

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA PAULA DE SOUZA CORRÊA CHERIEGATE

ANÁLISE MICROESTRUTURAL DA POLPA DE AMORA-PRETA (*Rubbus spp.*)

CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE

CURITIBA

2012

ANA PAULA DE SOUZA CORRÊA CHERIEGATE

ANÁLISE MICROESTRUTURAL DA POLPA DE AMORA-PRETA (*Rubbus spp.*)

CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Maria Lucia Masson

CURITIBA

2012

Cheriegate, Ana Paula de Souza Corrêa

Análise microestrutural da polpa de amora-preta (*Rubus spp.*) co-cristalizada por sacarose / Ana Paula de Souza Corrêa Cheriegate. – Curitiba, 2012.

93 f. : il.; graf., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Maria Lucia Masson

1. Sacarose. 2. Polpa de frutas - Cristalização. I. Masson, Maria Lucia. II. Título.

CDD 664.115

ANA PAULA DE SOUZA CORRÊA CHERIEGATE

**ANÁLISE MICROESTRUTURAL DE POLPA DE AMORA-PRETA
CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora:


Prof.^a Dr.^a MARIA LUCIA MASSON
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. EGON SCHNITZLER
Setor de Ciências Exatas e Naturais, UEPG


Prof. Dr. IRINEU MAZZARO
Setor de Ciências Exatas, UFPR

Curitiba, 23 de agosto de 2012.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por sempre colocar desafios em meu caminho.

À minha professora e orientadora **Dra. Maria Lucia Masson**, pela amizade, sabedoria, pelo incentivo e apoio à minha pesquisa e por acreditar em mim.

Ao professor **Dr. Egon Schnitzler - UEPG**, pela paciência e disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos em análise térmica.

Ao professor **Dr. Irineu Mazzaro - UFPR**, por dispor do seu precioso tempo para ensinar-me sobre a operação do equipamento e por discutir os resultados de difração de Raio-X comigo.

Ao mestrando **Tiago Colman** do setor de Química da UEPG, que se dispôs em ajudar-me na realização das análises no DSC.

Ao meu marido **David Cheriegate Filho**, pela indiscutível paciência durante o período do mestrado ...

Aos meus filhos **Pietro e Luigi**, por sempre me questionarem se eu precisava mesmo estudar ao invés de brincar com eles. Vocês são meu incentivo diário, para aqueles momentos em que me pergunto se “vale a pena?”. Valeu crianças!

Aos meus pais, **Dogival e Sônia**, pelo carinho e apoio infindáveis.

Às minhas irmãs e melhores amigas: **Caroline e Karina**, pela ajuda técnica e psicológica, que mesmo à distância, sempre podemos contar umas com as outras.

Às minhas amigas **Roberta Leone e Erika Vasques**, pela amizade e apoio quando eu mais precisei.

Ao **Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR**.

Aos **professores, funcionários e amigos do PPGEAL**.

À **Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG**.

A todos aqueles que me apresentaram impecilhos e vários motivos para que eu desistisse: agradeço pelo empurrão!

“O momento da conquista surge para muitos, em plena solidão, sem o aplauso dos demais, e, no entanto, não existe recompensa maior que a satisfação pessoal daquele instante, quando tendo dado o melhor que há em nós, atingimos o topo.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram analisar as microestruturas formadas pela co-cristalização da sacarose sobre a matriz da polpa de amora-preta, nas proporções de sacarose:polpa de amora de 90:10, 85:15 e 80:20, de maneira a promover uma alternativa de uso da amora-preta como corante natural para produtos alimentícios e farmacêuticos. As duas primeiras proporções produziram co-cristais, todavia a proporção de 80:20 produziu um produto semi-sólido, e não cristalizou completamente. Foi realizada uma composição centesimal e análise de atividade de água na polpa de amora-preta integral. As microestruturas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raio-X (XRD), nos produtos como a sacarose usada nos experimentos, na amora-preta liofilizada, no xarope re-cristalizado sem adição de polpa e nos produtos co-cristalizados nas proporções de sacarose:polpa de amora-preta de 90:10, 85:15 e 80:20. As análises comprovaram a formação do aglomerado de cristais de sacarose sobre a matriz nas amostras contendo as proporções de 90:10 e 85:15 e promoveram um melhor entendimento do comportamento do produto co-cristalizado.

Palavras-chave: Co-cristalização. Sacarose. Amora-preta. Corante natural. DSC. MEV. Difração de raio-X.

ABSTRACT

The main objective of this work was to analyze the microstructures formed by co-crystallization of sucrose on blackberry pulp. The sucrose proportions used were: blackberry pulp 90:10, 85:15 e 80:20, in order to promote the use of blackberry pulp as an alternative to natural food colorant and pharmaceutical products. The first two blackberry proportions examined produced co-crystals, however the 80:20 blackberry proportion produced a semi-solid product and did not crystallize completely. A chemical composition and an "active water analysis" was performed on the blackberry pulp. The microstructures were evaluated by the following methods: Differential Scanning Calorimeter (DSC), X-ray Diffraction (XRD) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The products used for this research were: frozen dried blackberry, treated sucrose syrup (free of blackberry pulp), sucrose co-crystallized products, using the proportions 90:10, 85:15 and 80:20. The analysis results confirmed the formation of sucrose crystals agglomerated over the matrix for the proportions 90:10 and 85:15. Furthermore, this study contributed on better understanding of the comportment of the co-crystallized products.

Keywords: Co-crystallization. Sucrose. Blackberry. Natural colorant. DSC. SEM. X-ray Diffraction

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	AMORA-PRETA	16
FIGURA 2 -	DOIS TIPOS DE CÁPSULAS.....	22
FIGURA 3 –	MOLÉCULA DE SACAROSE	25
FIGURA 4 -	GRÁFICO DA SOLUBILIDADE DA SACAROSE	29
FIGURA 5 -	SATURAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE AÇÚCAR POR EVAPORAÇÃO, RESFRIAMENTO E ADIÇÃO DE SOLVENTE.....	32
FIGURA 6 –	DIAGRAMA SIMPLIFICADO DA SOLUBILIDADE PARA UMA SOLUÇÃO DE SACAROSE.....	34
FIGURA 7 –	A) MICROGRAFIA DE UMA AMOSTRA DE XAROPE DE SACAROSE RECRISTALIZADO; B) MICROGRAFIA DE UMA AMOSTRA ERVA-MATTE CO- CRISTALIZADA COM SACAROSE	42
FIGURA 8 –	ILUSTRAÇÃO DE CURVAS TÍPICAS DE DSC, INDICANDO A VARIAÇÃO DA ENTALPIA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA	44
FIGURA 9 –	REPRESENTAÇÃO DA DIFRAÇÃO DE RAIOS-X POR DOIS PLANOS PARALELOS DE ÁTOMOS SEPARADOS POR UMA DISTANCIA d	48
FIGURA 10 –	ILUSTRAÇÃO DE DIFRATOGRAMAS: A) DIFRATOGRAMA TÍPICO DE ESTRUTURA CRISTALINA; B) DIFRATOGRAMA TÍPICO DE PRODUTO AMORFO OU LÍQUIDO.....	49
FIGURA 11 –	MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (JEOL - UFPR)	53
FIGURA 12 –	METALIZADOR: BALZERS SPUTTERING SCD-030	54
FIGURA 13 –	EQUIPAMENTO DE DSC – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (TA INSTRUMENTS®, MODELO: Q200) USADO NAS ANÁLISES (UEPG)	55
FIGURA 14 –	EQUIPAMENTO DE RAIOS-X USADO NAS ANÁLISES (UFPR)	56
FIGURA 15 –	FOTOS DOS PRODUTOS FORMADOS APÓS A CO-CRISTALIZAÇÃO: A) SACAROSE RE-CRISTALIZADA, SEM ADIÇÃO DE POLPA; B) AMOSTRA A; C) AMOSTRA B; D) AMOSTRA C.....	58
FIGURA 16 –	POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (20%)	59
FIGURA 17 –	FRUTA DA AMORA-PRETA LIOFILIZADA E MOÍDA	62

FIGURA 18 – CRISTAIS DE SACAROSE USADOS NA FABRICAÇÃO DO XAROPE DE SACAROSE.....	62
FIGURA 19 – XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADA, SEM A PRESENÇA DA POLPA DE AMORA-PRETA	63
FIGURA 20 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA A – 90:10)	63
FIGURA 21 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA B – 85:15).....	64
FIGURA 22 – DSC: CURVA DA SACAROSE (AÇÚCAR CRISTAL)	67
FIGURA 23 – XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADO, SEM ADIÇÃO DE POLPA DE AMORA-PRETA	67
FIGURA 24 – AMORA-PRETA LIOFILIZADA	68
FIGURA 25 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (SACAROSE:POLPA NA PROPORÇÃO DE 90:10)	68
FIGURA 26 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (SACAROSE:POLPA NA PROPORÇÃO DE 85:15)	69
FIGURA 27 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (SACAROSE:POLPA NA PROPORÇÃO DE 80:20)	69
FIGURA 28 - DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA SACAROSE	72
FIGURA 29 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DO XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADA	72
FIGURA 30 – AMORA LIOFILIZADA	73
FIGURA 31 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (90:10).....	73
FIGURA 32 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (85:15)	74
FIGURA 33 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (80:20).....	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE AMORA-PRETA	17
TABELA 2 –	ILUSTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS CÁPSULAS, PRODUZIDAS PELAS TECNOLOGIAS DE ENCAPSULAÇÃO	23
TABELA 3 –	SOLUBILIDADE DE AÇÚCARES EM ÁGUA	27
TABELA 4 –	SOLUBILIDADE DA SACAROSE EM DIFERENTES TEMPERATURAS	28
TABELA 5 -	VALORES DA LITERATURA PARA AS TEMPERATURAS DE FUSÃO PARA D-SACAROSE, D-FRUTOSE E D-GLICOSE	46
TABELA 6 –	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA POLPA DE AMORA-PRETA EM BASE ÚMIDA	57
TABELA 7 –	RESULTADOS DE ANÁLISE DE ATIVIDADE DE ÁGUA	60
TABELA 8 -	TEMPERATURA ONSET, TEMPERATURA DE PICO E VARIAÇÃO DA ENTALPIA.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aw	Atividade de água
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
EMBRAPA	Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
Fig	Figura
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
<i>Tonset</i>	Temperatura de início do evento térmico
<i>Tendset</i>	Temperatura de término do evento térmico
Tp	Temperatura de pico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 AMORA-PRETA (<i>Rubus spp</i>).....	16
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	19
3.3 MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO	22
3.5 SACAROSE COMO AGENTE ENCAPSULANTE	24
3.5.1 Decomposição térmica da sacarose	25
3.5.2 Solubilidade da sacarose	27
3.6 ETAPAS DA CRISTALIZAÇÃO DA SACAROSE	30
3.6.1 Saturação	31
3.6.2 Nucleação e crescimento dos cristais	35
3.7 ESTUDOS SOBRE A CO-CRISTALIZAÇÃO DA SACAROSE	36
3.8 CARATERIZAÇÃO DE PRODUTOS CO-CRISTALIZADOS.....	40
3.8.1 MEV – Microscopia eletrônica de varredura.....	41
3.8.2 DSC – Calorimetria exploratória diferencial.....	43
3.8.3 Difração de Raio-X	47
4 MATERIAL E MÉTODOS	50
4.1 MATERIAL	50
4.2 MÉTODOS	50
4.2.1 Extração da polpa de amora-preta	50
4.2.2 Determinação da composição química da polpa da amora-preta (<i>Rubbus spp</i>).....	50

4.2.3 Liofilização da fruta da amora-preta (<i>Rubbus spp</i>).....	51
4.2.4 Preparo da polpa de amora-preta co-cristalizada com sacarose	52
4.2.5 Análise microestrutural	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FRUTA DA AMORA-PRETA (<i>Rubbus spp</i>).....	57
5.2 PRODUÇÃO DO XAROPE DE SACAROSE E POLPA DE AMORA-PRETA CO- CRISTALIZADA POR SACAROSE	58
5.2.1 Análise da atividade de água (<i>Aw</i>)	60
5.3 ANÁLISE MICROESTRUTURAL DA POLPA DE AMORA-PRETA CO- CRISTALIZADA POR SACAROSE	61
5.3.1 MEV – Microscopia eletrônica de varredura.....	61
5.3.2 DSC – Calorimetria exploratória diferencial.....	64
5.3.3 Difração de Raio-X	70
6 CONCLUSÃO	75
7 SUGESTÃO PARA NOVAS PESQUISAS.....	76
8 REFERÊNCIAS.....	77

1 INTRODUÇÃO

Matérias-primas para indústria de alimentos, farmacêutica e cosméticos, como sucos, aromas ou ingredientes químicos ativos (medicamentos) podem ser encapsulados pelo método da co-cristalização.

Existem vários métodos para encapsulação de produtos alimentícios que podem ser empregados na indústria, tais como: encapsulamento por spray drier, por liofilização, por coacervação, por co-cristalização, entre outros.

A co-cristalização é um método de microencapsulação, no qual a estrutura do cristal de sacarose é modificada de um cristal puro para um aglomerado irregular, a fim de fornecer uma matriz porosa em que um segundo ingrediente ativo possa ser incorporado. Este método é considerado mais simples e de menor custo, quando comparado às outras tecnologias empregadas para o encapsulamento de produtos alimentícios.

Atualmente o Brasil, a Índia e os Estados Unidos da América, são responsáveis por 40% da produção mundial de açúcar, sendo que o Brasil é o maior produtor. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimentos (MAPA), a produção de açúcar brasileiro foi de 31.504.983 milhões de toneladas nas safras de 2008/2009.

A sacarose é uma das matérias-primas mais utilizadas na indústria de alimentos. Sua principal característica é a capacidade de formar cristais por meio do resfriamento de uma solução saturada. Esse processo é denominado de cristalização da sacarose. Na co-cristalização da sacarose, o prefixo “co-” sugere que o fenômeno da cristalização da sacarose ocorra sobre uma matriz alimentícia.

A amora-preta (*Rubus* spp.), também conhecida como *blackberry*, apresenta alta perecibilidade, devido à sua estrutura frágil e alto conteúdo de umidade. A aplicação da polpa de amora-preta co-cristalizada com sacarose tem como potenciais vantagens a utilização como corante natural em produtos alimentícios e farmacêuticos, bem como seu emprego em misturas secas.

O presente trabalho objetivou estudar a microestrutura da polpa de amora co-cristalizada com sacarose, empregando a técnica de análise térmica (Calorimetria

Exploratória Diferencial - DSC), Difração de Raio-X e Microscopia eletrônica de Varredura. A análise do DSC permitiu obter informações sobre o comportamento térmico do material co-cristalino, enquanto que a difração de raio-X permitiu obter informações sobre os aspectos estruturais dos cristais formados. A microscopia eletrônica de varredura permitiu identificar a formação de cristais aglomerados ao produto formado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo estudar a microestrutura formada quando aplicadas condições específicas para a co-cristalização da polpa de amora-preta com sacarose.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Co-cristalizar a polpa de amora-preta com sacarose, nas concentrações de 10, 15 e 20%;
- Estudar a morfologia dos co-cristalizados, por microscopia eletrônica de varredura - MEV;
- Determinar as propriedades térmicas do co-cristalizado;
- Verificar as propriedades de cristalinidade do co-cristalizado, através do perfil de difração de raio-X.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 AMORA-PRETA (*Rubus spp*)

Segundo Antunes (2002), a cultura da amora-preta foi introduzida no Brasil pela Estação Experimental de Pelotas, atual Embrapa de Clima Temperado no Rio Grande do Sul, na década de 70. A partir daí, novas regiões passaram a produzir amora-preta, como São Paulo e Minas Gerais, com a introdução e adaptação de novas cultivares.



FIGURA 1 – AMORA-PRETA
FONTE: EMPRAPA

A amoreira-preta é uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, que produz frutos agregados, com cerca de 4 a 7 gramas, de coloração negra e sabor ácido a doce-ácido (ANTUNES, 2002). O fruto verdadeiro da amoreira é denominado de mini drupa ou drupete, no qual existe uma pequena semente, sendo que a sua junção forma o que é chamado de fruto agregado (POLING, 1996).

Devido à sua estrutura frágil e alta atividade respiratória dos frutos, a vida pós colheita da amora-preta é relativamente curta (máx. de 7 dias à temperatura de 5°C); em função disso, o consumo da amora *in natura* não é muito frequente, sendo os frutos comercializados preferencialmente na forma industrializada. Os frutos

podem ser congelados, enlatados, processados na forma de polpa para utilização em produtos lácteos (como matéria-prima ou aditivo de cor e sabor), sucos e geléias (ANTUNES, 2002 ; ANTUNES, DUARTE-FILHO e SOUZA, 2003; FERRARI et al., 2012).

Mota (2006) realizou a caracterização de um suco de amora-preta em diversas cultivares, e obteve as seguintes médias: Umidade= 91,14, pH=3,3, °Brix=8,76, Acidez=1,34% (ácido cítrico), Carboidratos=5,11%, Antocianinas=130,73 mg/100g.

Ferrari et al. (2012) realizaram a caracterização físico-química da polpa de amora-preta, como pode ser observado na Tabela 1.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE AMORA-PRETA

Componente	Conteúdo
Umidade (% base úmida)	91,96 ± 0,14
Açúcares redutores (g de açúcar redutor . 100g ⁻¹ b.u)	5,35 ± 0,26
Açúcares totais (g de açúcar invertido . 100g ⁻¹ b.u)	6,49 ± 0,15
Lipídios (g. 100g ⁻¹ b.u)	0,10 ± 0,00
Cinzas (g. 100g ⁻¹ b.u)	0,20 ± 0,00
Teor de sólidos solúveis (Brix)	6,77 ± 0,12
pH	3,31 ± 0,02
Acidez (% ácido cítrico.100g ⁻¹ b.u)	0,76 ± 0,02
Antocianinas (mg.100g ⁻¹ b.u)	77,90 ± 2,10
Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico.100g ⁻¹ b.u)	210,71 ± 4,24

FONTE: Ferrari et al. (2012)

A amora-preta apresenta características atrativas como cor e sabor, mas várias pesquisas recentes tem apontado outras propriedades benéficas da amora-preta, como agente anti-inflamatório, anticarcinogênico e antioxidante (VIZZOTTO, 2008), bem como propicia a prevenção contra a auto-oxidação e peroxidação de lipídios em sistemas biológicos (NARAYAN, AKHILENDER NAIDU E RAVISSHANKAR, 1999).

A amora-preta (*Rubus spp.*) é uma fruta de elevado valor nutritivo, destacando-se carboidratos, minerais (cálcio e potássio) e vitamina C. Além disso, a fruta é excelente fonte de compostos fenólicos, principalmente antocianinas e ácido elágico (ANTUNES, 2002; BARBOZA, 1999; ACOSTA-MONTOYA et al., 2010).

As antocianinas mais representativas na amora-preta são a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo (JACKMAN e SMITH, 1992). A presença de antocianinas são as responsáveis por conferir as propriedades funcionais da fruta (FERREIRA, 2008; ACOSTA-MONTOYA et al., 2010) e sua coloração escura.

A coloração das antocianinas é diretamente influenciada pela substituição dos grupos metoxila e hidroxila das moléculas: quanto maior o número de grupos hidroxilas, maior o aparecimento da cor azul; quanto maior o número de grupos metoxilas, maior é o aparecimento da cor vermelha (LÓPEZ, JIMENEZ e VARGAS, 2000).

As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água, segundo BRIDLE e TIMBERLAKE (1997). Sua coloração vai desde o vermelho, até os tons de azul, em frutas, hortaliças e legumes (MAZZA e MINIATI, 1993).

De acordo com Narayan, Akhilender Naidu e Ravishankar (1999), as antocianinas são um potente antioxidante comparado com antioxidantes clássicos como butilato anisol, butilato tolueno e alfa tocoferol (vitamina E).

Araújo et al. (2008) estudaram a estabilidade das antocianinas e ácido ascórbico em néctar de amora-preta (*Rubus spp.*) submetido ao congelamento e concluíram que o congelamento se mostrou uma boa opção para a manutenção da estabilidade das antocianinas e ácido ascórbico.

Segundo Andersen, Cabrita e Fossen (1998) a principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos, deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios, pois as antocianinas possuem grupos cromóforos que são bastante sensíveis às alterações de pH do meio; durante a preparação dos alimentos, o conteúdo de antocianinas pode decrescer em até 50%, seja durante a lavagem com água, devido à sua solubilidade, seja pela remoção de porções dos alimentos que sejam ricas em flavonóides.

Sabe-se que a cor tem um papel importante na aceitação de produtos alimentícios. Nos últimos anos, várias pesquisas tem sido direcionadas com o objetivo de produzir corantes a partir de fontes naturais (HASSANI e SHARIFI, 2012).

LOPES et al. (2007) enfatiza que a ANVISA tem papel importante na indústria por estimular a pesquisa de corantes naturais, não tóxicos, em substituição aos sintéticos. Devido à toxicidade de alguns corantes sintéticos, tem-se notado um crescente interesse por corantes obtidos a partir de fontes naturais. Os autores também ressaltam que, mesmo os corantes sintéticos possuïrem menores custos de produção, maior estabilidade e capacidade tintorial, o seu uso vem diminuindo a cada ano nos países desenvolvidos.

A microencapsulação dos corantes visa protegê-los contra a oxidação, o que propicia um aumento da sua vida de prateleira, facilitando a sua incorporação e a solubilização nos alimentos (BEATUS et al., 1985; SANTOS et al., 2000).

Wroistad et al. (1980) e diversos outros autores afirmaram que os açúcares presentes das amoras-pretas são somente a glicose a frutose. CHIANG (1999) relatou que a glicose e a frutose estão em maiores quantidades na amora-preta, todavia, também encontrou sacarose em pequenas quantidades.

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Os materiais a serem encapsulados podem ser puros ou uma mistura, os quais são também chamados de materiais revestidos, materiais nucleados, ativos,

de preenchimento, de fase interna ou de carga. Por outro lado, os materiais para revestimento podem ser chamados de materiais para revestir, materiais de parede, encapsulantes, membranas, cascas ou veículos, os quais podem ser açúcares, gomas, proteínas, polissacarídeos naturais ou modificados, lipídeos e polímeros sintéticos (GIBS et al., 1999; MOZAFARI, 2006).

A microencapsulação tem inúmeras aplicações, como fármacos, pesticidas, corantes, aromatizantes, entre outros. O conceito surgiu da idealização do modelo celular. Neste, a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e a saída de material na célula. (RÉ, 2000).

Shahidi e Han (1993) e Nori (1996) definem a microencapsulação como sendo a tecnologia de recobrir partículas ou pequenas gotas de material líquido ou gasoso, formando cápsulas, as quais podem liberar seu conteúdo em taxas controladas e/ou sob condições específicas. Os carboidratos são muito empregados como agentes encapsulantes de aromas devido a sua capacidade de absorver voláteis do ambiente ou retê-los fortemente durante o processo de secagem.

Shahidi e Han (1993) enfatiza que o objetivo principal da encapsulação é proteger o material do núcleo de condições ambientais adversas, como efeitos indesejáveis da luz, umidade e oxigênio, como também aumentar a vida de prateleira do produto, e promover a liberação controlada do encapsulado.

Para Santos, Pereira e Grosso (2000) a escolha do método mais adequado depende do tipo do material ativo, da aplicação e do mecanismo da liberação desejado para a sua ação.

Na indústria de alimentos, o processo de microencapsulação pode ser aplicado por várias razões, conforme ressaltam os autores DESAI e PARK (2005):

- a) a proteção do núcleo;
- b) a redução da evaporação ou taxa de transferência do material encapsulado para o ambiente;
- c) a modificação das características físicas do material original para permitir facilidade no manuseio;

- d) a liberação controlada do material revestido;
- e) mascarar o aroma do encapsulado;
- f) permitir que somente pequenas quantidades do material encapsulados sejam diluídas e ainda atingir a dispersão uniforme do material;
- g) permitir que a mistura de componentes que poderiam reagir entre si, obtendo estabilidade química dessa mistura.

Teoricamente qualquer material que necessita ser protegido, isolado ou lentamente liberado, pode ser encapsulado. Em relação a alimentos, inclui ácidos, lipídios, enzimas, microrganismos, aromas, adoçantes artificiais, vitaminas, minerais, água, fermentos, corantes e sais (PETERSON e JOHNSON, 1978; DESAI e PARK, 2005).

Santos et al. (2000) enfatiza que outras indústrias também podem utilizar formulações contendo micropartículas, como as indústrias de cosméticos, pigmentos, adesivos, agentes de cura e encapsulação de células vivas, incluindo enzimas e microrganismos.

Ré (2000) cita a encapsulação de óleos essenciais, para prevenir a oxidação e a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma. A aplicação dessa tecnologia estende-se à incorporação de corantes, temperos, acidulantes, vitaminas e minerais. A técnica de microencapsulação protege esses ingredientes contra perdas nutricionais e preserva ou mascara cor e sabor (inibindo a reação com outros materiais), além de aumentar a vida de prateleira e incorporar aos alimentos, mecanismos de controle de liberação de certos componentes.

Segundo Dziezak (1988) as microcápsulas são pequenas partículas que podem alcançar de sub-microns a muitos milímetros de tamanho. A classificação dos tamanhos de partículas ou cápsulas, segue o proposto por Silva *et al.* (2003), como sendo: micropartículas entre 1 e 1000 μm , nanopartículas entre 10 a 1000 nm.

Muitas morfologias podem ser produzidas por encapsulação, mas duas principais morfologias são mais comumente vistas: cápsulas mononucleares, as quais têm apenas um núcleo envolto por um revestimento, enquanto que as outras tem muitos núcleos embutidos numa mesma matriz (SCHROOYEN, VAN DER

MEER, DE KRUIF, 2001). Seus formatos específicos em diferentes sistemas são influenciados por tecnologias de processo, por seu núcleo e os materiais de revestimento dos quais as cápsulas são feitas.

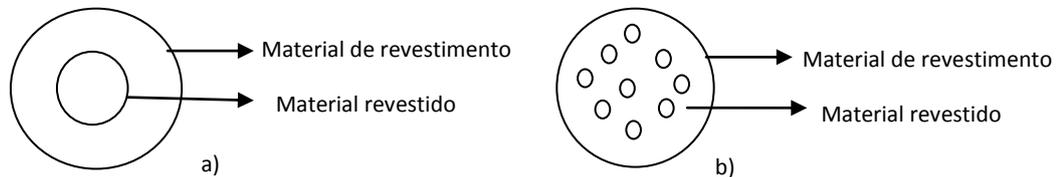


FIGURA 2 – DOIS TIPOS DE CÁPSULAS: A) CÁPSULA MONONUCLEAR; B) CÁPSULA AGREGADA

FONTE: (Adaptado de FANG *et al.*, 2010).

3.3 MÉTODOS DE MICROENCAPSULAÇÃO

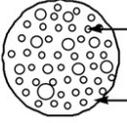
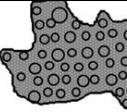
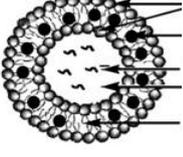
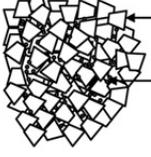
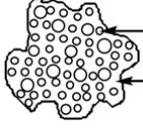
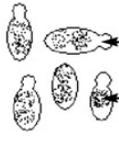
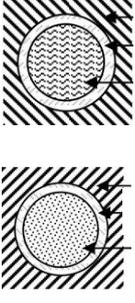
A diferença básica entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química ((SANTOS, FERREIRA e GROSSO (2000); GIBS *et al.* (1999); MOZAFARI *et al.* (2008), SUAVE *et al.*(2006)), conforme os exemplos citados abaixo:

- Métodos físicos: *spray drying*, *spray cooling*, pulverização em banho térmico, leite fluidizado, extrusão, centrífuga com múltiplos orifícios, co-cristalização e liofilização.
- Métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial.
- Métodos físico-químicos: coacervação ou separação de fases, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação e envolvimento lipossômico.

De acordo com os processos de encapsulação usados, os encapsulados apresentam vários tipos de formas (filmes, esferas, partículas irregulares), várias estruturas (porosas ou compactas) e várias estruturas físicas (amorfas ou cristalinas, emborrachada ou de matriz vítrea) que influenciam a difusão de aromas ou substâncias externas (oxigênio, solvente), tal qual a estabilidade dos alimentos

durante o período de estocagem (MADENE *et al.*, 2006). A Tabela 2 apresenta uma ilustração das características morfológicas dos materiais encapsulados:

TABELA 2 – ILUSTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS CÁPSULAS, PRODUZIDAS PELAS TECNOLOGIAS DE ENCAPSULAÇÃO

Tecnologias de Encapsulação	Ilustração das Características morfológicas das cápsulas
Spray drier	 <p>Núcleo Material encapsulante</p>
Coacervação	 <p>Núcleo Material encapsulante</p>
Lipossomos	 <p>Dupla camada lipídica Núcleo/ Região hidrofílica Região hidrofóbica</p>
<u>CO-CRISTALIZAÇÃO</u>	 <p>Cristais de açúcar: Material encapsulante Núcleo</p>
Liofilização	 <p>Núcleo / material encapsulado insolúvel em água Material encapsulante</p>
Encapsulamento por leveduras	 <p>Material encapsulante: levedura Núcleo/ material encapsulado</p>
Emulsificação	 <p>Fase óleo Agente emulsificante Núcleo / material encapsulado</p> <p>Fase água Agente emulsificante Núcleo / material encapsulado</p>

FONTE: Adaptado de de FANG e BHANDARI, 2010.

3.4 MATERIAIS USADOS COMO ENCAPSULANTES

O material encapsulante é selecionado em função das propriedades físicas e químicas do agente ativo, da aplicação pretendida e do método utilizado para formar as micropartículas; carboidratos, gomas, lipídeos, poliésteres naturais, polímeros sintéticos, proteínas e quitosana podem ser usados como materiais encapsulantes (SANTOS, FERREIRA e GROSSO, 2000).

No processo de co-cristalização na indústria farmacêutica, sais são frequentemente usados para encapsular o material ativo. Na indústria de alimentos, a sacarose é o material mais comumente usado nas co-cristalizações.

3.5 SACAROSE COMO AGENTE ENCAPSULANTE

A sacarose é o principal produto extraído da cana-de-açúcar e é obtida pelo processo de cristalização do xarope concentrado do caldo da cana; é um dos ingredientes mais usados na indústria alimentícia (AWAD et al., 1993). Deve ser fabricado de açúcar livre de fermentação, isento de matéria terrosa, de parasitos e detritos animais ou vegetais. De acordo com a legislação brasileira, o teor de sacarose deve ser superior a 99,3% (BRASIL).

A sacarose é composta por uma unidade α -D-glicopiranosil e uma unidade β -D-frutopiranosil. Pelo fato de não ter uma extremidade redutora, ela é classificada como açúcar não redutor (FENEMMA, 2010).

Possui fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$ e massa molar de 342,3 g/mol. Cristaliza no sistema monocíclico e tem densidade de 1,588 g/l. Funde-se a 180°C e pode atingir uma coloração bastante escura, caso o aquecimento após a fusão seja mantido (BEMILLER e WHISTLER, 1993; GARCIA et al. 1992; MERCK, 1999). A esse processo dá-se o nome de caramelização.

A Figura 3 ilustra a molécula de sacarose e a ligação glicosídica entre a glicose e a frutose.

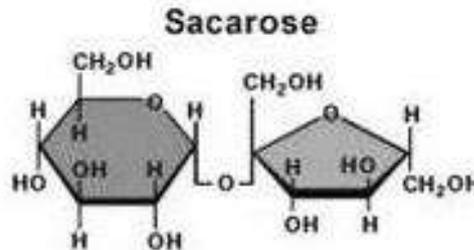


FIGURA 3 – MOLÉCULA DE SACAROSE

FONTE: Adaptado de FENNEMA, PARKIN, DAMODARAN, 2010.

A sacarose e muitos outros carboidratos de baixa massa molecular (p. ex., monossacarídeos, alditóis, dissacarídeos e outros oligossacarídeos de baixa massa molecular), por causa de sua grande hidrofiliçidade e solubilidade, podem produzir soluções bem concentradas com alta osmolalidade. Essas soluções, como o mel, não necessitam de conservantes, podendo ser usadas não somente como adoçantes (ainda que nem todos os xaropes de carboidratos precisam ter muita doçura), mas também como conservantes e umectantes (FENNEMA, PARKIN, DAMODARAN, 2010).

3.5.1 Decomposição térmica da sacarose

Há inúmeras publicações sobre a decomposição térmica da sacarose anidra ou hidratada, e também estudos em solução aquosa. A primeira etapa da decomposição térmica da sacarose é o rompimento da ligação glicosídica entre as moléculas de glicose e frutose, via protonação do átomo de oxigênio da ligação glicosídica. O íon de hidrogênio H^+ requerido para essa etapa provém da água. Na ausência de água, o mecanismo e os componentes da decomposição térmica da sacarose são diferentes (LEE et al., 2011).

Açúcares redutores e sais estão presentes na sacarose e estes afetam a decomposição térmica da sacarose (KELLY e BROWN, 1979; RICHARDS, 1986;

EGGLESTON, TRASK-MORRELL e VERCELLOTTI, 1996; EGGLESTON, VERCELLOTTI e CLARCK et al., 1996; LEE et al., 2011).

Simkovic, Surina e Vrican (2003), estudando a sacarose anidra por GC/MS (“*gas chromatography – mass spectrometry*” – cromatografia gasosa acoplada a espectro de massa), mostrou que o rompimento da ligação glicosídica foi a reação primária mais proeminente da decomposição térmica da sacarose.

Quintas et al. (2007), baseados em estudos anteriores, afirmam que o H^+ requerido para a hidrólise da sacarose poderia ser derivado da dissociação da própria molécula de sacarose a altas temperaturas, ou por produtos ácidos formados via reações de traços de açúcares redutores (glicose e frutose) e da presença de sais. Açúcares redutores se decompõem mais rapidamente que a sacarose; produtos ácidos (por exemplo: ácidos acéticos, fórmicos e levulínico) formados a partir desta origem, catalizam a degradação da sacarose pela protonação da sacarose (denominado “processo ácido-autocatalizado”), e então, aumenta a taxa da reação da decomposição térmica da sacarose pelo decréscimo do pH.

Lee et al. (2011) afirmam que outra possível fonte de H^+ é a água presente na superfície dos cristais de sacarose. Todavia, a despeito da presença ou ausência de água, a decomposição térmica da sacarose primeiramente ocorre via hidrólise da sacarose.

Lee et al. (2011), realizaram um estudo sobre a decomposição térmica por perda da estrutura cristalina da sacarose, usando HPLC e DSC. Além de outras conclusões, afirmam que o processo de caramelização da sacarose, que geralmente é tido como um processo que forma uma série de reações complexas sob altas temperaturas, pode ocorrer sob condições mais baixas de temperaturas, embora com tempos maiores. Mais compostos de decomposição térmica da sacarose foram observados a $120^{\circ}C$ do que nas amostras submetidas a temperaturas maiores de $208,4^{\circ}C$. Sendo assim, os autores concluíram que a caramelização é um processo que pode ser controlado via seleção apropriada de aquecimento e combinação de tempo e temperatura.

3.5.2 Solubilidade da sacarose

A elevada solubilidade dos açúcares que são mais frequentemente adicionados ou encontrados em alimentos, constitui-se em propriedade importante pelos seus efeitos texturais e preservativos, pois, graças à capacidade da molécula dos açúcares de ligar moléculas de água, o teor desta pode ser elevado alterando-se a textura, sem um aumento da atividade de água. A capacidade de ligar água por pontes de hidrogênio pode se tornar um problema, no caso de alguns açúcares muito higroscópicos, podendo afetar a estrutura do alimento pela absorção de água da atmosfera (BOBBIO, 1992). A sacarose é solúvel em água e pouco solúvel em etanol (MERCK,1999).

A Tabela 3 (Bobbio, 1992) mostra a solubilidade de açúcares em água, demonstrando que a sacarose, usada como agente encapsulante em produtos co-cristalizados, possui grande solubilidade, em comparação com outros açúcares.

TABELA 3 – SOLUBILIDADE DE AÇÚCARES EM ÁGUA

Açúcar	g/100 H₂O
Sacarose	204 (20°C)
Frutose	375
Glicose.H ₂ O	107
Maltose	83
Lactose	20

FONTE: Bobbio, 1992.

A Tabela 4 (Bubnik *et al.*,1995), indica a solubilidade da sacarose em diferentes temperaturas.

TABELA 4 – SOLUBILIDADE DA SACAROSE EM DIFERENTES TEMPERATURAS

TEMPERATURA (°C)	Concentração de Saturação	
	C (g/g água)	C (g/100g solução)
-10	1,7578	63,74
-5	1,7837	64,08
0	1,8127	64,45
5	1,8489	64,9
10	1,8926	65,43
15	1,9443	66,04
20	2,0047	66,72
25	2,0741	67,47
30	2,1535	68,29
35	2,2435	69,17
40	2,345	70,1
45	2,4589	71,09
50	2,5863	72,12
55	2,7282	73,18
60	2,8857	74,26
65	3,0598	75,37
70	3,2515	76,48
75	3,4616	77,59
80	3,6901	78,68
85	3,9368	79,74
90	4,2003	80,77
95	4,4775	81,74
100	4,7637	82,65
105	5,218	83,9
110	5,618	84,9
115	6,09	85,9
120	6,653	86,9
125	7,36	88
130	8,181	89,1
135	9,25	90,2
140	10,645	91,4
145	12,541	92,6

FONTE: Adaptado de Bubnik *et al.*, 1995.

A Figura 4, representa os dados da Tabela 4.

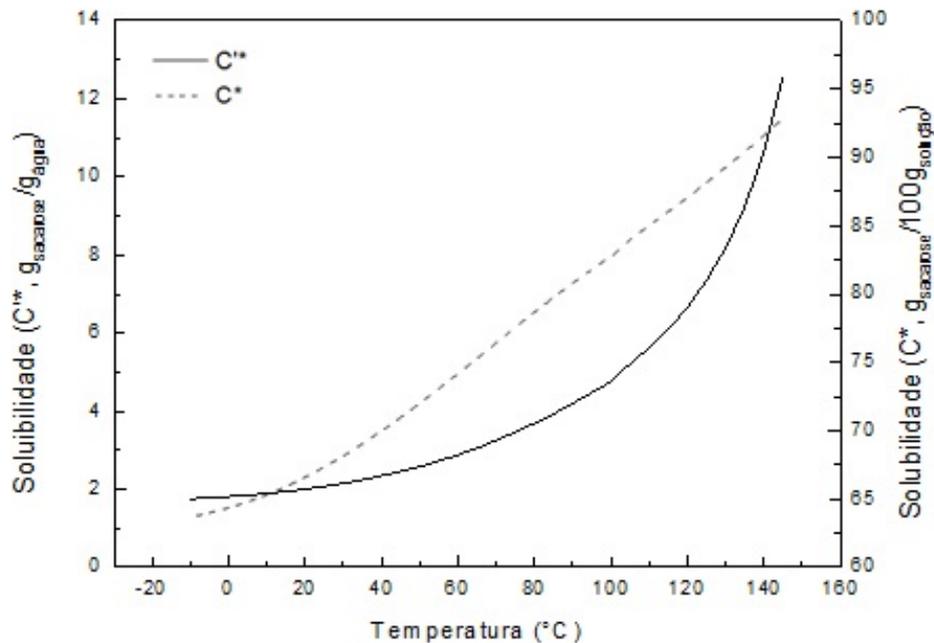


FIGURA 4 – GRÁFICO DA SOLUBILIDADE DA SACAROSE, CONFORME TABELA 3
 FONTE: Adaptado de Bubnik *et al.*, 1995

Segundo Ordóñez *et al.* (2005), a capacidade de adsorção de água, chamada higroscopicidade, é uma das propriedades físico-químicas mais importantes dos carboidratos e depende, entre outros fatores, de sua estrutura, da mistura de isômeros e de sua pureza. Isso porque a higroscopicidade está relacionada diretamente com a presença de grupos hidroxila, que são capazes de ligar água mediante o estabelecimento de pontes de hidrogênio.

Já os açúcares impuros e os xaropes absorvem mais água em velocidade maior do que os açúcares puros, uma vez que as impurezas dificultam o estabelecimento de reações entre os açúcares e deixam livres os grupos hidroxila que podem unir-se com facilidade às moléculas de água. Essa propriedade dos carboidratos pode ser favorável em alguns casos e desfavorável em outros. É favorável quando contribui para a manutenção da umidade de alguns alimentos e é desfavorável, no caso dos produtos granulados em pó (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

3.6 ETAPAS DA CRISTALIZAÇÃO DA SACAROSE

Para Ordóñez *et al.* (2005), uma das principais características dos açúcares é sua capacidade de formar cristais. Em geral, obtém-se a cristalização resfriando soluções saturadas de açúcares, o que provoca a imobilização e a reorganização das moléculas, formando-se um cristal.

Cristalização é um processo de separação sólido-líquido, onde moléculas são transferidas de um soluto dissolvido em uma fase líquida para uma fase sólida através de duas etapas: nucleação e crescimento dos cristais. Na cristalização da sacarose pura, a formação de um núcleo secundário é indesejável, porque aumenta o tamanho dos cristais (OUIAZZANE *et al.*, 2008a). Ainda os autores complementam que a cristalização é governada pela nucleação e taxa de crescimento dos cristais, processos cruciais para diferentes indústrias (OUIAZZANE *et al.*, 2008b). Para Brito, 2007, a cristalização é um processo de transferência de massa e calor simultâneos, com uma forte dependência na mecânica do fluido e da partícula.

Segundo Ordóñez *et al.* (2005), a forma dos cristais também depende das condições de crescimento. Quando o crescimento dos cristais é muito rápido, sua forma costuma ser grande, porque as diversas faces têm diferentes velocidades de crescimento. As impurezas também podem modificar a forma de cristalização de um composto.

Os fatores que mais influem no crescimento dos cristais são: o grau de saturação da solução original, temperatura, a natureza da superfície do cristal e natureza e a concentração das impurezas presentes na solução, que podem ser adsorvidas à superfície do cristal, reduzindo assim sua velocidade de crescimento. O tempo de cristalização também influi bastante no tamanho dos cristais, pois quanto mais lento é o resfriamento, maior é o tamanho destes (ÓRDÓÑEZ *et al.*, 2005).

Todavia, sabe-se também que a cristalização da sacarose pode ser impedida por constituintes presentes no alimento, incluindo outros açúcares, proteínas, amidos ou lipídios (BAMBERG, SEGAL e LEE, 1980; SHASTRY e HARTEL, 1996; GABARRA e HARTEL *et al.*, 1998; HARTEL, 2001). Inclusive, em

alguns tipos de alimentos, como por exemplo cereais, chocolates, glaceados, entre outros, onde a cristalização é indesejada em função da textura final no produto.

Polaina e MacCabe (2007) afirma que a solubilidade da frutose é bastante alta quando comparada com outros açúcares e por esse motivo, a frutose pode ser usada como um inibidor na cristalização da sacarose.

A inibição da cristalização da sacarose pode originar-se da influência da transferência de massa, onde a difusividade da sacarose é diminuída na presença de outros componentes, ou de efeitos de adsorção específicos, onde a impureza da molécula interage com a superfície do cristal de sacarose e impede uma nova deposição molecular (BHANDARI e HARTEL, 2002).

Slade e Levine (1991) e Hartel (1993) definem que o mecanismo de cristalização ocorre em 3 etapas: (1) nucleação (formação de núcleo homogêneo ou heterogêneo), (2) propagação (crescimento de cristais de um núcleo por uma associação intermolecular e (3) maturação (cristal perfeito por um anelamento metaestável de microcristais e/ou crescimento lento contínuo). Hartel (2001) ainda complementa que além dessas três etapas, há a recristalização.

3.6.1 Saturação

Saturação é a força motriz para cristalização e frequentemente é criada pela evaporação, resfriamento e adição de não-solventes à soluções de composição estequiométrica. O processos de co-cristalização visam obter múltiplos componentes de cristais de uma solução de componentes solúveis enquanto evita a cristalização de componentes isolados (MORISSETTE *et al.*, 2004)

Em soluções contendo açúcar, o termo saturação pode ser usado para referir-se a uma solução que contenha mais moléculas de açúcar do que termodinamicamente é permitido. A supersaturação pode ser criada em uma solução de três formas distintas: a) resfriamento de uma solução não-saturada até um ponto onde a concentração da solução exceda a concentração de solubilidade naquela

temperatura, b) evaporação do solvente, c) adição de um segundo solvente no qual o soluto é insolúvel (ASTOLFI-FILHO, 2003).

A formação de uma solução saturada de açúcar pode ser alcançada por vários métodos como mostrado na Figura 5 abaixo.

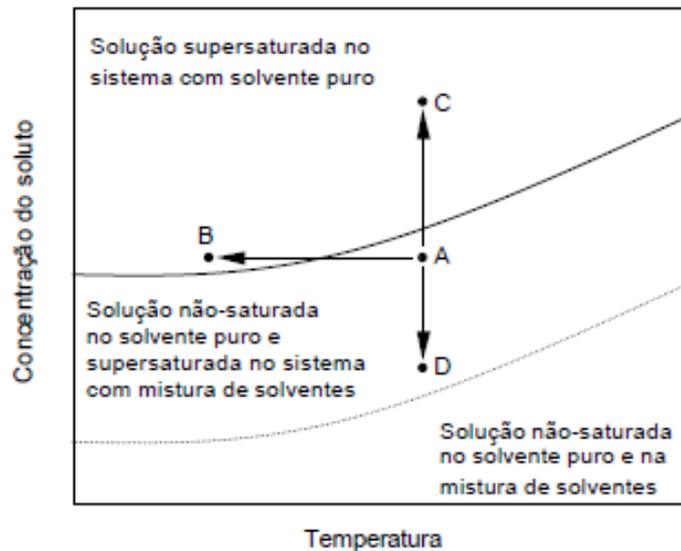


FIG. 5 – SATURAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE AÇÚCAR POR EVAPORAÇÃO, RESFRIAMENTO E ADIÇÃO DE SOLVENTE

FONTE: Adaptado de Mchem, 2008.

Na figura 5, a linha A-B representa os efeitos do resfriamento de uma solução abaixo do ponto de saturação, onde o resfriamento resulta numa quantidade total de açúcar que pode causar a diminuição da solubilidade, uma vez que a solubilidade do açúcar depende da temperatura. Como a temperatura cai, a concentração de açúcar aumenta e então, direciona a concentração a um maior grau de saturação. Removendo a água da solução, como representado na linha A-C, haverá uma aumento da concentração de açúcar. Adicionando-se um segundo solvente, no qual o açúcar é insolúvel, a solução causa uma mistura que tem baixa solubilidade para o açúcar; isso está representado pela linha A-D. Como todos os açúcares tem variação de solubilidade em água e outros solventes, as condições necessárias para a formação de soluções saturadas para cada açúcar, serão diferentes.

O equilíbrio é removido e existe uma força motriz que direciona para a transição de fase (Mchem, 2008). Para uma solução supersaturada, o valor de $\Delta\mu$

(diferença de potencial químico) para a cristalização de uma solução supersaturada é definida na equação 3 (MARKOV, 2003):

$$\Delta\mu = kT \frac{\ln C}{C_0} \quad (\text{Equação 1})$$

Saturação é a força motriz para cristalização de um soluto em produto alimentícios, contendo uma variedade de constituintes, assim como proteínas, carboidratos, sal e goma. A saturação é tipicamente expressa por (HARTEL, 1993):

$$S = \frac{C}{C_s} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde C é a concentração de açúcar na solução e Cs é a concentração de açúcar na solução saturada na mesma temperatura. O valor de S tem um efeito inerente na cristalização de açúcares sólidos de uma solução supersaturada. Dependendo do açúcar, os valores de S determinarão se, a uma dada temperatura, a solução cristalizar-se-á a partir da adição de uma semente de cristal, espontaneamente ou não. Os valores de S nos quais isso ocorre pode ser ilustrado no diagrama de solubilidade (Figura 6).

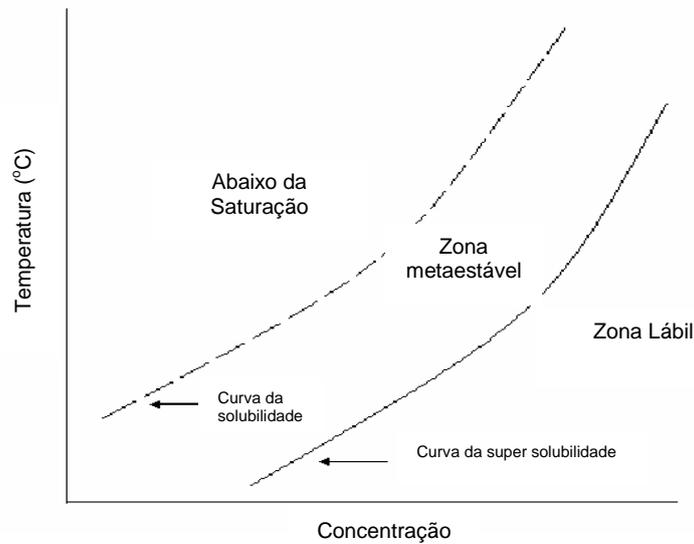


FIG. 6 – DIAGRAMA SIMPLIFICADO DA SOLUBILIDADE PARA UMA SOLUÇÃO DE SACAROSE
 FONTE: Adaptado de Mchem, 2008.

No diagrama acima, a área indicada como “abaixo da saturação” representa as condições da solução sob as quais nenhuma nucleação ou crescimento de cristais ocorre. Soluções residentes na zona lábil sofrerão cristalização espontânea, enquanto soluções representadas pela zona metaestável são estáveis a nucleação e subsequente cristalização (HARTEL, 2001).

Para uma solução metaestável sofrer uma cristalização, a força motriz presente na solução supersaturada precisa ser suficiente para superar a barreira de energia definindo a condição metaestável. O alcance deste critério alivia a condição metaestável. O sistema então passa de um estado de energia mais baixo, e um estado mais termodinamicamente estável é produzido (MCHEM, 2008).

Astolfi-Filho (2003) ressalta que mesmo em concentrações superiores às de saturação, os cristais podem não aparecer imediatamente. O sólido pode continuar dissolvido, em uma situação de equilíbrio metaestável, e diz-se que a solução é supersaturada. Os cristais só se formam de modo espontâneo acima do coeficiente de supersaturação, onde inicia-se a zona lábil.

3.6.2 Nucleação e crescimento dos cristais

Uma vez que a solução torna-se supersaturada, há uma força termodinâmica que tende para a cristalização (HARTEL, 2001; LAOS, 2007).

A nucleação é uma etapa que inicia o processo de cristalização do açúcar, envolvendo o surgimento de cristais a partir de uma solução supersaturada. De acordo com Nývlt (1985), a nucleação é um estado obrigatório para todas as operações de cristalização e pode ser atingida por vários métodos, como resfriamento, aquecimento ou evaporação do solvente.

A nucleação pode ser entendida como um processo que estabelece o tamanho do produto cristalino e também faz uma função importante que é estabelecer propriedades físicas de pureza do cristal (NÝVLT, 1985).

O mecanismo de nucleação pode ser classificado em nucleação primária homogênea ou heterogênea, ou nucleação secundária, originada por cristais, por camada intermediária ou por contato. Se a solução é pura, a nucleação é homogênea; caso haja a adição de sementes, a nucleação é denominada secundária (ASTOLFI-FILHO, 2003).

A nucleação homogênea ocorre apenas em elevadas supersaturações e em soluções muito puras. Nesse processo, minúsculos grupos de moléculas (*clusters*) crescem até atingir um tamanho crítico, onde as forças atrativas prevalecem sobre a ação de partículas presentes na solução circundante. A partir desse tamanho, o núcleo permanece estável e o cristal continua a crescer (NÝVLT, HOSTOMSKY e GUILLETTI, 2001).

A nucleação secundária ocorre em cristalizadores industriais, onde há o processo vigoroso de agitação da solução. O atrito entre as partículas de cristais, e estes com o equipamento, resulta na formação de núcleos estáveis (HARTEL, 1992).

Durante a nucleação, as moléculas no estado líquido se rearranjam e eventualmente formam um agregado estável que organiza-se na estrutura cristalina. O arranjo das moléculas nas estruturas envolve a liberação de calor latente quando

uma mudança de fase ocorre. A nucleação também depende da formulação (tipos e concentração de promotores ou inibidores de nucleação) e das condições de processamento (transferência de calor e massa). O núcleo formado pode crescer de tamanho baseado na disponibilidade da supersaturação em solução. O crescimento continua até que toda a supersaturação disponível tenha sido esgotada em sistemas próximos ao equilíbrio, o que depende da temperatura e condições do sistema (LAOS et al., 2007).

Uma vez alcançada a condição metaestável na solução supersaturada, a passagem para um estado mais baixo de energia pode ser previsto, como o crescimento final do cristal. O crescimento dos cristais caracteriza-se pelo aumento de tamanho dos mesmos, podendo ocorrer por adição molecular ou agregação com outro núcleo (ASTOLFI-FILHO, 2003).

Quando o equilíbrio de volume de fase é atingido, mudanças ainda podem ocorrer na estrutura cristalina durante a um longo tempo de estocagem. Essa aproximação para uma maior equilíbrio global é chamado de recristalização (LAOS et al., 2007).

3.7 ESTUDOS SOBRE A CO-CRISTALIZAÇÃO DA SACAROSE

O processo de co-cristalização da mistura de sacarose com dextrose foi patenteado em 1978, onde previa-se a co-cristalização da sacarose sobre a superfície de cereais matinais, sobre produtos do tipo *corn-fakes* (EDWARDS e HILLDALE, 1978).

Co-cristalização é um processo de encapsulação na qual a estrutura cristalina da sacarose é modificada de um cristal perfeito para um cristal aglomerado irregular, para fornecer uma matriz porosa em que um segundo ingrediente ativo possa ser incorporado (CHEN, VEIGA e RIZZUTO, 1988).

A co-cristalização ou co-precipitação envolvem cristalização espontânea ou precipitação, no qual o aroma (ou outras substâncias ativas) podem ser englobadas (ZUIDAN e NEDOVIC, 2010).

Esse processo produz co-cristalizados agregados os quais são compostos por microcristais (de 3 a 30 microns) de sacarose com a maioria dos materiais adicionados contidos nos interstícios entre os microcristais. Devido a estrutura e morfologia do co-cristalizado agregado, o produto obtido tem propriedades e funções superiores, que incluem: dispersibilidade, solubilidade e homogeneidade. O conteúdo de umidade (menor que 1%) e a natureza do grânulo permite que os produtos tenham maior capacidade de escorrimento, melhorando o manuseio e eficiência de produção. Este processo de co-cristalização oferece a oportunidade de desenvolvimento de produtos de nova geração contendo sacarose, para ser desenvolvida com propriedades e funções específicas, conforme a necessidade da indústria de alimento (AWAD e CHEN, 1993).

Uma solução saturada de xarope de sacarose é aquecida acima de 120°C e baixa umidade (95-97° Brix), pode espontaneamente formar cristais quando resfriada. A substância ativa pode ser adicionada no momento da cristalização, e então ser encapsulada (MADENE *et al.*, 2006). Se um segundo ingrediente for adicionado ao mesmo tempo, a cristalização espontânea se dá na incorporação desse segundo ingrediente entre os espaços vazios do aglomerado de micro cristais de sacarose, com um tamanho menor que 30 µm (BHANDARI *et al.*, 1998).

Conforme Beristain *et al.* (1996), a principal vantagem da co-cristalização é aumentar a solubilidade, homogeneidade, dispersibilidade, hidratação e fluidez do encapsulado.

King (1995) e Awad e Chen (1993), ressaltam que, durante a co-cristalização, a solução de sacarose é concentrada até o estado de supersaturação e mantida em temperatura elevada para evitar a cristalização. Uma quantidade pré-determinada de material ativo é então adicionada à solução concentrada de sacarose sob vigorosa agitação mecânica, promovendo a nucleação da mistura sacarose – material ativo. O aquecimento é interrompido e a mistura atinge a temperatura na qual se inicia a cristalização, sendo liberada uma quantidade substancial de calor devido à transição de fase, o que por sua vez contribui para a

secagem do material. A agitação é continuada para promover a cristalização até a formação do produto aglomerado. Ainda os autores ressaltam que pode haver secagem do co-cristalizado (se necessário) e peneiramento para uniformizar a granulometria. Os materiais ativos encapsulados são incorporados nos interstícios entre os cristais.

Chen, Veiga e Rizzuto (1988) citaram alguns produtos que podem ser encapsulados por co-cristalização com sacarose, tais como: sucos de frutas, óleos essenciais, chocolate, manteiga de amendoim e outros.

Beristain *et al.* (1994) co-cristalizaram extrato de flores de jamaica com sacarose (*Hibiscus sabdar fa* L.), o que resultou em um produto de boa dispersibilidade, solubilidade, homogeneidade e fluidez, além da retenção de todo o aroma, sabor e cor característicos do extrato vegetal. Os autores relataram que a higroscopicidade do aglomerado aumentou quando o pH foi reduzido de 4,3 para 3,9.

Ainda em outra pesquisa, Beristain *et al.* (1996) encapsularam óleo de casca de laranja por co-cristalização e conduziram testes de armazenagem do produto resultante. Houve a necessidade de se adicionar um antioxidante devido à presença de óleo não encapsulado, resultante do excesso de material ativo em relação ao agente encapsulante.

Rosalen, Pearson, Bowen (1996) estudaram os efeitos das combinações de ferro, cobre e fluor co-cristalizados por sacarose sobre o desenvolvimento de cáries em ratos e obtiveram resultados positivos na redução do potencial cariogênico do material.

Shastri e Hartel (1996) estudaram a cristalização da sacarose, a partir uma solução supersaturada de sacarose, durante a secagem de filmes finos. A cinética da cristalização foi estudada, de maneira a entender a influência da velocidade e temperatura do ar de secagem.

Bhandari *et al.* (1998) promoveram o estudo do processo de co-cristalização de mel com sacarose e obtiveram bons resultados quando a proporção de sacarose: mel foi superior a 85:15, sendo o produto resultante comparável ao mel original em termos de sabor e aroma.

Vásquez e Beristain (1998) co-cristalizaram um concentrado de pepino (*Cucumis sativa L.*) por sacarose, nas proporções de 20, 25 e 35°Brix, e realizaram as análises de umidade, densidade aparente, higroscopicidade, solubilidade, pH e avaliação sensorial do produto co-cristalizado.

Bhandari e Hartel (2002) estudaram a influência da glicose e da frutose na cristalização da sacarose. A mistura de ambas na solução de sacarose foi de 0, 5, 10, 15 e 20%, e concluíram que a cristalização foi retardada na presença desses açúcares de baixo peso molecular. Os pesquisadores avaliaram o efeito da cristalização após um mês de estocagem, através das análises de DSC e difração de raio-X.

Astolfi-Filho *et al.* (2005) estudaram o efeito das propriedades físicas (umidade, densidade aparente, ângulo de repouso e solubilidade) e a cinética de cristalização da sacarose, como agente encapsulante para suco de maracujá.

Deladino *et al.* (2007) reportaram a encapsulação de extrato de erva mate (*I. Paraguariensis*) e sais minerais em solução supersaturada de sacarose. O produto co-cristalizado teve um comportamento típico de uma estrutura aglomerada com espaços vazios e cristais de sacarose com tamanho variando de 2 a 30µm.

A microestrutura também foi confirmada pela análise em DSC, difração de raio-X e microscopia eletrônica (DELADINO *et al.*, 2009). A co-cristalização da erva mate mudou de um material coesivo para um produto não coesivo, onde a higroscopicidade foi notadamente reduzida, sem afetar a alta solubilidade; dessa forma, foi demonstrado que a co-cristalização é uma boa alternativa para a preservação e manuseio do extrato de erva mate para aplicação em produtos alimentícios.

Mchem (2008) estudou a co-cristalização de açúcares como a sacarose e lactose com mono e dissacarídeos e realizou a caracterização dos materiais co-cristalizados pelas análises de DSC e difração de Raio-X. O pesquisador ainda afirma que açúcares co-cristalinos também tem apresentado propriedades superiores, como: solubilidade, compressibilidade e fluidez, quando comparados com açúcares não co-cristalinos.

Barbosa *et al.* (2009) realizaram a co-cristalização da sacarose em suco de açaí e obtiveram a caracterização do material cristalino formado, através da difração de raio-X.

3.8 CARATERIZAÇÃO DE PRODUTOS CO-CRISTALIZADOS

Informações sobre a estrutura cristalina dos materiais encapsulados pode ser caracterizado por DSC, difração de Raio-x (XRD) ou até mesmo a ressonância nuclear magnética (NMR). Além da temperatura de transição vítrea, o DSC também pode ser usado para caracterizar as temperaturas de fusão. Do conhecimento de ambos, a temperatura de transição vítrea e as propriedades de fusão dos cristais, a informação sobre o grau de cristalinidade pode ser obtido. A difração de Raio-X depende da medição do padrão de difração gerado quando um material encapsulado é irradiado com um feixe de raio-x monocromático e uma rede de átomos do material age como uma grade de difração tridimensional, causando um feixe de raio-x difratado em ângulos específicos. Os ângulos e intensidades dos feixes difratados podem ser usados para inferir sobre o grau de cristalinidade (ZUIDAM e NEDOVIC, 2010).

As micropartículas co-cristalizadas, a amora-preta liofilizada e o xarope re-cristalizado sem adição de polpa foram analisados quanto à morfologia através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial) e Difração de raio-x.

3.8.1 MEV – Microscopia eletrônica de varredura

Os materiais microencapsulados podem ser caracterizados por sua morfologia, perfil de difração de Raio-X e análises térmicas.

A microestrutura dos materiais cristalinos é constituída de defeitos, tais como vazios, trincas, contornos de grãos, falhas de empilhamento, defeitos puntiformes e de constituintes microestruturais, tais como fases e inclusões. O conhecimento da estrutura, morfologia, assim como a natureza, densidade e distribuição dos defeitos são de extrema valia para o entendimento, e às vezes, até para a previsão das propriedades dos materiais (PADILHA e AMBROZIO FILHO, 2004).

O tamanho da partícula é uma característica importante em vários aspectos para os alimentos em pó, como por exemplo, no processamento, manipulação e na determinação de sua vida de prateleira. Dependendo do produto, o tamanho das partículas pode influenciar atributos sensoriais de sabor, cor, textura e aroma do produto final. Para o consumidor essas características interferem na preferência e/ou aceitabilidade de um determinado produto, tornando-o viável ou não do ponto de vista econômico. O tamanho das partículas também influencia o escoamento dos pós, sua capacidade de reidratação, solubilidade e dispersibilidade, bem como a mistura de componentes e a compactação, na qual as partículas menores permanecem distribuídas na parte inferior e as partículas maiores, na parte superior do produto em pó (MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991; O'HAGAN *et al.*, 2005).

A microscopia eletrônica de varredura – MEV, é uma técnica bastante usada para analisar a morfologia dos produtos encapsulados. Castro (2002) afirma que o microscópio eletrônico de varredura é o mais versátil instrumento para avaliação, exame e análise das características microestruturais de amostras biológicas e não-biológicas.

Pela técnica do MEV, os elétrons são acelerados numa coluna e atingem a superfície da amostra. O feixe de elétrons produzido pelo filamento de tungstênio, é emitido da fonte e acelerado por uma tensão de -0,5 a -30Kv, o que forma um pequeno feixe de cruzamento (crossover). O feixe passa por lentes condensadores e pela lente objetiva. A formação de imagens do MEV depende da aquisição de sinais

produzidos pela interação entre o feixe de elétrons e a amostra. Na microscopia eletrônica de varredura, os sinais de maior interesse para formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. À medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra, estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem uma imagem de topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução (HAWKES e SPENCE, 2007; SILVA et al., 2010).

As amostras que não são metálicas precisam ser “metalizadas” para se tornarem boas condutoras do elétrons e assim, transmitir o espalhamento de elétrons do feixe.

Deladino *et al.* (2009) usaram a técnica para confirmar a formação do aglomerado de cristais de sacarose sobre a matriz de minerais e erva-mate. Na Fig. 7, os autores apresentam as micrografias do xarope recristalizado, sem adição de matriz (a) e uma amostra de erva-matte co-cristalizada com sacarose (b). Em ambas as micrografias, percebe-se a formação do aglomerado de sacarose, cujos cristais (a) e co-cristais (b) podem ser observados com uma variação no tamanho entre 5 a 30 μ m.

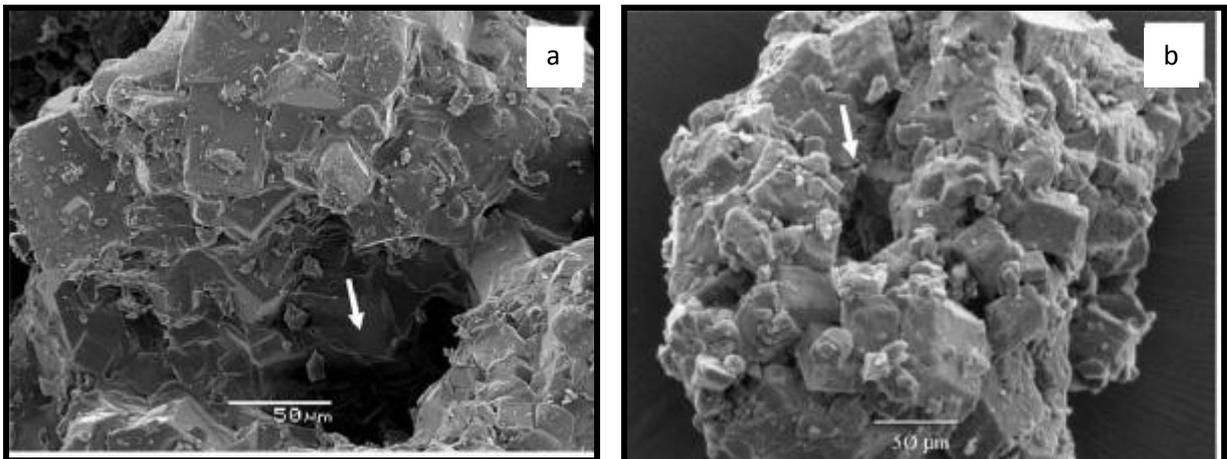


FIGURA 7 – A) MICROGRAFIA DE UMA AMOSTRA DE XAROPE DE SACAROSE RECRISTALIZADO; B) MICROGRAFIA DE UMA AMOSTRA ERVA-MATTE CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE

Fonte: Adaptado de Deladino et al., 2009.

3.8.2 DSC – Calorimetria exploratória diferencial

O DSC é um equipamento que permite avaliar as variações de entalpia que ocorrem com uma substância e um material de referência, em função da temperatura, enquanto há uma programação controlada de temperatura. A técnica pode ser usada para acompanhar os efeitos do calor associados às alterações físicas ou químicas da amostra, tais como transições de fase (fusão, vaporização, sublimação, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de óxido-redução, capazes de causar variações de calor (IONASHIRO, 2005).

O DSC é a técnica mais comum para determinar a transição de fases em materiais orgânicos, inorgânicos e poliméricos, assim como para alimentos (DELADINO *et al.*, 2009).

O DSC é uma medida de absorção ou perda de calor de uma amostra em função da temperatura. Pontos de fusão e transição de fases podem ser determinados, tal qual a transição vítrea dos compostos. Esses dados provêm informações sobre a identidade, qualidade, pureza e estabilidade de uma série de materiais. Essa técnica também pode ser usada para a caracterização de compostos (MCHEM, 2008).

A forma dos picos dependem fortemente das condições de teste e dos parâmetros, como a razão de aquecimento e a massa da amostra (HURTTA, PITKÄNEN e KNUUTINEN, 2004). A Fig. 8 apresenta uma ilustração de curvas típicas da análise de DSC, onde os picos para baixo ou para cima indicam as variações de energia nas mudanças de fase dos materiais.

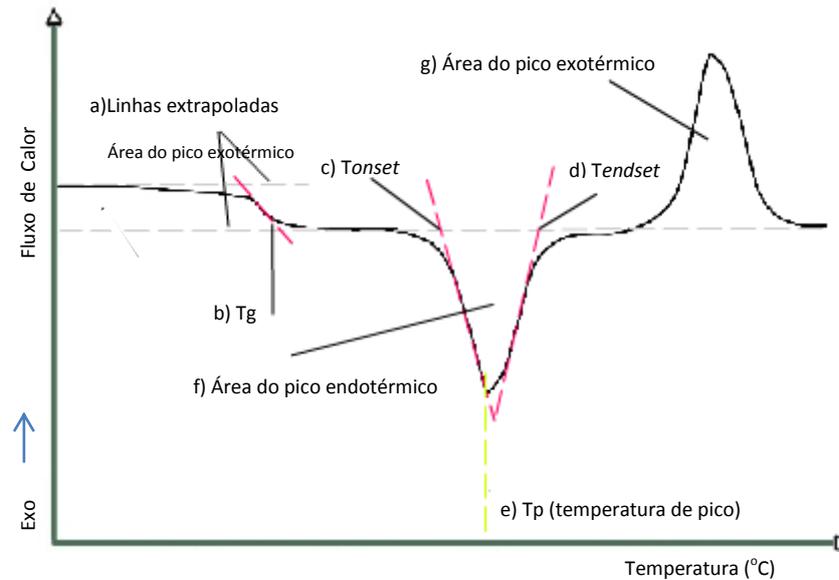


FIGURA 8 – ILUSTRAÇÃO DE CURVAS TÍPICAS DE DSC, INDICANDO A VARIAÇÃO DA ENTALPIA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA
 FONTE: Adaptado de Cabreira e Santana, 2009.

A Figura 8 ilustra curvas típicas de DSC. A linha de base está indicada na letra a); b) representa a T_g (temperatura de transição vítrea); c) representa a T_{onset} que indica o início do evento térmico; d) representa a T_{endset} que indica o término do evento endotérmico; e) representa a temperatura de pico (T_p); a área formada entre a T_{onset} e a T_{endset} é a área do pico endotérmico, indicada pela letra f); g) representa a área do pico exotérmico, que é expressa em ΔH (variação da entalpia).

Existem dois tipos de equipamentos de DSC: com fluxo de calor e DSC com compensador de potência. No DSC com fluxo de calor, o cadinho com a amostra e o cadinho vazio da referência são colocados sobre a uma única fonte de calor. O calor é transferido da chapa para a amostra e a diferença do fluxo de calor é controlado por termopares acoplados embaixo do cadinho.

Zeng *et al.* (2001) caracterizaram a presença de estruturas amorfas nas amostras co-liofilizadas por sacarose com polyvinylpyrrolidone através do DSC. A transição vítrea é evidenciada pela mudança no calor específico, do qual é seguido pela cristalização exotérmica que ocorre a uma temperatura elevada. Deladino *et al.* (2009) caracterizaram as microestruturas de minerais e erva-mate co-cristalizadas por sacarose, pelo método de DSC.

Conforme os autores Hurttta, Pitkänen e Knuutinen (2004), as variações das razões de aquecimento podem influenciar a característica das curvas de DSC. Picos endotérmicos e exotérmicos podem estar associados com caramelização e decomposição de açúcares, respectivamente, bem como afetar os valores de temperatura onset (T_{onset}) e variação entálpica, particularmente a baixas razões de aquecimento. Os mesmos autores apresentaram uma revisão da literatura (conforme Tabela 5), comparando os diversos valores para as temperaturas de fusão das moléculas de D-sacarose, D-glicose e D-frutose, através das análises de DSC. Os autores também ressaltaram que pontos de fusão podem ser usados para caracterizar e identificar os materiais.

TABELA 5 - VALORES DA LITERATURA PARA AS TEMPERATURAS DE FUSÃO PARA D-SACAROSE, D-FRUTOSE E D-GLICOSE

Referências	Temperaturas de fusão (°C)		
	D-Sacarose	D-glicose	D-frutose
Shallenberg e Birche, 1975	160-186	146 (α) e 148-150 (β)	102-104
Roos, 1993	(173) 190	(143) 158	(108) 127
Raemy e Schweizer, 1983	(160) 185	(135) 150	(80) 115
Slade e Levine, 1988	192	158	124
Ramos-Sanchez et al., 1988	180	156	
Wungtanagorn e Schmidt, 2001		(158) 164	(114) 132
Fan et al., 1975			105
Saleki-Gerhardy e Zografi, 1994	188		
Órsi, 1973		165	120
Gloria e Sievert, 2001	188		
Vanhal e Blond, 1999	190		
Lide, 1994	185-186	146 (α) e 150 (β)	103-105

FONTE: Adaptado de Hurtta, Pitkänen e Knuutinen, 2004

Hurtta *et al.* (2004) também propuseram que os parâmetros de temperatura de fusão desses açúcares poderiam ser influenciados pelos equipamentos de medição. Os autores também mediram as temperaturas de fusão por equipamento de DSC e por aparelho convencional de ponto de fusão, cuja medida se dá através do registro da temperatura quando há constatação visual da fusão do material.

Lee *et al.* (2011) ressaltam que a fusão termodinâmica de um material cristalino ocorre a uma única temperatura independente da taxa de aquecimento, sem mudança na composição química. Todavia, um grande número de pesquisadores tem relatado uma grande variação nos parâmetros de fusão (temperatura onset (T_{onset}), temperatura de pico (T_p) e variação de entalpia (ΔH))

para sacarose, frutose e glicose através do DSC. Os autores também complementam que a temperatura na qual a sacarose de decompõe pode estar relacionada à presença de umidade, sais e açúcares redutores (ex.: frutose e glicose), e ácidos orgânicos na sacarose.

3.8.3 Difração de Raio-X

A difração de Raio-X corresponde a uma das principais técnicas que podem ser usadas para caracterizar compostos cristalinos, sejam eles inorgânicos ou orgânicos.

A técnica da difração de Raios-X está baseada na difração de radiação eletromagnética de comprimentos de onda na ordem de 10^{-10} a 10^{-12} m, por materiais cristalinos ou policristalinos. Medidas com essa técnica permitem determinar parâmetros estruturais dos sólidos e a distância entre os planos cristalinos (CULLITY, 1978).

A caracterização da estrutura de materiais por meio da técnica de Difração de Raios-X tem sido usada para caracterizar materiais na forma de pós, filmes finos e amostras espessas. Não apenas para a determinação da cristalinidade e de análise estrutural, a Difração de Raios-X pode ser também empregada para estudar a estrutura de agregados policristalinos, determinação do diagrama de fase de ligas metálicas ou ligas metal-metal, obtenção do parâmetro de rede indiretamente por meio da distância interplanar, estimar o tamanho de grão e espessura de filmes, análise quantitativa de fases (CULLITY, 1978).

Basicamente, o equipamento de difração de raio-X, contém: a) uma fonte de Raios-X (ampola com alvo de Cu (cobre)), b) um goniômetro na configuração θ - 2θ , c) sistema de detecção do feixe difratado (registrando a intensidade e o ângulo), d) um software para coleta e tratamento dos dados.

Em termos práticos, a amostra a ser analisada na difração de raios-X é pulverizada (ou moída) em um grau de ágata, de modo a obter grãos de dimensões

da ordem de $5\mu\text{m}$. Este material em forma de pó é colocado no porta amostra, tipicamente com volume de $1 \times 10 \times 10 \text{ mm}^3$.

De acordo com Cullity (1978), a difração corresponde à interferência entre feixes de difração espalhada por plano de átomos paralelos, conforme a representação da figura 9, para raios incidentes r_1 e r_2 . A Lei de Bragg é a base para determinar as distâncias interplanares d da amostra cristalina, λ corresponde ao comprimento de onda da radiação de Raios-X incidentes e n é a ordem da difração. Para que haja reforço na intensidade, é necessário que a variação do caminho óptico dos feixes 1 e 2 seja um número de comprimento de ondas.

$$2d \sin \theta = n\lambda, \text{ (Equação 3)}$$

A medida da difração de raio-x se dá por meio da varredura angular do feixe difratado. Um detector recebe o feixe difratado e registra num difratograma de intensidade x ângulo 2θ . A forma das curvas obtidas, a medida dos perfis, isto é, a intensidade e os ângulos correspondentes, permitem determinar parâmetros estruturais do material cristalino.

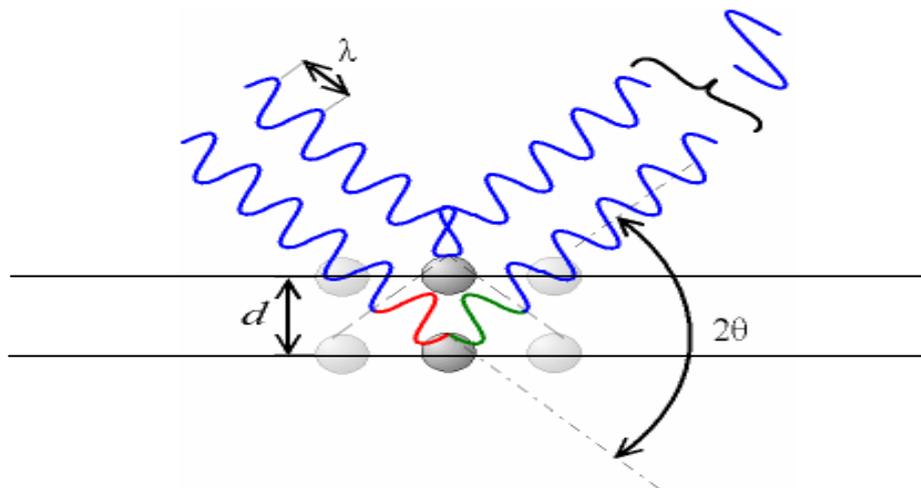


FIGURA 9 – REPRESENTAÇÃO DA DIFRAÇÃO DE RAIOS-X POR DOIS PLANOS PARALELOS DE ÁTOMOS SEPARADOS POR UMA DISTANCIA d .
FONTE: Adaptado de Santos, 2006.

As Figura 10 mostra perfis típicos de difratogramas de materiais cristalinos (a) e amorfos (b). É muito comum ter-se uma superposição destes perfis, quando a amostra analisadas apresenta ambas as fases.

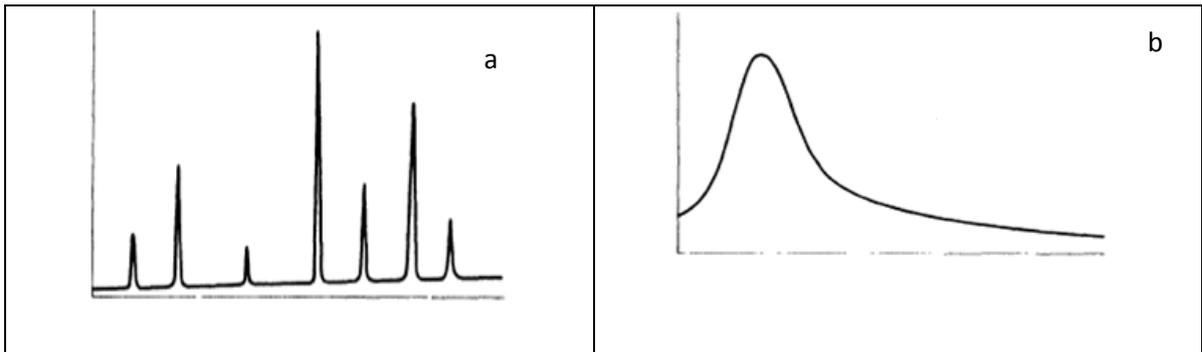


FIGURA 10 – ILUSTRAÇÃO DE DIFRATOGRAMAS: A) DIFRATOGRAMA TÍPICO DE ESTRUTURA CRISTALINA; B) DIFRATOGRAMA TÍPICO DE PRODUTO AMORFO OU LÍQUIDO.

Hurttta, Pitkänen e Knuutinen (2004) confirmaram as estruturas de D-sacarose, D-glicose e D-frutose através da análise de difração de raio-x.

Deladino et al. (2010) confirmaram que a mistura de sais e erva-matte co-cristalizadas por sacarose apresentaram uma estrutura cristalina, através da técnica de difração de raio-X.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A polpa de amora-preta utilizada nos experimentos, foi preparada a partir da extração da fruta integral, sem adição de água. A fruta integral, que provém da região do Rio do Grande do Sul (safra 2011), foi adquirida congelada, comercializada em embalagens de 1Kg, mercado municipal de Curitiba-PR.

A sacarose é do tipo comercial (açúcar cristal) e possui 99,3% de pureza. Os xaropes foram preparados a partir da mistura de sacarose com água destilada.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Extração da polpa de amora-preta

A amora-preta foi descongelada por 2 horas em temperatura ambiente, antes de ser utilizada. Após o descongelamento, a fruta foi previamente lavada em água corrente para a retirada de impurezas. Em seguida, foi colocada em um extrator caseiro (Breville) para a extração da polpa. A polpa foi peneirada para a retirada das sementes e colocada em recipientes de vidro com tampa. A polpa da amora-preta foi mantida por um dia em refrigerador, antes do início das análises e preparo das amostras co-cristalizadas.

4.2.2 Determinação da composição química da polpa da amora-preta (*Rubbus spp*)

Foi realizada a determinação da composição química centesimal da polpa da amora-preta (Tabela 6) . A fruta foi descongelada por aproximadamente 2 horas

antes do início das análises. As análises foram realizadas na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), no laboratório de alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos.

Os métodos utilizados para as análises de umidade, cinzas, proteínas, gorduras totais e sódio, foram baseados no Manual do Instituto Adolpho Lutz – Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. A análise de fibra total foi baseada no procedimento K-TDFR 03/2009 – Megazyme.

4.2.3 Liofilização da fruta da amora-preta (*Rubus spp*)

Liofilização ou secagem por congelamento é um processo de desidratação de quase todo o calor sensível de materiais e aromas. A liofilização opera através congelamento do material, e da redução da pressão do equipamento e adição de calor suficiente para permitir que a água contida no material sublime diretamente da fase sólida para a fase gasosa (OETJEN e HASELEY, 2004). É um processo que se caracteriza pela retirada de água do alimento, sem submetê-lo a altas temperaturas. No processo de liofilização, o alimento é congelado a temperatura de - 40°C e colocado em câmara de alto vácuo. Nessas condições, a água é sublimada (ROSA, TSUKADA, FREITAS, 2009).

Para as análises comparativas com da polpa de amora-preta co-cristalizada por sacarose, foi necessário fazer a liofilização da amora-preta, para que houvesse comparação com as análises de MEV, DSC e difração de raio-x. Para isso, a fruta inteira foi congelada por 1 (um) dia e após, liofilizada. Aproximadamente 500g da fruta foram distribuídos em dois potes plásticos com tampa perfurada, e os mesmos foram colocados dentro do liofilizador. A fruta foi submetida à liofilização sob temperatura de - 49°C e vácuo de 690mBar. Após a liofilização, as amostras foram mantidas em recipiente plástico, coberto com filme plástico do tipo “*insufilm*”. Para as análises, as amostras foram moídas no momento da análise, devido à sua alta higroscopicidade.

4.2.4 Preparo da polpa de amora-preta co-cristalizada com sacarose

Foram preparadas três concentrações de polpa de amora-preta no xarope, contendo sacarose e polpa de amora-preta, respectivamente: 90:10; 85:15; 80:20, bem como uma amostra de xarope co-cristalizado sem adição de polpa também foi preparado, a título de comparação para as análises de microestrutura. Os experimentos foram realizados em batelada.

4.2.4.1 Preparação do Xarope de Sacarose

O xarope foi preparado com sacarose e água destilada, na proporção de 100g de açúcar para 100ml de água. O açúcar e a água foram adicionados num recipiente metálico aberto, e aquecidos até a temperatura de 133°C (BHANDARI e HARTEL, 2002; DELADINO *et al.*, 2009). A temperatura foi controlada com um termômetro digital. Em seguida, o aquecimento foi desligado e as proporções de polpa de amora-preta (*Rubbus spp*) apresentadas acima, foram adicionadas, sob vigorosa agitação manual, até que houvesse o aparecimento de uma cor esbranquiçada ao produto, indicando o início do processo de nucleação.

4.2.4.2 Obtenção da polpa de amora-preta co-cristalizada por sacarose

Após a preparação do xarope, o aquecimento foi desligado. O produto foi retirado do recipiente metálico e colocado sobre uma superfície de vidro, para facilitar o resfriamento do produto, por aproximadamente 30 minutos. Após resfriado, o produto foi “raspado” da superfície e moído. Em seguida, foi submetido à secagem em estufa com circulação e renovação de ar por 24h à temperatura de 50°C. Após a secagem, o produto foi moído e peneirado, em peneira 20 mesh.

4.2.4.3 Análise de atividade de água (Aw) nas amostras co-cristalizadas

A amora-preta liofilizada e as amostras co-cristalizadas foram submetidos à medida da atividade de água, empregando o equipamento Aqualab (fabricante Decagon). Aproximadamente 7g de amostra foi colocada numa cápsula aberta e a medida foi realizada, através da conversão da temperatura do ponto de orvalho da umidade presente na amostra, para a medida de atividade de água.

4.2.5 Análise microestrutural

4.2.5.1 Análise de microscopia eletrônica de varredura - MEV

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná. O equipamento utilizado foi um microscópio da marca Jeol (modelo JSM - 636 OLV), conforme apresentado na Figura 11.

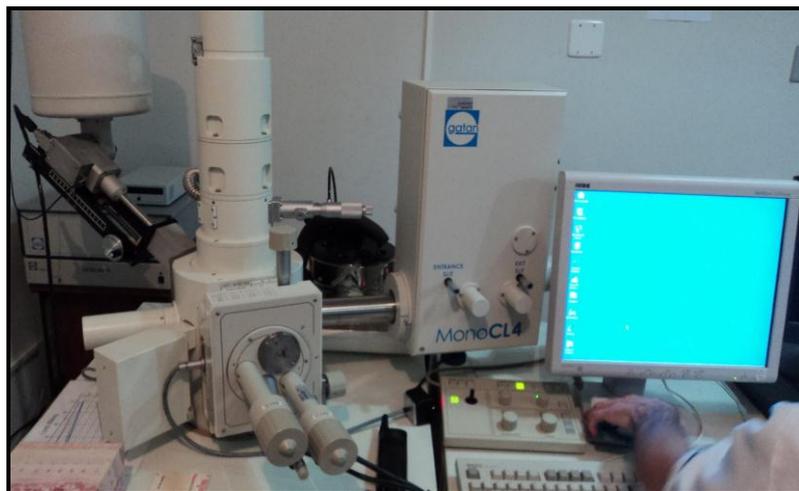


FIGURA 11 – MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (JEOL - UFPR)
FONTE: O autor (2012)

O procedimento consistiu em fixar uma pequena quantidade da amostra num porta-amostra, chamado *stub*, com o auxílio de uma fita adesiva de carbono. A amostra precisou ser metalizada com ouro, sob vácuo, no equipamento Balzers Sputtering SCD-030 (Fig. 8), para que a mesma se tornasse um bom condutor térmico e elétrico (CASTRO, 2002). No metalizador, o ouro é depositado sobre a amostra, após um bombardeio energético de íons positivos, a uma taxa de recobrimento de $0,51 \text{ As}^{-1}$, por 180 segundos, com corrente de 3 a 5 mA, 1 V e 10^{-1} mbar. Os íons positivos são produzidos pela ionização do argônio, injetados na câmara de descarga. A camada de ouro deve ser suficientemente fina para não interferir na resolução da imagem, mas espessa o suficiente para garantir uma boa produção de elétrons secundários, que serão usados para formar a imagem (CASTRO, 2002).



FIGURA 12 – METALIZADOR: BALZERS SPUTTERING SCD-030
FONTE: O autor (2012)

4.2.5.2 Análise de DSC – Calorimetria exploratória diferencial

As análises de DSC foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.



FIGURA 13 – EQUIPAMENTO DE DSC – CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (TA INSTRUMENTS, MODELO: Q200) USADO NAS ANÁLISES (UEPG)
FONTE: O autor (2012)

O estudo termoanalítico foi realizado por calorimetria exploratória diferencial (DSC). As curvas foram obtidas na faixa de temperatura entre 25 °C e 250°C, em célula calorimétrica modelo Q200 da marca TA Instruments, sob atmosfera ar sintético, na vazão de 100 mL. min⁻¹, na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Foram utilizadas cápsulas de alumínio fechadas contendo aproximadamente 2mg de amostra.

A célula DSC foi calibrada antes dos ensaios no eixo de temperatura, utilizando padrões de índio ($T_{\text{fusão}} = 156,6^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H = 28,7 \text{ J.g}^{-1}$), com pureza de 99,99%. As curvas de DSC foram obtidas em atmosfera de ar sintético e foram usados cadinhos de alumínio com tampa perfurada.

4.2.5.3 Análise de difração de Raio-X

As amostras foram medida no intervalo angular 2θ , entre 5°C e 60°C, com o equipamento Shimadzu, utilizando a geometria de Bragg-Brentano, com um

monocromador de grafite e a radiação usada foi de Cobre $K\alpha$ (1,5418 Å). Os difratogramas do produto co-cristalizado foram comparados com relação à sacarose comercial (açúcar cristal).

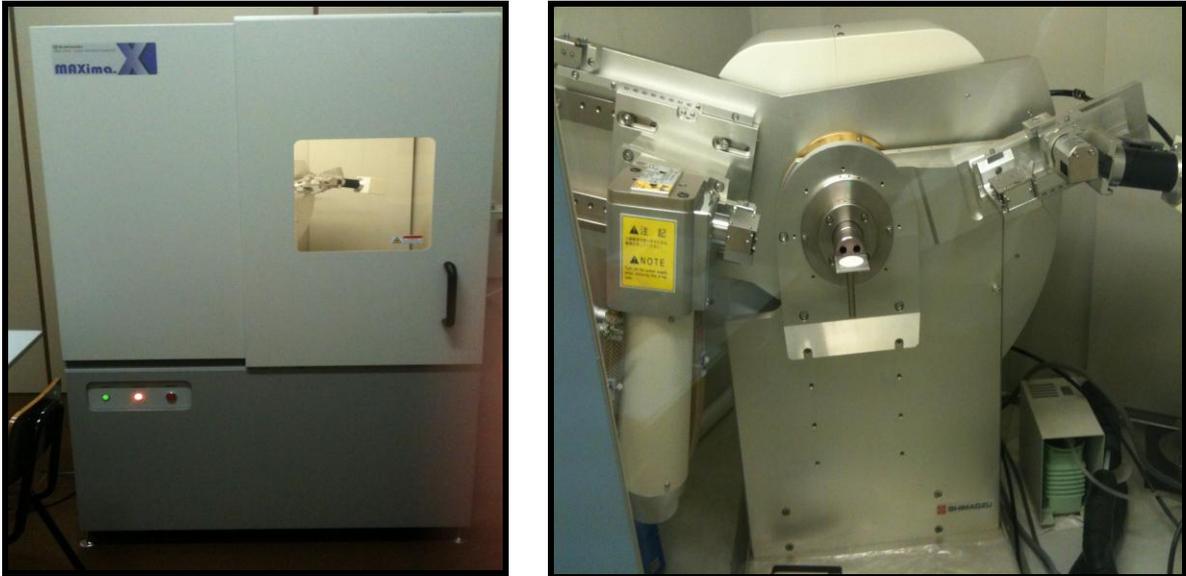


FIGURA 14 – EQUIPAMENTO DE RAIO-X (SHIMADZU) USADO NAS ANÁLISES (UFPR)
FONTE: O autor (2012)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FRUTA DA AMORA-PRETA (*RUBBUS SPP*)

A polpa de amora-preta analisada apresentou uma quantidade menor de umidade e açúcares totais, em comparação com Ferrari *et al.* (2012) - Tabela 1, onde a umidade foi de 91,9%, açúcares totais foi de 6,49% .

TABELA 6 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA POLPA DE AMORA-PRETA EM BASE ÚMIDA

Determinações	Resultados
Umidade	87,8 %
Cinzas	0,5%
Proteínas	1,4%
Açúcares totais	6,0%
Lipídios	0,1%
Fibra alimentar	4,2%
Sódio (mg)	10%
pH	2.96

FONTE: O autor (2012)

5.2 PRODUÇÃO DO XAROPE DE SACAROSE E POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE

Foram preparados três concentrações de polpa de amora-preta no xarope de sacarose, conforme segue (sacarose:amora): 90:10 (AMOSTRA A), 85:15 (AMOSTRA B) e 80:20 (AMOSTRA C), bem como um xarope de sacarose sem adição de polpa.



FIG. 15 – FOTOS DOS PRODUTOS FORMADOS APÓS A CO-CRISTALIZAÇÃO: a) SACAROSE RE-CRISTALIZADA, SEM ADIÇÃO DE POLPA; b) AMOSTRA A, contendo 10% de polpa de amora; c) AMOSTRA B, contendo 15% de polpa de amora, d) AMOSTRA C, contendo 20% de polpa de amora.

FONTE: O autor (2012)

Na Fig. 16, a concentração da polpa de amora-preta foi de 20% no xarope de sacarose. O produto final não caracterizou-se como cristalino, mesmo depois da secagem em estufa e resfriamento em geladeira por 24 horas. O produto apresentou uma característica pastosa, com a presença de uma umidade superficial. Um fato

semelhante ocorreu com os autores Bhandari *et al.* (1998), onde a proporção de sacarose:mel (80:20) obtiveram um produto semi-sólido. Bhandari e Hartel (2002) estudaram a co-cristalização da sacarose na presença de glicose e frutose. Houve dificuldade na cristalização da sacarose, devido à presença da glicose e frutose presentes na amora (BAMBERG, SEGALL e LEE, 1980; HARTEL e SHASTRY, 1991; GABARRA e HARTEL, 1998; HARTEL, 2001).



FIG. 16 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (20%): AMOSTRA C
FONTE: O autor (2012)

A presença de uma quantidade maior de polpa de amora-preta ao xarope de sacarose, pode ter causado a hidrólise da sacarose, devido à presença de umidade residual e frutose provenientes da amora. Duas tentativas de secagem do produto ocorreram, com 50°C/24 horas e depois de dois dias, uma outra secagem com os mesmos parâmetros aconteceu, todavia sem sucesso de cristalizar o produto. A aparência é de um produto pastoso, semelhante a uma “geléia cristalizada”. A sacarose na presença de meio ácido pode resultar na inversão da sacarose, o que inibe a cristalização da mesma (BOBBIO, 1992).

Astolfi-Filho (2003) estudou a co-cristalização de sucos de frutas (limão e maracujá) por sacarose e houve a necessidade de adicionar hidróxido de cálcio para corrigir o pH e promover a cristalização.

5.2.1 Análise da atividade de água (A_w)

A Tabela 7 expressa os valores de atividade de água (A_w) encontrados para as amostras co-cristalizadas.

TABELA 7- RESULTADOS PARA ANÁLISE DE ATIVIDADE DE ÁGUA (A_w)

Amostras	Valores obtidos de A_w (médias e desvio padrão)
Amora liofilizada	0,29 ± 0,02
Xarope de sacarose re-cristalizado	0,57 ± 0,01
Sacarose	0,47 ± 0,01
AMOSTRA A	0,50 ± 0,01
AMOTRA B	0,71 ± 0,01
AMOSTRA C	0,74 ± 0,02

FONTE: O autor (2012)

Os valores encontrados para sacarose foram muito semelhantes aos valores encontrados por DELADINO *et al.* (2007). O extrato de erva-matte liofilizada obteve resultado de $0,460 \pm 0,006$. Os autores enfatizam que, em geral, alimentos com valores de atividade de água menores que 0,47 indicam que esses produtos possuem segurança microbiológica.

Os valores obtidos para a amora liofilizada foram muito baixos, se comparados à erva-matte liofilizada. Todavia a amora liofilizada não foi usada na obtenção das amostras co-cristalizadas; apenas polpa de amora-preta foi usada.

Os valores obtidos para o xarope de sacarose re-cristalizada ($0,571 \pm 0,006$) foram maiores que os valores encontrados para a sacarose.

As amostras A, B e C co-cristalizadas obtiveram valores de A_w maiores, conforme foi a porcentagem de polpa de amora-preta acrescentada à sacarose.

5.3 ANÁLISE MICROESTRUTURAL DA POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE

5.3.1 MEV – Microscopia eletrônica de varredura

As imagens de MEV de uma população de partículas co-cristalizadas de polpa de amora-preta por sacarose, podem ser observadas nas Figuras (19, 20 e 21).

As amostras de amora liofilizadas foram moídas somente no momento da análise no MEV, pois o produto é extremamente higroscópico. As fotos apresentadas na Figura (17) mostram as paredes celulares da fruta, nos aumentos de 37x e 370x.

Na figura 18, pode-se observar os cristais de sacarose comercial, no aumento de 33x, usados na fabricação do xarope. Os cristais medem em torno de 500 μm e possuem faces poliédricas.

Na Fig. 19, observa-se as micrografias do xarope re-cristalizado, sem a adição da polpa da amora-preta. A formação do aglomerado de cristais foi evidenciada, nos aumentos de 350x e 400x. O tamanho dos cristais formados foram menores que 50 μm .

A formação do aglomerado de cristais de sacarose pode ser observada, para a AMOSTRA A (90:10), nos aumentos de 270x e 370x, conforme Fig. 20. Observa-se que os cristais formados em torno da matriz ficaram na ordem de 5 a 50 μm . Na AMOSTRA B, a formação do aglomerado de cristais de sacarose se repete, como pode ser observado, nos aumentos de 1.500x e 600x, conforme Fig. 21. Os cristais medem em torno de 2 a 20 μm .

Deladino *et al.* (2009) também descreveu a formação do aglomerado de cristais de sacarose, no estudo morfológico realizado com a mistura de erva-mate e minerais co-cristalizados por sacarose. No trabalho dos referidos autores, o tamanho dos cristais obtidos após a co-cristalização ficaram entre 2 a 30 μm . Bhandari *et al.* (1998) afirma que os agregados devem ter tamanho menor que 30 μm .

Não foi possível realizar a análise de MEV na AMOSTRA C devido a alta quantidade de umidade presente no produto, pois a mesma poderia danificar o equipamento durante a análise.

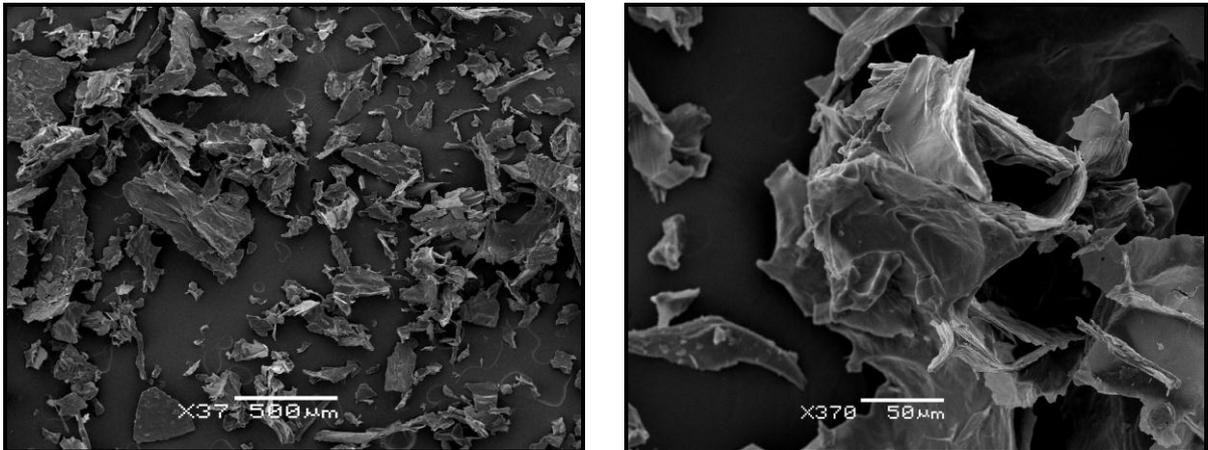


FIGURA 17 – FRUTA DA AMORA-PRETA LIOFILIZADA E MOÍDA
FONTE: O autor (2012)

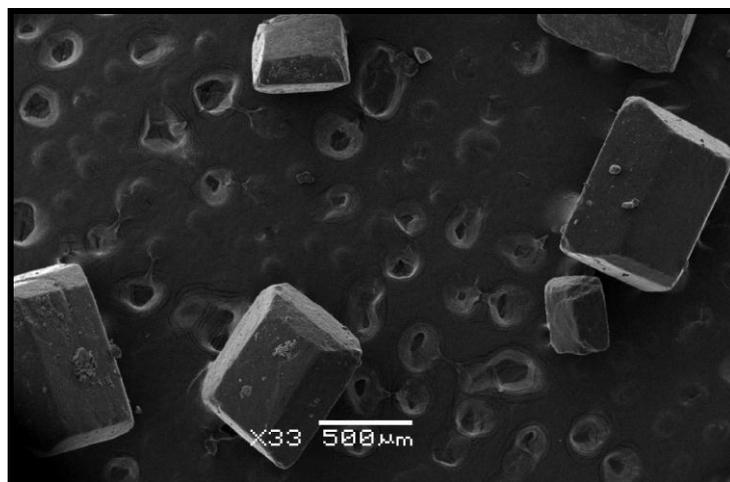


FIG. 18 – CRISTAIS DE SACAROSE USADOS NA FABRICAÇÃO DO XAROPE DE SACAROSE
FONTE: O autor (2012)

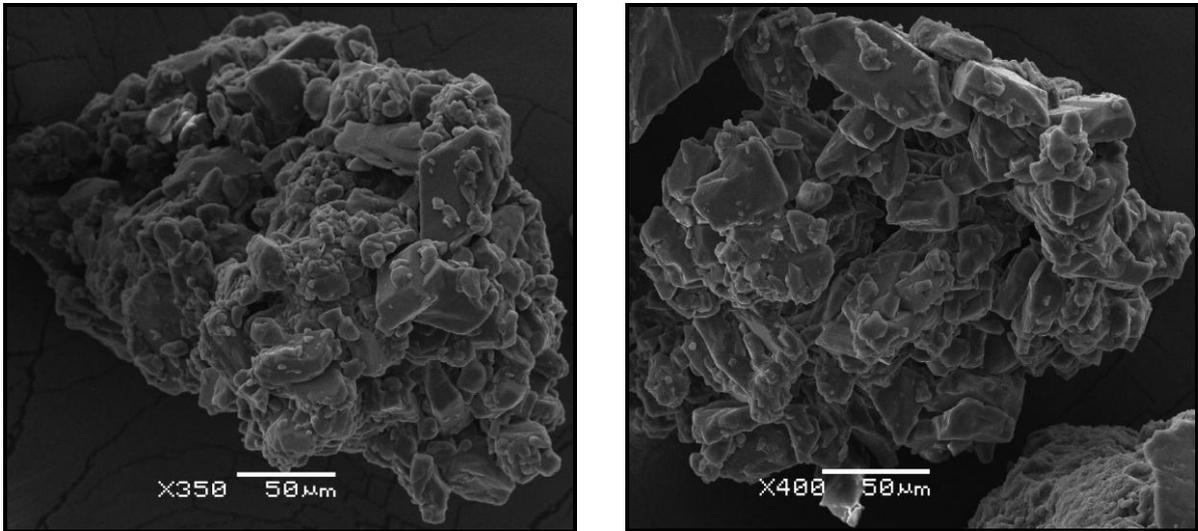


FIGURA 19 – XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADA, SEM A PRESENÇA DA POLPA DE AMORA-PRETA

FONTE: O autor (2012)

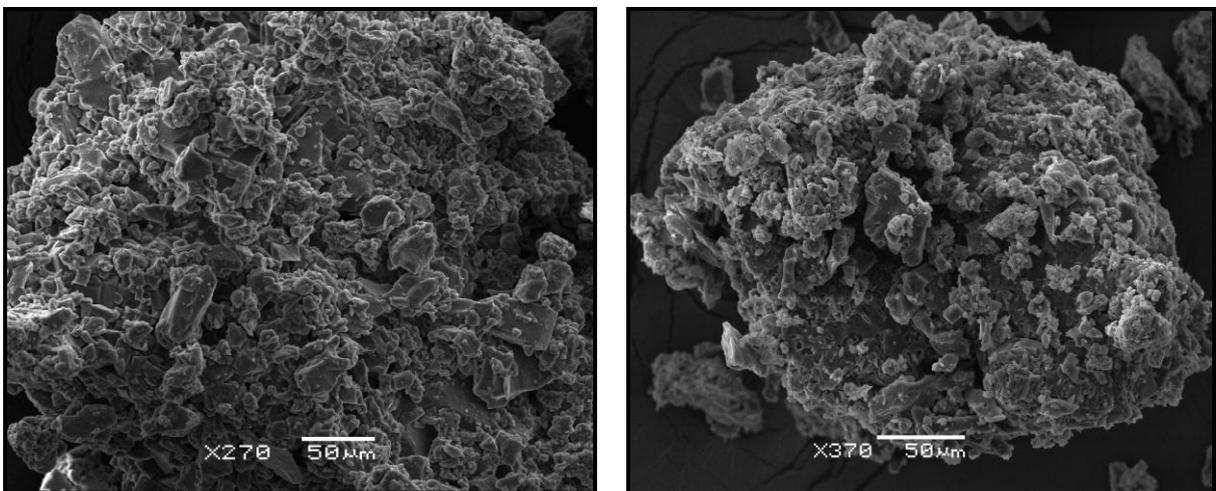


FIG. 20 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA A – 90:10)

FONTE: O autor (2012)

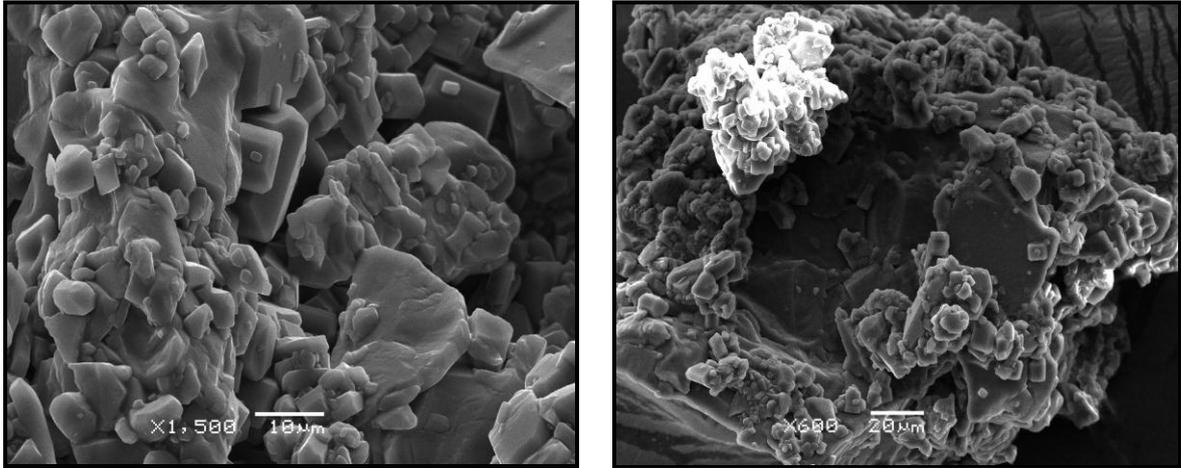


FIG. 21 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA B – 85:15)
 FONTE: O autor (2012)

5.3.2 DSC – Calorimetria exploratória diferencial

As temperaturas dos eventos térmicos, obtidas nas curvas de DSC, são definidas como temperaturas de pico (T_p). Os gráficos típicos são mostrados nas Fig. 19 a 24, e apresentam a variação da entalpia em função da temperatura. A Tabela 7 contém os valores obtidos para as temperaturas de pico (T_p) para as análises de DSC da amora-preta co-cristalizada por sacarose (com as proporções de 90:10, 85:15, 80:20) da sacarose, da amora liofilizada e do xarope co-cristalizado, sem adição de polpa, bem como os desvios padrão encontrados. A razão usada para aquecimento foi de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

A Fig. 22 apresenta a curva da sacarose comercial utilizada nos experimentos. A sacarose apresenta temperatura *onset* (T_{onset}), que é a temperatura de início do evento, de $188,50^\circ\text{C}$ e um pico de (T_p) $190,46^\circ\text{C}$, indicando a fusão da mesma com $\Delta H = 128 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$.

Mchem (2008) encontrou a temperatura onset e ΔH como sendo de 186°C e $123,15 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Bhandari e Hartel (2002) encontraram a T_p como sendo de $189 \pm 2,1^\circ\text{C}$, a temperatura onset como sendo $185 \pm 1,9^\circ\text{C}$ e ΔH de $126,5 \pm 2,5 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. O comportamento do gráfico demonstra que o valor da T_p corresponde aos valores

encontrados na literatura (Tabela 7), por Slade e Levine (1991): de 192 °C, Vanhal e Blond (1999): de 190 °C, Roos (1993): de 190 °C, Saleki-Gerhardy e Zografí (1994): de 188 °C, Gloria e Sievert (2001): de 188 °C. Deladino *et al.* (2009) encontrou o valor de 190,22 °C \pm 0,31.

O Merck Index apresenta a temperatura de início de decomposição da molécula de sacarose como sendo de 160 °C, podendo variar até 186 °C (MERCK, 1989).

A Fig 23 apresenta a curva da sacarose re-cristalizada, sem adição de polpa de amora-preta. A T_p foi de 192,57 °C e a temperatura onset foi de 188,93 °C, muito semelhante à sacarose demonstrada acima. Todavia, a variação de entalpia (ΔH) foi de 182,2 J.g⁻¹. O comportamento da curva também possui um pico bem definido, tal qual a sacarose.

A Fig. 24 representa a amora-preta liofilizada. Para essa análise, a amora foi moída somente no momento da análise, devido à alta higroscopicidade da mesma. A amora obteve um evento endotérmico como sendo: T_p 154,05 °C, temperatura onset (T_{onset}) foi de 118,15 °C. A variação da entalpia foi de 285,0 J.g⁻¹. O pico não é bem definido, então, não pode-se afirmar que se trata de uma fusão. O evento endotérmico sugere uma perda de umidade, que pode estar seguida da decomposição da frutose e glicose, que são os açúcares em maior quantidade presentes na fruta da amora-preta (CHIANG, 1999; WROISTAD *et al.*, 1980). Como o açúcar presente em maior quantidade na amora é a frutose, outros autores como Bhandari *et al.* (2002) relataram como T_p da frutose como sendo 185,0 \pm 0,3 °C e 179,0 \pm 0,1 °C na mistura sacarose:frutose a 90:10 e 80:20 respectivamente. Todavia, Hurttá *et al.* (2004), usando massa de 4 a 6mg de amostra, indica valores entre 113 °C \pm 1,0 a 142,6 °C \pm 0,1 para fusão da frutose pura, a diferentes taxas de aquecimento. Na Tabela 7, Hurttá, Pitkänen e Knuutinen (2004) descreve vários valores encontrados para a fusão da frutose, entre 102 °C a 132 °C. Já o Merck Index sugere que a decomposição da frutose pura inicia-se em 103 °C a 105 °C (MERCK, 1989).

A Fig. 25 representa a amora-preta co-cristalizada por sacarose – AMOSTRA A, na concentração de 90:10 (sacarose:polpa de amora). O gráfico evidencia a temperatura de pico como sendo 168,72 °C, a temperaturas onset

158,77°C. A variação das entalpias foram de 101,10 J.g⁻¹. No gráfico, nota-se um pequeno evento à 152 °C, que sugere uma perda de umidade. Um pico bem definido a 168,72 °C provavelmente se deve à quebra de ligação glicosídica da sacarose (LEE et al., 2011), pela presença de umidade residual, seguida da fusão da sacarose, que juntamente com a frutose e glicose, diminuiu a T_p da sacarose. Um terceiro evento endotérmico que acontece à 188 °C; sugere a decomposição da amostra e provável início de caramelização.

Sabe-se que açúcares redutores e sais quando presentes, podem acelerar a decomposição térmica da sacarose (KELLY et al., 1978; RICHARDS, 1986; EGGLESTON *et al.*, 1996; EGGLESTON e CLARCK *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 2011).

A Fig. 26 - representa a amora-preta co-cristalizada por sacarose, na proporção de 85:15 de sacarose:polpa – AMOSTRA B. O gráfico evidencia dois eventos térmicos. No primeiro evento, o pico não está bem definido e possui T_p de 145 °C, T_{onset} de 121,91 °C e $\Delta H=52,07 \text{ J.g}^{-1}$, provavelmente devido à perda de umidade, seguida da fusão da mistura entre frutose, glicose que não foram encapsulados, visto a discussão sobre a análise no MEV da AMOSTRA B (Fig.21). O segundo evento possui T_p de 216 °C, T_{onset} de 204,78 °C e $\Delta H=166,7 \text{ J. g}^{-1}$, e pode corresponder à quebra da ligação glicosídica, seguida da caramelização da sacarose na presença de outros compostos. Isso confirma que a sacarose estava na forma cristalina e a amora não estava 100% encapsulada, conforme foi observado nas análises do MEV (Fig. 21).

A Fig. 27 representa o gráfico do DSC da polpa de amora-preta co-cristalizada por sacarose, na proporção de 80:20 de sacarose:polpa – AMOSTRA C. O gráfico evidencia uma T_p de 123,99°C, T_{onset} de 113,97 °C e $\Delta H=132,2 \text{ J.g}^{-1}$, provavelmente causado pela decomposição térmica da mistura de sacarose e outros compostos da amora dissolvidos em água, seguida da caramelização da sacarose.

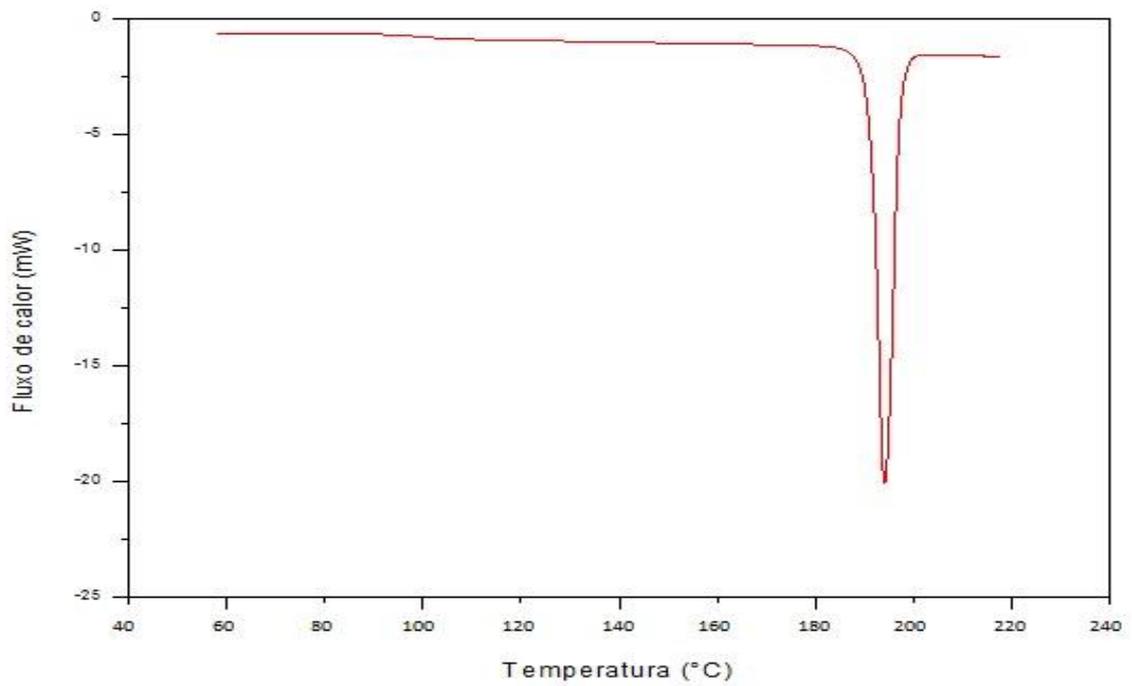


FIGURA 22 – DSC: CURVA DA SACAROSE (AÇÚCAR CRISTAL)
FONTE: O autor (2012)

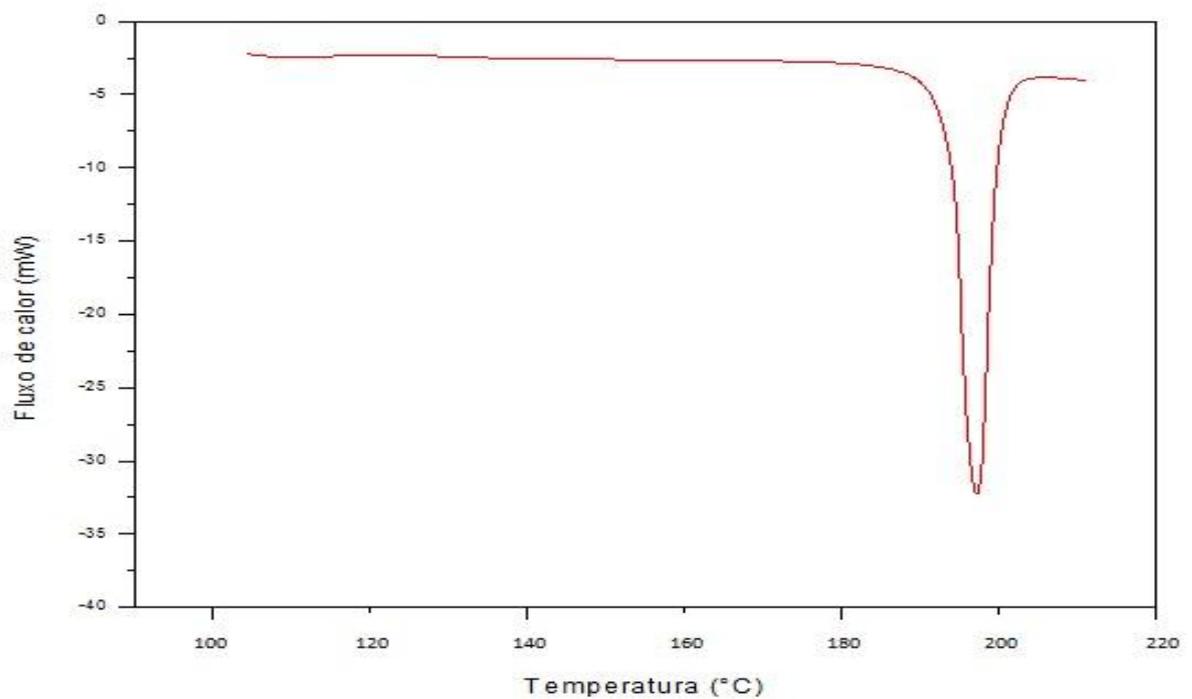


FIG. 23 – XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADO, SEM ADIÇÃO DE POLPA DE AMORA-
PRETA
FONTE: O autor (2012)

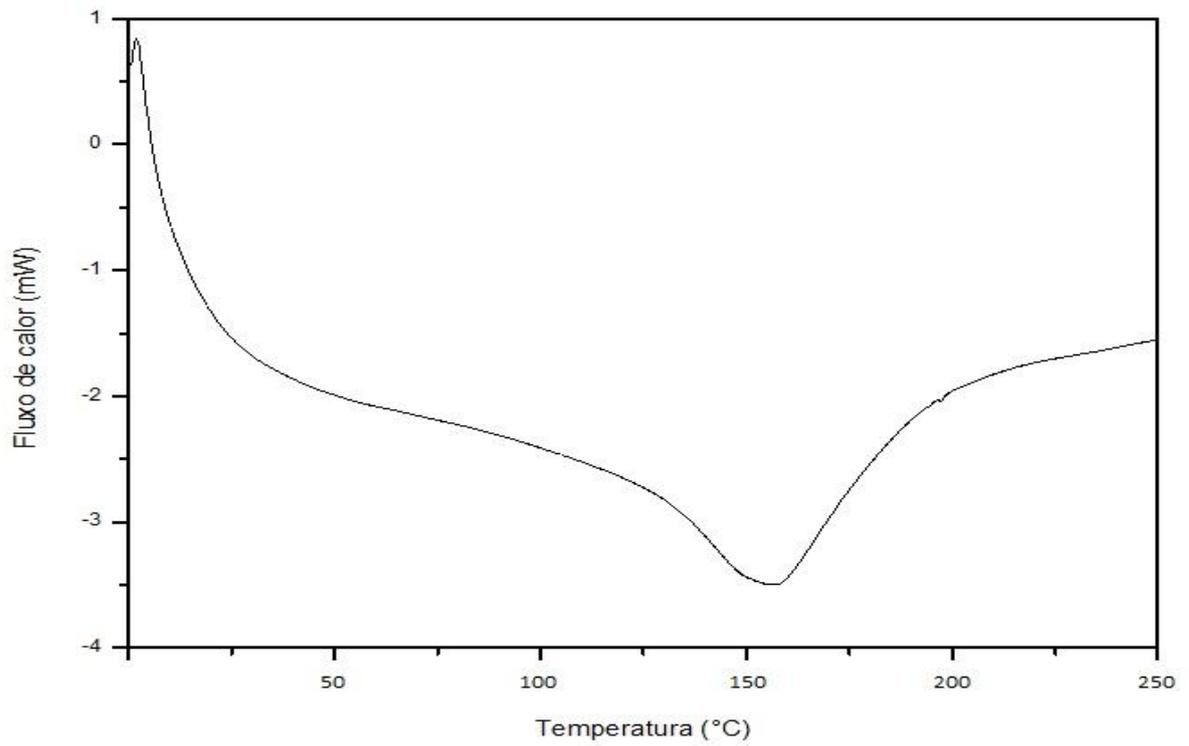


FIG. 24 – AMORA-PRETA LIOFILIZADA
 FONTE: O autor (2012)

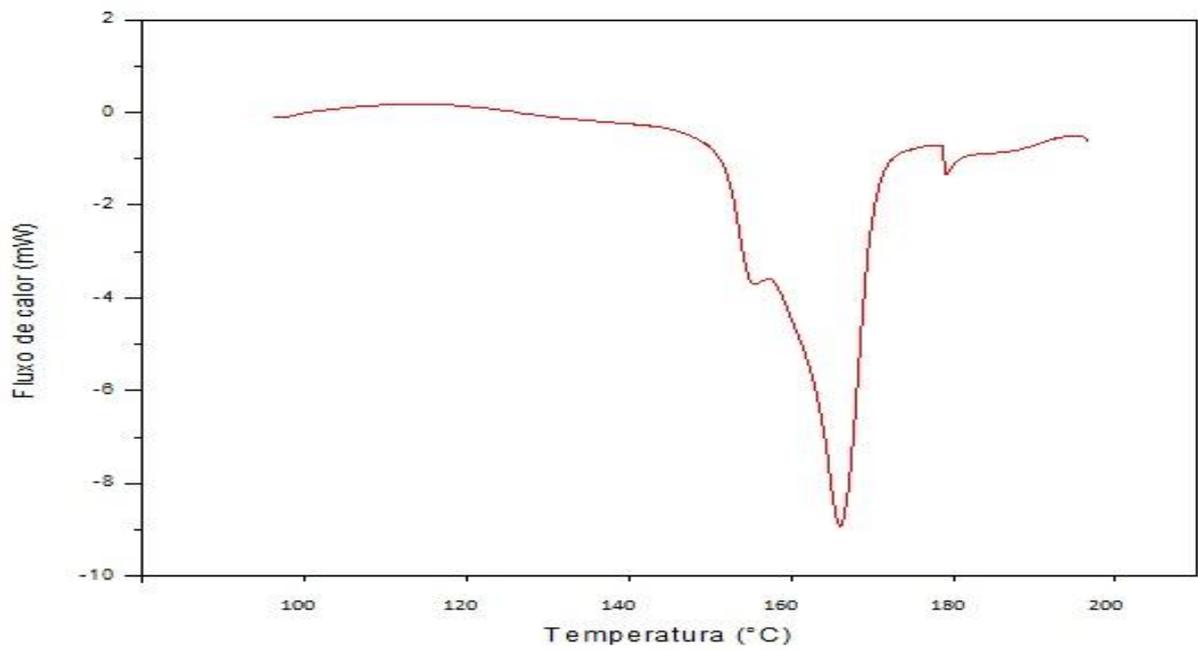


FIGURA 25 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA A-90:10)
 FONTE: O autor (2012)

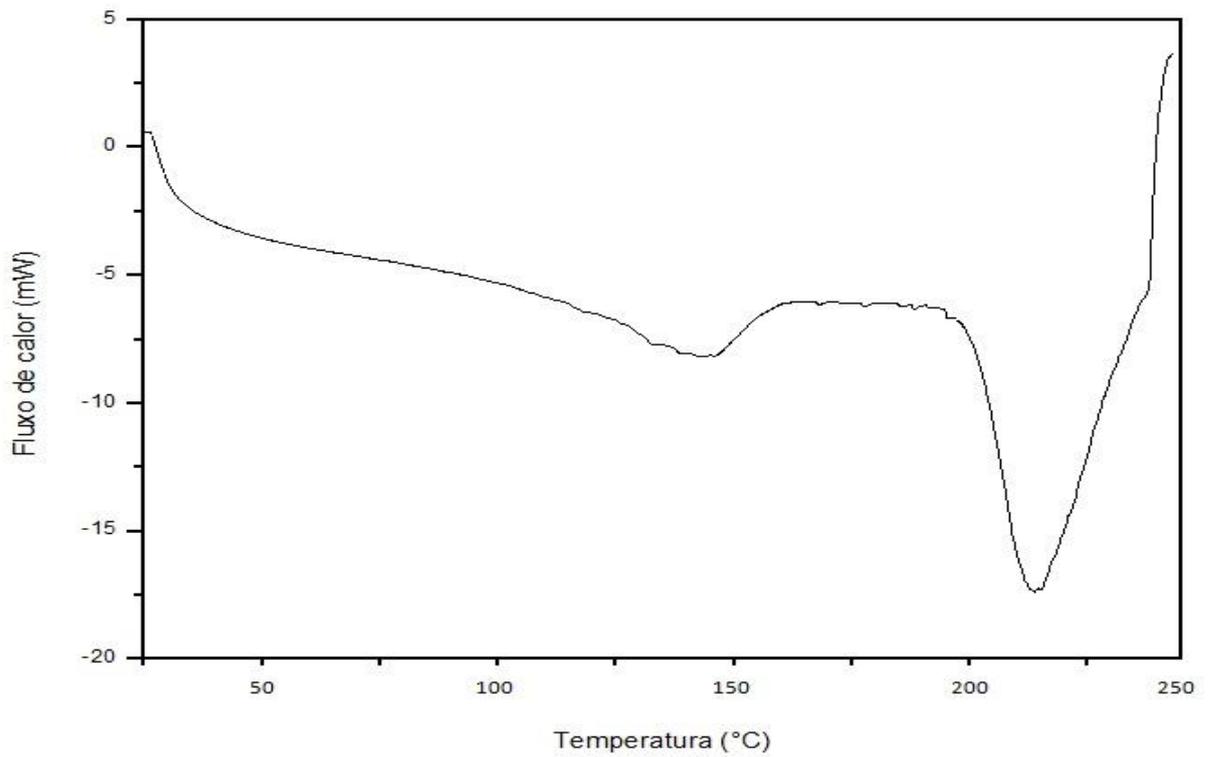


FIGURA 26 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA B - 85:15)
FONTE: O autor (2012)

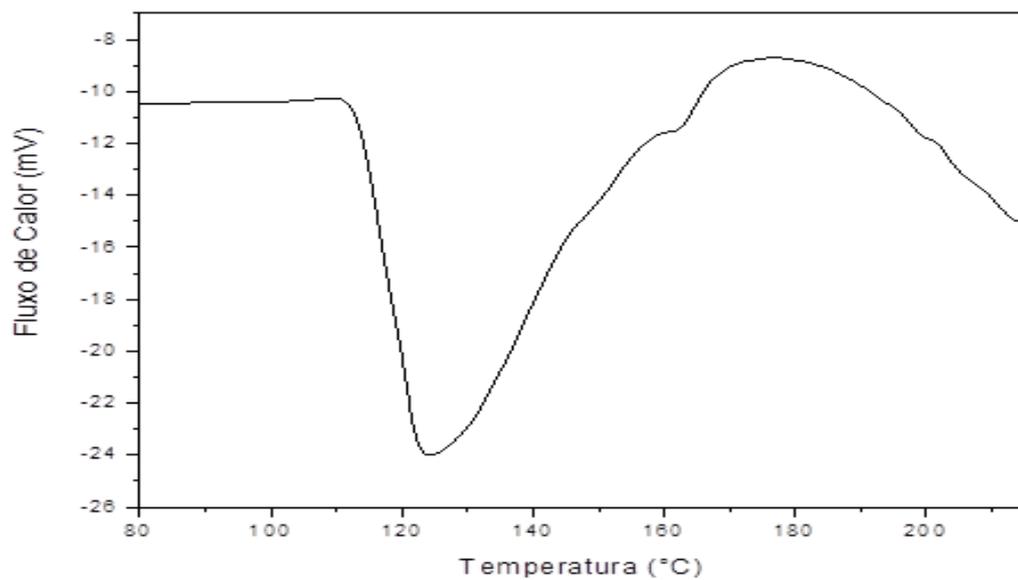


FIGURA 27 – POLPA DE AMORA-PRETA CO-CRISTALIZADA POR SACAROSE (AMOSTRA C - 80:20)
FONTE: O autor (2012)

TABELA 8 – TEMPERATURA ONSET, TEMPERATURA DE PICO E VARIAÇÃO DA ENTALPIA (valores das médias e desvios padrão)

Amostras	T _{onset} (°C)	T _p	ΔH
Açúcar cristal (sacarose) (rep 1)	185,50 ± 01	190,47 ± 0,02	128,10 ± 0,17
Açúcar cristal (sacarose) (rep2)			
Açúcar cristal (sacarose) (rep 3)			
Xarope co-cristalizado (rep 1)	189,06 ± 0,17	192,03 ± 0,52	152,67 ± 25,97
Xarope co-cristalizado (rep 2)			
Xarope co-cristalizado (rep 3)			
Co-cristalizado com polpa - 10% (rep 1)	156,43 ± 5,36	167,88 ± 2,32	92,14 ± 22,14
Co-cristalizado com polpa - 10% (rep 2)			
Co-cristalizado com polpa - 10% (rep 3)			
Co-cristalizado com polpa - 15% (1) – Pico 1	117,6 ± 6,10	134,72 ± 15,20	79,19 ± 38,35
Co-cristalizado com polpa - 15% (2) – Pico1			
Co-cristalizado com polpa - 15% (1) – Pico 2	160,34 ± 62,85	170,44 ± 65,43	108,07 ± 82,92
Co-cristalizado com polpa - 15% (2) – Pico 2			
Co-cristalizado com polpa - 20% (1)	207,04 ± 0,17	209,63 ± 2,30	279,8 ± 12,30
Amora Liofilizada (1)	141,49 ± 21,08	167,64 ± 11,92	251,37 ± 43,16
Amora Liofilizada (2)			
Amora Liofilizada (3)			

FONTE: O autor (2012)

5.3.3 Difração de Raio-X

As amostras foram analisadas com ângulos de 2θ , entre 5° a 60° . Os difratogramas do produto co-cristalizado foram comparados com relação à sacarose comercial e com a base de dados do programa PDF (*Powder diffraction file*), ficha 24-1977 molécula $C_{12}H_{22}O_{11}$ e programa de análise qualitativa CSM (*Crystallographica Search Match*). As análises foram realizadas pelo Laboratório de Difração de Policristais, do Departamento de Física da Universidade Federal do Paraná.

A Fig. 28 apresenta o difratograma da sacarose comercial. O mesmo foi comparado com a base de dados do PDF2. A amostra foi identificada como sacarose. O difratograma aponta os picos característicos da sacarose, com picos $11,66^\circ$, $18,74^\circ$, $18,76^\circ$, $18,78^\circ$, $19,52^\circ$ e $25,16^\circ$. A figura 29 apresenta o difratograma do xarope de sacarose re-cristalizada. A amostra foi identificada com sacarose, de

acordo com a base de dados (*Crystallographica Search Match*), pois os picos ocorreram nos mesmos ângulos que a sacarose, todavia com intensidades menores que a sacarose (Fig. 28). Deladino et al. (2010) também encontrou esses valores semelhantes para a sacarose usada nos experimentos.

A fig. 30 apresenta o difratograma da amora liofilizada. O difratograma apresenta o resultado de um material com estrutura sem ordem a longo alcance; isto é conhecido como material “amorfo”, onde os picos não estão bem definidos. Não há a formação de estrutura cristalina na amora liofilizada.

A figura 31 apresenta o difratograma da AMOSTRA A, na proporção de 90:10. O difratograma aponta os picos nos ângulos $11,28^\circ$, $11,49^\circ$, $18,55^\circ$, $19,32^\circ$ e $24,96^\circ$ e $25,34^\circ$. O gráfico demonstra que houve a formação de uma estrutura cristalina. Os primeiros picos ocorrem em ângulos muito próximos dos da sacarose pura. Pode-se afirmar que, conforme o difratograma, a amostra é sacarose na forma cristalina e não apresentava halo amorfo significativo.

A fig. 32 apresenta o difratograma da AMOSTRA B, na proporção de 85:15. O difratograma aponta os picos nos ângulos: $11,73^\circ$, $18,98^\circ$, $19,02^\circ$, $24,96^\circ$ e $25,41^\circ$. Os ângulos são próximos aos ângulos da sacarose, todavia estão levemente deslocados para a direita. Há a formação de um halo amorfo que provavelmente se deve ao fato de nem toda polpa de amora ter sido encapsulada, conforme pode ser observado nas análises do MEV, onde os micrográficos demonstram existir cápsulas abertas de sacarose co-cristalizada (fig.21).

A fig. 33 apresenta o difratograma da AMOSTRA C, na proporção de 80:20. O difratograma aponta os picos nos ângulos: $11,51^\circ$, $18,71^\circ$, $19,49^\circ$, $24,47^\circ$. Aqui também há a formação do halo amorfo, maior que o halo formado na proporção de 15%. A amostra contendo 20% de polpa de amora aparentemente não cristalizou completamente; todavia o difratograma informa que houve a formação de uma estrutura cristalina (provavelmente da sacarose), misturada a um produto com estrutura amorfa, que não cristalizou.

As figuras 32 e 33 (AMOSTRAS B e C) apresentam picos muito próximos aos da sacarose. A estrutura cristalina é da sacarose misturada com outros componentes.

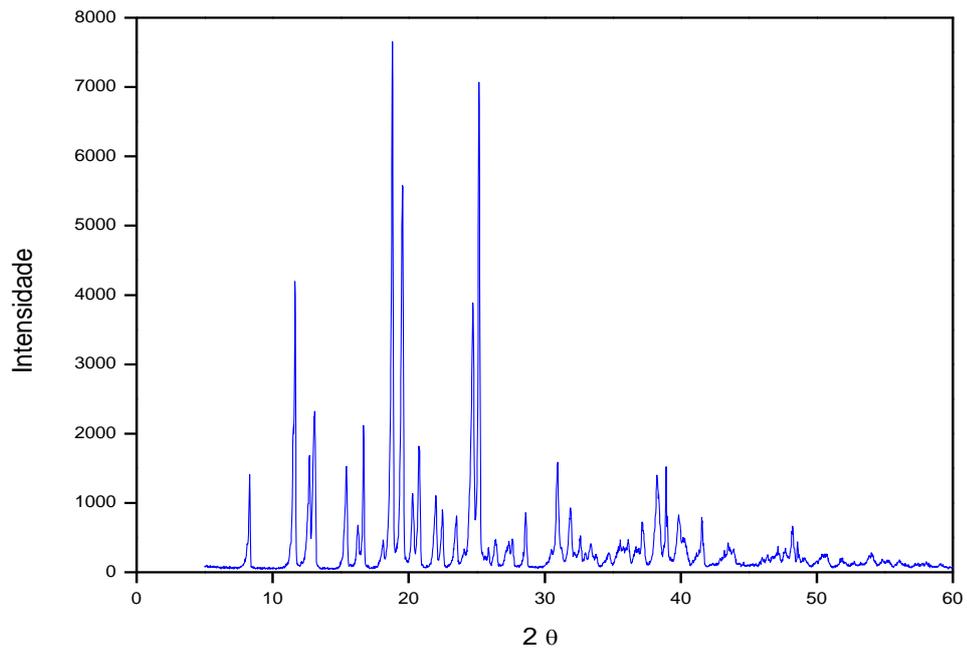


FIGURA 28 - DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA SACAROSE
FONTE: O autor (2012)

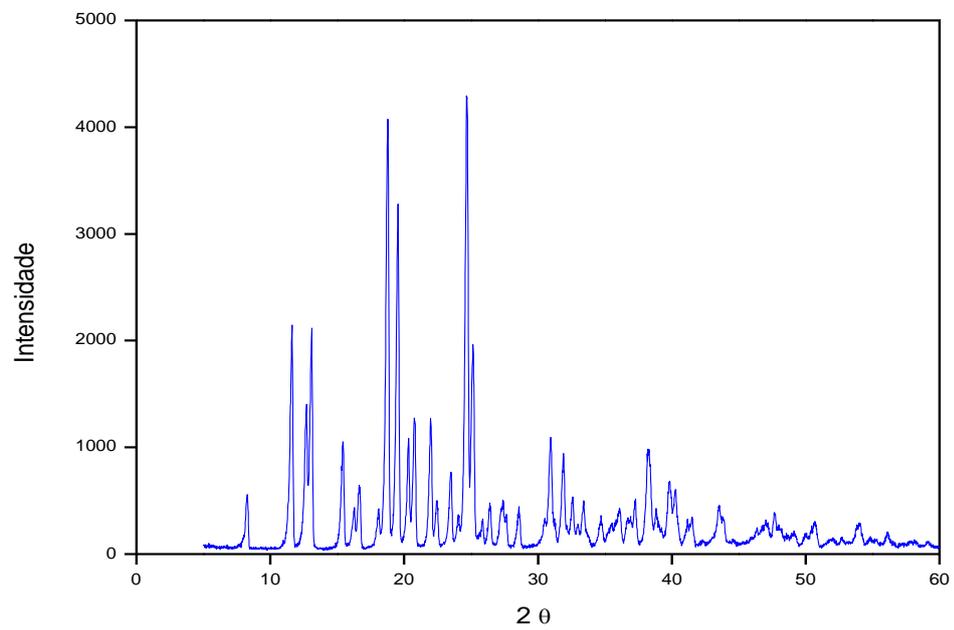


FIG. 29 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DO XAROPE DE SACAROSE RE-CRISTALIZADA
FONTE: O autor (2012)

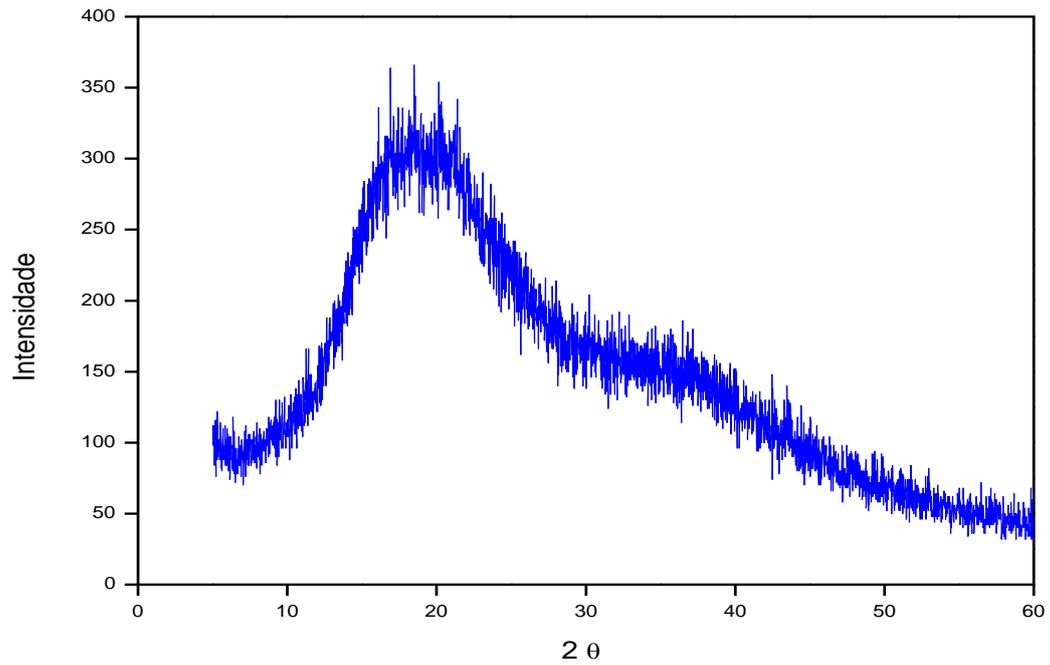


FIGURA 30 – AMORA LIOFILIZADA

FONTE: O autor (2012)

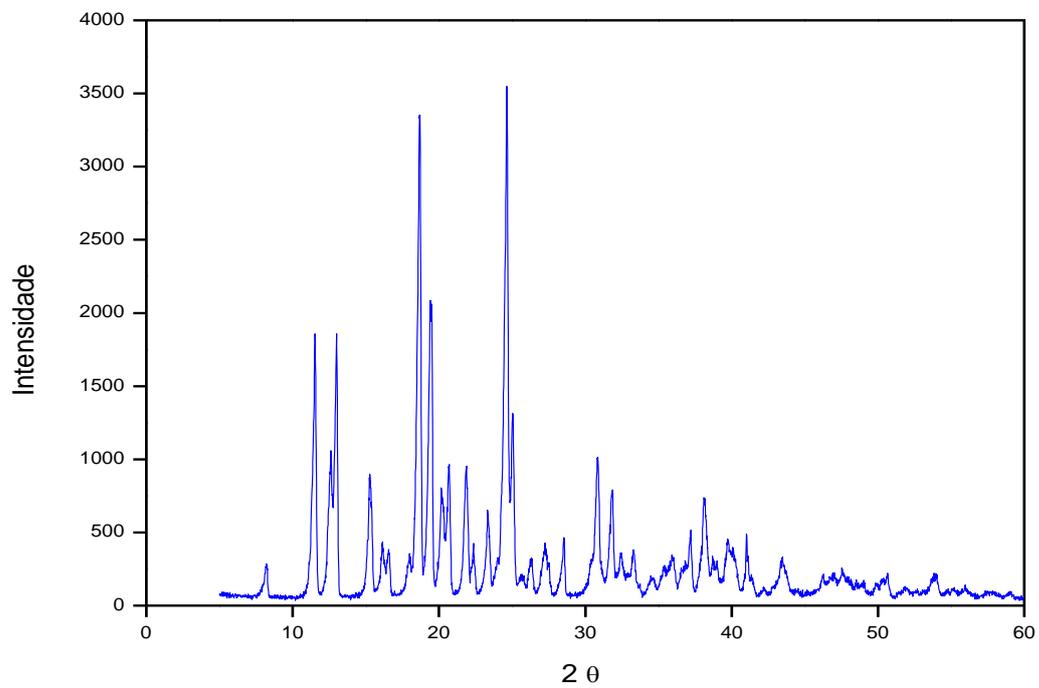


FIG. 31 – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (90:10)

FONTE: O autor (2012)

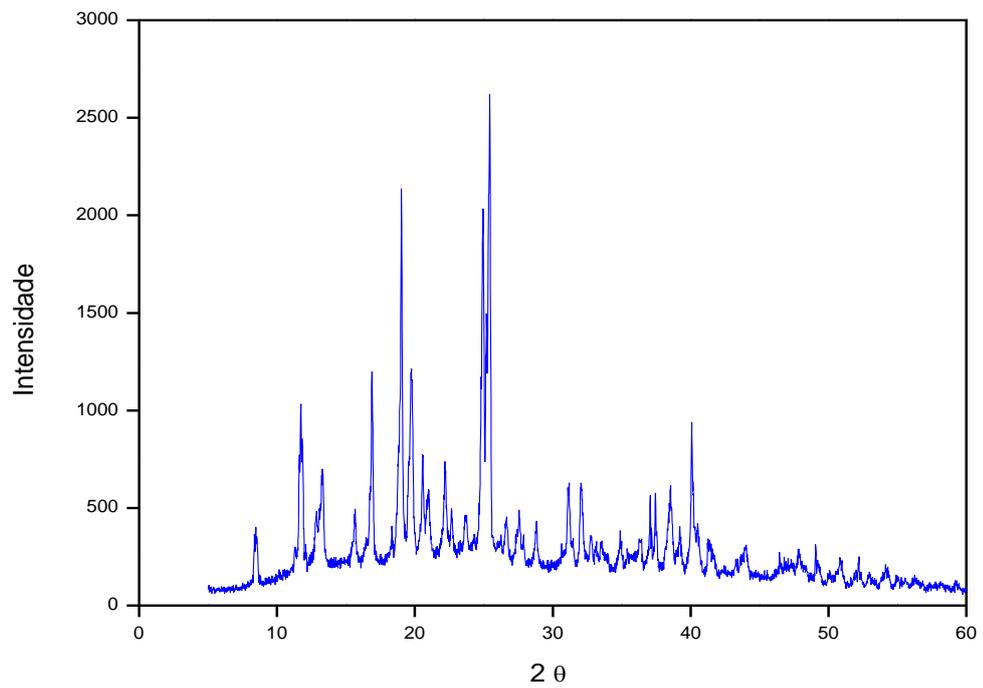


FIG. 32 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (85:15)
FONTE: O autor (2012)

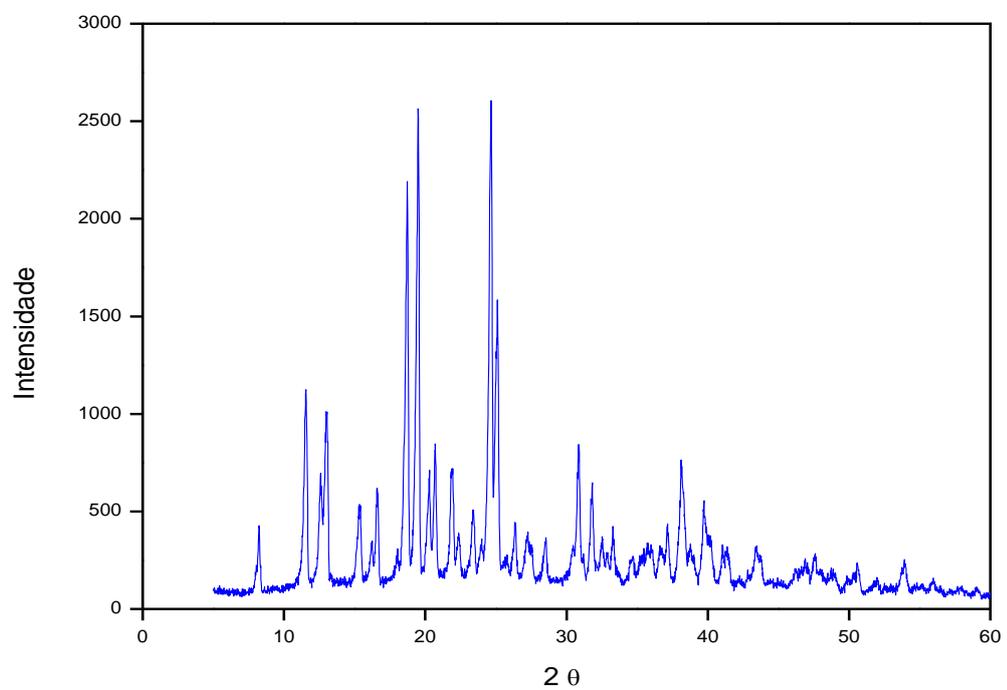


FIG. 33 – DIFRAÇÃO DE RAIO-X DA AMORA CO-CRISTALIZADA COM SACAROSE (80:20)
FONTE: O autor (2012)

6 CONCLUSÃO

Através das análises de MEV, DSC e difração de raio-X foi possível verificar a estrutura cristalina formada nos produtos cristalizados.

A proporção 90:10 de sacarose:amora foi a que mostrou melhor estrutura de um co-cristalizado. A proporção de 85:15 manteve uma umidade residual, mas foi possível fazer as análises. A proporção 80:20 não cristalizou e não apresentou condições de umidade para a realização das análises do MEV.

As análises da microscopia eletrônica de varredura comprovaram a formação dos cristais aglomerados sobre a matriz. A micrografia da amostra na preparação de 85:15 evidenciou a formação de cápsulas abertas, corroborando a hipótese de que não houve encapsulação de 100% da polpa de amora. Isso foi evidenciado nas curvas de DSC, aonde houve a fusão dos açúcares da amora numa faixa de temperatura mais baixa que a temperatura de pico para fusão da sacarose.

Os gráficos da difração de raios-x indicaram que para a amostra co-cristalizada na proporção de 90:10, a contribuição da fração amorfa não aparece “muito evidente”. Nas proporções de 85:15 e 80:20, a contribuição amorfa aparece, confirmando que o material encapsulado (ou não) está na fase amorfa, uma vez que não houve transformação desta fase, de modo a aparecer picos. Também pode-se observar que houve picos que não estavam presentes na sacarose pura (sacarose comercial); eles podem ser atribuídos à presença (em pequenas proporções) à diluição da sacarose, frutose, glicose, entre outros componentes presentes na amora e na umidade residual.

7 SUGESTÃO PARA NOVAS PESQUISAS

- Analisar sensorialmente a polpa de amora-preta co-cristalizada com sacarose;
- Estudar a aplicação do produto co-cristalizado no desenvolvimento de novos produtos alimentícios;
- Estudar a taxa de co-cristalização da sacarose em polpa de amora-preta;
- Estudar a perda de antocianina da amora-preta no produto co-cristalizado com sacarose;
- Estudar as propriedades nutricionais da polpa de amora-preta co-cristalizada com sacarose em comparação à fruta integral.

8 REFERÊNCIAS

ACOSTA-MONTOYA, O.; VAILLANT, F.; COZZANO, S.; MERTZ, C.; PÉREZ, A.M.. **Phenolic content and antioxidant capacity of tropical blackberry (*Rubus adenotrichus Schldl.*) during three edible maturity stages.** Food Chemistry, Barking, v.119, n.4, p. 1497-1501, 2010.

ANDERSEN, O.M.; CABRITA, L.; FOSSEN, T.. **Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region.** Journal of Food Chemistry, v.63, n.4, p. 435-440, 1998.

ANDRONIS, V.; ZOGRAFI, G.. **Crystal nucleation and growth of indomethacin polymorphs from the amorphous state,** v. 271, p. 236-248, 2000.

ANTUNES, L.E.C. **Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil.** Ciência Rural, v.32, n.1, p. 151-158, Santa Maria, 2002.

ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. **Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v.38, n. 3, p. 412-419, 2003.

ARAÚJO, P.F.; RODRIGUES, R.S.; MACHADO, A.R.; SANTOS, V.S.; SILVA, J.A.. **Estabilidade de antocianinas e ácido ascórbico em néctar de amora-preta (*Rubus spp.*) submetido a armazenamento congelado,** XVII Congresso de Iniciação Científica, Pelotas, 2008.

ASTOLFI-FILHO, Z. **Encapsulação de sucos de frutas por co-cristalização com sacarose.** Dissertação de Mestrado, 89 páginas, 2003.

ASTOLFI-FILHO, Z.; SOUZA, A.C.; REIPERT, E.; TELIS, V.. **Encapsulação de suco de maracujá por co-cristalização com sacarose: cinética de cristalização e propriedades físicas.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 25, n. 4, p. 795-801, 2005.

AUGUSTIN, M.A.; HEMAR, Y. **Nano and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients.** Chemical Society Reviews, 38, p. 902-912.

AUSICH, **Process for the isolation and purification of lycopene crystals**, US patente, PN.5.5858.700, 1999.

AWAD, A.; CHEN, A.C. **A new generation of sucrose products made by cocrystallization process**. Journal of Food Technology. v. 47, n.1, p. 146-148, 1993.

BAMBERG, M.; SEGALL, S.; LEE, C.M. **Factors affecting crystallization of sugars in multi-component systems**. Proceeding of the 34th Pennsylvania Manufacturing Confectioners Associations Production Conference, Hershey, Pennsylvania, US: PMCA, Center Valley, Pennsylvania, 1980.

BARBOSA, S.; FONSECA, K.S.; NORTE, A.R.; CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P.C.. **Análises em Suco de Açaí obtido por co-cristalização. X Seminário de Pesquisa e Pós Graduação**. Universidade Estadual de Montes Claros, 2009.

BARBOZA, G.L.G. **Obtenção e caracterização de sucos clarificados de amora-preta (Rubus spp.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) (63p) – Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Pelotas-RG, 1999.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E.. **Como fazer experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4^a. Edição. Editora Bookman. Porto Alegre, 2010.

BAKER, R. **Controlled Release of Biologically Active Agents**. John Wiley & Sons: New York, NY, p. 206-214, 1986.

BEATUS, Y.; RAZIEL, A.; ROSEMBERG, M.; KOPELMAN, I.;J.. **Spray-drying microencapsulation of paprika oleoresin**. Lebensmittel – Wissenschaft & Technologie, v. 18, n.1, p. 28-34, London, 1985.

BECKETT, S. T.; FRANCESCONI, M.G.; GEARY, P.M.; MACKENZIE, G.; MAULNY, A.P.E. Journal of Carbohydrate Research, v. 292, p. 21-38, 2006.

BEMILER, J.N.; WHISTLER, A.J.. **Industrial gums: Polyssacarides and their derivatives**. p.642, Academic Press, San Diego: 1993.

BERISTAIN, C.I.; MENDOZA, R.E.; GARCIA, H.S.; VASQUEZ, A. **Cocrystallization of Jamaica granules (*Hibiscus sabdar fa L*)**. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie. v. 27, n.4, p.347-349, 1994.

BERISTAIN, C.I.; GARCIA, H.S.; VASQUEZ, A.; VERNON-CARTER, E.J. **Encapsulation of Orange peel oil by co-crystallization**. Lebensmittel-Wissenschaft und-Tecnologie. v. 29, n.7, p.645-647, 1996.

BERSET, C.. **Natural red colorant effectiveness as influenced by absorptive support**. Journal of Food Science, v.60, p.858-861, 1995.

BHANDARI, B.R.; DATTA, N.; D'ARCY, B.R.; RINTOUL, G.B. **Co-crystallization of honey with sucrose**, Lebensmittel-Wissenschaft und-Tecnologie. v. 31, n.2, p.138-142, 1998.

BHANDARI, B.R.; HARTEL, R.W.. **Co-crystallization of sucrose at high concentration in the presence of glucose and fructose**, Journal of Food Enginering and Physical Properties, v.67, n.5, p.1197-1802, 2002.

BOBBIO,P.; BOBBIO, F. **Química do processamento de alimentos**. 2ª. Edição. Livraria Varela. São Paulo, 1992.

BRASIL. **Resolução – CNNPA no. 12, de 1978**. Aprova as Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro. DOU: 24/07/1978. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78.pdf. Acesso em: 04 jul. 2011.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F..**Anthocyanins as natural food colours – selected aspects**. Journal of Food Chemistry, v. 58, n.1-2, p. 103-109, 1997.

BRITO, A.B.N. **Estudo da cristalização da lactose em diferentes solventes**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2007.

BRITO, A.B.N; GIULIETTI, M.. **Study of lactose crystallization in water-acetone solutions**. Journal of Crystal Research and Tecnology, v.42, n. 6, p. 583-588, 2007.

BROIDO, A.; HOUMINER, Y.; PATAI, S. **Phys. Org.**, Journal of the Chemical Society, n. 5, p. 411–414, 1966.

BUBNIK, Z.; KADLEC, P.; URBAN, D.; BRUHNS, M.. **Solutions of pure saccharides. Sugar Technologists Manual**, Ed. Bartens, 8th edition, Grafische Kunstanstalt & Verlag Jos., Germany, p. 124-132, 1995.

CABREIRA, V.; SANTANA, R. C.. **Análise Instrumental aplicada à polímeros: Projeto UFRGS-11-2009**. Disponível em: http://chasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/index.html. Acesso em: 20/10/2012.

CAIRA, M.R.. **Molecular complexes of sulfonamides. 2.1:1 complexes between drug molecules: Sulfadimidine-acetylsalicylic acid and sulfadimidine-4-aminosalicylic acid**, v. 22, p. 193-200, 1992.

CASTRO, L.A.S. **Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura**. Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Documentos 93, Pelotas, 2002.

CHEN, A.C. **Ingredient technology by the sugar co-crystallization process. Journal of Sugar**, v. 96, n.º. 1152, p. 493-496, 1994.

CHEN, A.C.; VEIGA, M.F.; RIZZUTO, A.B. **Co-crystallization an encapsulation process**. Food Technology, v. 42, n. 11, p. 87-90, 1988.

CHIANG, HO-JU. **Anthocyanins pigment, nonvolatile acid and sugar composition of blackberries**. Dissertação de Mestrado, Oregon State University, 1999.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex Standard 212-1999 – Sugar**. Revisão 2001.

CROWLEY, K.J.; ZOGRAFI, G.. **Cryogenic grinding of indomethacin polymorphs and solvates: Assessment of amorphous phase formation and amorphous phase physical stability**. Journal of Pharmacy Science, v.91, p. 492-507, 2002.

CULLITY, B.D.. **Elements of X-Ray Diffraction**, EUA: Addison-Wesley, 1956.

CULLITY, B.D.. **Elements of X-Ray Diffraction**, 2th Edition, London: Addison-Wesley, 1978.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N. **Co-crystallization of yerba mate extract (*Illex paraguariensis*) and mineral salts within sucrose matrix**. Journal of Food Engineering, v.80, p. 573-580, 2007.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N. **Microstructure of minerals and yerba mate extract co-crystallized with sucrose**. Journal of Food Engineering, v. 96, p. 410-415, 2009.

DE ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z., **Evaluation of colours and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system**. Journal of Inovative Food Science and Emerging Technologies, v8, p.347-352, 2007.

DESAI, K.G.H.; PARK, H.J. **Recent developments in microencapsulation of food ingredients**. Drying Technology, v. 23, p. 1361-1394, 2005.

DONADIO, L.C.. **Produtividade, qualidade e diversificação**. Revista Frutas e Cia. SP, v.1, p. 4-6, 2000.

DZIEZAK, J.D. **Microencapsulation and encapsulated ingredients**. Journal of Food Technology, v.42, n. 151, p.136-148, 1988.

EDWARDS, L.W.; HILLDALE, N.J. **Co-crystallization of dextrose and sucrose on cereal products**. United State Patent n°. 4,101,680, 1978.

EGGLESTON, G.; TRASK-MORRELL, B.J.; VERCELLOTTI, J.R.. **Use of differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis to characterize the thermal degradation of crystalline sucrose and dried sucrose-salt residues**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.44, p.3319-3325, 1996.

EGGLESTON, G.; VERCELLOTTI, J.R.; EDYE, L.A; CLARKE, M.A.. **Effects of salts on the initial thermal degradation of concentrated aqueous solutions of sucrose**. Journal of Carhboydrate Chemistry, v.15, p.81-94, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) – Divisão Embrapa Clima Temperado: **Sistemas de produção da Amora-Preta**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Acesso em : 01/07/2011.

ETTER, M.C.. **Hydrogen bonds as design elements in organic chemistry**. Journal of Physical Chemistry, v. 95, p. 4601-4610, 1991.

ETTER, M.C.; REUTZEL, S.M.. **Hydrogen bond directed cocrystallization and molecular recognition properties of acyclic imides**. Journal of American Chemistry Society, v. 113, p. 2586-2598, 1991.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Ateneu. 2ª edição, 1999.

FANG, Z.; BHANDARI, B.. **Encapsulation of polyphenols: a review**. Journal of Trend in Food Science and Technology, v. 21, p. 510-523, 2010.

FARAGO, P. V.; RAFFIN, R. P.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; ZAWADZKI, S. F. **Physicochemical Characterization of a Hydrophilic Model Drug-Loaded PHBV Microparticles Obtained by the Double Emulsion/Solvent Evaporation Technique**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 19, n. 7, p. 1298-1305, 2008

FAVARO, M.M.A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação como corantes**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

FLINK, J.M. **Structure and structure transitions in dried carbohydrate materials**. In: Physical Properties of Foods, Ed. Peleg, M. e Bagley, E.B. , AVI Publishing Co., Westport, p. 473-521, 1983.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L.; DAMODARAM, S. **Química de Alimentos**. Porto Alegre: Editora Artmed. 4ª edição, 2010.

FERREIRA, D.S.. **Compostos bioativos em amora-preta e encapsulação do seu extrato antociânico por geleificação términca com curdlana**. Dissertação de Mestrado, Unicamp, Campinas, 2008.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C.P.; AGUIRRE, J. M.. **Secagem por atomização de polpa de amora-preta usando maltodextrina como agente carreador**. Brazilian Journal of Food Technology, v.15, n.2, p. 157-165, 2012.

FRANCIS, F.J.. **Food Colorants: anthocyanins**. Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.28, n.4, p.273-314, 1989.

FRANCIS, F.J. **Anthocyanin as food colores**. Modern Herbal. London, tiger Books International, v.4, p.52, 1975.

GABARRA, P.; HARTEL, RW.. **Corn syrup solids and their saccharide fractions affect crystallization fo amorphous sucrose**. Journal of Food Science, v.63, p.523-528, 1998.

GARCIA, E.E.C.; ARDITO, E.F.G.; GROSSO, C.R.F.; LEITE, R.S.S.F.; SAVITCI, L.A.; GASPARINO FILHO, J.; PINTO NETO, M.. **O uso de polietileno de baixa densidade (PEBD) para embalagem de até 5Kg de açúcar cristal e refinado**. Cetea – ITAL, 8 p., 1992.

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C.N. **Encapsulation in the food industry: a review**. International Journal of Food Sciences and Nutrition, v. 50, p. 213-224, 1999.

IONASHIRO, M.. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Editora Giz, 2005.

ISLAM, I.; LANGRISH, T.A.G. **Comparing the crystallization of sucrose and lactose in spray dryer**. Journal of Food and BioProducts Processing, v. 87, p. 87-95, 2009.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E.. **Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems.** Journal of Biochemical Engineering; v. 14, p.217, 2003.

GLORIA, H.; SIEVERT, D. **Changes in the physical state of sucrose during dark chocolate processing.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 49, p.2433-2436, 2001.

HARTEL, R.W., SHASTRY, A.V.. **Sugar crystallization in food products.** Journal of Critical Review in Food Science and Nutrition, v.1, n1, p.49-112, 1991.

HARTEL, R.W.. **Solid-liquid equilibrium.** Journal of Physical Chemistry of Foods, Ed. Schuwartzberg, H.G. HARTEL, R.W., AVI Publishing Co., Westport, p. 47-81, 1992.

HARTEL, R.W. **Controlling sugar cristalization in food products.** Journal of Food Technology, v.47, p.99, 1993.

HARTEL, R.W.. **Crystallization in Foods.** Springer, 2001.

HASSANI, B.; SHARIFI, A.. **Application of anthocyanin extracted from barberry in food processing.** International Journal of Agriscience, v. 2, p. 522-528, 2012.

HAWKES, P. W.; SPENCE, J.C.H. **Scanning Electron Microscopy, InScience of Microscopy,** New York: Springer, 2007.

HOMAYOONI, R.A.. **Improving the quality of little-fat ice-cream by rather hydrolize of mixture of ice-cream protein with kimozone.** Journal of Iran Agriculture Science Magagize, v.36, p.301-308, 2007.

HUGOT, E. **Handbook of cane sugar engineering.** Elsevier Science. 1986.

HURTTA, M.; PITKÄNEN, I.; KNUUTINEN, J.. **Melting behavior of D-sucrose, D-glucose and D-fructose.** Journal of Carbohydrate Research, v.339, n.13, p. 2267-2273, 2004.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. **Anthocyanins and betalains**. Journal of D. Natural Food Colorants, London: Blackie Academic, p. 183-241, 1992.

JACKSON, K.A. **Kinetic Processes: Crystal growth, diffusion and phase transitions in materials**. John Wiley and Sons, 2004.

JAYASANKAR, A.; SOMWANGTHANAROJ, A.; SHAO, Z.J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.. **Cocrystal formation during grinding and storage is mediated by amorphous phase**. Journal of Pharmaceutical Research, v. 23, p. 2381-2392, 2006.

KELLY, F.H.C.; BROWN, D.W.. **Thermal decomposition and colour formation in aqueous sucrose solutions**. Journal of Sugar Technology Review, v.6, p. 1-48, 1978/79.

KING, A.H. **Encapsulation of food ingredients**, In: RISCH, S.J; REINECCIUS, G.A. (Ed.) **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**, Washington DC: ACS Symposium Series, p. 26-39, 1995.

LAOS, A.K.; KIRS, B.E.; KIKKAS, C.A.; PAALME, D.T.. **Crystallization of the supersaturated sucrose solutions in the presence of fructose, glucose and corn syrup**. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering, Copenhagen, 2007.

LEE, J.W.; THOMAS, L.C.; JERRELL, J.; FENG, H.; CADWALLADER, K.R.; SCHMIDT, S.. **Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II)**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.59, p.702-712, 2011.

LEIVAS, C. L.; COSTA, F. J. O. G.; ALMEIDA, R. R., FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; SCHNITZLER, E.. **Structural characteristics, physico-chemical, thermal and pasting properties of potato (*Solanum tuberosum*, L.) flour: study of different cultivars and granulometries**. Journal of Thermal Analysis Calorimetry, 2012; doi 10.1007/s 10973-012-2395-2.

LIDE, D. R.. **Handbook of Chemistry and Physics**, 74th ed.; CRC: Boca Raton, USA, 1993–1994.

LOPES, T.J.; XAVIER, M.F.; QUADRI, M.G.N.; QUADRI, M.B.. **Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade.** Revista Brasileira Agrociência, v.13, n.3, p. 291-297, Pelotas, 2007.

LÓPEZ, O.P.; JIMÉNEZ, A.R.; VARGAS, F.D.. **Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability.** Journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.40, n.3, p.173-289, 2000.

MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PÉREZ-ALONSO, J. J.; GONZALÉZPARAMÁS, A. M.; **Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans. (Phaseolus vulgaris L.).** Journal of Food Chemistry; v. 94(3), p. 448. 2006.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S.. **Flavour encapsulation and controlled release – a review.** Journal of Food Science and Technology, v.41, p.1-21, 2006.

MARKOV, I.V.. **Crystal growth for beginners: Fundamentals of nucleation, crystal growth and epitaxy,** World Scientific, 2003.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Antocyanins in fruits, vegetables and grains.** CRC Press, London, 362 p., 1993.

MCHEM, P. M.G.. **The co-crystallisation of sugars by the supersaturation processes.** Tese (Doutorado em Filosofia PhD.) - University of Hull, 2008.

MEDEIROS, M. L.; LANNES, S.C.S.. **Propriedades físicas de substitutos do cacau. Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 30, p. 243-253, Campinas, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques.** 2.ed., Florida-USA: CRC Press, 1991. 354p.

MERCK & Co. INC. **The Merck Index.** 11th. Ed., Rohway Ed., New York, 1989.

MORISSETTE, S.L.; ALMARSSON, O.; PETERSON, M.L.; REMENAR, J.F.; READ, M.J.; LEMMO, A.V.; ELLIS, S.; CIMA, M.J.; GARNER, C.R.. **High-throughput crystallization: Polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids**. Journal of Advanced Drug Delivery Reviews., v.56, p. 275-300, 2004.

MOTA, R.V. **Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extractor caseiro**. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos, n^o. 26, v.2, abr-jun, p. 303-308, 2006.

MOZAFARI, M.R. **Bioactive entrapment and targeting using nanocarrier technologies: an introduction**. In M.R. Mozafari (Ed.), Nanocarrier technologies: frontiers of nanotherapy (p. 1-16). The Netherlands: Springer, 2006.

MOZAFARI, M.R.; KHOSRAVI-DARANI, K.; BORAZAN, G.G.; CUI, J.; PARDAKHTY, A.; YURDUGUL, S.. **Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology**. Journal of Food Properties, v. 11, p. 833-844, 2008.

MÜLLER, P. S.. **Microencapsulação do óleo essencial de laranja**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós graduação em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Paraná, 2011.

NARAYAN, M.S.; AKHILENDER NAIDU, K.; RAVISHANKAR,G.A.. **Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation**. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 60, n.1, p. 1-4, 1999.

NORI, M.A **Ingredientes e aditivos microencapsulados na indústria de alimentos**. Revista de Engenharia de alimentos, setembro, p. 33-35, 1996.

NÝVLT, J.. **The kinetics of industrial crystallization**, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985.

NÝVLT, J.; HOSTOMSKY, J.; GIULETTI, M.. **Cristalização**. Editora UFSCar/IPT, São Carlos, 2001.

OETJEN, G-W.; HASELEY, P.. **Freeze-drying**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2004.

O'HAGAN, P.; HASAPIDIS, K.; CODER, A.; HELSING, H.; POKRAJAC, G. Particle size analysis of food powders. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, p.215-245, 2005.

ORDÓÑEZ, J. A. O.; RODRIGUEZ, M.I.C.; ALVAREZ; L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILÓN, F.G.G.; PERALES, L.L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnologia de Alimentos. Volume I: Componentes dos alimentos e processos**. Editora Artmed, Porto Alegre, 2005.

ŐRSI, F.. **Kinetic studies on the thermal decomposition of glucose and fructose**. Journal of Thermal Analysis, v. 5, p.329-335, 1973.

OTSUKA, M.; MATSUMOTO, T.; KANENIWA, N.. **Effect of environmental temperature on polymorphic solid-state transformation of indomethacin during grinding**. Journal of Chemical and Pharmaceutical Bulletin., v. 34, p. 1784-1793, 1986.

OTSUKA, M.; OFUSA, T.; MATSUDA, Y.; **Effect of environmental humidity on the transformation pathway of carbamazepine polymorphic modifications during grinding**. Journal of Colloids Surfaces. B. Interfaces, v. 13, p. 263-273, 1999.

OUIAZZANE, S.; MESSNAOUI, B.; ABDERAFI, S.; WOUTERS, J.; BOUNAHMIDI, T.. **Estimation of sucrose crystallization kinetics from batch crystallizer data**. Journal of Crystal Growth, p. 798-803, 2008a.

OUIAZZANE, S.; MESSNAOUI, B.; ABDERAFI, S.; WOUTERS, J.; BOUNAHMIDI, T.. **Modeling of sucrose crystallization kinetics: the influence of glucose and fructose**. Journal of Crystal Growth, p. 3498-3503, 2008b.

PADILHA, A.F.; AMBROZIO FILHO, F.. **Técnicas de análise microestrutural**. Editora Hemus. São Paulo: 2004.

PARIZE, A. L. **Desenvolvimento de sistemas microparticulados e de filmes a base de quitosana e corante natural cúrcuma**. Tese de doutorado, UFSC. Florianópolis, 2009.

PETERSON, M.S., JOHNSON, A.H. **Microencapsulation**. AVI Publishing Co: Westport, CT, p. 499-507, 1978.

POLAINA, J.; MacCABE, A.P., **Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications**, Springer, 2007.

POLING, E.B. **Blackberries**. Journal of Small Fruit and Viticulture., v. 14, n. 1-2, p. 38-69, 1996.

QUINTAS, M.; GUIMARÃES, C.; BAYLINA, J.; BRANDÃO, T.R.; SILVA, C.L.M.. **Multiresponse modeling of the caramelization reaction**. Journal of Innovative Food Science and Emerging Technology, v.8, p.316-315, 2007.

RAEMY A, SCHWEIZER TF.. **Thermal behaviour of carbohydrates studied by heat flow calorimetry**. Journal of Thermal Analysis, n. 28, p.95-108, 1983.

RAMOS-SANCHEZ, C.; REY, F. J.; RODRIQUEZ-MENDEZ, L.; MARTIN-GIL, F. J.; MARTIN-GIL, J.. Journal of Thermochemica Acta, v. 134, n.55, 1988.

RÉ, M. I. **Microencapsulação: Em busca de produtos inteligentes**. Revista Ciência Hoje, v.27, n.162, p. 24-29, 2000.

RICHARDS, G.N.; **Initial steps in thermal degradation of sucrose**. Journal of Internacional Sugar, v.88, p.145-188, 1986.

RISCH, S.J., REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients**. ACS Symposium series, 590, American Chemical Society, Washington, DC, 1995.

RAHMAN, S. **Food Properties Handbook**, CRC Press, Florida, 1995.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; NEHM, S.J.; SEEFELDT, K.F.; PAGAN-TORRES, Y.; FALKIEWICZ, C.J. **Reaction crystallization of pharmaceutical molecular complexes**. Journal of Molecular Phamaceutical., v.3, p. 362-367, 2006.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N.; NEHM, S.; JAYASANKAR, A.. **Process analytical technologies to analyze and control cocrystallization**. Journal of American Pharmaceutical Review, p. 1-7, 2007.

ROOS, Y.. **Water activity and physical states effects an amorphous food stability.** Journal of Food Processing and Preservation, n. 16, p. 433-447, 1993.

ROOS, Y. H. **Phase Transitions in Foods.** Academic Press. San Diego, 1995.

ROOS, Y., KAREL, M. **Diferencial scanning calorimetry study of phase transitions affecting the quality of dehydrated materials.** Biotecnol. Prog., 6, 159, 1990.

ROSA, E.D.; TSUKADA, M.; FREITAS, L.A.. **Secagem por atomização na indústria alimentícia.: fundamentos e aplicações.** 12p, 2009. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Ensino/Graduação/ Disciplinas/Exclusivo/Inserir/Anexos/Linkanexos/secag%20de%20materiais.pdf> . Acesso em: julho/2011.

ROSALEN, P.L.; PEARSON, S.K.; BOWEN, W.H.. **Effects of copper, iron and fluoride co-crystallized with sugar on caries development and acid formation in desalivated rats.** Journal of Archives on Oral Biology, v. 41 (11), p. 1003-1010, 1996.

SALEKI-GERHARDT, A.; ZOGRAFI, G.. **Non-isothermal and isothermal crystallization of sucrose from the amorphous state.** Journal of Pharmaceutical Research, n. 11, p. 1166-1173, 1994.

SAKAMOTO, K.; KISHIHARA, S.; MIURA, K.; SAKUDA, H.; KOIZUMI, Y.; TACHIBANA, Y.; KATAOKA-SHIRASUGI, N. **Browning of granulated sugar on heating below melting point.** Journal of Process Research Society Japanese. Sugar Refinery. Technology.v. 54, p.15-21, 2006.

SANTOS, A.B.; FERREIRA, V.P.; GROSSO, C.R.F. **Microcápsulas: Uma alternativa viável. Microencapsulação de Produtos Sensíveis à Oxidação Óleo-Resina de Páprica.** Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, v. 3, n.16, p. 26-30, 2000.

SANTOS, A.O.. **Difração de Raio-X de n-feixes na caracterização estrutural de monocristais sob ação de temperatura e campo elétrico.** Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2006.

SCHROOYEN, P.M.; VAN DER MEER, R.; DE KRUIF, C.G. **Microencapsulation: its application in nutrition.** Journal of Proceeding of the Nutrition Society, v. 60, p. 475-479, 2001.

SHALLENBERGER, R.S.; BIRCH, G. G.. **Occurrence and properties of sugars.** Journal of Sugar chemistry. Westport, CT: AVI publishing company. p 46-88, 1975.

SHARIFI, A. **Stydy extraction methods and stability of color extracted from barberry pigments.** International Journal of Agriscience, v.2, p.320-327, 2012.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. **Encapsulation of food ingredients.** Journal of Critical Review in Food Science and Nutrition, v. 33, n.6, p. 501-547, 1993.

SHASTRY, A.V.; HARTEL, R.W. **Crystallization during drying of thin sucrose film.** Journal of Food Enginnering, v.30, P. 75-94, 1996.

SHITTU, T.A.; LAWAL, M.O.. **Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages.** Food Chemistry, v. 100, n.1, p. 91-98, 2007.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.. **Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação.** Revista brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 39, n.1, São Paulo, 2003.

SILVA, A.T.C.; MARTINEZ, K.C.L.; BRITO, A.B.N.; GUILIETTI, M.. **Separation of glucose and fructose by freezing crystallization.** Journal of Crystallography Research Technology, v.45, n.10, p.1032-1034, 2010.

SIMKOVIC, I.; SURINA, I.; VRICAN, M.. **Primary reactions of sucrose thermal degradation.** Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, v.70, p.494-504, 2003.

SLADE, L., LEVINE, H.. **Non-equilibrium behavior of small carbohydrate-water systems.** Journal of Pure and Applied Chemistry, v. 60, n.12, p.1841-1864, 1988.

SLADE, L.; LEVINE, H. **A food polymer science approach to structure-property relation-ships in aqueous food systems: non-equilibrium behavior of**

carbohydrate-water systems, in Water relationships in Foods. Levine, H. and Slade, L., Eds. Plenum Press, NY, 1991.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E.C.; PEZZIN, A.P.T.; SILVA, D.A.K.; MEIER, M.M.; SOLDI, V. **Microencapsulação: inovação em diferentes áreas**. Health and Environmental Journal, v.7, n.2, 2006.

TRASK, A.; JONES, W.. **Crystal engineering of organic cocrystals by solid-state grinding approach**. Journal of Topics in Current Chemistry v. 254, p. 41-70, 2005.

TÜRKER, N.; ERDOGDU, F.; **Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.)**. Journal of Food Engineering; v.76(4), p. 579, 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de Bibliotecas. Teses, dissertações, monografias e trabalhos acadêmicos. Curitiba: Ed. da UFPR, 2000. v.2.

VANHAL, I.; BLOND, G.. **Impact of melting conditions of sucrose on its glass transition temperature**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 47, p.4285-4290, 1999.

VÁSQUEZ, A.; BERISTAIN, C.. **Cocrystalización de concentrado de pepino (*Cucumis sativa* L.)**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v.48, n.3, p. 567-572, 1998.

VILSTRUP, P. **Microencapsulation of food ingredients**. Surrey: Leatherhead Publication, 2001.

VIZZOTTO, M.. **Amora-preta: uma fruta antioxidante**. Embrapa, 2008. Disponível em: http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2008/amora-preta-uma-frut_antioxidante. Acesso em: 20/06/2012.

WROISTAD, R.E.; CULBERTSON, J.D.; NAGAKI, D.A.; MADERO, C.F. **Sugars and nonvolatile acids of blackberries**. J. Agric. Food Chem., v.28, p. 553-558, 1980.

WUNGTANAGORN, R.; SCHMIDT, S.J.. **Phenomenological study of enthalpy relaxation of amorphous glucose, fructose, and their mixture.** Journal of Thermochemica Acta, p. 369:95-116, 2001a.

ZENG, L.; SHANNON, M.C.; LESCH, S.M.. **Timing of salinity stress affects rice growth and yield components.** Journal of Agricultural Water Management, v.48, p. 191-206, 2001.

ZUIDAM, N.J; NEDOVIC, V.A. **Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing.** Editora Springer, Nova Iorque, 2010. E-book.