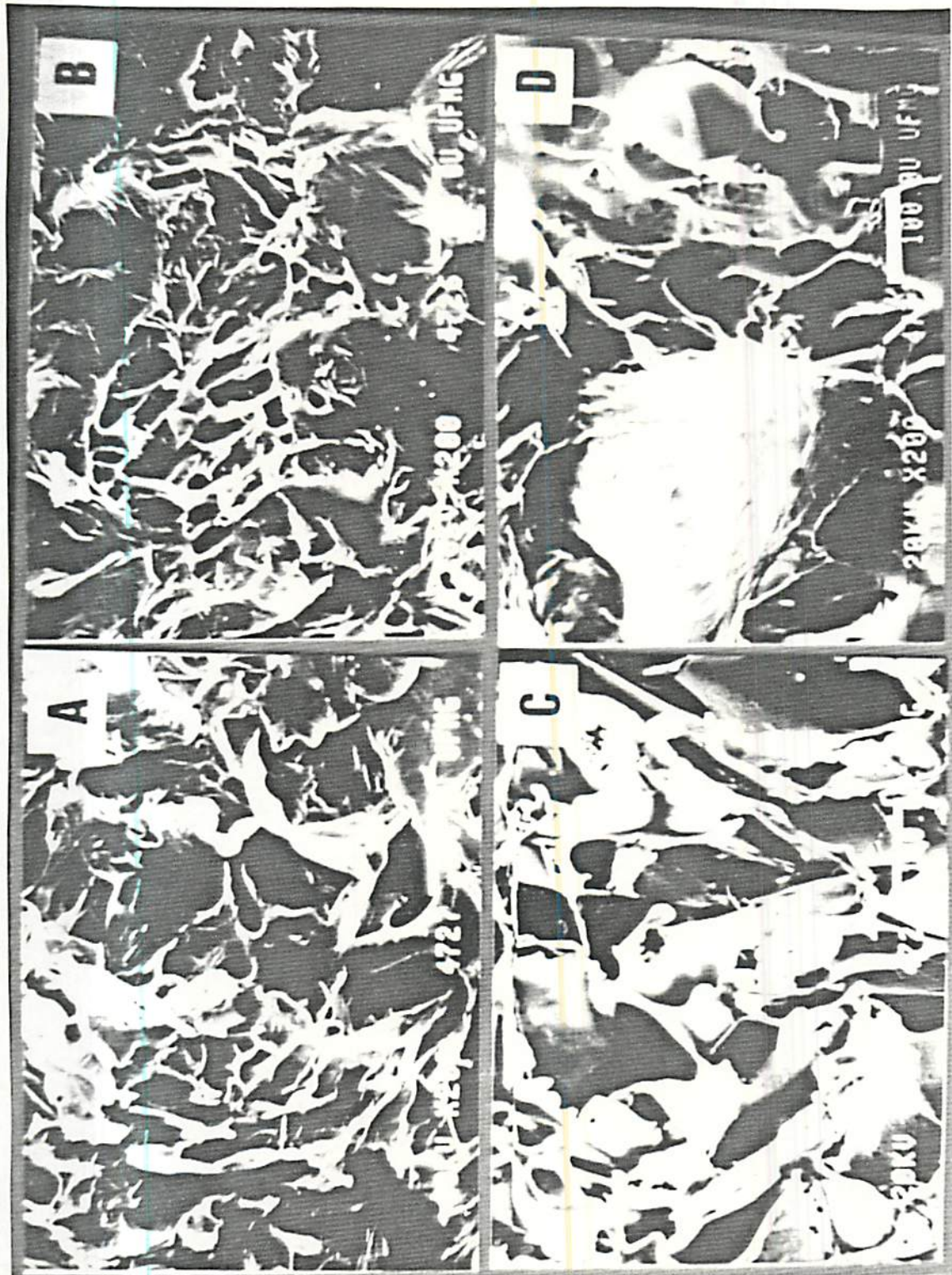


FIGURA 34 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) após a liofilização de frutos congelados em ar estático (AE) submetidos a pré-tratamentos com sistemas constituídos de (A) amido gelatinizado 5% adicionados de (B) sacarose 15%, (C) nitrito de cálcio 0,5% e (D) sacarose 15% + nitrito de cálcio 0,5%. (barra = 100 µm).

nitrate de cálcio como mostrado nas Figuras 32-D, 33-D e 34-D. Estruturas mais íntegras são observadas em tratamentos com sistemas que envolvem amido + sacarose + cálcio, como pode ser observado na Figura 34-D que apresenta a estrutura de uma célula praticamente sem danos. Uma forma arredondada aderida à estrutura pode ser observada na região central inferior esquerda da fotomicrografia (Figura 34-D), e, pode provavelmente se tratar de um grânulo de amido cristalizado resultante de concentrações poliméricas locais que ocorrem durante o processo de congelamento (Chan e Toledo, 1976).

Sistemas contendo pectina + sacarose + nitrate de cálcio também apresentam uma alta densidade de rede mas uma quantidade numerosa de pequenas cavidades. Uma certa integridade do material pode ser observada na região inferior direita da Figura 32-D. A presença de um material com o aspecto de uma espuma aderida a microestrutura também é observada nestes sistemas e naqueles constituídos de CMC+CM + sacarose + cálcio que também apresenta uma rede fruto-crioprotetores mais densa, mais espessa mas com cavidades maiores (Figura 33-D). Em todos estes sistemas, também se observa a presença de substâncias em um estado amorfo.

Quando se comparam os resultados obtidos submetendo os frutos a processos de infusão a vácuo em sistema de hidrocolóides anterior ao processo de congelamento (Figuras 32, 33 e 34) com aquele obtido para o fruto "in natura" congelado sem pré-tratamento (Figura 31), verifica-se que a incorporação é efetiva e modifica drasticamente os aspectos microestruturais dos sistemas fruto-crioprotetores. O efeito de um sistema interativo fruto-crioprotetores especialmente com sistemas hidrocolóide-sacarose-cálcio é mais uma vez observado afetando a aderência do crioprotetor, espessura e densidade da rede e provavelmente a capacidade de proteger o material

celular contra os danos mecânicos causados pelo crescimento de cristais de gelo durante o processo de congelamento.

Uma análise da porosidade da rede destes sistemas permite uma compatibilização com os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos destes sistemas medidos após o descongelamento como a perda de líquido por exsudação e a capacidade de retenção de água. Redes mais densas promovem uma menor perda de líquido por exsudação e uma maior capacidade de retenção de água.

Quanto à observação dos danos causados à parede celular pelo crescimento de cristais de gelo por SEM, o preparo de materiais celulares utilizando a técnica da liofilização não é o melhor método para este objetivo. Quando a liofilização é utilizada como técnica de preparação, os solutos tais como os carboidratos solúveis são susceptíveis a colapso durante a liofilização destruindo os detalhes estruturais deixados pelos cristais de gelo (Bomben e King, 1982). Vários pesquisadores consideram a liofilização uma técnica severa para a desidratação de tecidos de frutos principalmente quanto a observação de detalhes intracelulares porque parece desintegrar a matriz gélica e deixar profundas cavidades ao redor das membranas das estruturas (Lapsley, Escher e Hoehn, 1992; Pomeranz, 1976). Para o propósito de detectar a presença dos sistemas de crioprotetores junto a estrutura celular quanto a sua disposição e conformação a técnica pode ser usada como um bom parâmetro de comparação.

5 CONCLUSÕES

Os pré-tratamentos realizados apenas com sistemas de hidrocolóides não se mostraram efetivos na manutenção das características microestruturais e físico-químicas do fruto de melão congelado.

A adição de sacarose em concentração de 15% a sistemas de hidrocolóides protegeu parcialmente o tecido de amostras congeladas reduzindo a taxa de cristalização da água microestrutural durante o congelamento, aumentando o teor de matéria seca e sólidos solúveis totais após o descongelamento além de ter proporcionado uma redução na perda de flúido celular por exsudação e um aumento na capacidade de retenção de água após o descongelamento. Amostras pré-tratadas com hidrocolóides em presença de sacarose resultaram em estruturas celulares mais íntegras, bem definidas e com paredes celulares pouco danificadas.

A presença de ions Ca^{2+} (nitrato de cálcio) em tratamentos com hidrocolóides foi vista como a principal responsável pela manutenção dos parâmetros texturométricos de amostras descongeladas.

Um efeito interativo envolvendo o sistema fruto-hidrocolóides-sacarose-cálcio foi verificado, observando a maior fração de água não congelada na temperatura de congelamento,

menor perda de flúido celular, maior teor de sólidos solúveis, textura superior e maior capacidade de retenção de água pela microestrutura após o descongelamento.

A interação também exerceu um efeito acentuado na manutenção das características microestruturais verificadas pela maior integridade da estrutura celular, aumento da resistência da parede celular à ruptura causada pelo crescimento de cristais de gelo, paredes celulares mais espessas e mais bem definidas. Amostras que apresentaram estruturas compactas, amorfas, com uma alta densidade da rede fruto-crioprotetores após congelamento e liofilização foram eficientes na redução da taxa de cristalização e no aumento da resistência contra os danos causados pelo crescimento de cristais de gelo.

Dentre os hidrocolóides, sistemas constituídos por pectina 1% e amido gelatinizado 5%, principalmente em presença de sacarose (15%) e nitrato de cálcio (0,5%), foram os crioprotetores mais efetivos na manutenção das características microestruturais do fruto de melão congelado. Sistemas constituídos de amido gelatinizado-sacarose-cálcio foram eficientes na manutenção da microestrutura de frutos congelados até mesmo em AE (congelamento lento). CMC+CM não se mostrou um bom crioprotetor do tecido de frutos congelados.

A velocidade de congelamento foi reconhecida como um fator crítico na manutenção das características microestruturais do fruto de melão congelado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, E. M.; MIRZA, S.; ARREOLA, A. G. Ultrastructural and Textural Changes in Processed Carrot Tissue. **Journal of Food Quality**, Westport, v.14, p.321-30,1991.
- BLANSHARD, J. M. V.; FRANKS, F. Ice Crystallization and its Control in Fozen-Food Systems. In: BLANSHARD, J. M. V. e LILFORD P. (eds.) **Food Structure and Behavior**, London: Academic Press, 1987. cap. 4, p.51-65.
- BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Scanning Electron Microscope/Image Analyser Determination of Dimensional Postharvest Changes in Fruit Cells. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.6, p.1649-98, 1987.
- BOMBEN, J. L; KING, C. J. Heat and Mass Transport in the Freezing of Apple Tissue. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.17, p.615-32, 1982.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls** London: Unwin Hyman, 1990. 193p.
- BROWN, M. S. Texture of Frozen Vegetables: Effect of Freezing Rate on Green Beans. **Journal of the Science Food and Agriculture**, Cambridge, v.18, p.77-81, Feb. 1967.
- BUDIAMAN, E. R.; FENNEMA, O. Linear Rate of Water Crystallization as Influenced by Temperature of Hydrocolloid Suspensions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, n.3, p.535-46, 1987a.
- BUDIAMAN, E. R.; FENNEMA, O. Linear Rate of Water Crystallization as Influenced by Viscosity of Hydrocolloid Suspensions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, n.3, p.547-54, 1987b.
- CHAN, W. S.; TOLEDO, R.T. Dynamics of Freezing and their Effects on the Water-Holding Capacity of a Gelatinized Starch Gel. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, p.301-03, 1976.

- CHINACHOTI, P. Water Mobility and its Relation to Functionality of Sucrose-Containing Food Systems. **Food Technology**, Chicago, p.134-40, jan. 1993. 150
- CHINACHOTI, P.; STEINBERG, M. P. Interaction of Sucrose with Starch During Dehydration as Shown by Water Sorption. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, p.1604-08, 1984.
- COX, M. J.; McMASTERS, M. M. Microscopic Studies of Tissue of Frozen Fruits and Vegetables. **Food Research**, Chicago, v.7, p.135-9, 1942.
- EINTENMILLER, R. R., JOHNSON, E. D., BRYAN, W. D., WARREN, D. B. Nutrient Composition of Cantaloupe and Honeydew Melons. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, p.136-8, 1985. 242
- FENNEMA, O. R. Instability of Nonequilibrium States of Water in Frozen Foods. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v.11, n.2, p.152-69, 1991. 163
- FENNEMA, O. R.; POWRIE, W. D.; MARTH, E. H. **Low-Temperature Preservation of Foods and Living**. New York: Marcel Dekker, 1973.
- FERRERO, C.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Effect of Freezing Rate and Xanthan Gum on the Properties of Corn Starch and Wheat Flour Pastes. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v.28, p.481-98, 1993.
- FERRERO, C.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Light Microscopy of Ice Recrystallization in Frozen Corn Starch Pastes using Isothermal Freeze-Fixation. **Food Structure**, Chicago, v.11, p.237-48, 1992.
- FUSTER, C.; PRESTAMO, G.; CANET, W. Effects of Pretreatments and Freezing on Different Strawberry Varieties. In: I.I.R. - Meeting, Sofia, Bulgária. **Refrig. Sci. Tech.**, p.350-5, 1982b.
- FUSTER, C.; PRESTAMO, G.; SPINOSA, J. Frozen Apple Slices: Effects of Different Treatments and Vacuum on the Texture and Color. In: I.I.R.-Meeting, Sofia, Bulgária. **Refrig. Sci. Tech.**, p.190-95, 1982a.
- GANZ, A.J. Some Effects of Gums Derived from Cellulose on the Texture of Foods. **Cereal Science Today**, St. Paul, v.18, n.12, p.398-415, 1973.
- GARROTE, R. L.; BERTONE, R. A. Osmotic Concentration at Low Temperature of Frozen Strawberry Halves. Effect of Glicerol, Glucose and Sucrose Solutions on Exsudate Loss During Thawing. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologies**, Zurich, v.22, p.264-7, 1989.
- GUEGOV, Y. Phase Transitions of Water in Some Products of Plant Origin at Low and Superlow Temperatures. **Advances in Food Research**, New York, v.27, p.297-361, 1981.

- HALL, M. A. Cell Wall Structure in Relation to Texture. In: GOODENOUGH, P. W.; ATKIN, R. K. (eds.) **Quality in Stored and Processed Vegetables and Fruits**, Bristol: Academic Press, 1979. p.53-64.
- HELDMAN, D. R. Food Freezing. In: HELDMAN, D. R.; LUND, D. B. (eds.) **Handbook of Food Engineering**, New York: Marcel Dekker, 1992.
- HELDMAN, D.R.; STEFFE, J.F. Educational Use of Computer Models for Food Freezing Processes. **Food Technology**, Chicago, p.87-91, apr. 1985.
- HOO, A. F.; McLELLAN, M. R. The Contributing Effect of Apple Pectin on the Freezing Point Depression of Apple Juices concentrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.2, p.373-5, 1987.
- KHAN, M. L.; EAPEN, K. E.; SENECA, W. Method of Infusing Fruits. **Rich Products Corp.**, Buffalo, N.Y. U.S. Pat, 4,350,711. Aug. 1981.
- LAMPILA, L. E.; MOHR, V.; REID, D. S. Scanning Electron Microscopic Study of Rockfish Preserved at either Ambient Temperature or by Isothermal Freeze-Fixation. **Food Microstructure**, Chicago, v.4, p.11-16, 1985. F718
- LAPSLEY, K.G.; ESCHER, F.E.; HOEHN, E. The Cellular Structure of Selected Apple Varieties. **Food Structure**, Chicago, v.11, p.339-49, 1992. F748
- LEVINE, H.; SLADE, L. Interpreting the Behaviour of Low-Moisture Foods. In: HARDMAN, T. M. (ed.) **Water and Food Quality**, London: Elsevier Science Publishers, 1989. p.71-134.
- LUALLEN, T. E. Starch as a Functional Ingredient. **Food Technology**, Chicago, p.59-63, jan. 1985.
- LUO, Y.; PATTERSON, M. E.; SWANSON, B.G. Scanning Electron Microscopy Structure and Firmness of Papain Treated Apple Slices. **Food Microstructure**, Chicago, v.11, p.333-8, 1992.
- LUYET, B. Basic Physical Phenomena in the Freezing and Thawing of Animal and Plant Tissue. In: TRESSLER, D. K.; VAN ARSDEL, W. B. e COPLEY, M. J. (eds.) **The Freezing Preservation of Foods**, Westport: The AVI Publishing, 1968. p.1-25.
- MAIN, G. L.; MORRIS, J. R.; WEHUNT, E. J. Effect of Preprocessing Treatments on the Firmness and Quality Characteristics of Whole and Sliced Strawberries After Freezing and Thermal Processing. **Journal of Food Science**, Chicago, v.51, n.2, p.391-4, 1986.

- MARTI, J.; AGUILERA J. M. Efecto de la Velocidad de Congelación en las Características Mecánicas y Microestructurales del Arándano y de la Mora Silvestre. **Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.**, Valencia, v.31, n.4, p.493-503, 1991.
- MARTINO, N. M. & ZARITZKY, N. E. Fixing Conditions in the Freeze-Substitution Technique for Light Microscopy Observation of Frozen Beef Tissue. **Food Microstructure**, Chicago, v.5, p.19-24, 1986.
- MELFORD, A. J.; Dey, P. M. Postharvest Changes in Fruit Cell Wall. **Advances in Food Research**, New York, v.30, p.133-93, 1986.
- MUHR, A. H.; BLANSHARD, J. M. V. Effect of Polysaccharide Stabilizers on the Rate of Growth of Ice. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.21, p.683-710, 1986.
- MUHR, A. H.; BLANSHARD, J. M. V.; SHEARD, S. J. Effects of Polysaccharide Stabilizers on the Nucleation of Ice. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.21, p.587-603, 1986.
- PAOLETTI, F.; MENESATTI, P. Effetto del Pretrattamento con Ca^{2+} sulla Texture di Mele Golden Delicious Congelate o Osmodisidrate. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, It., n.32, p.p34-41, ott. 1993.
- PINNAVAIA, G.; DALLA ROSA, M.; LERICI, C.R. Dehydrofreezing of Fruit using Direct Osmosis as Concentration Process. **Acta Alimentaria Polonica**, Warsaw, v.14, p.51-57, 1988.
- POMERANZ, Y. Scanning Electron Microscopy in Food Science and Technology. **Advances in Food Research**, New York, v.22, p.209-307, 1976.
- REID, D. S. Fundamental Physicochemical Aspects of Freezing. **Food Technology**, Chicago, p.111-5, abr. 1983.
- SCHNEPF, M. Protein-Water Interactions. In: HARDMAN, T. M. (ed.) **Water and Food Quality**, London: Elsevier Science Publishers, 1989. p.135-68.
- SPIES, W. E. L. Impact of Freezing Rates on Product Quality of Deep-Frozen foods. In: SECOND INTERNATIONAL CONGRESS ON ENGINEERING AND FOOD AND THE EIGHT EUROPEAN FOOD SYMPOSIUM, Helsinki, 1979. Proceeding... London: Elsevier Science Publishers, 1980. p.689-94.
- STERLING, C. Effect of Low Temperature on Structure and Firmness of Apple Tissue. **Journal of Food Science**, Chicago, v.33, p.577-80, 1968.
- SUCCAR, J.; HAYAKAWA, K. A Method to Determine Initial Freezing Point of Foods. **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, n.6, p.1711-13, 1990.

J550

- TORREGGLIANI, D. Osmotic Dehydration in Fruit and Vegetables Processing. **Food Research International**, v.26, p.59-68, 1993.
- TRAKOONTIVAKORN, G.; PATTERSON, M. E.; SWANSON, B. G. Scanning Electron of Cellular Structure of Granny Smith and Red Delicious Apples. **Food Microstructure**, Chicago, v.7, p.205-12, 1988.
- YANG, D. C.; LE MAGUER, M. Mass Transfer Kinetics of Osmotic Dehydration of Mushrooms. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v.16, p.215-31, 1992.

APÊNDICE

Quadro 1 - Análise de variância referente ao teor de água do fruto (%P/P) descongelado e drenado submetido aos diferentes pré-tratamentos envolvendo os fatores géis, açúcar, sais de cálcio e velocidade de congelamento.

Fontes	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
Géis	3	52,4950	17,4983	12,2718	**
Açúcares	1	486,2080	486,2080	340,9825	**
Cálcio	1	4,9467	4,9467	3,4692	NS
Vel. Congel.	2	0,4943	0,2471	0,1733	NS
Géis x Açúcares	3	12,9286	4,3095	3,0223	*
Géis x Cálcio	3	3,3408	11,1136	7,7941	**
Géis x Vel.Cong.	6	1,2903	0,2151	0,1508	NS
Açúcar x Cálcio	1	5,0832	5,0832	3,5649	NS
Açú x Vel.Cong.	2	0,9805	0,4902	0,3438	NS
Cálc x Vel.Cong.	2	0,0031	0,0015	0,0011	NS
Gel x Açú x Cal	3	0,7304	0,2435	0,1707	NS
Gel x Açú x Vel.	6	1,1608	0,1935	0,1357	NS
Açú x Cal.x Vel.	2	0,4507	0,2253	0,1580	NS
GelxAçúxCalxVel.	6	0,5463	0,0911	0, 0639	NS
Resíduo	102	145,4421	1,4259		
Total	143	746,1010			

Observações: ** Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

NS Não significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

Coefficiente de Variação = 1,288 %

Quadro 2 - Análise de variância referente ao percentual de perda de fluido celular (exsudação) (%P/P) após o descongelamento de frutos submetidos aos diferentes pré-tratamentos envolvendo os fatores géis de polissacarídeos, açúcares, ions cálcio e velocidade de congelamento.

Fontes	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
Géis	3	224,9052	74,9684	2,3922	NS
Açúcares	1	4486,5913	4486,5913	143,1622	**
Cálcio	1	963,0221	963,0221	30,7290	**
Vel. Congel.	2	111,0313	55,5156	1,7714	NS
Géis x Açúcares	3	337,1384	112,3795	3,5859	*
Géis x Cálcio	3	398,3907	132,7969	4,2374	**
Géis x Vel.Cong.	6	109,3319	18,2220	0,5814	NS
Açucar x Cálcio	1	717,7156	717,7156	22,9015	**
Açúcar x Vel.Cong.	2	43,8914	21,9457	0,7003	NS
Cálcio x Vel.Cong.	2	8,0135	4,0067	0,1279	NS
Gei x Açú x Cal.	3	725,2548	241,7516	7,7140	**
Gei x Açú x Vel.	6	149,4994	24,9166	0,7951	NS
Açú x Cal x Vel.	2	58,0728	29,0364	0,9265	NS
GeixAçúxCalxVel	6	81,2765	13,5461	0,4322	NS
Resíduo	102	3196,5994	31,3392		
Total	143	11610,7343			

Observações: ** Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

NS Não significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

Coefficiente de Variação = 11,879 %

Quadro 3 - Análise de variância referente ao teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix) de frutos descongelados submetidos a diferentes pré-tratamentos envolvendo os fatores géis, açúcares, sais de cálcio e velocidade de congelamento.

Fontes	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
Géis	3	42,8870	14,2957	6,7667	**
Açúcares	1	484,1466	484,1466	229,1667	**
Cálcio	1	2,7115	2,7115	1,2835	NS
Vel. Congel.	2	1,3116	0,6558	0,3104	NS
Géis x Açúcares	3	38,0065	12,6688	5,9967	**
Géis x Cálcio	3	88,2511	29,4171	13,9243	**
Géis x Vel.Cong.	6	3,4043	0,5674	0,2686	NS
Açucar x Cálcio	1	10,2827	10,2827	4,8672	*
Açúcar x Vel.Cong.	2	4,3748	2,1874	1,0354	NS
Cálcio x Vel.Cong.	2	1,2941	0,6470	0,3063	NS
Gei x Açú x Cal.	3	23,1142	7,7047	3,6470	*
Gei x Açú x Vel.	6	2,2875	0,3812	0,1805	NS
Açú x Cal x Vel.	2	0,1265	0,0632	0,0299	NS
GeixAçúxCalxVel	6	3,7963	0,6327	0,2995	NS
Resíduo	102	215,4892	2,1126		
Total	143	921,4841			

Observações: ** Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

NS Não significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

Coefficiente de Variação = 18,797 %

Quadro 4 - Análise de variância referente à variável textura (Kg) de frutos descongelados submetidos a diferentes pré-tratamentos envolvendo os fatores géis, açúcares, sais de cálcio e velocidade de congelamento.

Fontes	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
Géis	3	1,0737	0,3579	0,6283	NS
Açúcares	1	5,6446	5,6446	9,9094	**
Cálcio	1	82,3859	82,3859	144,6326	**
Vel. Congel.	2	1,9740	0,9870	1,7327	NS
Géis x Açúcares	3	2,9644	0,9881	1,7347	NS
Géis x Cálcio	3	1,2862	0,4287	0,7526	NS
Géis x Vel.Cong.	6	1,7471	0,2912	0,5112	NS
Açúcar x Cálcio	1	1,8428	1,8428	3,2351	NS
Açúcar x Vel.Cong.	2	1,4364	0,7182	1,2609	NS
Cálcio x Vel.Cong.	2	1,5033	0,7517	1,3196	NS
Gei x Açú x Cal.	3	2,3427	0,7809	1,3709	NS
Gei x Açú x Vel.	6	4,4137	0,7356	1,2914	NS
Açú x Cal x Vel.	2	0,6372	0,3186	0,5593	NS
GeixAçúxCalxVel	6	1,5791	0,2632	0,4620	NS
Resíduo	102	58,1014	0,5696		
Total	143	168,9327			

Observações: ** Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

NS Não significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

Coefficiente de Variação = 29,206 %

Quadro 5 - Análise de variância referente à capacidade de retenção de água, avaliada através do índice de difusão do fluido celular em um meio capilar (IDPF) (%), pela microestrutura de frutos descongelados submetidos a diferentes pré-tratamentos envolvendo os fatores géis, açúcares, sais de cálcio e velocidade de congelamento.

Fontes	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
Géis	3	16519,9813	5506,6604	47,2380	**
Açúcares	1	7302,4224	7302,4224	62,6426	**
Cálcio	1	1356,9842	1356,9842	11,6407	**
Vel. Congel.	2	126,2989	63,1494	0,5417	NS
Géis x Açúcares	3	590,4659	196,8219	1,6884	NS
Géis x Cálcio	3	1171,9787	390,6596	3,3512	*
Géis x Vel. Cong.	6	76,2762	12,7127	0,1091	NS
Açúcar x Cálcio	1	142,8037	142,8037	1,2250	NS
Açúcar x Vel. Cong.	2	45,9695	22,9847	0,1972	NS
Cálcio x Vel. Cong.	2	75,9515	37,9757	0,3258	NS
Gei x Açú x Cal.	3	880,1067	293,3689	2,5166	NS
Gei x Açú x Vel.	6	639,3075	106,5513	0,9140	NS
Açú x Cal x Vel.	2	178,7126	89,3563	0,7665	NS
GeixAçúxCalxVel	6	152,1888	25,3648	0,2176	NS
Resíduo	102	11890,4249	116,5728		
Total	143	41149,8729			

Observações: ** Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

NS Não significativo pelo teste de Fisher ao nível de 5% de probabilidade

Coefficiente de Variação = 42,726 %

JAIME VILELA DE RESENDE 35-8213689

**REDUÇÃO DE DANOS DE CONGELAMENTO EM
FRUTOS DE MELÃO (*Cocumis melo L. Inodorus*)
UTILIZANDO SUBSTÂNCIAS CRIOPROTETORAS
DE CONCENTRAÇÕES E ORIGENS DIVERSAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos, para obten-
ção do grau de MESTRE.

**ORIENTADOR
PROF. DR. JOSÉ CAL-VIDAL**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1995**

Resende, Jaime Vilela de
Redução de danos de congelamento em frutos de melão (*Cocumis melo L. Inodorus*) utilizando substâncias crioprotetoras de concentrações e origens diversas / Jaime Vilela de Resende. --Lavras : UFLA, 1995.
136p. : il.

Orientador: José Cal-Vidal.
Dissertação (Mestrado) - UFLA.
Bibliografia.

1. Melão - Congelamento. 2. Crioproteção. 3. Microestrutura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-664.80561