

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

Microencapsulação por liofilização de d-limoneno em maltodextrina e  
quitosana modificada

Camila Figueiredo Borgognoni

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:  
Prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes  
Pitombo

São Paulo

2005

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

Microencapsulação por liofilização de d-limoneno em maltodextrina e  
quitosana modificada

Camila Figueiredo Borgognoni

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador:  
Prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes  
Pitombo

São Paulo  
2005

Camila Figueiredo Borgognoni

Microencapsulação por liofilização de d-limoneno em maltodextrina e quitosana modificada

Comissão Julgadora da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

---

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

---

1º. examinador

---

2º. examinador

São Paulo, 2005.

## DEDICATÓRIA

A minha família e meus amigos, em especial a minha mãe pelo apoio incondicional e a meu pai, *in memoriam*, que de algum lugar está compartilhando conosco esta felicidade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes Pitombo, professor notável, pela orientação.

Ao Professor Bronislaw Polakiewicz e aos colegas Karine Gargione, Carla Aparecida Pedriali e Marcos Knirsch pela assistência.

Ao secretário Juarez Vieira de Souza pela atenção, ajuda e amizade.

Aos colegas e amigos Virgílio Tattini Junior e Chiu Chih Ming pela cooperação e estímulo.

Aos técnicos Gledson Manso Guimarães e Nilton de Moraes Bloisi pelo auxílio na parte experimental do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XII
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. Quitina / Quitosana.....	2
1.2. Microencapsulação.....	4
1.3. Liofilização.....	6
1.3.1. Água.....	9
1.4. d-limoneno.....	12
<b>2. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>3. CAPÍTULO 1 - Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização:</b>	
<b>1) estudo de estabilidade do produto líquido.....</b>	<b>14</b>
3.1. Resumo.....	15
3.2. Abstract.....	16
3.3. Introdução.....	17
3.4. Materiais e métodos.....	20
3.4.1. Materiais.....	20
3.4.2. Métodos.....	20
3.4.2.1. Microscopia óptica.....	20
3.4.2.2. Reologia.....	21
3.4.2.3. Espectrofotometria.....	21
3.4.2.4. Cromatografia gasosa – técnica do espaço livre.....	21
3.4.3. Parte experimental.....	22
3.4.3.1. Obtenção da quitosana succinilada.....	22
3.4.3.2. Preparo das emulsões.....	23
3.5. Resultados e discussão.....	25
3.6. Conclusões.....	31

<b>4. CAPÍTULO 2 - Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização:</b>	
<b>2) estudo da retenção e liberação do d-limoneno contido nas microcápsulas.....</b>	<b>32</b>
4.1. Resumo.....	33
4.2. Abstract.....	34
4.3. Introdução.....	35
4.4. Materiais e métodos.....	36
4.4.1. Materiais.....	36
4.4.2. Métodos.....	36
4.4.2.1. Determinação do teor de d-limoneno.....	36
4.4.2.2. Determinação da curva padrão de d-limoneno.....	37
4.4.2.3. Determinação do teor de d-limoneno nos liofilizados.....	37
4.4.3. Parte experimental.....	38
4.4.3.1. Obtenção da quitosana succinilada.....	38
4.4.3.2. Preparo das emulsões.....	38
4.4.3.3. Liofilização.....	39
4.4.3.4. Ensaio da liberação do d-limoneno dos liofilizados em função da umidade relativa.....	39
4.4.3.5. Ensaio da liberação do d-limoneno dos liofilizados em função da temperatura.....	40
4.5. Resultados e discussão.....	41
4.6. Conclusões.....	49
<b>5. CAPÍTULO 3 - Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização:</b>	
<b>3) estudos termodinâmicos da sorção de água e modelagem matemática.....</b>	<b>50</b>
5.1. Resumo.....	51
5.2. Abstract.....	52
5.3. Introdução.....	53



5.4. Materiais e métodos.....	54
5.4.1. Materiais.....	54
5.4.2. Métodos.....	54
5.4.2.1. Determinação das isotermas de sorção de água.....	54
5.4.3. Parte experimental.....	54
5.4.3.1. Obtenção da quitosana succinilada.....	54
5.4.3.2. Preparo das emulsões.....	55
5.4.3.3. Liofilização.....	55
5.5. Resultados e discussão.....	57
5.5.1. Isotermas de sorção de umidade.....	57
5.5.2. Cálculo dos calores totais de sorção.....	63
5.5.3. Cálculo dos coeficientes de difusividade.....	65
5.5.4. Cálculo das áreas superficiais e características dos poros.....	69
5.6. Conclusões.....	73
ANEXOS.....	74
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>93</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Estrutura química da quitina (POLYMAR, 2004).....	2
FIGURA 2.	Estrutura química da celulose (POLYMAR, 2004).....	2
FIGURA 3.	Ilustração de um krill (AWI, 2004).....	3
FIGURA 4.	Estrutura química do d-limoneno (The world of food science, 2004).....	13
FIGURA 5.	Estrutura química da quitina.....	17
FIGURA 6.	Estrutura química da quitosana.....	18
FIGURA 7.	Estrutura química da quitosana succinilada.....	18
FIGURA 8.	Fluxograma do processo de obtenção da quitosana succinilada.....	24
FIGURA 9.	Fotomicrografia da MA por microscopia óptica (aumento de 200x).....	26
FIGURA 10.	Fotomicrografia da QS por microscopia óptica (aumento de 400x).....	26
FIGURA 11.	Absorbância da QS ao longo do tempo sob diferentes temperaturas.....	27
FIGURA 12.	Absorbância da MA ao longo do tempo sob diferentes temperaturas.....	27
FIGURA 13.	Absorbância das QS e MA ao longo do tempo a 25°C.....	28
FIGURA 14.	Liberação de d-limoneno no espaço livre ao longo do tempo em QS e MA.....	29
FIGURA 15.	Representação dos filamentos de quitosana modificada englobando moléculas de água e d-limoneno.....	31
FIGURA 16.	Área do pico do cromatograma em função do volume de d-limoneno adicionado a 5 mL de água a 37°C.....	41
FIGURA 17.	Curva de liofilização de MA e QS.....	42

FIGURA 18. Isoterma de sorção de umidade de MA-L a 25°C.....	43
FIGURA 19. Isoterma de sorção de umidade de QS-L a 25°C.....	44
FIGURA 20. Liberação de d-limoneno em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.....	45
FIGURA 21. Liberação de d-limoneno em função do teor de umidade absorvida umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.....	46
FIGURA 22. Fotografia de MA-L quando submetidas a ambientes de umidades relativas de 31% (1), 69% (2), 79% (3) e 90% (4).....	47
FIGURA 23. Fotografia de QS-L quando submetidas a ambientes de umidades relativas de 31% (1), 69% (2), 79% (3) e 90% (4).....	47
FIGURA 24. Liberação de d-limoneno em função da temperatura para MA-L e QS-L.....	48
FIGURA 25. Isoterma de sorção de umidade de celulose microcristalina a 25°C.....	57
FIGURA 26. Isoterma de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C.....	58
FIGURA 27. Isoterma de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C.....	58
FIGURA 28. Isoterma de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C, segundo a equação de GAB.....	62
FIGURA 29. Isoterma de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C, segundo a equação de GAB.....	63
FIGURA 30. Calor total de sorção em função do teor de umidade para MA-L e QS-L.....	65
FIGURA 31. Teor de umidade absorvida ao longo do tempo, em diferentes umidades relativas a 25°C para MA-L.....	66

FIGURA 32. Teor de umidade absorvida ao longo do tempo, em diferentes umidades relativas a 25°C para QS-L.....	66
FIGURA 33. Coeficiente de difusividade em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.....	68
FIGURA 34. $V_{wl}$ em função de $t$ para MA-L e QS-L.....	71
FIGURA 35. Isósteres de sorção de umidade de MA-L.....	83
FIGURA 36. Isósteres de sorção de umidade de QS-L.....	83
FIGURA 37. Isócronas a 25°C para MA-L.....	87
FIGURA 38. Isócronas a 25°C para QS-L.....	87
FIGURA 39. Gráfico de $\ln(U_{RE-U}) \times t$ para MA-L.....	89
FIGURA 40. Gráfico de $\ln(U_{RE-U}) \times t$ para QS-L.....	89
FIGURA 41. $a/V_{wl}/(1-a)$ em função da atividade de água para MA-L e QS-L.....	92

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Tamanhos das partículas de óleo nas emulsões de maltodextrina e quitosana succinilada.....	25
TABELA 2.	Valores de índices de consistência e de comportamento de soluções suportes de maltodextrina e quitosana succinilada.....	30
TABELA 3.	Perda de d-limoneno durante as diferentes etapas do processo de encapsulação em maltodextrina e quitosana succinilada por liofilização.....	43
TABELA 4.	Valores de Mgm, Y, K, E, $r^2$ e n para MA-L.....	61
TABELA 5.	Valores de Mgm, Y, K, E, $r^2$ e n para QS-L.....	61
TABELA 6.	Parâmetros do modelo BET para MA-L e QS-L.....	70
TABELA 7.	Liberação de d-limoneno em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.....	75
TABELA 8.	Liberação de d-limoneno em função do teor de umidade absorvida para MA-L e QS-L a 25°C.....	75
TABELA 9.	Liberação de d-limoneno em função da temperatura para MA-L e QS-L, à pressão atmosférica.....	76
TABELA 10.	Umidade relativa de equilíbrio de soluções saturadas de sais de 15 a 35°C (Greenspan, 1977; Young, 1967).....	77
TABELA 11.	Dados experimentais para a construção da isoterma de sorção de umidade da celulose microcristalina a 25°C.....	78
TABELA 12.	Dados calculados pela equação de GAB para a construção da isoterma de sorção de umidade da celulose microcristalina a 25°C.....	78
TABELA 13.	Valores de Mgm, Y, K, E, $r^2$ e n para a celulose microcristalina.....	78
TABELA 14.	Dados experimentais para a construção de isotermas de sorção de umidade de MA -L a 15°C, 25°C e 35°C..	79

TABELA 15. Dados experimentais para a construção de isotermas de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C...	80
TABELA 16. Dados calculados pela equação de GAB para a construção de isotermas de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C.....	81
TABELA 17. Dados calculados pela equação de GAB para a construção de isotermas de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C.....	82
TABELA 18. Valores de calor de sorção (Q) em função do teor de umidade para MA-L.....	84
TABELA 19. Valores de calor de sorção (Q) em função do teor de umidade para QS-L.....	84
TABELA 20. Teor de umidade absorvida por MA-L ao longo do tempo em ambientes de diferentes umidades relativas.....	85
TABELA 21. Teor de umidade absorvida por QS-L ao longo do tempo em ambientes de diferentes umidades relativas.....	85
TABELA 22. Dados experimentais para a construção de isócronas de MA-L a 25°C.....	86
TABELA 23. Dados experimentais para a construção de isócronas de QS-L a 25°C.....	86
TABELA 24. Dados experimentais para a construção do gráfico $\ln(U_{RE}-U) \times t$ para MA-L.....	88
TABELA 25. Dados experimentais para a construção do gráfico $\ln(U_{RE}-U) \times t$ para QS-L.....	88
TABELA 26. Coeficientes de difusividade (D) em função da umidade relativa para MA-L a 25°C.....	90

TABELA 27. Coeficientes de difusividade (D) em função da umidade relativa para QS-L a 25°C.....	90
TABELA 28. Números estatísticos de camadas em função da atividade de água.....	91
TABELA 29. Dados experimentais das isotermas de sorção de umidade de MA -L e QS-L a 25°C.....	92

## RESUMO

A quitosana é um biopolímero produzido a partir da quitina, presente na casca de crustáceos. O grande interesse nesta substância é atribuído à sua diversidade de aplicações industriais. A quitosana utilizada neste estudo foi quimicamente modificada para tornar-se solúvel em água. Estudou-se a estabilidade de emulsões de d-limoneno com esta quitosana, a retenção e liberação do aroma contido nas microcápsulas liofilizadas e o comportamento higroscópico destas microcápsulas. Os mesmos estudos foram realizados com maltodextrina, para comparação, já que é um produto muito utilizado como agente de encapsulação de aromas. A estabilidade das emulsões foi analisada por espectrofotometria e por cromatografia gasosa associada à técnica da análise do espaço livre. As emulsões foram caracterizadas por microscopia óptica. A análise da liberação do aroma contido nas microcápsulas foi realizada em função da umidade relativa do ambiente e da temperatura. Observou-se boa estabilidade de emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada ao longo do tempo e características muito distintas em relação às observadas nas outras emulsões. Verificou-se 72% de retenção de d-limoneno em maltodextrina (40% p/p) e 62% de retenção de d-limoneno em quitosana modificada (1% p/p) após o processo de liofilização, sendo que durante todas as etapas do processo de encapsulação a perda de aroma em maltodextrina foi de 72%, enquanto em quitosana modificada foi de 50%. As microcápsulas de maltodextrina sofreram colapso estrutural em ambiente de 90% de umidade relativa. Os valores de umidades de monocamada das microcápsulas decaíram com o aumento da temperatura. O calor total de sorção de microcápsulas de quitosana modificada apresentou-se superior, assim como seu coeficiente de difusividade. A área superficial dos poros de microcápsulas de quitosana modificada apresentou-se superior, absorvendo água por capilares. Concluiu-se que microcápsulas de quitosana modificada podem apresentar-se como uma nova opção na escolha de agentes de encapsulação de aromas.



## ABSTRACT

Chitosan is a biopolymer derived from chitin, a component of the shells of crustaceans. It has been of interest due to their broad range of industrial applications. In this study, the chitosan used was chemically modified in order to become water soluble. It was studied the stability of d-limonene emulsion with modified chitosan, flavour retention and release and the hygroscopic behaviour of the microcapsules. The same tests were made with maltodextrin that is a product widely used as a flavour encapsulating agent. The stability of the emulsion was analyzed by spectrofotometry and by headspace/gas chromatography technique. The emulsion characterization was obtained by optical microscopy. Flavour release of microcapsules was measured under different relative humidities and temperatures. It was observed an improvement on the stability of d-limonene emulsion with modified chitosan along the time and different characteristics in relation to the other. Retention of d-limonene after lyophilization in maltodextrin (40% w/w) was 72% and 62% in modified chitosan (1% w/w). Although, flavour released after encapsulation process in maltodextrin was 72% while in modified chitosan was 50%. Maltodextrin microcapsules presented structural collapse in 90% of relative humidity. The humidity monolayers decreased with temperature increasing for both microcapsules. The heat of sorption for the chitosan microcapsules was greater as well as its diffusivity coefficient. Its pore superficial area was greater. It was observed that chitosan microcapsules absorb water by capillary absorption. The results suggest that chitosan microcapsules could be a new option of flavour encapsulating agent.

## 1. INTRODUÇÃO

A tecnologia de alimentos é um conjunto de conhecimentos científicos aplicados ao desenvolvimento de novos produtos para que a demanda expansiva de consumidores seja atendida. Sua utilização é de grande importância pois permite o consumo de alimentos perecíveis em longos períodos de tempo, de alimentos sazonais em todas as épocas do ano e de praticamente todos os tipos de alimentos em diversos lugares do planeta. Além disso, permite transformar subprodutos de indústrias de alimentos em matéria-prima para diversas indústrias, contribuindo para a economia dos países.

A indústria de pescado mundial produziu, no ano de 2001, 130 milhões de toneladas. Dentre os produtos da pesca, o camarão é a principal *commodity*, correspondendo a 18,8% do total de produtos da pesca internacionalmente negociados e os outros crustáceos a 7,2% (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2004).

O camarão é um crustáceo encontrado em ambientes marinho e de água doce e possui em sua casca um polímero denominado quitina. Dentre as fontes de quitina estão as carapaças de outros crustáceos, como o caranguejo e a lagosta, além de insetos, moluscos e fungos.

No Brasil, país que detém 12% da água doce do planeta, 8400 quilômetros de costa e 5.500.000 hectares de reservatórios de água doce, a pesca é um componente fundamental da economia. Existem cerca de 300 empresas especializadas na captura e processamento de pescado. As exportações de camarão tiveram um grande crescimento nos últimos anos, passando de US\$ 14,2 milhões em 1999 para US\$ 155 milhões em 2002 (SALTO, 2003). Não existem dados sobre a produção de carapaças de crustáceos como resíduo da indústria pesqueira, mas a estimativa mundial para produção industrial de quitina a partir de carapaças de crustáceos é de 50.000 toneladas anualmente (POLYMAR, 2004).

### 1.1. Quitina / Quitosana

Os polissacarídeos estão amplamente distribuídos na natureza. O interesse em seu estudo vem crescendo, uma vez que possuem estruturas e características únicas bastante diferentes dos polímeros sintéticos.

Dentre os muitos tipos de polissacarídeos, a celulose e a quitina são as fontes mais importantes de biomassa. A celulose é sintetizada principalmente em plantas enquanto a quitina é principalmente sintetizada em animais pequenos (Kurita, 2001).

A quitina é estruturalmente semelhante a celulose. A diferença estrutural entre as duas substâncias está nos grupos hidroxilas localizados na posição 2, na celulose, que na quitina foram substituídos por grupos acetamino, como pode-se observar nas estruturas abaixo (Figuras 1 e 2).

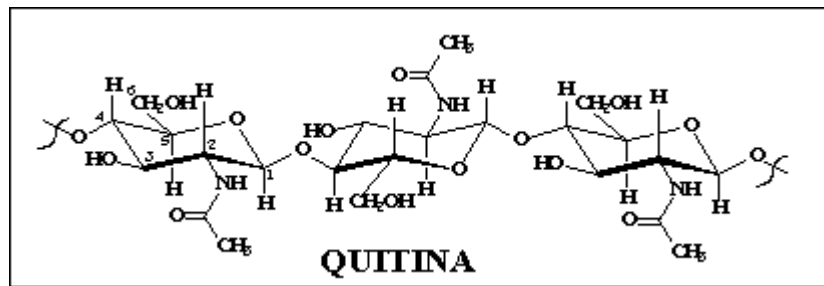


FIGURA 1. Estrutura química da quitina (POLYMAR, 2004)

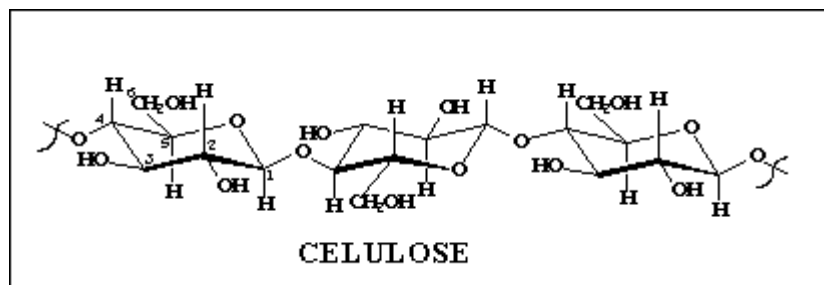


FIGURA 2. Estrutura química da celulose (POLYMAR, 2004)

A quitina está presente em diversas espécies, como fungos e insetos, mas as carapaças de artrópodes são as fontes mais acessíveis. As cascas contêm de 20 a 50% de quitina em base seca. Uma potencial fonte de

quitina para o futuro é o krill. O krill é um pequeno crustáceo marinho semelhante ao camarão (Figura 3). Possui grande importância na cadeia alimentar de animais marinhos, já que muitos se alimentam dele (Kurita, 2001).



FIGURA 3. Ilustração de um krill (AWI, 2004)

Por um processo de desacetilação alcalina retira-se da quitina uma parte da sua estrutura, o grupo acetil, obtendo-se a quitosana. O termo quitosana refere-se a uma série de polímeros que variam na massa molar (3.800 a 2.000.000 Dalton) e grau de desacetilação acima de 40%. São copolímeros de glucosamina e N-acetil glucosamina. Devido a grande disponibilidade de grupos amino, a quitosana possui carga positiva e tem a capacidade de formar interações químicas com materiais hidrofóbicos e aniônicos.

É uma substância facilmente solúvel em água acidificada (pH <6,5) que pode converter as unidades glucosaminas em uma forma solúvel  $R-NH_3^+$  (Chandy & Sharma, 1990).

Para a obtenção de uma quitosana solúvel em água faz-se reagir a quitosana com o reagente anidrido succínico, obtendo-se a quitosana succinilada.

No aspecto das questões regulamentares, a quitosana possui a classificação GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Foi aprovada em 1983 como um aditivo alimentar no Japão, sendo colocada na lista de aditivos naturais japoneses. A quitosana succinilada possui o registro CAS (*Chemical Abstracts Service*) número 78809-92-4, pela *American Chemical Society*.

Atualmente, a quitosana é uma substância utilizada na biomedicina, na indústria de cosméticos e de alimentos, na agricultura, como fibra têxtil, e no tratamento de água (Muzzaraelli *et al.*, 1989; Razdan & Petterson, 1994, 1996). Na biomedicina, é um biomaterial que favorece a reconstituição fisiológica da pele (Biagini *et al.*, 1992). É uma substância atóxica e sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioatividade faz com que seja utilizada como biomaterial na campo farmacêutico e médico (Chandy & Sharma, 1990; Illum, 1998; Senel & McClure, 2004). É utilizada na produção de medicamentos de liberação controlada (Kawashima *et al.*, 1985; Kristl *et al.*, 1995; Akbuga, 1993; Miyazaki *et al.*, 1995). Estuda-se sua ação antitumoral e imunológica (Suzuki *et al.*, 1986; Sugano *et al.*, 1992). Além disso, sua ação antimicrobiana (Seo *et al.*, 1992; Rhoades & Roller, 2000; Choi *et al.*, 2001; Jeon *et al.*, 2001; No *et al.*, 2002; Yoshihiko *et al.*, 2003) e sua capacidade de formação de filmes (Du *et al.*, 1997; Jiang & Li, 2001; Srinivasa *et al.*, 2004), desperta o interesse de estudiosos para sua utilização como conservante em alimentos e em embalagens antimicrobianas (Shahidi *et al.*, 1999; Roller & Covill, 1999; Ouattara *et al.*, 2000; Roller & Covill, 2000).

A quitosana apresenta potencial osteogênico (Borah *et al.*, 1992) e é muito utilizada na medicina veterinária (Minami *et al.*, 1992). Seu potencial biodegradável e atóxico ativa o mecanismo de defesa do animal para prevenir infecções e acelerar a cura de um ferimento. A quitosana tem propriedades emulsificantes, conservantes e capacidade de absorção de água. Sua utilização na produção de microcápsulas vem sendo muito estudada (He *et al.*, 1999; Félix, 1999; Davis, 1999; Tozaki *et al.*, 2002; Higuera *et al.*, 2004).

## 1.2. Microencapsulação

A microencapsulação é um processo de formação de uma matriz polimérica ou um material de cobertura ao redor de ingredientes sensíveis a fim de protegê-los de fatores ambientais. Todas as classes de aditivos alimentares podem ser encapsuladas, mas os aromas são os mais comuns (Risch & Reineccius, 1995).

A microencapsulação de aromas é usada para proteger os compostos voláteis da evaporação ou para protegê-los contra o desenvolvimento de aromas indesejáveis durante o armazenamento devido a sua reação com outros compostos. Algumas das técnicas de encapsulação incluem *spray drying*, *spray chilling*, extrusão, inclusão molecular e liofilização (Risch & Reineccius, 1995; Gouin, 2004). A liofilização e o *spray drying* consistem no aprisionamento de compostos voláteis em matrizes sólidas que reduzem sua mobilidade. Além disso, atualmente a microencapsulação está sendo bastante estudada principalmente devido a possibilidade de liberação controlada dos ingredientes microencapsulados (Jegat & Taverdet, 2000; Takeuchi *et al.*, 2002).

A habilidade dos carboidratos de reter voláteis durante o processamento faz com que se tornem agentes de encapsulação muito utilizados (Dziezak, 1988; Reineccius, 1991; Kenyon, 1995; Goubet *et al.*, 1998).

A maltodextrina é um polissacarídeo obtido pela hidrólise parcial fraca do amido e é uma substância muito utilizada como agente de encapsulação de aromas devido a sua funcionalidade, baixo custo e segurança (Man *et al.*, 1999; Partanen *et al.*, 2002 a,b ; Watanabe *et al.*, 2004).

Na área de encapsulação de aromas o estudo da estabilidade de emulsões é importante para a eficiência da encapsulação.

Existem estudos que visam aprimorar métodos de emulsificação para aumento na estabilidade de emulsões e que mostram a importância da formação de uma boa emulsão antes de processos de encapsulação de

aromas (Sheu & Rosenberg, 1995; Mongenot *et al.*, 2000). A estabilidade da emulsão é usualmente medida em termos de quantidade de óleo ou formação de nata durante um período de tempo em uma certa temperatura (Acton & Saffle, 1970). O tempo necessário para que ocorra a separação de fases de uma emulsão e o monitoramento da absorvância das emulsões também são métodos utilizados para o cálculo da estabilidade de emulsões (Pearson *et al.*, 1965; Reineccius, 1991; Reineccius *et al.*, 1995).

Uma das técnicas eficientes na encapsulação de aromas é a liofilização (Tseng *et al.*, 2000).

### **1.3. Liofilização**

A liofilização é um processo delicado de conservação devido as baixas temperaturas em que a secagem ocorre. Consiste na secagem de um produto previamente congelado no qual a maior parte da água é removida por sublimação (Pitombo, 1998; Gioielli & Pitombo, 1998).

É reconhecidamente o melhor método para produção de produtos desidratados de alta qualidade. Este processo de secagem possui uma série de vantagens que o torna o método preferido para a conservação de materiais biológicos (Mladenov *et al.*, 1993; Pitombo, 2001). O material permanece congelado até estar completamente seco, portanto elimina-se o encolhimento e a migração dos constituintes dissolvidos, ou seja, o processo retém a forma original do material. Modificações físico-químicas são inibidas, minimizando a perda de constituintes voláteis ou a perda de atividade biológica ou outra atividade na preservação da estrutura molecular (Pitombo *et al.*, 1994; Pitombo, 1999; Pitombo & Lima, 2003). O produto liofilizado possui uma textura porosa, sendo prontamente reconstituído (quando imerso em água) ao seu respectivo tamanho e forma originais (Pitombo, 1998).

É um processo de não-equilíbrio, está sob controle cinético e envolve estados vítreos meta-estáveis ao invés de equilíbrio termodinâmico de fases (Franks, 1991). Portanto, o entendimento da liofilização está relacionado às

questões estruturais, como as transições vítreas, e os fenômenos reológicos (Pitombo, 1989).

Os produtos liofilizados possuem boa estabilidade durante o armazenamento, resultando em longo tempo de vida-de-prateleira (Pitombo, 1989; Fitzpatrick & Saklatvala, 2003).

A liofilização é, reconhecidamente, o melhor método de conservação de substâncias voláteis dentre os métodos de secagem. Nas condições de liofilização, o coeficiente de difusão das moléculas de voláteis é muito menor que o da água, ocorrendo assim a retenção dessas moléculas, mesmo aquelas que tenham a pressão de vapor maior que a da água. Em escala macromolecular, a retenção de voláteis ocorre pelo aprisionamento de moléculas em microrregiões da matriz liofilizada. O processo de alojamento dos voláteis em microrregiões se inicia com o congelamento da solução. Os voláteis são retidos na matriz suporte da liofilização, antes da sublimação do gelo. Quando soluções de compostos orgânicos, como por exemplo açúcares, são resfriadas, a etapa de nucleação dos cristais de soluto é com frequência inibida, não havendo, portanto, a formação de uma mistura eutética sólida. Continuando o resfriamento, mais gelo puro é formado, deixando a solução intersticial cada vez mais concentrada. Finalmente, devido a alta concentração de soluto e baixa temperatura, as forças intermoleculares dentro da solução tornam-se tão grandes, que esta sofre uma transição vítrea, solidificando-se no estado amorfo (Giolielli & Pitombo, 1998).

A capacidade de substâncias amorfas reterem outras moléculas é consequência da existência de volume livre nesses sólidos. O estado cristalino, por causa do seu limitado volume livre, é incapaz de acomodar impurezas na sua estrutura. Daí ser a cristalização sucessiva uma técnica conhecida de purificação de substâncias (Giolielli & Pitombo, 1998).

Emulsões de óleo em solução de açúcar liofilizadas, mesmo quando



lavadas com hexano para eliminação do óleo superficial, demonstraram resistir à oxidação. No entanto, ao se provocar o colapso, pela adição de água, a oxidação se inicia prontamente. Analogamente, compostos voláteis retidos em uma matriz sólida liofilizada não são removidos, nem mesmo

quando a matriz é pulverizada e a seguir colocada sob pressão reduzida durante várias horas. No entanto, a eliminação dos voláteis ocorre instantaneamente quando a matriz entra em colapso estrutural. Um exemplo deste fenômeno, extraído do cotidiano, pode ser observado ao se despejar água quente sobre o café solúvel, quando instantânea e simultaneamente com a dissolução do pó ocorre a liberação do aroma de café (Gioielli & Pitombo, 1998).

Outra característica importante no processo de liofilização é seu alto custo, tanto para o capital de investimento como para a operação do processo. Portanto, o uso da liofilização na indústria de alimentos está restrito aos produtos de alto valor agregado, como café, chá e infusões, ingredientes para comida pronta, como, legumes, macarrão, carne, pescado, além de várias ervas aromáticas (Ratti, 2001).

O controle da perda de compostos voláteis durante os processos de desidratação de alimentos é um fator importante na manutenção da qualidade dos produtos secos. Os compostos voláteis estão diretamente relacionados com as qualidades organolépticas dos alimentos.

O critério de qualidade tem se tornado progressivamente mais importante para escolha do consumidor. Assim, produtos industriais e ingredientes têm de oferecer propriedades convenientes que tornem o produto processado o mais próximo possível do produto fresco. Ao mesmo tempo, as demandas de novos mercados na indústria alimentícia estão convergindo para o uso de produtos liofilizados, como por exemplo, frutas desidratadas para uso em produtos matinais, cereais, sorvete ou fabricação de massa.

Embora há muito tempo existam indústrias de liofilização no Brasil, sua produção era totalmente voltada para exportação. Por ser mais caro, o produto liofilizado era preterido por produtos mais baratos, não se levando em conta a sua superior qualidade.

Devido à crescente urbanização e conseqüente mudança de hábitos alimentares, a pesquisa e o desenvolvimento na área de alimentos devem atentar para as novas necessidades impostas pela sociedade. A industrialização de alimentos deve se intensificar nos próximos anos, haverá portanto, maior demanda por novos procedimentos industriais, desenvolvidos a custos cada vez mais competitivos. Assim sendo, espera-se que a liofilização desempenhe um papel cada vez mais importante para a conservação de alimentos.

### **1.3.1. Água**

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

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

O principal e essencial meio para a medição da mobilidade da água é através da função que existe entre teor de umidade (U) e atividade de água

(Aa). A atividade de água é definida como sendo o quociente entre a pressão de vapor da água presente no produto (P) e a pressão de vapor da

água pura (Po), na mesma temperatura. A seguinte equação define esta relação, apresentando também o conceito de umidade relativa de equilíbrio (URE):

$$Aa = \frac{P}{Po} = \% \frac{URE}{100}$$

Baseado no conceito termodinâmico de potencial químico da água, Aa é utilizada como um índice de quão satisfatoriamente está sendo feito o controle do comportamento da água em sistemas alimentares (Labuza, 1984), bem como é o parâmetro que controla a força motora em operações de remoção de água, sendo portanto essencial ao planejamento de processos (Ginsburg, 1981). A atividade de água caracteriza o estado da água nos alimentos, ou seja, é uma medida da disponibilidade da água para promover alterações físicas, químicas ou biológicas.

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

O final de uma secagem é em geral determinado pela atividade de água desejável ao produto acabado (Iglesias & Chirife, 1976 a, b; Kapsalis, 1981, 1986).

Isotermas de sorção de umidade combinadas com equações de transporte de massa, ou seja, equações do tipo força motora / resistência são utilizadas para predição do tempo de armazenamento baseados numa

atividade de água crítica, em relação a algum atributo do alimento em um sistema definido de embalagem sob condições ambientes estabelecidas (Pitombo, 1998).

Utilizam-se modelos matemáticos para predição do comportamento isotérmico de sorção de água em produtos. Um modelo bastante utilizado é o de Brunauer-Emmett-Teller (BET).

A equação BET foi primeiramente postulada por Brunauer *et al.* (1938). Esta equação pode se derivada de mecanismos cinéticos e

estatísticos, como também de considerações termodinâmicas. A equação BET é:

$$M_w = \frac{M_{bm} * B_{bt} * a}{(1 - a) * [1 + (B_{bt} - 1)a]}$$

sendo,

$M_{bm}$ , o conteúdo de umidade na monocamada

$B_{bt}$  está relacionado ao calor de sorção e

$a$ , a atividade de água do produto.

Segundo Labuza (1968), a equação se aplica na faixa de atividade de água entre 0,05 a 0,45. O conceito de monocamada é útil devido a sua relação com os vários aspectos físicos e químicos da deterioração em alimentos desidratados (Iglesias & Chirife, 1976). Além disto, o valor da monocamada do BET é um método bastante efetivo para se estimar a quantidade de água ligada a pontos polares específicos nos alimentos desidratados (Mclaren & Rowen, 1952; Duckworth & Smith, 1963).

O modelo Guggenheim-Anderson-de-Boer (GAB) é um modelo de adsorção semiteórica, multimolecular e homogênea e tem sido considerado o modelo que melhor se ajusta para muitos alimentos em uma faixa ampla

de atividade de água (Van Der Berg, 1985; Lomauro *et al.*, 1985 a, b) e pode ser escrito como:

$$M_w = \frac{Mgm * Y * K * a}{(1 - K * a) * (1 - K * a + Y * K * a)}$$

sendo,

a, a atividade de água

Mgm, a umidade da monocamada GAB (g água/100g de sólido seco)

Y e K constantes relacionadas à temperatura efetiva.

A equação da isoterma é uma extensão de dois parâmetros do modelo BET que se mostra com a introdução do parâmetro K. Se K é menor que a unidade, uma menor sorção que aquela demandada pelo modelo BET é prevista e permite à isoterma GAB ser bem sucedida em atividades de água acima de 0,90.

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

$$\frac{a}{M_w} = Aa^2 + Ba + C$$

$$A = \frac{K}{Mgm} \left[ \frac{1}{Y} - 1 \right]$$

$$B = \frac{1}{Mgm} \left[ 1 - \frac{2}{Y} \right]$$

$$C = \frac{1}{Mgm * Y * K}$$

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

$$Mgm = \left[ \frac{1}{(B^2 - 4*A*C)} \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$K = -\frac{2 * A * Mgm}{B * Mgm + 1}$$

$$Y = \frac{1}{Mgm * C * K}$$

Nos últimos anos, o modelo matemático mais aceito e eficiente para descrever as isotermas de sorção em alimentos tem sido o modelo GAB (Labuza *et al.*, 1985; Tsami *et al.*, 1990; Okos *et al.*, 1992).

#### 1.4. d-limoneno

O d-limoneno é um hidrocarboneto cíclico insaturado, principal componente volátil existente na casca da laranja e do limão, sendo um dos responsáveis pelo odor característico dessas frutas. Sua estrutura está representada na figura 4.

No suco de laranja, o d-limoneno representa 70-90% do óleo essencial presente no suco das frutas cítricas, fazendo parte da fração insolúvel em água dos aromas (Braddock & Cadwallader, 1995).

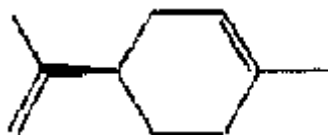


FIGURA 4. Estrutura química do d-limoneno (World of Food Science, 2004).

É o composto aromático mais utilizado em estudos de retenção de aromas (Soottitantawat *et al.*, 2003; Boutboul *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2001).

## **2. OBJETIVO GERAL**

Objetivou-se sintetizar uma quitosana modificada, solúvel em água; estudar a estabilidade de suas emulsões com d-limoneno para obtenção de microcápsulas por liofilização e avaliar as microcápsulas quanto à retenção de aroma, comportamento higroscópico e liberação de aroma.

### **3. CAPÍTULO 1**

**Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização:**

**1) estudo de estabilidade do produto líquido**



### **3.1. Resumo**

A quitosana é um biopolímero produzido a partir da quitina, presente na casca de crustáceos. Atualmente, o amplo estudo de suas propriedades é atribuído a sua diversidade de utilizações nas áreas farmacêutica e alimentícia. A quitosana utilizada neste estudo foi quimicamente modificada para tornar-se solúvel em água (quitosana succinilada). Estudou-se a estabilidade de emulsões de d-limoneno com esta quitosana para que estes dados sejam úteis na sua posterior utilização como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização. Sua estabilidade foi analisada por espectrofotometria, sob diferentes temperaturas, e por cromatografia gasosa associada à técnica da análise do espaço livre, à temperatura ambiente. Sua caracterização foi feita por microscopia óptica. Emulsões de d-limoneno com maltodextrina foram utilizadas para comparação já que maltodextrinas são muito usadas como agentes de encapsulação de aromas. Observou-se boa estabilidade de emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada ao longo do tempo e características muito distintas em relação às observadas em emulsões de d-limoneno com maltodextrina. Pode-se concluir neste estudo que emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada apresentaram características favoráveis à encapsulação de aromas.

Palavras-chave: Quitosana modificada. Estabilidade de emulsões.

### **3.2. Abstract**

Chitosan is a biopolymer derived from chitin, a component of the shells of crustaceans. Recently, special attention has been given to the study of the chitosan properties as a consequence of its wide application in pharmaceutical and nutritional areas. In this study, the chitosan used was chemically modified in order to become water soluble (succinyl chitosan). It was studied the stability of succinyl chitosan emulsion with d-limonene aiming at results be useful in a subsequent use of the succinyl chitosan as d-limonene encapsulating agent by lyophilization. The stability of the emulsion was analyzed by spectrofotometry, under different temperatures, and by headspace/gas chromatography technique, at room temperature. The emulsion characterization was obtained by optical microscopy. Maltodextrin emulsions with d-limonene were used for comparison, since maltodextrins are widely used as a flavour encapsulating agent. It was observed a good stability of succinyl chitosan emulsions with d-limonene along the time and different characteristics in relation to the maltodextrin emulsions with d-limonene. It can be concluded from this study that succinyl chitosan emulsions with d-limonene present favorable characteristics to flavour encapsulation.

Keywords: Modified chitosan. Emulsions stability. Lyophilization.

### 3.3. Introdução

A quitina, subproduto da casca de crustáceos, é uma substância cuja estrutura é semelhante à da celulose sendo considerada (depois desta) o polímero mais abundante do planeta. Por um processo de desacetilação alcalina, retira-se da quitina uma parte da sua estrutura obtendo-se a quitosana. Com isso, obtém-se uma substância facilmente solúvel em água acidificada e que tem a capacidade de formar interações químicas com materiais hidrofóbicos e aniônicos, pois possui grupos catiônicos, além de formar compostos biodegradáveis. Para a obtenção de uma quitosana solúvel em água, a quitosana succinilada, faz-se reagir a quitosana com o reagente anidrido succínico. As estruturas químicas da quitina e da quitosana estão representadas nas figuras 5 e 6. Verifica-se que parte dos radicais acetil na quitina foram retirados, permanecendo radicais amina na quitosana. A figura 7 representa a estrutura química da quitosana succinilada onde verifica-se que os radicais amina reagiram com radicais anidrido succínico, tornando a quitosana succinilada solúvel em água.

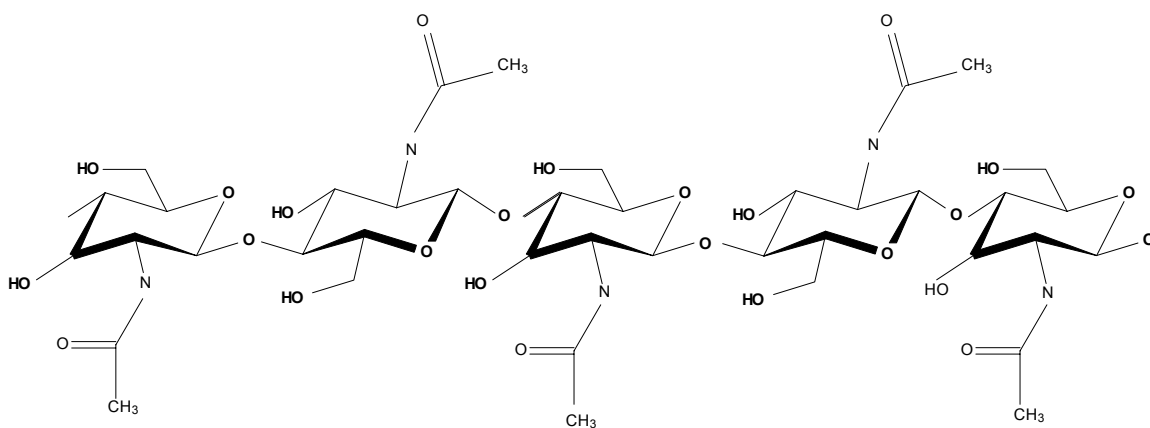


FIGURA 5. Estrutura química da quitina.

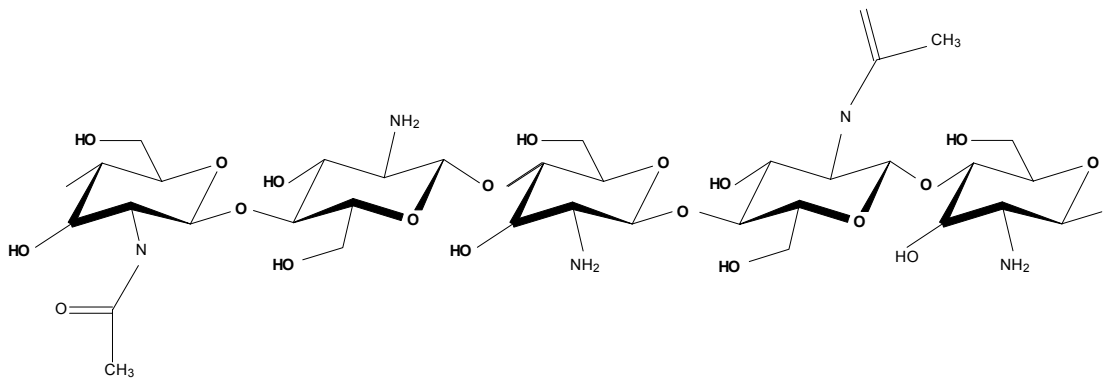


FIGURA 6. Estrutura química da quitosana.

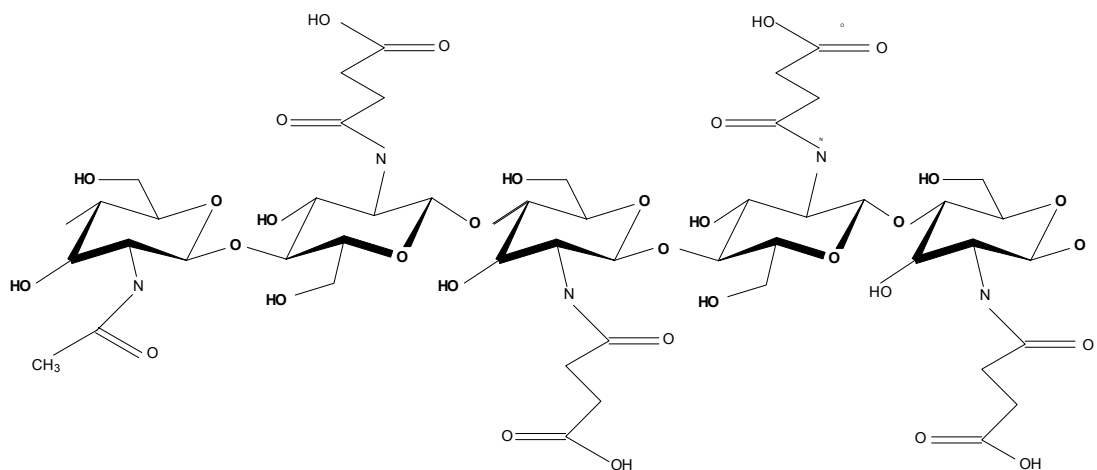


FIGURA 7. Estrutura química da quitosana succinilada.

A quitosana é um material biodegradável e atóxico. Atualmente, a quitosana é uma substância utilizada na biomedicina, na indústria de cosméticos, na agricultura, como fibra têxtil e no tratamento de água. Na biomedicina, é um biomaterial que favorece a reconstituição fisiológica da pele (Biagini *et al.*, 1992). Estuda-se sua ação antitumoral e imunológica (Suzuki *et al.*, 1986; Sugano *et al.*, 1992). Em alimentos, sua ação antimicrobiana (Rhoades & Roller, 2000; No *et al.*, 2002; Yoshihiko *et al.*,

2003) e sua capacidade de formação de filmes (Du *et al.*, 1997; Jiang & Li, 2001), desperta o interesse de estudiosos para sua utilização como conservante em alimentos e em embalagens “inteligentes” com ação antimicrobiana (Shahidi *et al.*, 1999; Roller & Covill, 1999, 2000; Ouattara *et al.*, 2000). Sua utilização na produção de microcápsulas vem sendo muito estudada (He *et al.*, 1999; Tozaki *et al.*, 2002; Higuera *et al.*, 2004).

A encapsulação é uma técnica de empacotamento de ingredientes sensíveis em cápsulas. Este processo é muito utilizado para proteger os compostos voláteis durante seu processamento e armazenamento (Balassa & Fanger, 1971; Dziezak, 1988; Partanen *et al.*, 2002 a) e baseia-se na preparação de uma emulsão entre o composto a ser encapsulado e o agente de encapsulação, seguido da secagem da emulsão.

Na área de encapsulação de aromas existem estudos que visam aprimorar métodos de emulsificação para propiciar aumento na estabilidade de emulsões e que mostram a importância da formação uma boa emulsão antes de processos de encapsulação de aromas (Mongenot *et al.*, 2000; Sheu & Rosenberg, 1995). A estabilidade da emulsão é usualmente medida em termos de quantidade de óleo ou formação de nata durante um período de tempo em uma certa temperatura (Acton & Saffle, 1970). O tempo necessário para que uma emulsão entre em colapso e o monitoramento da absorvância das emulsões também são métodos utilizados para o cálculo da estabilidade de emulsões (Pearson *et al.*, 1965; Reineccius, 1991; Reineccius *et al.*, 1995).

A liofilização é reconhecidamente o melhor método para produção de produtos desidratados de alta qualidade. Pode ser considerada como fazendo parte de uma terceira geração na tecnologia de secagem, já que foi desenvolvida para superar danos estruturais e perdas de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor que ocorrem nos secadores tradicionais (Pitombo, 1998).

A cromatografia gasosa associada à técnica do espaço livre é um método utilizado para identificar e quantificar compostos voláteis (Lee et al., 2003; Vanderhaegen et al., 2003; Perkins-Veazie & Collins, 2004; Romeu-Nadal et al., 2004). Este método consiste na análise, por cromatografia gasosa, dos componentes de uma alíquota do gás no espaço livre acima da amostra presente em um frasco lacrado.

Os objetivos deste estudo foram verificar a estabilidade térmica e analisar as características de emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada, utilizando a maltodextrina em um experimento paralelo. Com isso, visa-se fornecer dados úteis à posterior utilização da quitosana succinilada como agente de encapsulação de d-limoneno.

### **3.4. Materiais e métodos**

#### *3.4.1. Materiais*

O d-limoneno, de pureza entre 93-95%, foi obtido da empresa Coimbra-Frutesp (Louis Dreyfus Citrus). O amido hidrolisado, maltodextrina com valor de dextrose equivalente de 9-12, de peso molecular igual a 1800 Da, foi fornecido pela empresa Corn Products Brasil.

#### *3.4.2. Métodos*

##### *3.4.2.1. Microscopia óptica*

Utilizou-se o microscópio da marca Olympus com câmera digital (Media Cybernetics) conectada ao computador. Pelo programa Image Pro-Plus versão 4.5.1. (Media Cybernetics) a imagem foi digitalizada e os diâmetros médios das gotículas de óleo foram calculados.

Para a análise microscópica, as amostras de emulsões foram submetidas à coloração com eosina (1% v/v). Utilizando um tubo capilar, uma gota da emulsão foi colocada sobre uma lâmina de vidro e coberta com uma lamínula.

#### *3.4.2.2. Reologia*

As soluções de quitosana succinilada a 1% (p/p) e maltodextrina à 40% (p/p) foram submetidas a análise reológica para a determinação de suas viscosidades.

Foi utilizado o equipamento RHEOTEST R.N. 3.1 Medingen GmbH sob taxa de cisalhamento controlada e igual a  $250 \text{ s}^{-1}$  durante 200 s, para a quitosana succinilada, e  $200 \text{ s}^{-1}$  durante 120 s, para a maltodextrina. Aproximadamente 30 mL de cada solução suporte foram colocados no equipamento. O comportamento reológico foi obtido graficamente pela curva da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento. Dependendo do comportamento, linear ou não, das curvas obtidas, os fluidos podem ser classificados em newtonianos ou não-newtonianos, respectivamente. A descrição do comportamento reológico foi feita através do modelo matemático que melhor se correlacionou.

#### *3.4.2.3. Espectrofotometria*

As absorbâncias das emulsões de cada substância foram medidas ao longo do tempo, a cada 15 minutos, sob cinco temperaturas ( $15^{\circ}\text{C}$ ,  $26^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$ ,  $45^{\circ}\text{C}$  e  $52^{\circ}\text{C}$ ). Foi utilizado um espectrofotômetro UV-visível SHIMADZU com comprimento de onda de 400 nm.

#### *3.4.2.4. Cromatografia gasosa – técnica do espaço livre*

Frascos com capacidade de 35 mL foram envasados com 5 mL das emulsões, fechados com tampa de borracha e recravados com lacre de alumínio. A análise do espaço livre foi feita a cada 30 minutos, à  $27^{\circ}\text{C}$  e, inserindo-se uma seringa cromatográfica nos frascos, retirando uma amostra de 0,5 mL do espaço livre e injetando-se no cromatógrafo gasoso. Foi utilizado o cromatógrafo a gás da marca VARIAN, modelo 3400 CX, equipado com detector de ionização de chama e Workstation Star Chromatography. Foi utilizada coluna capilar de sílica fundida CP WAX 52CB (Chrompack), com 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e

contendo 0,25 $\mu$ m de espessura de polietilenoglicol dentro da coluna. As condições foram injeção *split*, razão de 50:1, temperatura da coluna: 150°C, hélio como gás de arraste e gás *make-up* nas vazões de 1,5 mL/min e 30 mL/min, respectivamente, temperatura do injetor, 250°C, temperatura do detector, 280°C. A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os do respectivo padrão de d-limoneno. A composição quantitativa foi determinada a partir da curva-padrão do d-limoneno.

### 3.4.3. Parte Experimental

#### 3.4.3.1. Obtenção da quitosana succinilada

A figura 8 mostra o fluxograma do processo de obtenção da quitosana succinilada.

A quitosana foi obtida a partir da quitina extraída de casca de camarão. Para a extração da quitina, a casca de camarão foi submetida a ácido clorídrico concentrado e solução diluída de hidróxido de sódio. Após esse processo, a quitina foi submetida a hidróxido de sódio concentrado sob aquecimento e agitação, obtendo-se uma quitosana com grau de desacetilação de 50%.

Amostras de 10 g de quitosana foram diluídas em solução aquosa de ácido acético 3%. Sob agitação, foram adicionados lentamente 30 g de anidrido succínico dissolvido em acetona e, posteriormente, uma solução diluída de hidróxido de sódio para que o pH se elevasse e ocorresse a formação de um sal sódico de quitosana succinilada. Adicionou-se 1 L de etanol e após 3 horas de agitação magnética e 12 horas de repouso a amostra foi filtrada e seca por liofilização. O grau de succinilação obtido foi de 80%. A quitosana succinilada possui peso molecular aproximado de 750.000 Da.



A determinação do grau de desacetilação e do grau de substituição da quitosana preparada foi feita por espectrofotometria (Curotto & Aros, 1993). Soluções de quitosana foram submetidas à reação com ninidrina, um reagente específico que interage com grupos amino-primário provocando coloração violeta à solução proporcionalmente aos grupos nitrogênios livres presentes nas moléculas de quitosana. Utilizou-se como padrão uma solução de aminoglicosamina, um monômero da quitosana, cuja absorbância é considerada máxima. As amostras de quitosana, antes e depois da succinilação, foram submetidas à reação com ninidrina e comparadas com o padrão. Para comprovar a substituição dos radicais da quitosana por radicais de anidrido succínico, verificou-se a solubilidade da quitosana succinilada em meio básico.

#### *3.4.3.2. Preparo das Emulsões*

As soluções de 40% (p/p) de maltodextrina e soluções de 1% (p/p) de quitosana succinilada foram preparadas separadamente com água destilada. As emulsões foram preparadas na concentração de 0,12 mL de d-limoneno por 100 mL de solução suporte (maltodextrina ou quitosana succinilada) em repouso e banho de gelo. A homogeneização foi feita utilizando-se um homogeneizador de alta velocidade (Turrax) durante 1 minuto na velocidade máxima obtida pelo aparelho.

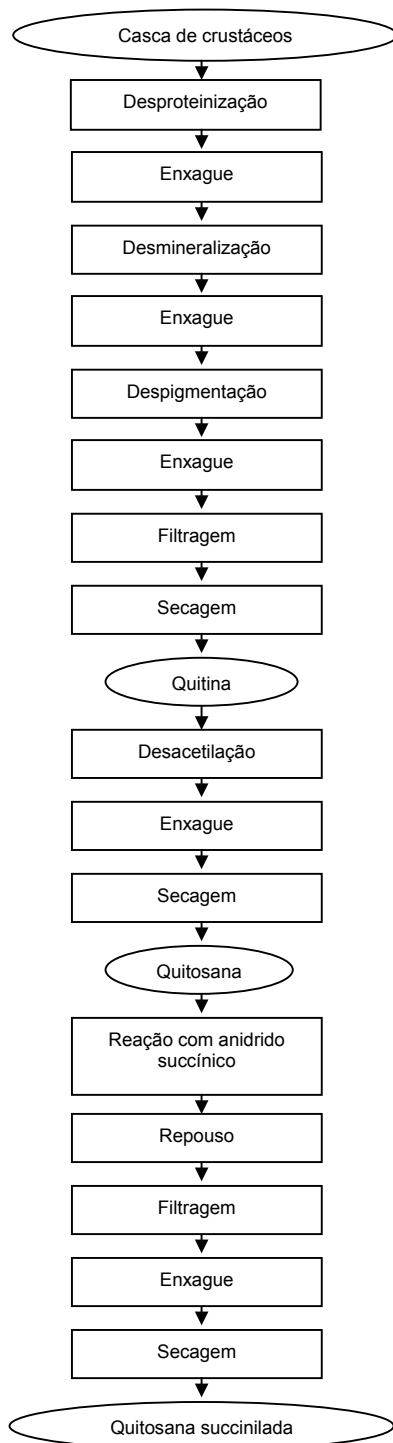


FIGURA 8. Fluxograma do processo de obtenção da quitosana succinilada.

### 3.5. Resultados e discussão

A concentração de maltodextrina (40% p/p) foi empregada tendo como base o experimento descrito por Tseng *et al.* (2000). Utilizou-se 1% p/p de solução de quitosana succinilada, pois ensaios mostraram que nesta concentração a solução apresentou viscosidade adequada, permanecendo líquida, sem gelificar.

A tabela 1 mostra o tamanho médio das partículas de óleo nas emulsões de d-limoneno com maltodextrina (MA) e de d-limoneno com quitosana succinilada (QS). Ao analisa-se os desvios-padrão, verifica-se que a uniformidade da QS é muito superior à da MA. O mesmo pode ser observado através das imagens obtidas por microscopia óptica (Figuras 9 e 10). Os aumentos das figuras 9 e 10 foram diferentes com a finalidade de melhor visualização das características das emulsões.

TABELA 1

Tamanhos das partículas de óleo nas emulsões de maltodextrina e quitosana succinilada.

Material de suporte	% (p/p) suporte	Tamanho das partículas ( $\mu\text{m}$ ) <sup>a</sup>
Maltodextrina	40	3,846 $\pm$ 3,058
Quitosana succinilada	1	3,056 $\pm$ 0,798

<sup>a</sup>Média  $\pm$  desvio-padrão, n=3.

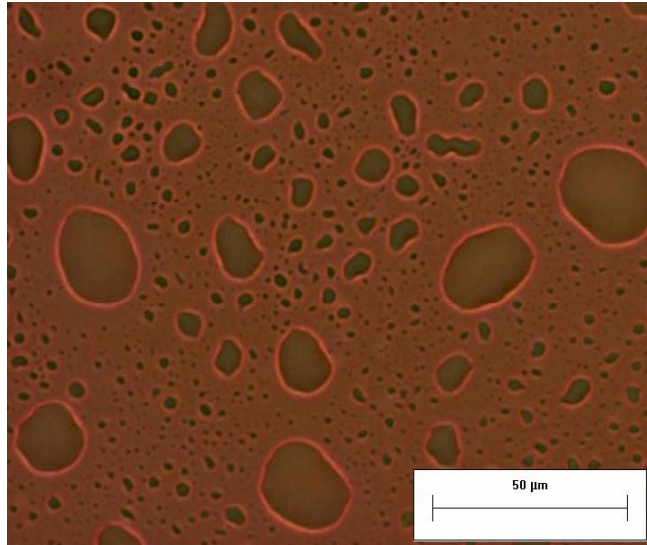


FIGURA 9. Fotomicrografia da MA por microscopia óptica (aumento de 200x).

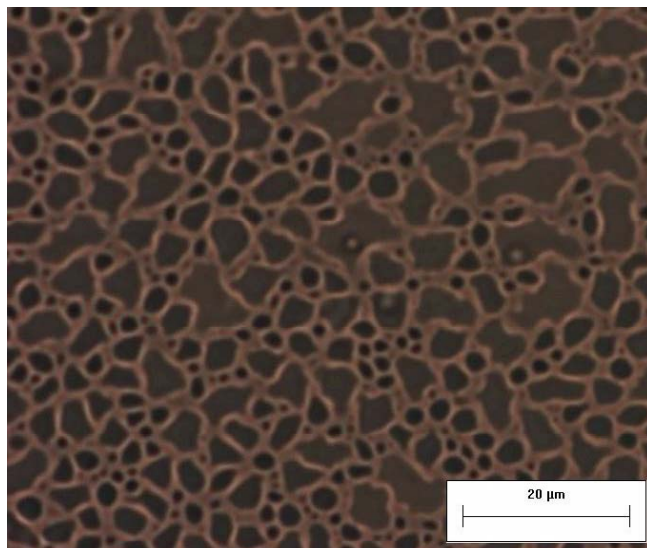


FIGURA 10. Fotomicrografia da QS por microscopia óptica (aumento de 400x).

Analisando-se as figuras 11 e 12, que representam a absorvância das QS e MA, respectivamente, ao longo do tempo sob cinco diferentes temperaturas, observa-se a influência da temperatura no comportamento das emulsões. Tendo como base o experimento feito por Reineccius (1991) e analisando as figuras 11 e 12, verifica-se que QS apresentaram valores de absorvância maiores (gotículas menores) e queda de absorvância ao longo do tempo menores (separação lenta) que os de MA, em todas as

temperaturas analisadas, no mesmo período de tempo. Este fato pode ser evidenciado na figura 13.

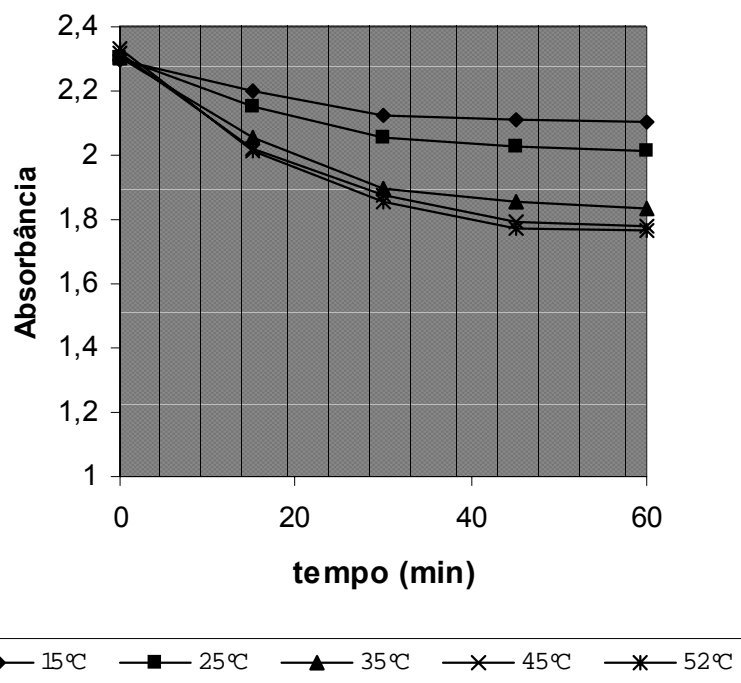


FIGURA 11. Absorbância da QS ao longo do tempo sob diferentes temperaturas.

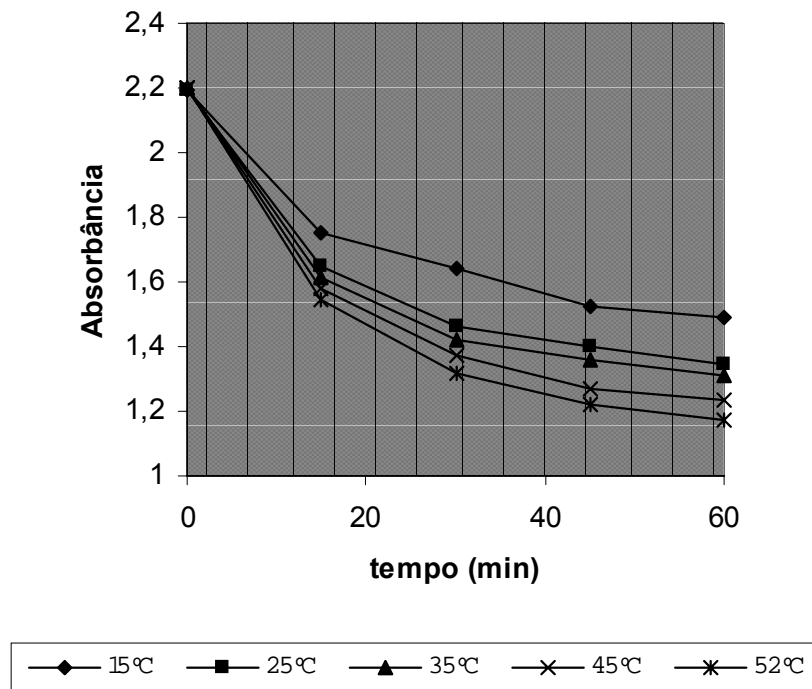


FIGURA 12. Absorbância da MA ao longo do tempo sob diferentes temperaturas.

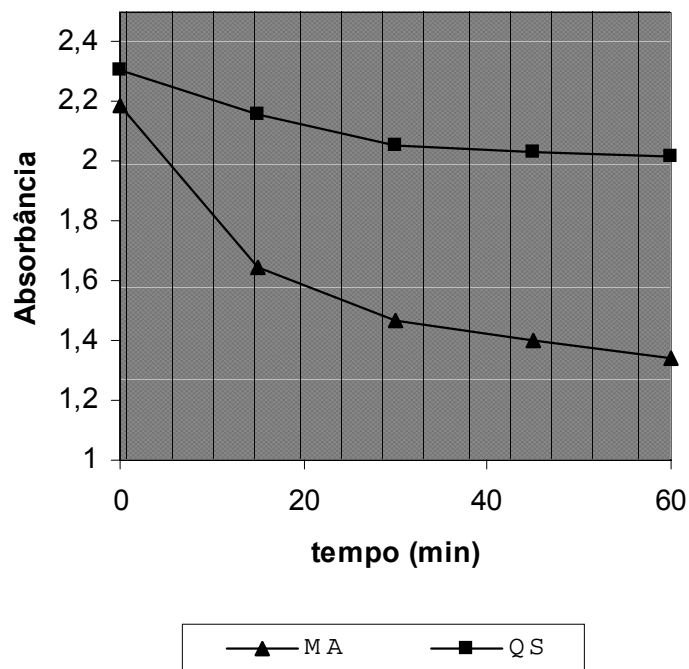


FIGURA 13. Absorbância das QS e MA ao longo do tempo a 25°C.

Observando-se a figura 14, que apresenta a liberação de d-limoneno no espaço livre ao longo do tempo para as duas emulsões, verifica-se que após aproximadamente 60 minutos MA liberam mais que o dobro de aroma que QS. Pode-se dizer que QS são mais estáveis ao longo do tempo, à temperatura ambiente, pois conseguem reter mais d-limoneno, quando comparadas às MA.

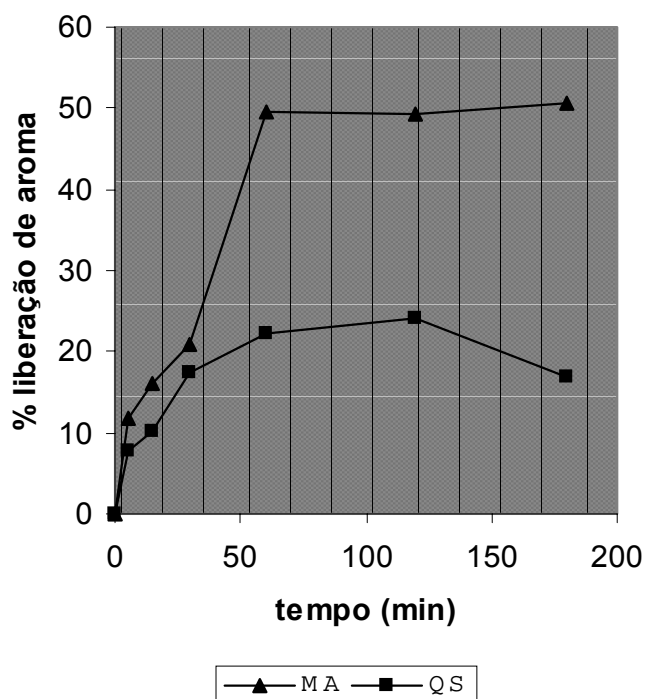


FIGURA 14. Liberação de d-limoneno no espaço livre ao longo do tempo em QS e MA.

Os índices de consistência das soluções, que indicam suas viscosidades, e os índices de comportamento das soluções, que indicam as características dos fluidos, puderam ser determinados, pois a equação que melhor se ajustou aos dados de reologia foi a equação de Ostwald – De Waele, e apresentam-se na tabela 2. As duas soluções são consideradas fluidos pseudoplásticos, já que possuem valores de índice de comportamento menores que 1. Apresentam viscosidades dependentes da

taxa de cisalhamento, da temperatura e da pressão. A solução de quitosana modificada apresentou índice de consistência superior à solução de maltodextrina.

TABELA 2

Valores de índices de consistência e de comportamento de soluções suportes de maltodextrina e quitosana succinilada.

Material de suporte	% (p/p) suporte	Índice de consistência <sup>a</sup>	Índice de comportamento <sup>a</sup>
Maltodextrina	40	0,4425 ± 0,0035	0,6764 ± 0,0018
Quitosana succinilada	1	0,6470 ± 0,0113	0,5670 ± 0,0042

<sup>a</sup> n=2

A quitosana succinilada é uma substância que possui alto peso molecular em relação à maltodextrina. Quando solubilizada em água, permanece em pequenos aglomerados, como ilustra a figura 15, formando soluções anisotrópicas. A rede de filamentos de quitosana prende a água e as gotículas de d-limoneno, associada à elevada viscosidade da solução de quitosana, e diminui a mobilidade das gotículas de d-limoneno, tornando a emulsão mais estável. Além disso, a estrutura da quitosana succinilada possui grupos apolares no interior de suas moléculas que englobam mais fortemente partículas de óleo e as aproximam, sem que haja repulsão entre elas (Shahidi *et al.*, 1999).

O conjunto de fatores acima citados pode explicar a maior estabilidade das QS, comprovada tanto através da espectrofotometria quanto através da cromatografia gasosa associada à técnica da análise do espaço livre, assim como suas características tão distintas das MA.



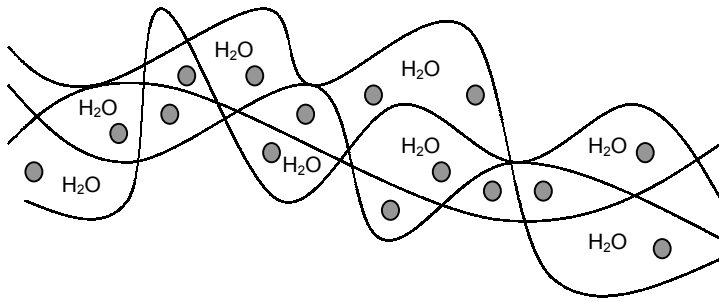


FIGURA 15. Representação dos filamentos de quitosana modificada englobando moléculas de água e d-limoneno.

### 3.6. Conclusões

Os resultados desse estudo verificaram a superior estabilidade de emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada ao longo do tempo quando comparada com emulsões de d-limoneno com maltodextrina.

As emulsões de d-limoneno com quitosana succinilada testadas apresentaram características distintas em relação às emulsões de d-limoneno com maltodextrina. Estas emulsões demonstraram grande uniformidade e pouca dispersão das gotículas de óleo.

## **4. CAPÍTULO 2**

**Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização**  
**2) estudo da retenção e liberação do d-limoneno contido nas microcápsulas**

#### 4.1. Resumo

A liofilização é considerada o melhor método de secagem na conservação de substâncias voláteis. O objetivo desse estudo foi a análise da retenção do d-limoneno em microcápsulas obtidas por liofilização de duas diferentes substâncias. Utilizou-se a maltodextrina, um polissacarídeo comumente utilizado como agente de encapsulação de aromas, e a quitosana succinilada, um biopolímero solúvel obtido a partir da quitina, substância presente na casca de crustáceos. Foi feita a análise da liberação do d-limoneno de dentro das microcápsulas em função da umidade relativa do ambiente e da temperatura. O método utilizado para a quantificação do d-limoneno foi a cromatografia gasosa associada à análise do espaço livre. Observou-se 72% de retenção de d-limoneno em maltodextrina (40%p/p) e 62% de retenção de d-limoneno em quitosana succinilada (1%p/p) após o processo de liofilização, sendo que durante todas as etapas do processo de encapsulação a perda de aroma em maltodextrina foi de 72% enquanto em quitosana modificada foi de 50%. As microcápsulas liberaram diferentes quantidades de d-limoneno com a variação da umidade relativa do ambiente e as microcápsulas de maltodextrina sofreram colapso estrutural em ambiente de 90% de umidade relativa. Microcápsulas de quitosana succinilada apresentaram maior resistência à liberação de d-limoneno com o aumento da temperatura. Concluiu-se que a quitosana succinilada pode ser utilizada como agente de encapsulação de aromas em baixas concentrações.

Palavras-chave: Liberação de aroma. Retenção de aroma. Liofilização.

## 4.2. Abstract

Lyophilization is considered the best drying method in the conservation of volatile substances. The objective of that study was the analysis of the retention of the d-limonene in microcapsules obtained by lyophilization of two different substances. The polysaccharide maltodextrin, commonly used as flavour encapsulation agent, and the succinyl chitosan, a water soluble biopolymer obtained from the chitin, substance present in crustaceans' shells. Flavour release of microcapsules was measured under different relative humidities and temperatures by headspace/gas chromatography technique. Retention of d-limonene after lyophilization in maltodextrin (40% w/w) was 72% and 62% in modified chitosan (1% w/w). Although, flavour released in maltodextrin was 72% while in modified chitosan was 50%. Levels of flavour released from microcapsules under variation of relative humidity were different. Maltodextrin microcapsules presented structural collapse in 90% of relative humidity. Modified chitosan microcapsules showed greater resistance during the release of d-limonene under high temperature. It was concluded that the succinyl chitosan could be used as flavour encapsulation agent at low concentrations.

Keywords: Flavour release. Flavour retention. Lyophilization.

### 4.3. Introdução

A liofilização é um processo de secagem de um produto previamente congelado no qual a maior parte da água é retirada por sublimação. Este processo apresenta diversas vantagens como evitar danos estruturais e reduzir a perda de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor (Pitombo, 1998). Por este motivo, a liofilização é considerada uma técnica eficiente na microencapsulação de compostos voláteis (Tseng *et al.*, 2000).

A microencapsulação é um processo de aprisionamento de substâncias sensíveis em matrizes que reduzem sua mobilidade, protegendo-as de fatores ambientais, como a oxidação e a evaporação. A maltodextrina é um polissacarídeo muito utilizado como agente de encapsulação devido à sua funcionalidade, segurança e baixo custo (Man *et al.*, 1999; Partanen *et al.*, 2002 a,b; Watanabe *et al.*, 2004).

A habilidade dos carboidratos de reter voláteis durante o processamento faz com que se tornem agentes de encapsulação muito utilizados (Kenyon, 1995; Partanen *et al.*, 2002 a). A maltodextrina é um polissacarídeo obtido pela hidrólise parcial fraca do amido e é uma substância muito utilizada como agente de encapsulação devido à sua funcionalidade, baixo custo e segurança. O composto aromático mais utilizado em estudos de retenção de aromas é o d-limoneno, principal constituinte do óleo essencial de laranja (Liu *et al.*, 2001; Boutboul *et al.*, 2002; Soottitantawat *et al.*, 2003).

A quitosana é um produto obtido a partir da quitina, subproduto da casca de crustáceos. Devido a grande disponibilidade de grupos amina em sua molécula, possui carga positiva e tem a capacidade de formar interações químicas com materiais hidrofóbicos e aniônicos. É um material biodegradável e atóxico utilizado na medicina, na indústria de cosméticos e alimentos e na agricultura (Muzzaraelli *et al.*, 1989; Razdan & Petterson, 1994, 1996). Além disso, possui capacidade de formação de filmes e é muito utilizada na produção de medicamentos de liberação controlada e na

produção de microcápsulas (Akbuga, 1993; Miyazaki *et al.*, 1995; Jiang & Li, 2001; Srinivasa *et al.*, 2004).

A liberação controlada é uma nova tecnologia que pode ser usada para aumentar a eficiência do ingrediente, oferecendo uma alternativa para uso de menos aditivos químicos. O núcleo pode ser liberado por uma variedade de mecanismos, como ruptura mecânica da cobertura, derretimento da cobertura quando exposta ao calor, dissolução da cobertura quando adicionada a solventes, mudanças de pH que podem alterar a permeabilidade do material de cobertura, ação de enzimas sobre o material de cobertura e difusão de núcleo solúveis em ambientes aquosos. Logo, as propriedades físicas e químicas do próprio núcleo e do material de cobertura afetam na sua liberação (Pothakawuky, 1995).

Objetivou-se neste estudo testar a factibilidade técnica de obter-se microcápsulas por liofilização de quitosana succinilada para o aprisionamento de substâncias voláteis de forma análoga às obtidas empregando-se maltodextrina. Além disso, a liberação do d-limoneno contido nas microcápsulas foi estudada em função da umidade relativa e temperatura do ambiente a que foram submetidas.

#### **4.4. Materiais e métodos**

##### *4.4.1. Materiais*

O d-limoneno, de pureza entre 93-95%, foi obtido da empresa Coinbra-Frutesp (Louis Dreyfus Citrus). O amido hidrolisado, maltodextrina com valor de dextrose equivalente de 9-12, foi fornecido pela empresa CornProducts Brasil.

##### *4.4.2. Métodos*

###### *4.4.2.1. Determinação do teor de d-limoneno*

Foi utilizado o cromatógrafo a gás da marca VARIAN, modelo 3400 CX, equipado com detector de ionização de chama e Workstation Star Chromatography. Foi utilizada coluna capilar de sílica fundida CP WAX 52CB (Chrompack), com 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno, contendo 0,25 $\mu$ m de espessura de polietilenoglicol dentro da coluna. As condições foram injeção *split*, razão de 50:1, temperatura da coluna: 150°C, hélio como gás de arraste e gás *make-up* nas vazões de 1,5 mL/min e 30 mL/min, respectivamente, temperatura do injetor, 250°C, temperatura do detector, 280°C. A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os do respectivo padrão de d-limoneno. A composição quantitativa foi determinada injetando-se 0,5 mL da amostra do espaço livre no cromatógrafo gasoso e comparando a área obtida na curva-padrão do d-limoneno.

#### 4.4.2.2. Determinação da curva-padrão de d-limoneno

Em frascos com capacidade de 35 mL foram adicionados 5 mL de água destilada e quantidades crescentes de 2 a 22  $\mu$ L de d-limoneno. Os frascos foram fechados com tampa de borracha, recravados, colocados em banho-maria (Fanem Modelo 100) a 37°C por 50 minutos, para estabelecer o equilíbrio do soluto entre as duas fases, e submetidos à análise do teor de d-limoneno.

#### 4.4.2.3. Determinação do teor de d-limoneno nos liofilizados

Os liofilizados foram reconstituídos com 5 mL de água destilada. Os frascos foram fechados com tampa de borracha, recravados, colocados em banho-maria (Fanem Modelo 100) a 37°C por 50 minutos, para estabelecer o equilíbrio do soluto entre as duas fases, e submetidos à análise do teor de d-limoneno. As emulsões foram analisadas após a emulsificação, após o congelamento e após a liofilização, sendo que os valores obtidos antes de cada etapa foram considerados como 100% de retenção de d-limoneno. As amostras foram analisadas imediatamente após a realização de cada etapa da encapsulação.

#### 4.4.3. Parte Experimental

##### 4.4.3.1. *Obtenção da quitosana succinilada*

A quitosana foi obtida a partir da quitina extraída de casca de camarão. Para a extração da quitina, a casca de camarão foi submetida a ácido clorídrico concentrado e solução diluída de hidróxido de sódio. Após esse processo, a quitina foi submetida a hidróxido de sódio concentrado sob aquecimento e agitação, obtendo-se uma quitosana com grau de desacetilação de 50%.

Amostras de 10 g de quitosana foram diluídas em solução aquosa de ácido acético 3%. Sob agitação, foram adicionados lentamente 30 g de anidrido succínico dissolvido em acetona e posteriormente uma solução diluída de hidróxido de sódio para que o pH se elevasse e ocorresse a formação de um sal sódico de quitosana succinilada. Adicionou-se 1 L de etanol e, após 3 horas de agitação magnética e 12 horas de repouso, a amostra foi filtrada e seca por liofilização. O grau de succinilação obtido foi de 80%.

A determinação do grau de desacetilação e do grau de substituição da quitosana preparada foi feita por espectrofotometria (Curotto & Aros, 1993). Soluções de quitosana foram submetidas à reação com ninidrina, um reagente específico que interage com grupos amino-primário provocando coloração violeta à solução proporcionalmente aos grupos nitrogênios livres presentes nas moléculas de quitosana. Utilizou-se como padrão uma solução de aminoglicosamina, um monômero da quitosana, cuja absorbância é considerada máxima. As amostras de quitosana, antes e depois da succinilação, foram submetidas à reação com ninidrina e comparadas com o padrão. Para comprovar a substituição dos radicais da quitosana por radicais de anidrido succínico, verificou-se a solubilidade da quitosana succinilada em meio básico.



#### *4.4.3.2. Preparo das Emulsões*

As soluções de 40% (p/p) de maltodextrina e soluções de 1% (p/p) de quitosana succinilada foram preparadas separadamente com água destilada. As emulsões foram preparadas na concentração de 0,12 mL de d-limoneno por 100 mL de solução suporte (maltodextrina ou quitosana succinilada) em repouso e banho de gelo. A homogeneização foi feita utilizando-se um homogeneizador de alta velocidade (Turrax) durante 1 minuto na velocidade máxima obtida pelo aparelho.

#### *4.4.3.3. Liofilização*

Frascos com capacidade de 35 mL foram envasados com 5 mL das emulsões, congelados em ultrafreezer, cuja taxa de resfriamento foi de 2,5°C/ min, até atingir a temperatura de -50°C, e imediatamente colocados no liofilizador.

A liofilização foi feita em liofilizador da marca FTS System, modelo TDS-00209-A e microprocessado pelo programa Lyphoware. Na secagem primária a temperatura da placa foi mantida a -22°C e a pressão interna da câmara a 250mTorr. Na secagem secundária a temperatura da placa foi mantida a 25°C e a pressão interna da câmara a 10 mTorr. A temperatura do condensador foi de -90°C e o higrômetro da marca HYGROGUARD determinou o final da liofilização, pois este aparelho informa quando não há mais água sendo retirada do produto.

As amostras secas nos frascos foram fechadas sob vácuo, a 10 mTorr, com rolhas de borracha.

#### *4.4.3.4. Ensaio da liberação do d-limoneno dos liofilizados em função e da umidade relativa*

Os liofilizados foram expostos a diferentes umidades relativas (31, 69, 79 e 90%), a 25°C. Atingido o equilíbrio com os diferentes ambientes de umidade relativa controlada, os frascos contendo os liofilizados foram reconstituídos com 5 mL de água destilada, recravados e colocados em banho-maria (Fanem Modelo 100) a 37°C por 50 minutos, para estabelecer o

equilíbrio do soluto entre as duas fases. A seguir, os teores de d-limoneno foram determinados.

As isotermas de sorção de umidade foram determinadas segundo o método descrito por Pitombo & Gioielli (1994).

#### *4.4.3.5. Ensaio da liberação do d-limoneno dos liofilizados em função da temperatura*

Os liofilizados foram submetidos a diferentes temperaturas (30, 50, 70, 90°C) por 3 horas em estufa (ODONTOBRÁS EL 1.4) e a seguir determinou-se os teores de d-limoneno.

#### 4.5. Resultados e discussão

A curva-padrão feita para a análise quantitativa do d-limoneno por cromatografia gasosa apresenta-se na figura 16.

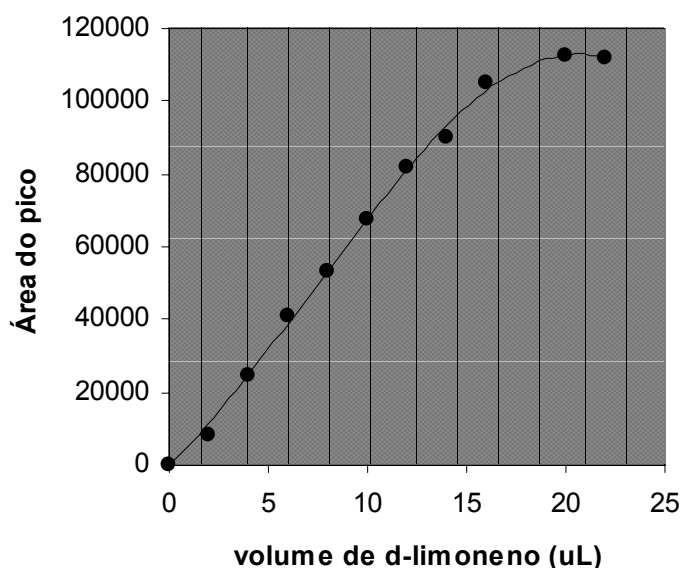


FIGURA 16. Área do pico do cromatograma em função do volume de d-limoneno adicionado a 5 mL de água a 37°C.

As emulsões de d-limoneno com maltodextrina (MA) e de d-limoneno com quitosana succinilada (QS) foram liofilizadas (a curva de liofilização apresenta-se na figura 17). O d-limoneno retido em microcápsulas de maltodextrina denominou-se MA-L e em quitosana succinilada de QS-L.

A tabela 3 mostra as perdas de d-limoneno ocorridas durante as etapas do processo de encapsulação (emulsificação, congelamento e liofilização) em maltodextrina e quitosana succinilada.

Após a liofilização, a quantidade de d-limoneno retida em maltodextrina foi de aproximadamente 72%. Este valor está de acordo com Tseng *et al.* (2000) que verificaram que a retenção de diferentes compostos voláteis em soluções suportes de maltodextrina de diversas concentrações durante a liofilização foi superior a 60%. A quantidade de d-limoneno retida

em quitosana succinilada após a liofilização foi de 62%, pouco inferior a 72%, quantidade de d-limoneno retida em maltodextrina após a liofilização, isto é, soluções a 1%(p/p) de quitosana succinilada retiveram pouco menos d-limoneno que soluções a 40%(p/p) de maltodextrina. Entretanto, observou-se que a quitosana succinilada reteve mais d-limoneno durante os processos de emulsificação e congelamento. Considerando-se todas as etapas de encapsulação, a quantidade de d-limoneno retida em maltodextrina foi de 28%, enquanto de quitosana succinilada foi de 50%.

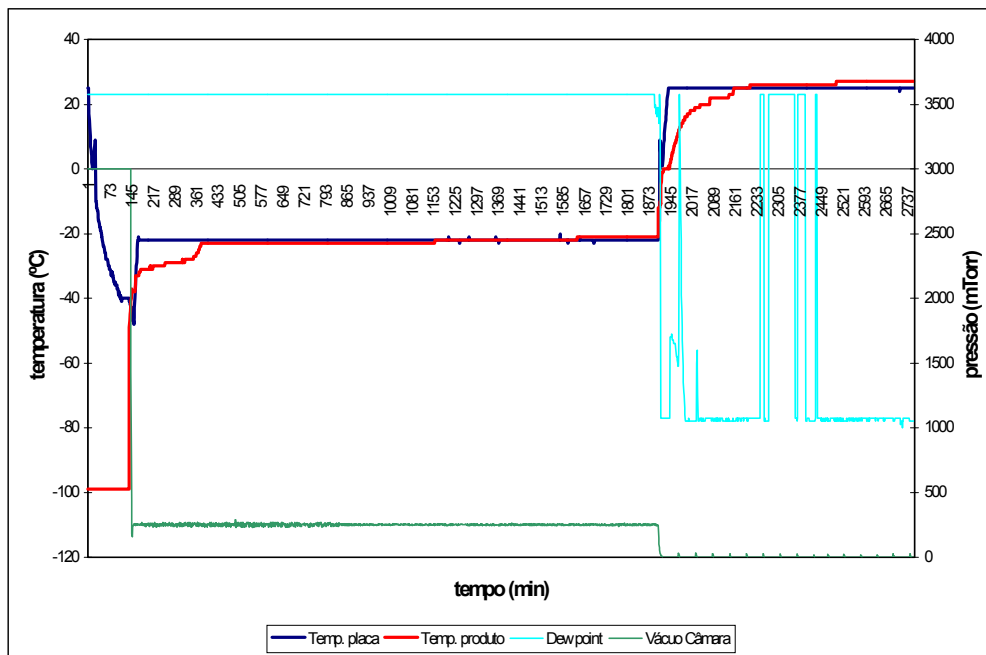


FIGURA 17. Curva de liofilização de MA e QS.

TABELA 3

Perda de d-limoneno durante as diferentes etapas do processo de encapsulação em maltodextrina e quitosana succinilada por liofilização.

	Perda de d-limoneno (%)		
	Após a emulsificação <sup>a</sup>	Após o congelamento <sup>a</sup>	Após a liofilização <sup>a</sup>
Maltodextrina	31,44 ± 1,36	13,61 ± 4,22	28,51 ± 4,43
Quitosana succinilada	13,18 ± 5,47	0,08 ± 0,07	37,63 ± 5,75

<sup>a</sup> n=3

As isotermas de sorção de umidade de MA-L e QS-L foram construídas e apresentam-se nas figuras 18 e 19, respectivamente. Elas mostram a relação entre a atividade de água do produto e o teor de umidade absorvida, a uma determinada temperatura.

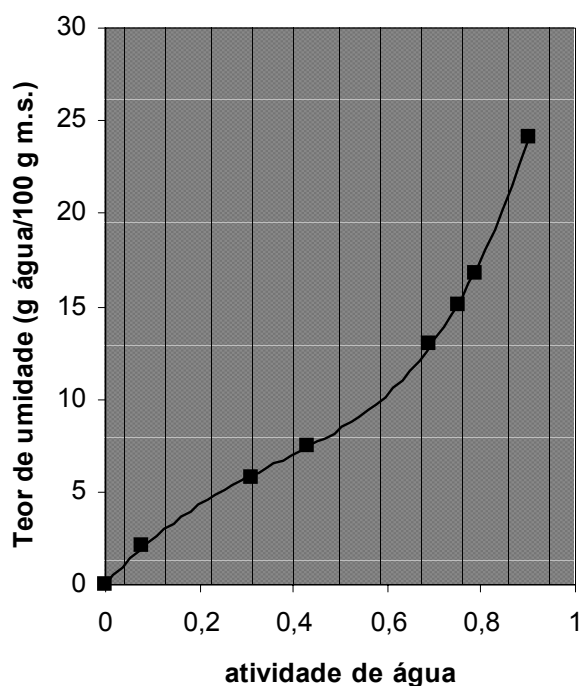


FIGURA 18. Isoterma de sorção de umidade de MA-L a 25°C.

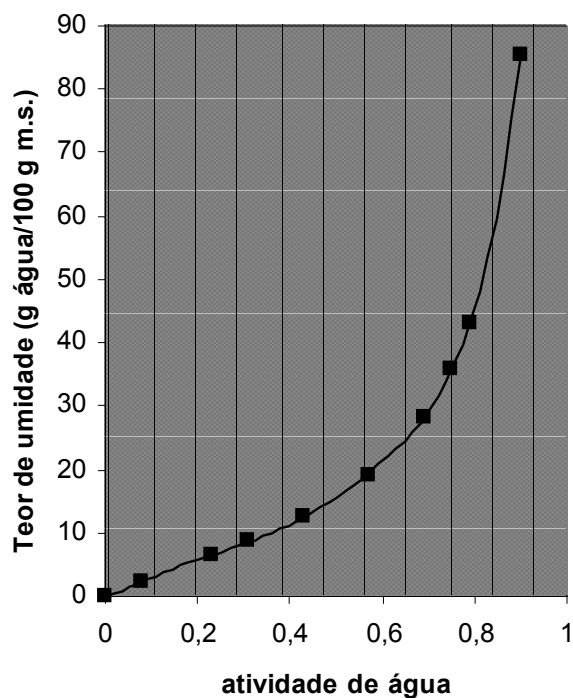


FIGURA 19. Isoterma de sorção de umidade de QS-L a 25°C.

Os resultados dos ensaios da liberação de aroma das microcápsulas apresentam-se nas figuras 20 e 21 e no ANEXO I. A figura 20 mostra a quantidade de d-limoneno liberada das microcápsulas em função da umidade relativa do ambiente; a figura 21 foi determinada com base nas figuras 18, 19 e 20 e mostra a quantidade de d-limoneno liberada das microcápsulas em função da água absorvida pelos produtos.

Por meio da figura 20, na qual pode-se comparar a liberação de aroma das amostras em função da umidade relativa do ambiente, observou-se que MA-L liberaram menos d-limoneno em umidades relativas de 69 e 79%. Em ambientes de umidade relativa igual a 90%, ambos os produtos liberaram mais que 70% de d-limoneno.

Analisando-se a figura 21, verifica-se que quando MA-L absorveram valores menores que 20g água/100g m.s., liberaram aproximadamente a mesma quantidade de d-limoneno que QS-L. Além disso, quando MA-L absorveram aproximadamente 24g água/100g m.s., liberaram mais de 70%

de d-limoneno, enquanto QS-L só liberaram esta quantidade quando absorveram aproximadamente 85g água/100g m.s. A equação que se ajusta a este fenômeno é  $y = 0,7956 x$ , sendo y a porcentagem de liberação de aroma e x o teor de umidade absorvida pelas microcápsulas. A taxa de liberação de d-limoneno é constante em relação ao teor de água absorvido por QS-L.

Pode-se dizer que o teor de umidade crítico à liberação de aroma para MA-L é de 20g água/100g m.s., já QS-L não possui este valor.

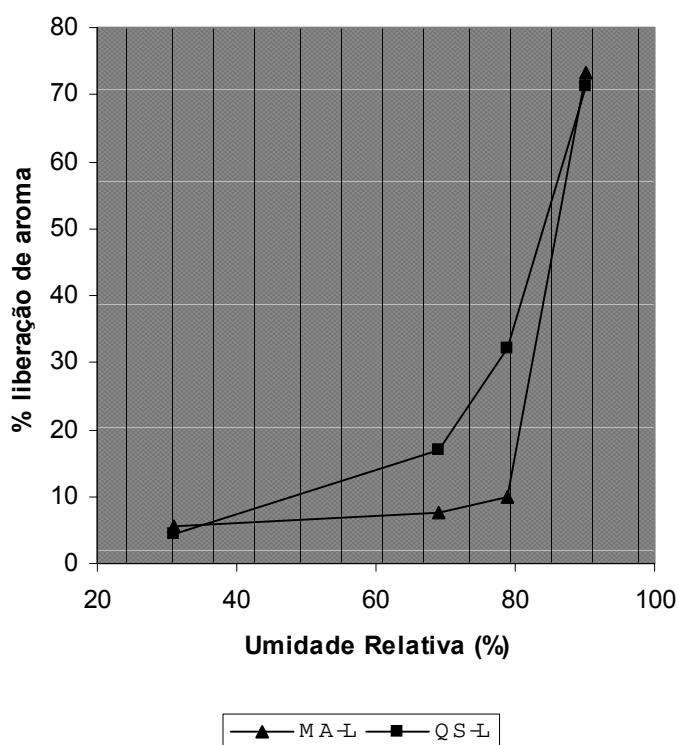


FIGURA 20. Liberação de d-limoneno em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.

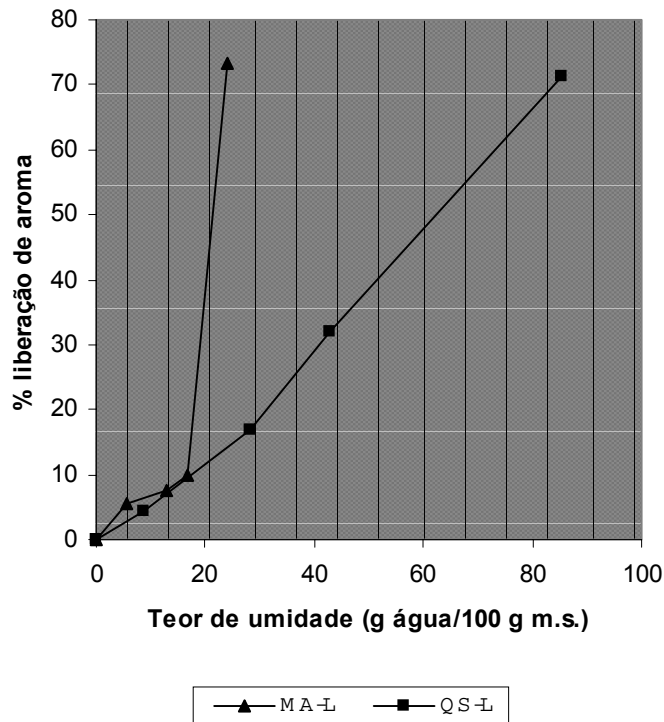


FIGURA 21. Liberação de d-limoneno em função do teor de umidade absorvida para MA-L e QS-L a 25°C.

Este fato pode ser melhor elucidado quando observa-se as figuras 22 e 23 que mostram as características de MA-L e QS-L, respectivamente, quando submetidas a umidades relativas de 31, 69, 79 e 90%. Pode-se observar que MA-L perdem sua estrutura em ambientes de 90% de umidade relativa sofrendo colapso estrutural enquanto a estrutura da QS-L permanece inalterada. Devido a isso, MA-L perderam sua estrutura utilizada para englobar o d-limoneno, aumentando bruscamente a liberação de d-limoneno neste ponto. Tseng *et al.* (2000) observaram grande perda de d-limoneno de matrizes atomizadas e liofilizadas de maltodextrina em atividades de água maiores que 0,60 a 20°C. Este fato foi explicado pela mudança do estado vítreo para estado borracha das matrizes que, a essa atividade de água, possuem temperatura de transição vítrea superior a 20°C.



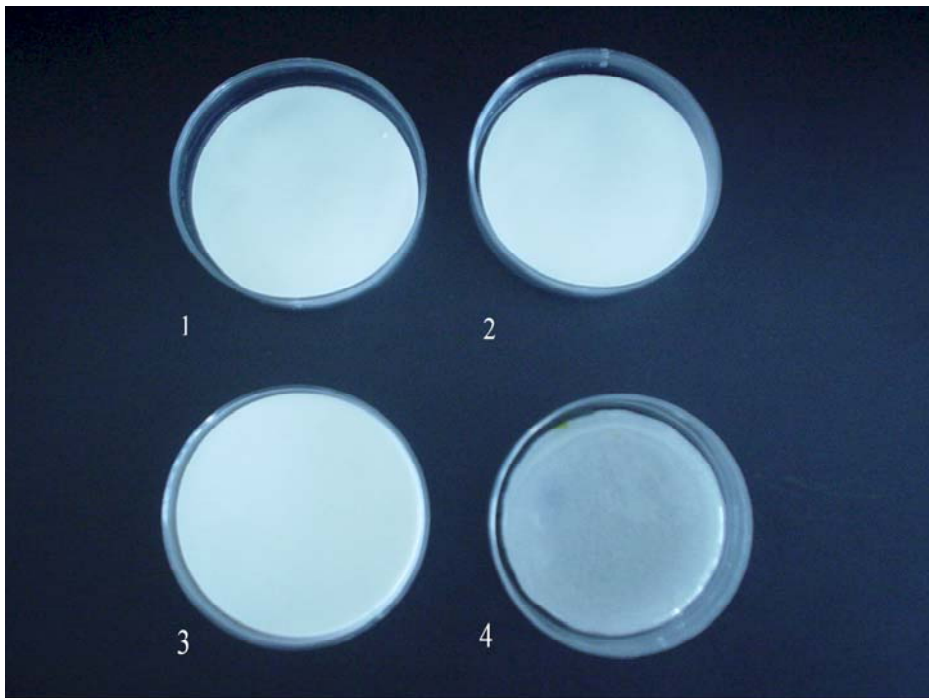


FIGURA 22. Fotografia de MA-L quando submetidas a ambientes de umidades relativas de 31% (1), 69% (2), 79% (3) e 90% (4).

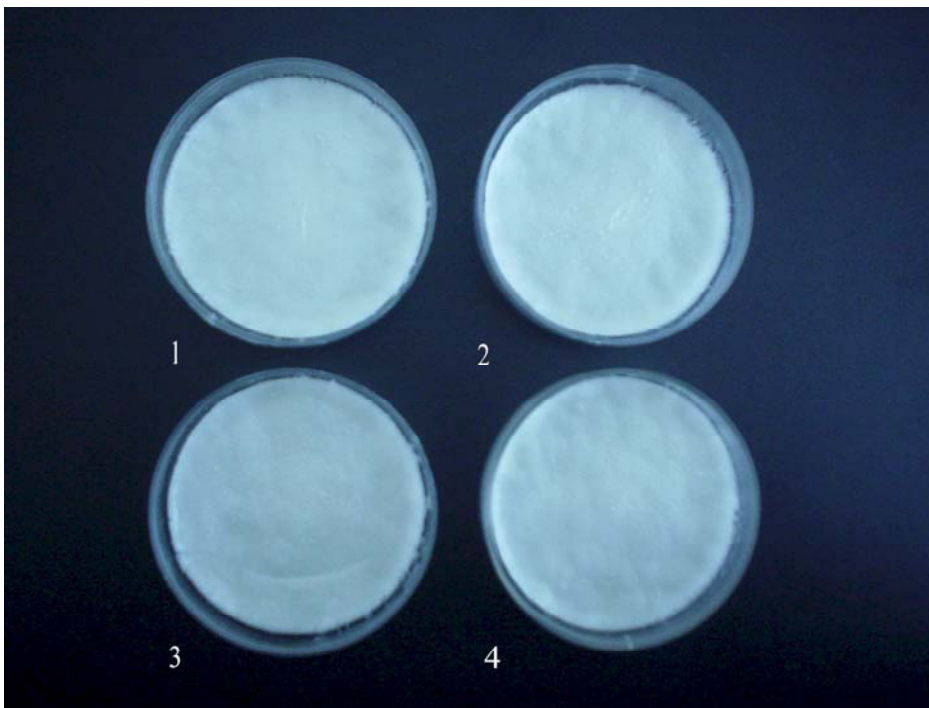


FIGURA 23. Fotografia de QS-L quando submetidas a ambientes de umidades relativas de 31% (1), 69% (2), 79% (3) e 90% (4).

A figura 24 (ANEXO II) mostra a liberação de d-limoneno das cápsulas em função da temperatura. Aplicou-se a análise estatística e verificou-se que não há diferença significativa entre os valores correspondentes a temperatura de 50°C, entre as duas substâncias, com um nível de significância inferior ou igual a 5%. As QS-L resistem mais a temperatura, retendo mais d-limoneno quando submetidas a ambientes de temperaturas maiores que 50°C. As equações que se ajustaram ao fenômeno, para MA-L, foi  $y = 0,0058 x^2 - 0,1239 x$  e, para QS-L,  $y = 0,0017 x^2 - 0,0356 x$ , sendo y a porcentagem de liberação de aroma e x a temperatura na qual as microcápsulas foram submetidas.

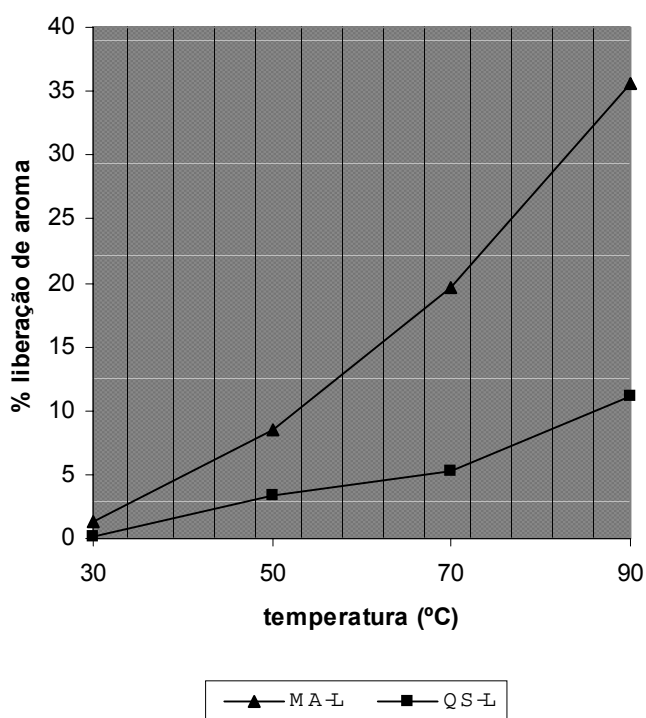


FIGURA 24. Liberação de d-limoneno em função da temperatura para MA-L e QS-L.

#### **4.6. Conclusões**

Durante o processo de liofilização, as microcápsulas de maltodextrina com d-limoneno retiveram aproximadamente 10% a mais de aroma que as microcápsulas de quitosana succinilada com d-limoneno, sendo que a concentração da solução de maltodextrina utilizada foi de 40% (p/p) enquanto a concentração da solução de quitosana succinilada foi de apenas 1% (p/p). Considerando a perda de aroma durante todas as etapas do processo de encapsulação, microcápsulas de quitosana succinilada retiveram mais d-limoneno que microcápsulas de maltodextrina. Este fato demonstra a eficiente retenção de aroma por quitosana succinilada, em concentrações baixas.

As microcápsulas de quitosana succinilada liberaram gradativamente o d-limoneno em ambientes de umidades relativas entre 31 e 90% sem apresentarem colapso estrutural. O mesmo ocorreu quando submetidas a temperaturas entre 30 e 90°C, apresentando maior resistência à liberação do d-limoneno que microcápsulas de maltodextrina.

## **5. CAPÍTULO 3**

**Quitosana modificada para uso como agente de encapsulação de d-limoneno por liofilização:  
3) estudos termodinâmicos da sorção de água e modelagem matemática**

### **5.1. Resumo**

Isotermas de sorção de umidade de emulsões liofilizadas de d-limoneno com quitosana modificada foram determinadas a 15°C, 25°C e 35°C por um método padrão estático gravimétrico. Os dados foram ajustados ao modelo Guggenheim-Anderson-de-Boer (GAB). O calor total de sorção, o coeficiente de difusividade e a área superficial dos poros dos produtos foram calculados. Utilizou-se a maltodextrina, um polissacarídeo bastante utilizado como agente de encapsulação de aromas, em um experimento paralelo. A umidade de monocamada foi praticamente constante para emulsões liofilizadas de d-limoneno com maltodextrina e decaiu ligeiramente com o aumento da temperatura para emulsões liofilizadas de d-limoneno com quitosana modificada. O calor total de sorção de microcápsulas de quitosana modificada apresentou-se superior assim como seu coeficiente de difusividade. A área superficial do poro das matrizes liofilizadas de quitosana modificada apresentou-se na ordem de  $1,0 \times 10^6$  m<sup>2</sup>/kg sólido e das matrizes liofilizadas de maltodextrina na ordem de  $2,0 \times 10^5$  m<sup>2</sup>/kg sólido, sendo que nas primeiras a sorção de água não ocorre por poros, mas por capilares. Pode-se concluir que as substâncias apresentam comportamento higroscópico bastante distinto. Os dados obtidos permitem o cálculo da demanda energética requerida em processos de secagem dos produtos e das mudanças de umidade que podem ocorrer durante o armazenamento, assim como a escolha do material de embalagem ideal para cada produto.

Palavras-chave: Quitosana modificada. Isotermas.

## 5.2. Abstract

Water sorption isotherms of d-limonene freeze-dried emulsions in modified chitosan were determined at 15°C, 25°C and 35°C using a static gravimetric method. The data were adjusted to the Guggenheim-Anderson-of-Boer model (GAB). The total heat of sorption and the diffusivity coefficient and the pores superficial area of the products were calculated. The polysaccharide maltodextrin, commonly used as flavour encapsulation agent, was used in a parallel experiment. The monolayers humidities were almost constant for d-limonene freeze-dried emulsions in maltodextrin and it declined lightly with the increase of the temperature for d-limonene freeze-dried emulsions in modified chitosan. The heat of sorption for the chitosan microcapsules was greater as well as its diffusivity coefficient. Its pore superficial area was around  $1.0 \times 10^6 \text{ m}^2/\text{kg}$  solid and around  $2.0 \times 10^5 \text{ m}^2/\text{kg}$  solid for maltodextrin microcapsules. It was observed that chitosan microcapsules absorb water by capillary absorption. It was concluded that the substances present hygroscopic behaviour quite different. The obtained data allow the calculation of the energy demand requested in processes of drying of the products and of the humidity changes that can happen during the storage as well as the choice of the material of ideal packing for each product.

Keywords: Modified chitosan. Isotherm.

### 5.3. Introdução

A microencapsulação é um processo físico no qual filmes finos ou camadas de polímeros são aplicados a partículas sólidas, líquidas ou gasosas (Bakan, 1973). Este processo é utilizado para proteger, estabilizar e controlar a liberação de ingredientes alimentícios (Partanen *et al.*, 2002 a,b). Todas as classes de ingredientes alimentares podem ser encapsuladas, mas os aromas são os mais comuns. Uma das técnicas eficientes na encapsulação de aromas é a liofilização (Tseng *et al.*, 2000).

A liofilização é um processo delicado de conservação devido as baixas temperaturas em que a secagem ocorre. Consiste na secagem de um produto previamente congelado do qual a maior parte da água é removida por sublimação (Pitombo, 1998).

Isotermas de sorção de umidades descrevem a relação entre à umidade de equilíbrio e a atividade de água de uma substância a temperatura e pressão constantes. As isotermas permitem estimar a força de ligação das moléculas de água em relação ao sólido no qual se encontram sorvidas. Elas são importantes na modelagem de processos de secagem, no *design* e otimização de equipamentos de secagem, na predição do tempo de vida-de-prateleira do produto, na seleção do material de embalagem e no cálculo de mudanças de umidade que podem ocorrer durante o armazenamento (Pitombo & Lima, 2003; Ayrosa & Pitombo, 2003; Gal, 1975). O calor de sorção pode ser usado para estimar a energia necessária para a secagem do produto.

O objetivo desse estudo foi a determinação de isotermas de sorção de umidade de emulsões liofilizadas de d-limoneno com maltodextrina (MA-L) e quitosana modificada (QS-L) em três temperaturas (15°C, 25°C e 35°C) e, a partir disso, calcular os calores totais de sorção, os coeficientes de difusividade e as áreas superficiais dos poros das duas substâncias.

## **5.4. Materiais e métodos**

### **5.4.1. Materiais**

O d-limoneno, de pureza entre 93-95%, foi obtido da empresa Coimbra-Frutesp (Louis Dreyfus Citrus). O amido hidrolisado, maltodextrina com valor de dextrose equivalente 9-12, foi fornecido pela empresa CornProducts Brasil.

### *5.4.2. Métodos*

#### **5.4.2.1. Determinação das Isotermas de sorção de água**

As isotermas de sorção de umidade foram determinadas segundo o método descrito por Pitombo & Gioielli (1994).

Dez soluções saturadas que apresentam umidades relativas na faixa de 0,07-0,98 foram selecionadas (ANEXO III). As amostras liofilizadas em placas de Petri foram colocadas dentro de dessecadores, posteriormente, submetidos a vácuo e colocados em ambientes de temperatura controlada. As amostras foram pesadas até peso constante entre duas pesagens. Os dados foram ajustados à equação de GAB e o calor de sorção calculado pela equação de Clausius-Clapeyron.

### **5.4.3. Parte Experimental**

#### *5.4.3.1. Obtenção da quitosana succinilada*

A quitosana foi obtida a partir da quitina extraída de casca de camarão. Para a extração da quitina, a casca de camarão foi submetida a ácido clorídrico concentrado e solução diluída de hidróxido de sódio. Após esse processo, a quitina foi submetida a hidróxido de sódio concentrado sob aquecimento e agitação, obtendo-se uma quitosana com grau de desacetilação de 50%.



Amostras de 10 g de quitosana foram diluídas em solução aquosa de ácido acético 3%. Sob agitação, foram adicionados lentamente 30 g de anidrido succínico dissolvido em acetona e, posteriormente, uma solução diluída de hidróxido de sódio para que o pH se elevasse e ocorresse a formação de um sal sódico de quitosana succinilada. Adicionou-se 1 L de etanol e, após 3 horas de agitação magnética e 12 horas de repouso, a amostra foi filtrada e seca por liofilização. O grau de succinilação obtido foi de 80%.

A determinação do grau de desacetilação e do grau de substituição da quitosana preparada foi feita por espectrofotometria (Curotto & Aros, 1993). Soluções de quitosana foram submetidas à reação com ninidrina, um reagente específico que interage com grupos amino-primário provocando coloração violeta à solução proporcionalmente aos grupos nitrogênios livres presentes nas moléculas de quitosana. Utilizou-se como padrão uma solução de aminoglicosamina, um monômero da quitosana, cuja absorbância é considerada máxima. As amostras de quitosana, antes e depois da succinilação, foram submetidas à reação com ninidrina e comparadas com o padrão. Para comprovar a substituição dos radicais da quitosana por radicais de anidrido succínico, verificou-se a solubilidade da quitosana succinilada em meio básico.

#### *5.4.3.2. Preparo das Emulsões*

As soluções de 40% (p/p) de maltodextrina e soluções de 1% (p/p) de quitosana succinilada foram preparadas separadamente com água destilada. As emulsões foram preparadas na concentração de 0,12 mL de d-limoneno por 100 mL de solução suporte (maltodextrina ou quitosana succinilada) em repouso e banho de gelo. A homogeneização foi feita utilizando-se um homogeneizador de alta velocidade (Turrax) durante 1 minuto na velocidade máxima obtida pelo aparelho.

#### 5.4.3.3. Liofilização

Frascos com capacidade de 35 mL foram envasados com 5 mL das emulsões, congelados em ultrafreezer, cuja taxa de resfriamento foi de 2,5°C/ min, até atingir a temperatura de -50°C, e imediatamente colocados no liofilizador.

A liofilização foi feita em liofilizador da marca FTS System, modelo TDS-00209-A, e microprocessada pelo programa Lyphoware. Na secagem primária, a temperatura da placa foi mantida a -22°C e a pressão interna da câmara a 250mTorr. Na secagem secundária, a temperatura da placa foi mantida a 25°C e a pressão interna da câmara a 10 mTorr. A temperatura do condensador foi de -90°C e o higrômetro da marca HYGROGUARD determinou o final da liofilização, pois este aparelho informa quando não há mais água sendo retirada do produto.

As amostras secas nos frascos foram fechadas sob vácuo, a 10 mTorr, com rolhas de borracha.

## 5.5. Resultados e discussão

### 5.5.1. Isotermas de sorção de umidade

Afim de avaliar a metodologia utilizada, determinou-se a isoterma de sorção da celulose microcristalina a 25°C, apresentada na figura 25 (ANEXO IV), substância selecionada como material de referência no projeto COST-90 (Spiess & Wolf, 1983). Observou-se reprodutibilidade no método utilizado, já que o módulo da diferença entre os pontos obtidos neste estudo e os pontos obtidos no projeto COST-90 não ultrapassou 0,46g água/ g m.s.

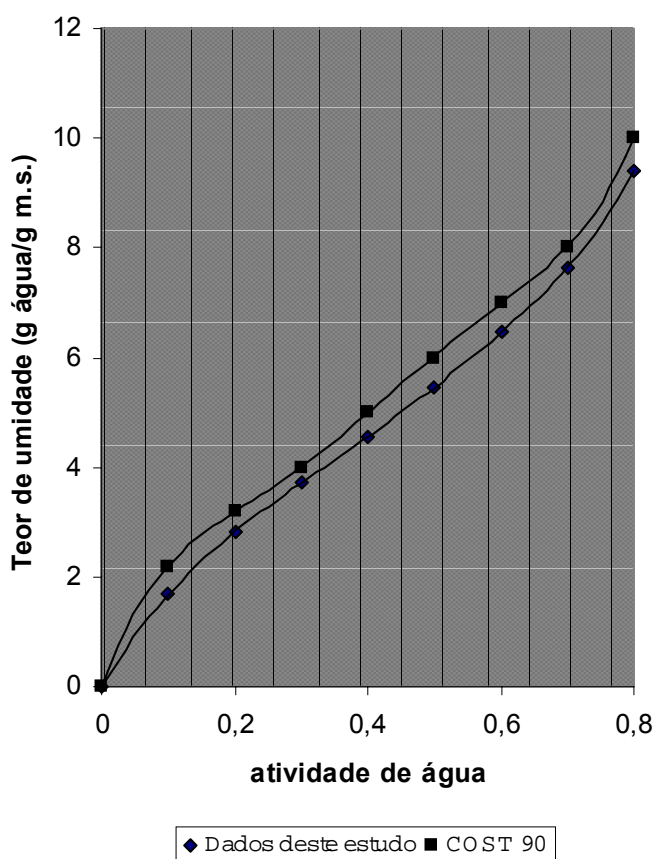


FIGURA 25. Isoterma de sorção de umidade de celulose microcristalina a 25°C.

As isotermas de sorção de umidade de MA-L e QS-L apresentam-se nas figuras 26 e 27 (ANEXO V e VI).

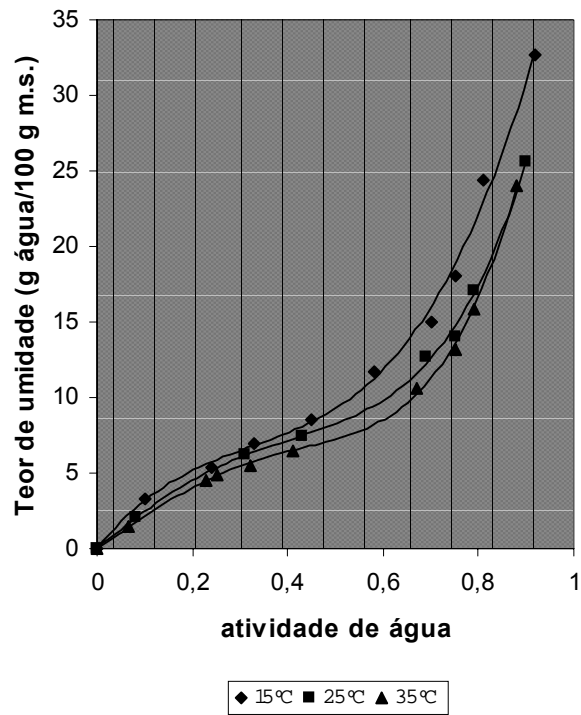


FIGURA 26. Isotherma de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C.

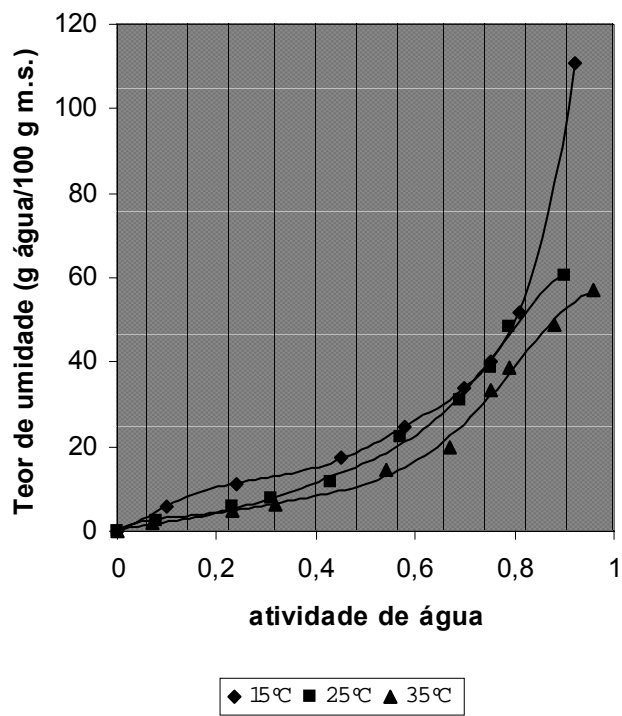


FIGURA 27. Isotherma de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C.

As isotermas mostram a variação na atividade de água com a mudança do conteúdo de umidade da amostra, a uma determinada temperatura. O trecho inicial da isoterma, parte da curva que apresenta-se côncava em relação ao eixo das abcissas, corresponde à monocamada, onde a água está fortemente ligada ao produto. O trecho intermediário, região da curva que apresenta-se linear, corresponde à multicamada, onde a água está levemente ligada ao produto. O trecho final da isoterma, parte da curva que apresenta-se convexa em relação ao eixo das abcissas, corresponde à região de água livre (Pitombo, 1998).

Observando-se as isotermas, pode-se verificar que para atividades de água menores que 0,70 o conteúdo de água absorvida por QS-L é praticamente o dobro de MA-L e para atividades de água maiores que 0,70 este valor supera o triplo. Com o aumento da temperatura o conteúdo de umidade absorvida diminui, para uma dada atividade de água, em todos os casos. Esta característica é mencionada na literatura (Saravacos & Stinchfield, 1965).

Utilizam-se modelos matemáticos para predição do comportamento isotérmico de sorção de água em produtos. O valor monomolecular é utilizado para se estimar a quantidade de água ligada a sítios polares específicos em alimentos desidratados. Este valor é de grande importância, pois corresponde ao ponto de maior consumo de energia para eliminação de água e está relacionado com o início de uma série de reações químicas de deterioração de alimentos. O conteúdo ótimo de umidade residual está perto do valor monomolecular, que proporciona a máxima estabilidade durante o armazenamento (Salwin, 1963).

Os valores monomoleculares foram calculados pelo modelo de GAB (Guggenheim – Anderson - De Boer) dado pela seguinte equação:

$$\frac{M_w}{M_{gm}} = \frac{C * K * a}{(1 - K * a) * (1 - K * a + Y * K * a)}$$

sendo,

$M_w$ , o teor de umidade (g água/100 g matéria seca)

$M_{gm}$ , a umidade de monocamada de GAB (g água/100 g matéria seca)

$Y$ , a constante de Guggenheim

$K$ , o fator de correção

$a$ , a atividade de água.

Para sua resolução, a equação de GAB foi escrita por Bizot (1983) na forma de um polinômio de segundo grau como descrito abaixo:

$$\frac{a}{M_w} = A * a^2 + B * a + C$$

sendo,

$$A = \frac{K}{M_{gm} * \left[\frac{1}{Y} - 1\right]}$$

$$B = \frac{1}{M_{gm} * \left[1 - \frac{2}{Y}\right]}$$

$$C = \frac{1}{M_{gm} * Y * K}$$

Por regressão quadrática obtém-se os valores de  $A$ ,  $B$  e  $C$ . Posteriormente obtém-se os valores de  $M_{gm}$ ,  $Y$  e  $K$ .

O ajuste do modelo de GAB foi verificado através do cálculo do desvio médio relativo ( $E$ ), expresso em porcentagem, descrito como:

$$E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{W_i - W_i^*}{W_i}$$

sendo,

$W_i$ , o teor de umidade no equilíbrio observado (g água/100 g m.s.)

$W_i^*$ , o teor de umidade no equilíbrio calculado (g água/100 g m.s.)

$n$ , o número de observações.

Considera-se que valores de  $E$  menores que 10% indicam que a equação é considerada satisfatória (Wang & Brennan, 1991).

Os resultados de  $M_{gm}$ ,  $Y$ ,  $K$ ,  $E$ ,  $r^2$  e  $n$  estão apresentados nas tabelas 4 e 5, para MA-L e QS-L.

TABELA 4

Valores de  $M_{gm}$ ,  $Y$ ,  $K$ ,  $E$ ,  $r^2$  e  $n$  para MA-L.

Temperatura (°C)	$M_{gm}$ (g água/100 g m.s.)	$Y$	$K$	$r^2$	$E$ %	$N$
15	5,98	9,59	0,91	0,952	4,06	9
25	5,89	7,07	0,85	0,913	4,16	7
35	5,33	7,12	0,86	0,819	6,26	9

TABELA 5

Valores de  $M_{gm}$ ,  $Y$ ,  $K$ ,  $E$ ,  $r^2$  e  $n$  para QS-L.

Temperatura (°C)	$M_{gm}$ (g água/100 g m.s.)	$Y$	$K$	$r^2$	$E$ %	$N$
15	11,45	8,80	0,97	0,992	1,93	8
25	10,76	2,91	0,98	0,877	4,20	9
35	8,63	2,96	0,95	0,886	6,45	9

Verifica-se que a equação de GAB foi adequada para representar a relação entre atividade de água e conteúdo de umidade de equilíbrio para ambas as microcápsulas.

Para ambas as microcápsulas, os valores de monocamada diminuíram com o aumento da temperatura (Park *et al.*, 2001; Prado *et al.*, 1999).

As isotermas de sorção de MA-L e QS-L foram reconstruídas com os valores calculados pela equação de GAB e apresentam-se nas figuras 28 e 29 (ANEXO VII e VIII), respectivamente.

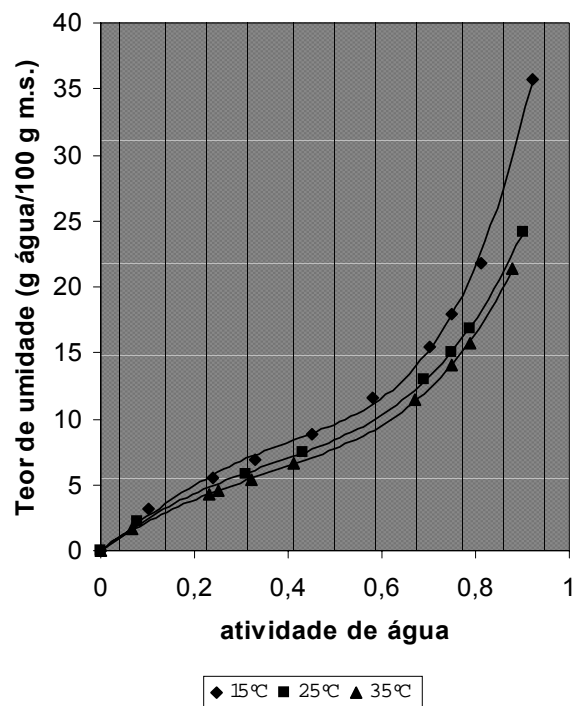


FIGURA 28. Isoterma de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C, segundo a equação de GAB.



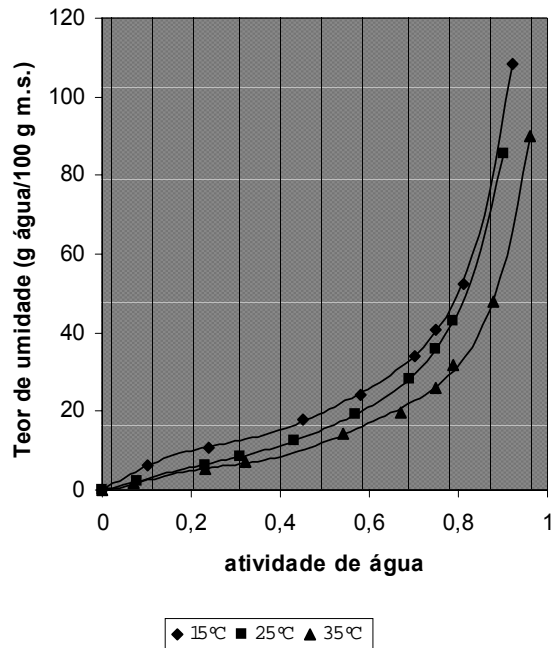


FIGURA 29. Isoterma de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C, segundo a equação de GAB.

### 5.5.2. Cálculo dos calores totais de sorção

Os dados experimentais obtidos para as isotermas foram aplicados à equação de Clausius-Calpeyron, descrita a seguir:

$$\ln a = -\frac{Q}{R \cdot T} + \tau$$

sendo,

a, a atividade de água

Q, o calor de sorção da água (Kcal/mol)

R, a constante dos gases (1,987 cal/mol)

T, a temperatura em Kelvin

A função termodinâmica usada para expressar a dependência da temperatura pela pressão de vapor é a equação de Clausius-Clapeyron, que permite o conhecimento do valor da energia de ligação das moléculas de água ligadas aos sítios de sorção (Pitombo, 1998).

Fixando-se níveis de umidade, pela equação das isotermas, obtém-se valores correspondentes de atividade de água, para as três temperaturas. Traçam-se então as isósteres correspondentes para MA-L e QS-L (ANEXO IX), curvas que relacionam o efeito da temperatura absoluta com a atividade de água, em diferentes níveis de umidade de equilíbrio.

Para se determinar o calor de sorção da água, a isoterma de sorção deve ser feita no mínimo em duas temperaturas (Pitombo, 1998). Pelas tangentes das isósteres, conforme a equação de Clausius-Clapeyron, encontram-se os valores de calor de sorção (Q), representados em função do teor de umidade na figura 30 (ANEXO X) para MA-L e QS-L. O calor total de sorção é obtido somando-se o calor de sorção ao calor latente de vaporização da água cujo valor é 10,4 kcal/mol, representado na figura pela linha horizontal.

Os valores de calor de sorção diminuíram à medida que aumentava o teor de umidade para ambas as emulsões liofilizadas (Pitombo, 1998).

O conhecimento do calor de sorção é útil ao se projetar equipamentos de secagem. Ele indica a energia de ligação entre as moléculas de vapor de água e a superfície absorvente. Este parâmetro termodinâmico aproxima-se do zero quando o conteúdo de umidade é elevado e torna-se bastante alto em conteúdos de umidade próximos ao valor monomolecular. A comprovação prática deste fato está na grande dificuldade encontrada para remover os últimos vestígios de água durante a desidratação de alimentos, exigindo alto fornecimento de energia (Pitombo, 1998).

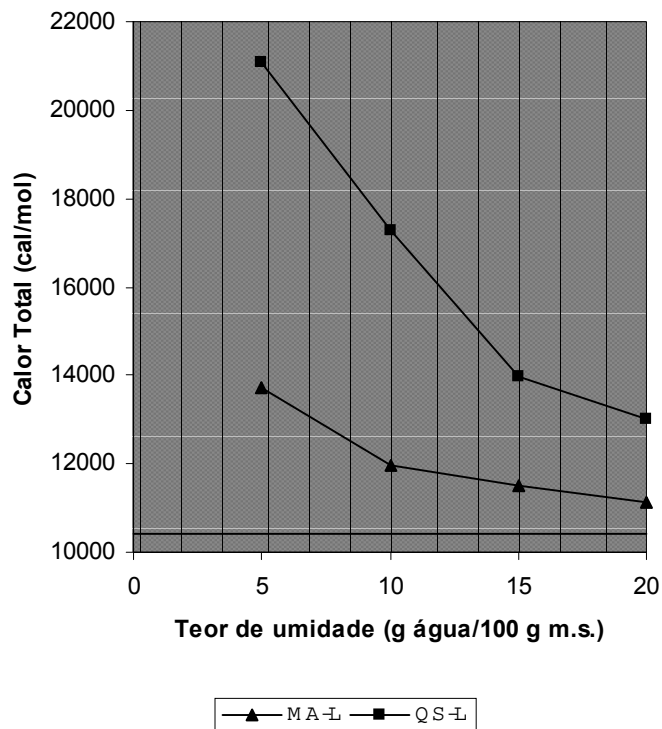


FIGURA 30. Calor total de sorção em função do teor de umidade para MA-L e QS-L.

### 5.5.3. Cálculo dos coeficientes de difusividade

Estudou-se a umidade absorvida pelo produto em função do tempo a 25°C. As figuras 31 e 32 mostram a quantidade de umidade absorvida em relação ao tempo por MA-L e QS-L, respectivamente (ANEXO XI). Observando-se os resultados nota-se que o ganho de umidade aumentou com o tempo até atingir um valor máximo e estabilizar. Quanto maior a umidade relativa do ambiente, maior é o ganho de umidade pelo produto.

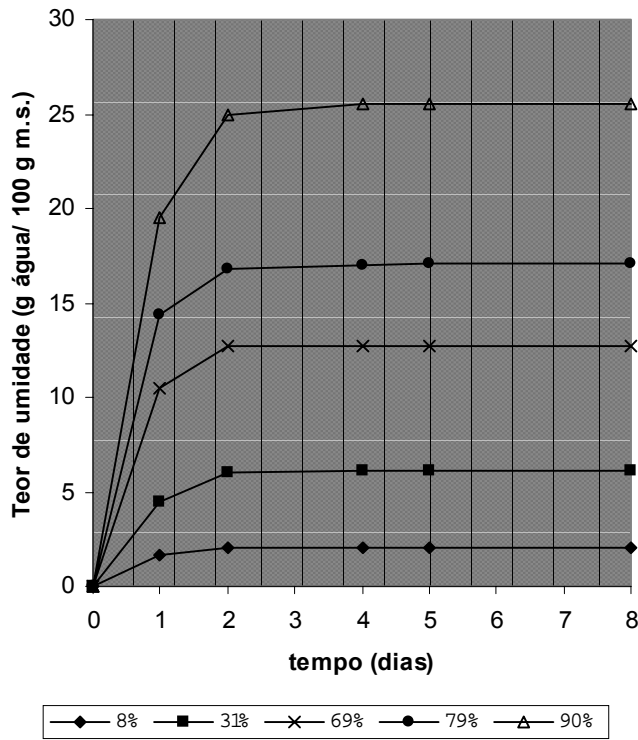


FIGURA 31. Teor de umidade absorvida ao longo do tempo, em diferentes umidades relativas a 25°C para MA-L.

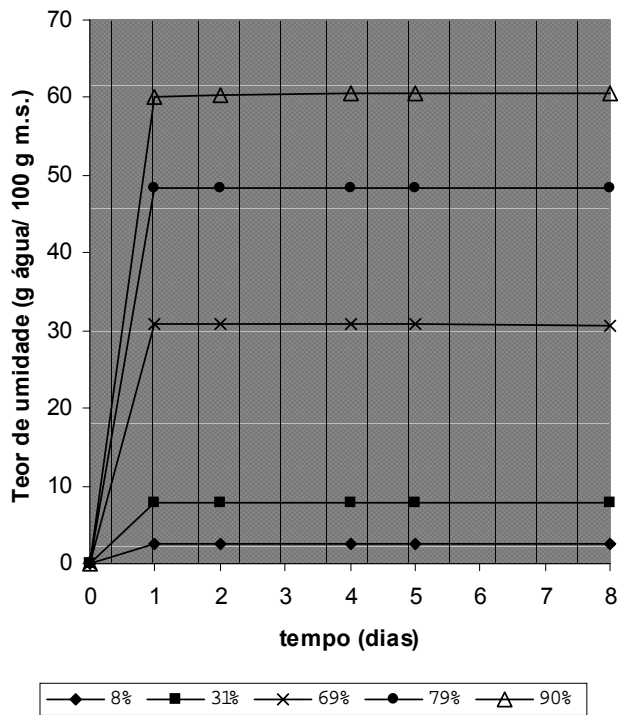


FIGURA 32. Teor de umidade absorvida ao longo do tempo, em diferentes umidades relativas a 25°C para QS-L.

Em QS-L o teor máximo de umidade é atingido mais rapidamente que em MA-L, em todos os casos. Além disso, em ambientes de umidades relativas entre 8-69%, o teor máximo de umidade atingido por MA-L ocorreu no mesmo período de tempo. Em ambientes de umidades relativas entre 79-90%, o teor máximo de umidade atingido também ocorreu no mesmo período de tempo, porém mais lentamente que o período anterior. Já para QS-L, o teor máximo de umidade atingido ocorreu no mesmo período de tempo em ambientes de umidades relativas entre 8-79% e somente em ambientes de umidade relativa 90% ocorreu mais lentamente.

A partir dos dados das figuras 31 e 32 traçam-se as isócronas. As isócronas mostram a quantidade de água absorvida pela amostra, em função da umidade relativa do ambiente em tempos determinados (ANEXO XII e XIII). Utilizam-se as isócronas para verificar se as reações gás-superfície são dependentes do tempo ou da concentração (Berlin, 1981).

Em ambos os casos pode-se observar que as reações gás-superfície são dependentes do tempo.

O coeficiente de difusão da água foi calculado a partir da equação abaixo:

$$\ln \frac{URE - U_0}{URE - U} = \frac{\pi^2 D \theta}{4L^2}$$

sendo,

URE, a umidade relativa de equilíbrio (g água/100 g m.s.)

U<sub>0</sub>, a umidade inicial (g água/100 g m.s.)

U, a umidade no instante (g água/100 g m.s.)

D, o coeficiente de difusão (cm<sup>2</sup>/s)

L, a espessura do material (cm)

Através da transformação da equação acima em uma equação de reta do tipo  $y=ax+b$ , obtém-se, por regressão linear, o valor do coeficiente de difusividade para cada umidade relativa, apresentados na figura 33 (ANEXO XIV, XV, XVI).

Verifica-se que os valores de coeficientes de difusividade para QS-L são maiores que para MA-L e em ambos os casos diminuem com o aumento da umidade relativa do ambiente. Isso pode ser explicado pelo fato de que o ganho de umidade altera a temperatura de transição vítrea do produto produzindo microcolapsos estruturais que diminuem a difusividade da água pelo produto (Pitombo, 1998).

Os valores de difusividade da água para QS-L variam mais que os valores de MA-L na mesma faixa de umidade relativa.

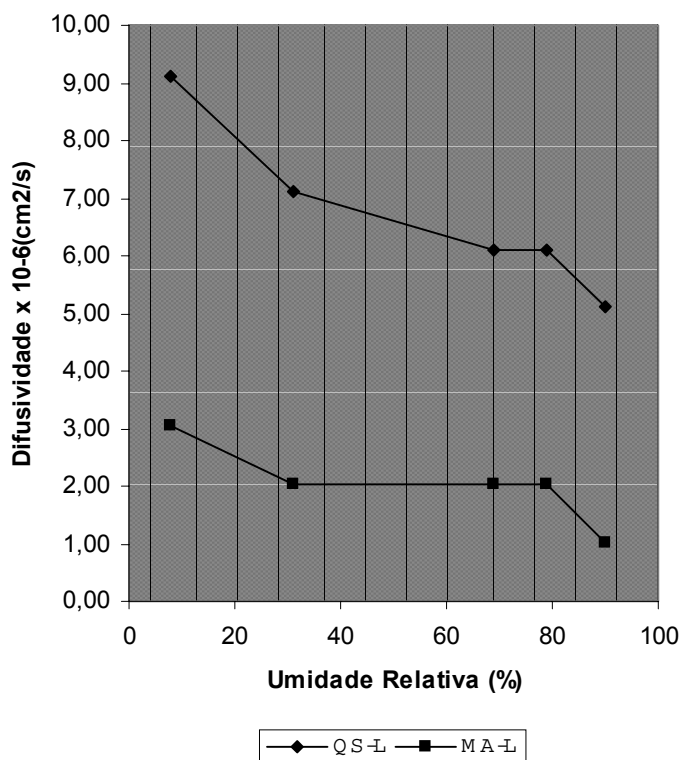


FIGURA 33. Coeficiente de difusividade em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C

#### 5.5.4. Cálculo das áreas superficiais e estruturas dos poros

O cálculo das áreas superficiais e das estruturas dos poros das matrizes liofilizadas de MA-L e QS-L foi feito com base nos procedimentos descritos por Rahman (1995).

O modelo de BET (Brunauer *et al.*, 1938) e o método t são utilizados para prever a área superficial do poro de substâncias. O modelo BET é representado pela seguinte equação:

$$\frac{a}{V * (1 - a)} = \frac{1}{V_{bm} * Bbt} + \frac{Bbt - 1}{V_{bm} * Bbt} a$$

sendo,

a, a atividade de água

V, o volume de água absorvida (m<sup>3</sup>/kg sólido), igual ao teor de umidade (Mw) sobre a densidade do vapor de água (0,7752 kg/m<sup>3</sup>)

V<sub>bm</sub>, o volume da monocamada de BET (m<sup>3</sup>/kg sólido)

Bbt, o parâmetro de BET da isoterma

Já o método t baseia-se no conceito de isoterma padrão ou curva t, descrito como:

$$t = \frac{V_{wl}}{S}$$

sendo,

V<sub>wl</sub>, o volume de água absorvida (m<sup>3</sup>/kg sólido)

S, a área superficial (m<sup>2</sup>/kg sólido)

t, a espessura estatística do filme absorvente (m)

Os valores de  $t$  podem ser estimados a partir de uma tabela descrita por Hagymassy *et al.* (1969) (ANEXO XVII) e com o conhecimento da espessura estatística da monocamada de água igual a  $0,30 \times 10^{-9}$  m.

Observando-se as isotermas de sorção de umidade de MA-L e QS-L, a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pode-se dizer que os materiais são porosos devido ao nítido crescimento no conteúdo de água a altas atividades de água (Aguerre *et al.*, 1989).

Aplicando-se a equação de BET (ANEXO XVIII) e a equação da área da superfície sólida, descrita abaixo, obtém-se os dados da tabela 6.

$$S = \frac{V_{bm} * N * A}{MMa}$$

sendo,

$N$ , número de Avogadro:  $6,023 \times 10^{23}$

$A$ , a área da molécula de água:  $11,2 \times 10^{-20} \text{ m}^2$

$MMa$ , a massa molecular da água:  $18 \text{ g/mol}$

TABELA 6

Parâmetros do modelo BET para MA-L e QS-L.

	MA-L	QS-L
Bbt	9,27	5,46
$V_{bm}$ ( $\text{m}^3/\text{kg}$ sólido)	0,0629	0,0989
$R^2$	0,985	0,960
$S$ ( $\text{m}^2/\text{kg}$ sólido)	$235,726 \times 10^3$	$370,642 \times 10^3$

Considerando poros cilíndricos para os dois materiais, pode-se calcular os raios dos poros a partir da equação:

$$r_p = \frac{2 * V_{bm}}{S}$$

Para MA-L e QS-L o raio do poro foi igual a  $5,34 \times 10^{-7}$  m.



Aplicando-se o método t obtém-se a figura 34 (ANEXO XVIII), que relaciona o volume de água absorvida pelas amostras com os valores de t.

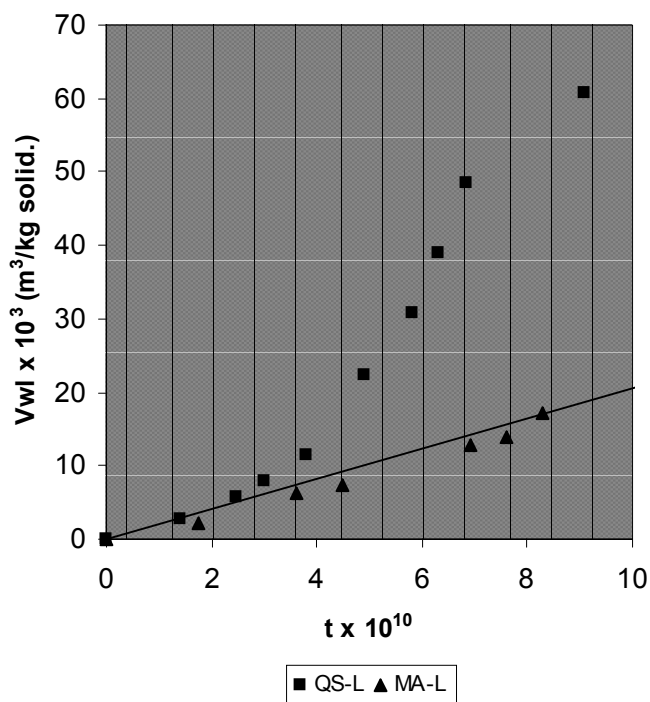


FIGURA 34. Vwl em função de t para MA-L e QS-L.

Observando-se a figura 34, verifica-se que o gráfico de MA-L apresenta-se como uma reta partindo da origem, característica de ausência de microporos ou condensação capilar. A área do poro é o coeficiente angular da reta, igual a 206.380 m<sup>2</sup>/kg sólido.

Já o gráfico de QS-L apresenta um desvio na reta que parte da origem e uma linha reta em valores intermediários de t. Este fato caracteriza condensação capilar. O coeficiente angular da reta ajustada em valores de t, entre 3,8 x 10<sup>10</sup> m e 6,3 x 10<sup>10</sup> m, é a área do poro, igual a 1.057.100 m<sup>2</sup>/kg sólido.

Comparando-se os dados de área superficial dos poros pelo modelo BET e pelo método t, verifica-se que não há diferença significativa entre os dados

de MA-L. Este fato está de acordo com Aguerre *et al.*(1989) que estudou a estrutura dos poros de diferentes amidos pelo modelo BET e pelo método de t e não encontrou diferença significativa entre as áreas obtidas pelos dois métodos. A linearidade na curva  $V_{wl} \times t$  também foi observada e interpretada como a existência de uma camada monomolecular de água seguida de multicamadas. A absorção de água ocorre em camadas concêntricas. Já para QS-L, o valor da área superficial dos poros pelo método t foi 35% superior ao valor encontrado pelo modelo BET. Iglesias & Chirife (1976b), em seu estudo, discutiram a validade da obtenção de dados a partir da utilização do modelo de BET para isotermas de sorção que possuam baixos valores de  $B_{bt}$  (denominadas isotermas do tipo III). Como a isoterma de sorção de QS-L possui a característica citada, pode-se desconsiderar o valor da área superficial dos poros obtido pelo modelo BET.

A verificação da presença de capilares em polímeros de alto peso molecular também foi observada em diversos estudos (Stamm & Millett, 1941; Smith, 1947; Benson *et al.*, 1950; Hellman & Melvin, 1950). Os autores verificaram que esses polímeros incham ao incorporarem água. Este inchaço ocorre como resultado da criação de uma estrutura capilar que aumenta o número de sítios ativos expostos na estrutura.

## **5.6. Conclusão**

Emulsões liofilizadas de d-limoneno com quitosana modificada e com maltodextrina apresentam comportamentos higroscópicos bastante distintos. Emulsões liofilizadas de d-limoneno com quitosana modificada mostraram-se mais higroscópicas e apresentaram calores totais de sorção e coeficientes de difusividade superiores. A área superficial dos poros de matrizes liofilizadas de quitosana modificada apresentou-se 5 vezes maior, também observando-se que a sorção de água não ocorre por poros, mas por capilares.

Com os dados do estudo pode-se determinar a quantidade mínima de calor requerida para remover uma quantidade de água do material tornando-se possível estimar a demanda energética dos produtos durante processos de retirada de água. Além disso, possibilita a escolha de material de embalagem ideal e o cálculo de mudanças de umidade que podem ocorrer durante o armazenamento.

## **ANEXOS**

## ANEXO I

TABELA 7

Liberação de d-limoneno em função da umidade relativa para MA-L e QS-L a 25°C.

Umidade Relativa (%)	Perda de d-limoneno (%)	
	MA-L <sup>a</sup>	QS-L <sup>a</sup>
31	5,61 ± 3,74	4,45 ± 1,36
69	7,64 ± 3,74	16,80 ± 0,35
79	9,83 ± 0,02	31,99 ± 2,79
90	73,40 ± 1,18	71,27 ± 2,90

<sup>a</sup> n=2

TABELA 8

Liberação de d-limoneno em função do teor de umidade absorvida para MA-L e QS-L a 25°C.

Teor de umidade (g água/ 100 g m.s.)	Perda de d-limoneno (%)		
	MA-L <sup>a</sup>	Umidade (g água/ 100 g m.s.)	QS-L <sup>a</sup>
0	0	0	0
5,74	5,61 ± 3,74	8,62	4,45 ± 1,36
12,98	7,64 ± 3,74	28,35	16,80 ± 0,35
12,82	9,83 ± 0,02	42,90	31,99 ± 2,79
24,13	73,40 ± 1,18	85,52	71,27 ± 2,90

<sup>a</sup> n=2

## ANEXO II

TABELA 9

Liberação de d-limoneno em função da temperatura para MA-L e QS-L, à pressão atmosférica.

Temperatura (°C)	Perda de d-limoneno (%)	
	MA-L <sup>a</sup>	QS-L <sup>a</sup>
31	1,29 ± 0,51	0,14 ± 0,55
69	8,46 ± 3,08	3,41 ± 1,04
79	19,61 ± 5,22	5,26 ± 0,63
90	35,66 ± 1,22	11,10 ± 4,69

<sup>a</sup> n=2

### ANEXO III

TABELA 10

Umidade relativa de equilíbrio de soluções saturadas de sais de 15 a 35°C (Greenspan, 1977; Young, 1967).

Sais	Umidade relativa, % a °C		
	15	25	35
Hidróxido de potássio	10,68	8,23	6,73
Acetato de potássio	24,00	23,00	23,00
Fluoreto de potássio	-	30,85	24,59
Cloreto de magnésio	33,30	32,78	32,05
Carbonato de potássio	45,00	43,16	41,00
Brometo de sódio	58,00	57,57	54,55
Iodeto de potássio	70,98	68,86	66,96
Cloreto de sódio	75,61	75,29	74,87
Sulfato de amônio	81,70	79,00	79,00
Cloreto de bário	92,00	90,00	88,00
Cromato de potássio	-	-	96,42

## ANEXO IV

TABELA 11

Dados experimentais para a construção da isoterma de sorção de umidade da celulose microcristalina a 25°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
25	0,00	0,00
	0,08	1,33
	0,23	3,11
	0,31	4,31
	0,43	4,71
	0,57	5,96
	0,69	7,16
	0,75	8,17
	0,79	9,08
	0,90	11,70
	0,98	13,11

TABELA 12

Dados calculados pela equação de GAB para a construção da isoterma de sorção de umidade da celulose microcristalina a 25°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
25	0,00	0,00
	0,08	1,42
	0,23	3,09
	0,31	3,80
	0,43	4,83
	0,57	6,14
	0,69	7,50
	0,75	8,33
	0,79	8,95
	0,90	11,10
	0,98	13,28

TABELA 13

Valores de Mgm, Y, K, E,  $r^2$  e n para a celulose microcristalina.

Temperatura (°C)	Mgm (g água/100 g m.s.)	Y	K	$r^2$	E %	n
25	4,46	7,28	0,70	0,877	4,37	10



## ANEXO V

TABELA 14

Dados experimentais para a construção de isotermas de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
15	0,00	0,00
	0,10	3,32
	0,24	5,38
	0,33	6,97
	0,45	8,55
	0,58	11,74
	0,70	14,95
	0,75	17,99
	0,81	24,45
	0,92	32,68
25	0,00	0,00
	0,08	2,06
	0,31	6,16
	0,43	7,40
	0,69	12,71
	0,75	14,02
	0,79	17,09
	0,90	25,58
	35	0,00
0,07		1,50
0,23		4,49
0,25		4,90
0,32		5,51
0,41		6,50
0,67		10,56
0,75		13,18
0,79		15,88
0,88		24,01

## ANEXO VI

TABELA 15

Dados experimentais para a construção de isotermas de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
15	0,00	0,00
	0,10	6,00
	0,24	11,36
	0,45	17,36
	0,58	24,44
	0,70	34,09
	0,75	40,33
	0,81	51,86
	0,92	111,00
	25	0,00
0,08		2,60
0,23		5,84
0,31		7,93
0,43		11,48
0,57		22,37
0,69		30,84
0,75		38,91
0,79		48,45
0,90		60,66
35	0,00	0,00
	0,07	1,80
	0,23	4,82
	0,32	6,21
	0,54	14,28
	0,67	19,63
	0,75	33,50
	0,79	38,55
	0,88	48,88
	0,96	56,86

## ANEXO VII

TABELA 16

Dados calculados pela equação de GAB para a construção de isotermas de sorção de umidade de MA-L a 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
15	0,00	0,00
	0,10	3,22
	0,24	5,56
	0,33	6,87
	0,45	8,79
	0,58	11,56
	0,70	15,51
	0,75	17,91
	0,81	21,84
	0,92	35,76
25	0,00	0,00
	0,08	2,15
	0,31	5,74
	0,43	7,46
	0,69	12,98
	0,75	15,08
	0,79	16,82
	0,90	24,13
	35	0,00
0,07		1,68
0,23		4,25
0,25		4,50
0,32		5,39
0,41		6,57
0,67		11,49
0,75		14,08
0,79		15,77
0,88		21,32

## ANEXO VIII

TABELA 17

Dados calculados pela equação de GAB para a construção de isotermas de sorção de umidade de QS-L a 15°C, 25°C e 35°C.

Temperatura (°C)	Atividade de água	Umidade (g água/100 g m.s.)
15	0,00	0,00
	0,10	6,17
	0,24	10,88
	0,45	17,78
	0,58	24,18
	0,70	34,14
	0,75	40,73
	0,81	52,58
	0,92	108,47
	25	0,00
0,08		2,31
0,23		6,35
0,31		8,62
0,43		12,59
0,57		19,09
0,69		28,35
0,75		35,84
0,79		42,90
0,90		85,52
35	0,00	0,00
	0,07	1,60
	0,23	5,19
	0,32	6,96
	0,54	14,51
	0,67	19,68
	0,75	26,02
	0,79	31,90
	0,88	47,97
	0,96	89,89

## ANEXO IX

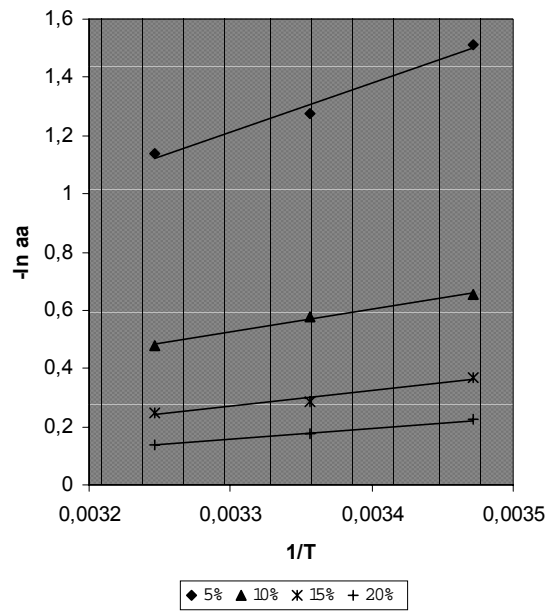


FIGURA 35. Isósteres de sorção de umidade de MA-L.

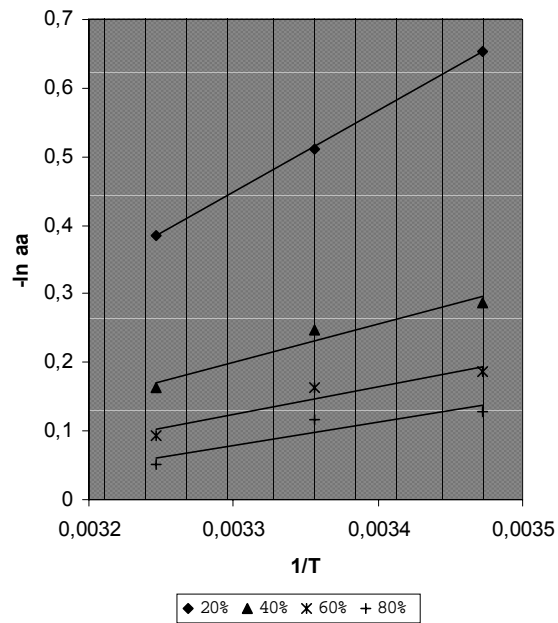


FIGURA 36. Isósteres de sorção de umidade de QS-L.

## ANEXO X

TABELA 18

Valores de calor de sorção (Q) em função do teor de umidade para MA-L.

Teor de umidade (g água/100 g m.s.)	Q (Kcal/ mol)	r <sup>2</sup>
5	3,31	0,979
10	1,55	0,988
15	1,08	0,966
20	0,74	0,994

TABELA 19

Valores de calor de sorção (Q) em função do teor de umidade para QS-L.

Teor de umidade (g água/100 g m.s.)	Q (Kcal/ mol)	r <sup>2</sup>
20	2,36	0,999
40	1,10	0,947
60	0,81	0,918
80	0,67	0,844

## ANEXO XI

TABELA 20

Teor de umidade absorvida por MA-L ao longo do tempo em ambientes de diferentes umidades relativas.

Tempo (dias)	Teor de umidade (g água/100 g m.s.)				
	8%	31%	69%	79%	90%
1	1,62	4,44	10,48	14,33	19,54
2	2,00	6,05	12,68	16,79	24,96
3	2,06	6,16	12,71	16,98	25,52
4	2,06	6,14	12,71	17,09	25,58
6	2,04	6,15	12,68	17,08	25,58

TABELA 21

Teor de umidade absorvida por QS-L ao longo do tempo em ambientes de diferentes umidades relativas.

Tempo (dias)	Teor de umidade (g água/100 g m.s.)				
	8%	31%	69%	79%	90%
1	2,55	7,83	30,78	48,40	60,02
2	2,60	7,93	30,84	48,45	60,44
3	2,59	7,90	30,82	48,44	60,64
4	2,57	7,88	30,77	48,45	60,60
6	2,56	7,90	30,70	48,45	60,50

## ANEXO XII

TABELA 22

Dados experimentais para a construção de isócronas de MA-L a 25°C.

Tempo (horas)	Teor de umidade (g água/100 g m.s.)				
	8%	31%	69%	79%	90%
3	0,34	1,46	5,34	6,43	9,60
6	0,72	2,22	6,55	8,70	11,41
9	1,00	3,05	7,82	10,40	13,94

TABELA 23

Dados experimentais para a construção de isócronas de QS-L a 25°C.

Tempo (horas)	Teor de umidade (g água/100 g m.s.)				
	8%	31%	69%	79%	90%
3	0,52	1,03	11,19	16,54	23,54
6	1,45	3,56	21,57	31,74	39,54
9	2,30	6,45	25,15	39,97	49,32



### ANEXO XIII

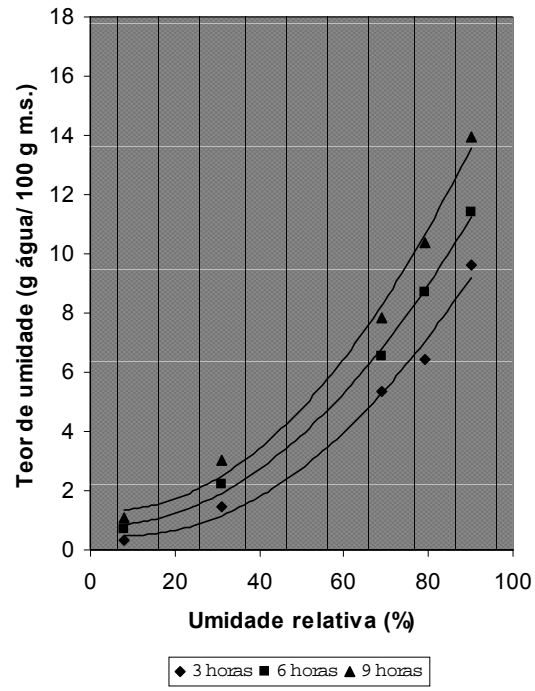


FIGURA 37. Isócronas a 25°C para MA-L.

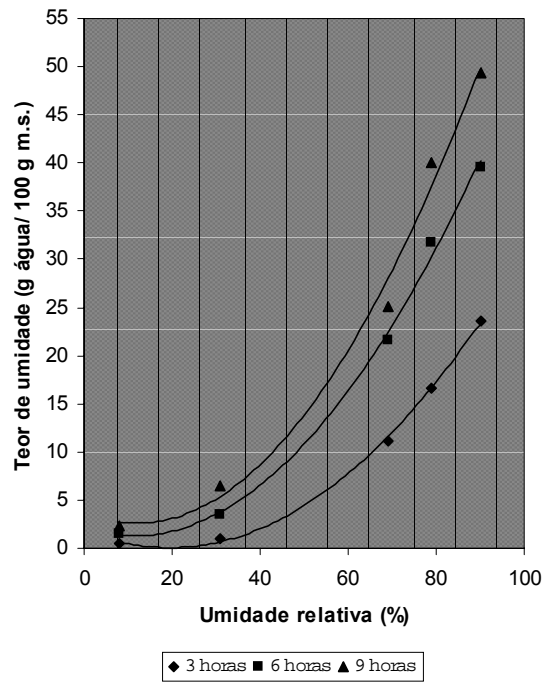


FIGURA 38. Isócronas a 25°C para QS-L.

## ANEXO XIV

TABELA 24

Dados experimentais para a construção do gráfico  $\ln(\text{URE-U}) \times t$  para MA-L.

Tempo (s)	$\ln(\text{URE-U})$				
	8%	31%	69%	79%	90%
10.800	0,542	1,548	1,997	2,366	2,771
21.600	0,293	1,371	1,818	2,127	2,651
32.400	-0,041	1,135	1,587	1,901	2,454

TABELA 25

Dados experimentais para a construção do gráfico  $\ln(\text{URE-U}) \times t$  para QS-L.

Tempo (s)	$\ln(\text{URE-U})$				
	8%	31%	69%	79%	90%
10800	0,732	1,932	2,978	3,463	3,614
21600	0,140	1,475	2,227	2,816	3,049
32400	-1,204	0,392	1,739	2,138	2,427

## ANEXO XV

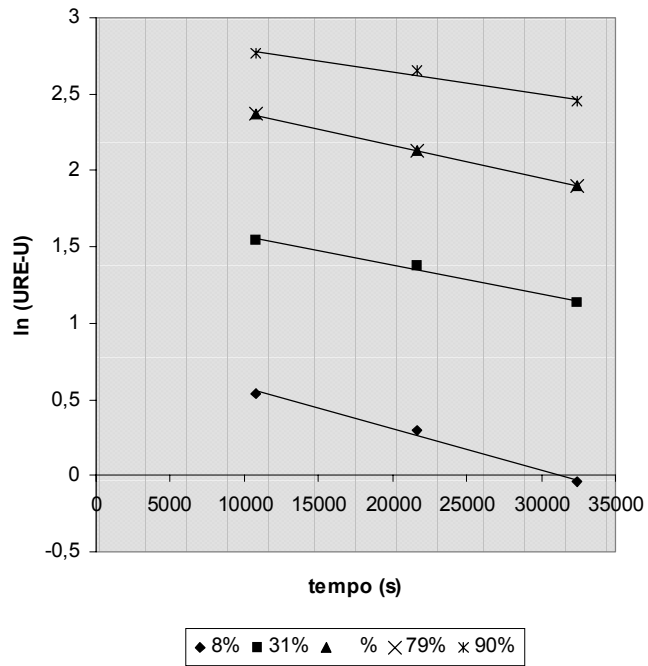


FIGURA 39. Gráfico de  $\ln(\text{URE-U})$  x t para MA-L.

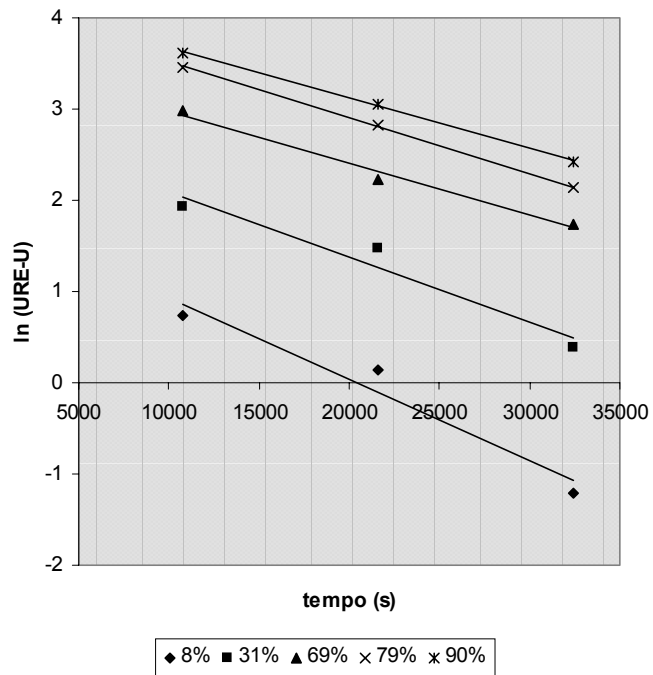


FIGURA 40. Gráfico de  $\ln(\text{URE-U})$  x t para QS-L.

## ANEXO XVI

TABELA 26

Coefficientes de difusividade (D) em função da umidade relativa para MA-L a 25°C.

Umidade Relativa (%)	D (cm <sup>2</sup> /s)	r <sup>2</sup>
8	3,04 x 10 <sup>-6</sup>	0,9932
31	2,02 x 10 <sup>-6</sup>	0,9903
69	2,02 x 10 <sup>-6</sup>	0,9997
79	2,02 x 10 <sup>-6</sup>	0,9997
90	1,01 x 10 <sup>-6</sup>	0,9810

TABELA 27

Coefficientes de difusividade (D) em função da umidade relativa para QS-L a 25°C.

Umidade Relativa (%)	D (cm <sup>2</sup> /s)	r <sup>2</sup>
8	9,1 x 10 <sup>-6</sup>	0,9522
31	7,1 x 10 <sup>-6</sup>	0,9478
69	6,1 x 10 <sup>-6</sup>	0,9852
79	6,1 x 10 <sup>-6</sup>	0,9998
90	5,1 x 10 <sup>-6</sup>	0,9992

## ANEXO XVII

TABELA 28

Números estatísticos de camadas em função da atividade de água .

Atividade de água	Bbt=50 a 200	Bbt=23	Bbt=10 a 14,5	Bbt=5,2	Bbt=10 a 200
0,010	0,54	0,45	0,30	0,20	-
0,025	0,63	0,54	0,40	0,30	-
0,050	0,87	0,63	0,49	0,41	-
0,100	1,03	0,79	0,64	0,56	-
0,150	1,13	0,94	0,78	0,68	-
0,200	1,22	1,08	0,92	0,79	-
0,250	1,31	1,21	1,04	0,89	-
0,300	1,39	1,33	1,17	0,99	-
0,350	1,47	1,46	1,29	1,10	-
0,400	1,56	1,56	1,41	1,21	-
0,450	1,64	1,64	1,57	1,31	-
0,500	1,75	1,75	1,72	1,43	1,75
0,550	-	-	-	1,54	1,88
0,600	-	-	-	1,67	2,00
0,650	-	-	-	1,82	2,16
0,700	-	-	-	1,96	2,33
0,750	-	-	-	2,11	2,53
0,800	-	-	-	2,30	2,78
0,850	-	-	-	2,55	3,11
0,900	-	-	-	3,03	3,54
0,925	-	-	-	3,45	3,80
0,950	-	-	-	4,00	4,15
0,975	-	-	-	4,68	4,68
0,990	-	-	-	5,72	5,72
1,000	-	-	-	6,06	6,06

## ANEXO XVIII

TABELA 29

Dados experimentais das isotermas de sorção de umidade de MA-L e QS-L a 25°C.

	Atividade de água	Umidade (kg água/kg m.s.)	V (m <sup>3</sup> /kg sólido)	a/V(1-a)	V <sub>wl</sub> x 10 <sup>5</sup> (m <sup>3</sup> /kg sólido)	t x 10 <sup>10</sup> (m)
MA-L	0,00	0,0000	0,0000	0,000	0,00	0,00
	0,08	0,0206	0,0265	3,271	2,06	1,74
	0,31	0,0616	0,0794	5,653	6,16	3,60
	0,43	0,0740	0,0954	7,903	7,40	4,47
	0,69	0,1271	0,1639	13,578	12,71	6,93
	0,75	0,1402	0,1808	16,588	14,02	7,59
	0,79	0,1709	0,2204	17,067	17,09	8,28
	0,90	0,2558	0,3299	27,276	25,58	10,62
QS-L	0,00	0,0000	0,0000	0,000	0,00	0,00
	0,08	0,0260	0,0335	2,593	2,60	1,41
	0,23	0,0584	0,0753	3,965	5,84	2,49
	0,31	0,0793	0,1023	4,392	7,93	3,00
	0,43	0,1148	0,1481	5,094	11,48	3,81
	0,57	0,2237	0,2886	4,594	22,37	4,92
	0,69	0,3084	0,3978	5,595	30,84	5,82
	0,75	0,3891	0,5019	5,977	38,91	6,33
	0,79	0,4845	0,6250	6,019	48,45	6,84
	0,90	0,6066	0,7825	11,501	60,66	9,09

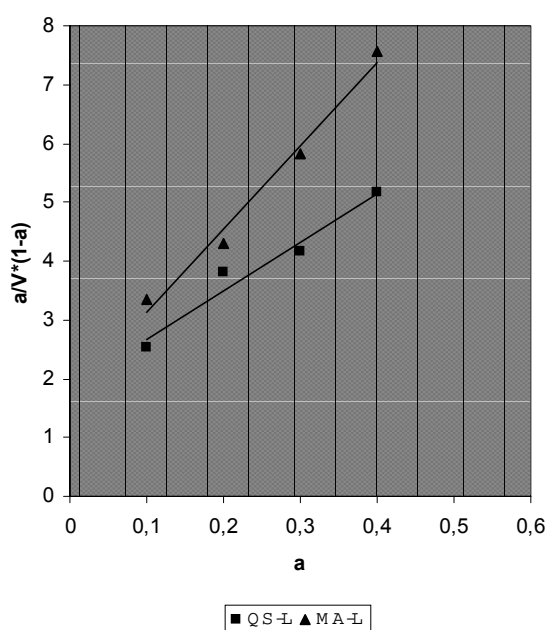


FIGURA 41.  $a/V_{wl}/(1-a)$  em função da atividade de água para MA-L e QS-L.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON, J. C.; SAFFLE, R. L. Stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Food Science*, Chicago, v.35, p.852-854, 1970.
- AGUERRE, R. J.; SUAREZ, C.; VIOLLAZ, P. E. Swelling and pore structure in starchy materials. *Journal of Food Engineering*, London, v.9, n.71, p.71-80, 1989.
- AKBUGA, J. The effects of the physicochemical properties of a drug on its release from chitosonium malate matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v.100, p.257-261, 1993.
- AYROSA, A. M. I. B.; PITOMBO, R. N. M. Influence of plate temperature and mode of rehydration on textural parameteres of precooked freeze-dried beef. *Journal of Food Processing Preservation Trumbull*, Trumbull, v. 27, n. 3, p. 173-180, 2003.
- AWI. Alfred-Wegener-Institut. Disponível em: [www.awi-bremerhaven.de/Eistour/krill-e.html](http://www.awi-bremerhaven.de/Eistour/krill-e.html). Acesso em: 20 nov. 2004.
- BAKAN. J. A. Microencapsulation of foods and related products. *Food Technology*, Chicago, v.27, n.34, 1973.
- BALASSA, L. L.; FANGER, G. O. Microencapsulation in the food industry. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, Boca Raton, p. 245-265, 1971.
- BENSON, S. W.; ELLIS, D. A.; ZWANZIG, R. W. Surface area of proteins. III. Adsorption of water. *Journal of the American Chemical Society*, Easton, v.72, p.2102-05, 1950.
- BERLIN, E. Hidration of milk proteins. In: ROCKLAND, L. B.; STEWART, G. F. *Water activity: influence on food quality*. London: Academic Press, 1981, p.467-471.
- BIAGINI, G.; MUZZERELLI, R. A. A.; GIARDINO, R. E.; CASTALDINI, C., Biological Material for wound healing. Advances in chitin and chitosan edited by Charles J. Brine, Paul A. Sandford, John P Zikakis. London New York Elsevier Applied Science c1992

- BIZOT, H. Using 'GAB' model to construct sorption isotherms. *Physical properties of food* / edited by Micha Peleg, Edward B. Bagley. Westport, Conn.: AVI Publishing, 1983. 532p. (IFT basic symposium series).
- BONE, D. P. Practical applications of water activity and moisture relations in foods. In: ROCKLAND, L. B.; BEUCHAT L. R. *Water activity: theory and applications to food*. New York: Marcel Dekker, 1986, p. 369-396.
- BORAH, G.; SCOTT, G.; WORTHAM, K. Bone induction by chitosan in endochondral bones of the extremities. In: BRINE, I.; CHARLES, J. *Advanced in chitin and chitosan*. Elsevier Science Publishers, London, 1992, p.47-53.
- BOUTBOUL, A.; GIAMPAOLI, P.; FEIGENBAUM, A.; DUCRUET, V. Influence of the nature and treatment of starch on aroma retention. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v.47, p.73-82, 2002.
- BRADDOCK, R. J.; CADWALLADER, K. R. Bioconversion of citrus d-limonene. In: ROUSEFF, R. L.; LEAHY, M. M. *Fruit Flavors Biogenesis, Characterization, and Authentication*. Washington DC: American Chemical Society, ACS Symposium Series 596, 1995, p. 142-148.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, Easton, v.60, p.309, 1938.
- CHANDY, T.; SHARMA, C. P. Chitosan as biomaterial. *Biomaterials*, Guildford, v.18, p.1-24, 1990.
- CHOI, B. K.; KIM, K. Y.; YOO, Y. J.; OH, S. J.; CHOI, J. H.; KIM, C. Y. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Streptococcus mutans*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, London, v.18, p.553-557, 2001.



- CUROTTO, E.; AROS, F. Quantitative Determination of Chitosan and the Percentage of Free Amino Groups. *Analytical Biochemistry*, New York, v.211, p. 240-241, 1993.
- DAVIS, S. S. Sustained release chitosan microspheres. *Journal of Microencapsulation*, London, v.16, p.343, 1999.
- DU, J. M.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, Tokyo, v.66, p.15–22, 1997.
- DUCKWORTH, R. B.; SMITH, G. M. The environment for chemical change in dried and frozen foods. *Proceedings of the Nutrition Society*, London, v.22, p.182, 1963.
- DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*, Chicago, v. 42, p. 136-151, 1988.
- FÉLIX, V. L. *Extracción supercrítica de astaxantina de biodesechos de jaiba (Callinectes sapidus) con CO<sub>2</sub> /etanol y su microencapsulado con quitosano*. México, 1999. Dissertação de mestrado, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.
- FITZPATRICK, S.; SAKLATVALA, R. Understanding the physical stability of freeze dried dosage forms from the glass transition temperature of the amorphous components. *Journal of Pharmaceutical Science*, Philadelphia, v.92, p.2504-2510, 2003.
- FLINK, J. Energy analysis in dehydration processes. *Food Technology*, Chicago, v.31, p.77-84, 1977.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED. Fisheries Department. Disponível em: [www.fao.org/fi/fcp/fcp.asp](http://www.fao.org/fi/fcp/fcp.asp). Acesso em: 20 nov. 2004.

- FRANKS, F. Hydration Phenomena: An update and implication for the food process industry. In: LEVINE, N. *Water relationships in foods*. New York: Plenum Press, 1991, p.1-19.
- GAL, S. Recent advances in techniques for the determination of sorption isotherms. In: DUCKWORTH, R. B. *Water relations of foods*. London: Academic Press, 1975, p. 139-153.
- GIOIELLI, L. A.; PITOMBO, R. N. M. Conservação de alimentos pelo controle da umidade. In: Baruffaldi, Renato. Fundamentos de tecnologia de alimentos / Renato Baruffaldi [e] Marice Nogueira de Oliveira São Paulo : Atheneu, c1998 317 p Série ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição; v.3.
- GINSBURG, A. S. The forms and energy of moisture binding in foods as a basis for choosing rational methods for processing and storage. In: ROCKLAND, L. B; STEWART, G. F. *Water activity: influences on food quality*. New York: Academic Press, 1981, p. 679.
- GOUBET, I.; LE QUERE, J. -L.; VOILLEY, A. J. Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physicochemical characteristics and of their physical state. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v.46, p.1981-1990, 1998.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, Cambridge, v.15, p. 330-347, 2004.
- GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research. National Bureau of Standards (A. Physic. Chem.)*, v. 81, n.1, p. 92-93, 1977.
- HAGYMASSY, J.; BRUNAEUR, S.; MIKHAIL, R. S. Pore structure analysis by water vapor adsorption I. T-curves for water vapor. *Journal of Colloid and Interface Science*, New York, v.29, n.3, p.485, 1969.
- HE, P.; DAVIS, S. S.; ILLUM, L. Chitosan microspheres prepared by spray drying. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v. 187, n.1, p.53-65, 1999.

- HELLMAN, N. N.; MELVIN, E. H. Surface area of starch and its role in water sorption. *Journal of the American Chemical Society*, Easton, v.72, p. 5186-87, 1950.
- HIGUERA, C. I.; FÉLIX, V. L.; GOYCOOLEA, V. F. M.; ARGÜELLES, M. W. M. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 56, n.1, p. 41-45, 2004.
- IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J. Isothermic heats of water sorption on dehydrated foods. Part II. Hysteresis and heat of sorption comparison with BET theory. *Food Science and Technology*, London, v.9, p.107, 1976a.
- IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J. B.E.T. Monolayer values in dehydrated foods and food components. *Food Science Technology*, London, v.9, p. 1113, 1976b.
- ILLUM, L. Chitosan and its use as pharmaceutical excipient. *Pharmaceutical Research*, Hingham, v.15, n.9, p.1326-1331, 1998.
- IRWANDI, J.; ABDULLAH, W. J. W. Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavor. *Journal of the Food and Agriculture*, London, v. 79, p. 1075-1080, 1999.
- JEGAT, C.; TAVERDET, J. L. Stirring speed influence study on the microencapsulation process and on the drug release from microcapsules. *Polymer Bulletin*, Berlin, v.44, p.345-351, 2000.
- JEON, Y. J.; PARK, P. J.; KIM, S. K. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 44, p. 71–76, 2001.
- JIANG, Y. M.; LI, Y. B. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*, Barking, v.73, p. 139–143, 2001.

- KAPSALIS, J. G. Moisture sorption hysteresis. In: ROCKLAND, L. B.; STEWARD, G. F. *Water activity: influence on food quality*. New York: Academic Press, 1981, p. 143-177.
- KAPSALIS, J. G. Influences of hysteresis and temperature on moisture sorption isotherms. In: ROCKLAND, L. B., STEWARD, G. F. *Water activity: theory and applications to food*. New York: Marcel Dekker, 1986, p. 173-214.
- KAREL, M. Equilibrium and rate considerations in process for food concentration and dehydration. In: FENNEMA, O. R. *Principles of food science: physical principles of food preservation*. New York: Marcel Dekker, 1975, v.4, p.219.
- KAWASHIMA, Y.; LIN, S. Y.; KASAI, A.; HANDA, T.; TAKENAKA, H. Preparation of a prolonged release tablet of aspirin with chitosan. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Tokyo, v.33, p-2107-2113, 1985.
- KENYON, M. M. Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. Washington: American Chemical Society, 1995, p.161-168.
- KRISTL, J.; SMID-KORBAR, J.; STRUC, E.; SCHARA, M.; RUPPRECHT, H. Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v. 99, p. 13-19, 1995.
- KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Progress in Polymer Science*, Oxford, v.26, p.1921-1971, 2001.
- LABUZA, T. P. Sorption phenomena in foods. *Food Technology*, Chicago, v. 22, p. 15-24, 1968.
- LABUZA, T. P. Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, 1984, 150p.

- LABUZA, T. P.; KAAANANE, A.; CHEN, J. Y. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 50, p. 385, 1985.
- LEE, H.; KIZITO, S. A.; WEESE, S. J.; CRAIG-SCHMIDT, M. C.; LEE, Y.; WEI, C. I.; AN, H. Analysis of headspace volatile and oxidized volatile compounds in DHA-enriched fish oil on accelerated oxidative storage. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2169-2177, 2003.
- LIU, X. D.; ATARASHI, T.; FURUTA, T.; YOSHII, H.; AISHIMA, S.; OHKAWARA, M.; LINKO, P. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. *Drying Technology*, Monticello, v. 19, n. 7, p. 1361-1374, 2001.
- LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products, *Food Science Technology*, London, v.18, p.111, 1985a.
- LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part II: Milk, coffee, tea, nuts, oilseeds, spices and starchy foods, *Food Science Technology*, London, v.18, p.118, 1985b.
- MAN, Y. B. C.; IRWANDI, J.; ABDULLAH, W. J. W. Effect of different types of maltodextrin and drying methods on physico-chemical and sensory properties of encapsulated durian flavour. *Journal of the Science and Food Agriculture*, London, v. 79, p. 1075-1080, 1999.
- MCLAREN, A. D.; ROWEN, J. W. Sorption of water vapor by proteins and polymers: a review. *Journal of Polymer Science*, Easton, v. 7, p. 289, 1952.
- MINAMI, S.; OKAMOTO, Y.; MATSHUHASHI, A.; SASHIWA, H.; SAIMOTO, H.; SHIGEMASA, Y.; TANIGAWA, T.; TANAKA Y.; TOKURA, S. Application of chitin and chitosan in large animal practice. In: BRINE, I.; CHARLES, J. *Advanced in chitin and chitosan*. London: Elsevier Science Publishers, 1992, p.61-69.

- MIYAZAKI, S.; NAKAYAMA, A.; ODA, M.; TAKADA, M.; ATTWOOD, D. Drug release from oral mucosal adhesive tablets of chitosan and sodium alginate. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v. 118, p. 257-263, 1995.
- MLADENOV, D. A.; TSVETKOV, TS. D.; VULCHANOV, N. L. Freeze Drying of biomaterials for the medical practice. *Cryobiology*, Baltimore, v. 30, p. 335-348, 1993.
- MONGENOT, N.; CHARRIER, S.; CHALIER, P. Effect of ultrasound emulsification on cheese aroma encapsulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 48, p. 861-867, 2000.
- MUZZARAELLI R. A. A.; WECKX, M.; FILIPPINI, O. Removal of trace metal ions from industrial water, nuclear effluents and drinking water with the aid of crosslinked N-carboxymethyl chitosan. *Carbohydrate Polymers*, v.11, Barking, p. 293–306, 1989.
- NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 74, p. 65–72, 2002.
- OKOS, M. R.; NARSIMHAN, G.; SINGH, R. K. *Food dehydration*. In: HELDMAN, R.; LUND, D. B. *Handbook of food Engineering*. New York: Marcel Dekker, 1992, p.100-03.
- OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 62, p. 139–148, 2000.
- PARK, K. J., BIN, A., BROD, F. P. R. Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a pêra bartlett (*Pyrus sp.*) com e sem desidratação osmótica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.21, n.1, p.73-77, 2001.

- PARTANEN, R.; YOSHII, H.; KALLIO, H.; YANG, B.; FORSELL, P. Encapsulation of sea buckthorn kernel oil in modified starches. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Chicago, v. 79, n. 3, p. 219-223, 2002 a.
- PARTANEN, R.; AHRO, M.; HAKALA, M.; KALLIO, H.; FORSELL, P. Microencapsulation of caraway extract in beta-cyclodextrin and modified starches. *European Food Research and Technology*, Weinheim, v. 214, n. 3, p. 242-247, 2002 b.
- PEARSON, A. M.; SPOONER, M. E.; HEGERTY, G. R.; BRATZLER, L. J. The emulsifying capacity and stability of soy sodium proteinate, potassium caseinate and nonfat dry milk. *Food Technology*, Chicago, v.19, p.1841-1846, 1965.
- PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J. K. Flesh quality and lycopene stability of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 31, n. 2, p. 159-166, 2004.
- PITOMBO, R. N. M. A liofilização como técnica de conservação de material de pesquisa. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 41, p. 427-431, 1989.
- PITOMBO, R. N. M.; SPRING, C.; PASSOS, R. F.; TONATO, M.; VITOLO, M. Effect of moisture content on the invertase activity of freeze-dried *S. cerevesae*. *Cryobiology*, Baltimore, v. 31, p. 383-392, 1994.
- PITOMBO, R. N. M.; GIOIELLI, L. A. Influência do pH sobre o teor de d-limoneno em emulsões de lactose liofilizadas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 14, n. 1, p. 76-84, 1994.
- PITOMBO, R. N. M. Relações entre água e propriedades mecânicas da carne bovina liofilizada. São Paulo, 1998, 158p., Tese de Livre Docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- PITOMBO, R. N. M. Suco de laranja liofilizado: influência da atividade de água e temperatura sobre o teor de vitamina C. *Farmácia & Química*, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 45-47, 1999.

- PITOMBO, R. N. M. Liofilização de proteínas para fins biotecnológicos. In: II Congresso Internacional de biotecnologia: Actualidad y perspectivas, 2, Arequipa, 2001. Texto. Arequipa: Actas y Resúmenes, s.d., p. 53-64.
- PITOMBO, R. N. M.; LIMA, G. A. M. R. Nuclear magnetic resonance and water activity in measuring the water mobility in Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) fish. *Journal of Food Engineering*, London, v. 58, p. 59-66, 2003.
- POLYMAR. Polymar Ind. Com. Imp. e Exp. Ltda. A quitosana. Disponível em: <http://www.polymar.com.br/quitosana/quito.htm>. Acesso em: 20 nov. 2004.
- POTHAKAWURY, R. U.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends in Food Science and Technology*, Cambridge, v.6, p.397-406, 1995.
- PRADO, M. E. T., ALONSO, L. F. T., SALES, A. F. Isotermas de sorção de tâmaras: determinação experimental e avaliação de modelos matemáticos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.19, n.1, p.143-146, 1999.
- RAHMAN, S. *Food Properties Handbook*. CRC Series in Contemporary Food Science, 1995, 499p.
- RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, London, v. 49, p. 311-319, 2001.
- RAZDAN, A.; PETTERSSON, D. Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentration in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v. 72, p. 277-288, 1994.
- RAZDAN, A.; PETTERSSON, D. Hypolipidaemic, gastrointestinal and related responses of broiler chickens to chitosans of different viscosity. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v. 76, p. 387-397, 1996.
- REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology*, Chicago, v. 45, n. 3, p. 144-146, 149, 1991.
- REINECCIUS, G. A.; WARD, F. M.; WHORTNON, C.; ANDON, S. A. Developments in gum acacia for the encapsulation of flavors. In: RISCH,



- S. J.; REINECCIUS, G. A. *Encapsulation and controlled release of food ingredients*, 1995, p. 161-168.
- RHOADES, J.; ROLLER, S. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p. 80–86, 2000.
- RISCH, S.J.; REINECCIUS, G. A. *Encapsulation and controlled release of food ingredients*, Washington: American Chemical Society, 1995, 214 p.
- ROLLER, S.; COVILL, N. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 47, p. 67–77, 1999.
- ROLLER, S.; COVILL, N. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 63, p. 202–209, 2000.
- ROMEU-NADAL, M.; CASTELLOTE, A. I.; LÓPEZ-SABATER, M. C. Headspace gas chromatographic method for determining volatile compounds in infant formulas. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 1046, n. 1-2, p. 235-239, 2004.
- SALTO do camarão. *Pesqui. FAPESP*, São Paulo, n.92, p.78-81, 2003.
- SALWIN, H. Moisture levels required for stability in dehydrated foods. *Food Technology*, Chicago, v. 17, n. 9, p. 1114-1121, 1963.
- SARAVACOS, G. D.; STINCHFIELD, R. M. Effect of temperature and pressure on the sorption of water vapor by freeze-dried food materials. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 30, n. 5, p. 770-786, 1965.
- SENEL, S.; MCCLURE, S. J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, n. 10, p. 1467-1480, 2004.
- SEO, H.; MITSUHASHI, R.; TAUIBE, H., Antibacterial and antifungal fiber blended by chitosan. In: BRINE, I.; CHARLES, J. *Advanced in chitin and chitosan*. London: Elsevier Science Publishers, 1992, p.34-40.

- SHAHIDI, F.; ARACHCHI, J. K. V.; JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, Cambridge, v. 10, p. 37–51, 1999.
- SHEU, T. Y.; ROSENBERG, M. Microencapsulation by spray-drying ethylcaprylate whey protein and carbohydrate wall systems. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 60, p. 98-103, 1995.
- SIMATOS, D. Characterization of the condition of water in foods. Physico-Chemical aspects. In: SEOW, C.C. *Food Preservation by Moisture Control*. London: Elsevier Applied Science, 1988, p.1-41.
- SMITH, S. E. The sorption of water by high polymers. *Journal of the American Chemistry Society*, Easton, v. 69, p. 646-51, 1947.
- SOOTTITANTAWAT A.; YOSHII H.; FURUTA T.; OHKAWARA M.; LINKO P. Microencapsulation by spray drying: Influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2256-2262, 2003.
- SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; KUMAR, K. R.; THARANATHAN, R. N. Properties of chitosan films prepared under different drying conditions. *Journal of Food Engineering*, London, v. 63, n. 1, p. 79-85, 2004.
- SPIESS, W. E. L.; WOLF, W. R. The results of the COST 90 project on water activity. In: JOWWITT, R. *Physical Properties of Foods*, London: Applied Science Publishers, p. 65-87, 1983.
- STAMM, A. J.; MILLET, M. A. The internal surface of cellulosic materials. *Journal Physics and Chemistry*, New York, v. 45, p. 43-54, 1941.
- SUGANO, M.; YOSHIDA, K.; HASHIMOTO, M.; ENOMOTO, K.; HIRANO, S. Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosan in rats. In: BRINE, C. J.; SANDFORD, P. A.; ZIKAKIS, J. P. *Advances in Chitin and Chitosan*, London: Elsevier, 1992, p. 472–478.

- SUZUKI, K.; MIKAMI, T.; OKAWA, Y.; TOKORO, A.; SUZUKI, S.; SUZUKI, M. Antitumor effect of hexa-*N*-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydrate Research*, Amsterdam, v. 151, p. 403–408, 1986.
- TAKEUCHI, H.; YASUJI, T.; YAMAMOTO, H. Spray-dried lactose composite particles containing an ion complex of alginate-chitosan for designing a dry-coated tablet having a time-controlled releasing function. *Pharmaceutical Research*, Hingham, v. 17, p. 94-99, 2002.
- TOZAKI, H.; ODORIBA, T.; OKADA, N.; FUJITA, T.; TERABE, A.; SUZUKI, T.; OKABE, S.; MURANISHI, S.; YAMAMOTO, A. Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: enhanced localization of 5-aminosalicylic acid in the large intestine accelerates healing of TNBS-induced colitis in rats. *Journal of Controlled Release*, Amsterdam, v. 82, n. 1, p. 51-61, 2002.
- TSENG, K. S.; BRENNAN, J. G.; LEWIS, M. J. Retention of volatiles in spray drying and freeze-drying. *Food Australia*, v.52, n.10, p.463-465, 2000.
- TSAMI, E.; MARINOS, D.; MAROULIS, Z. B. Water Sorption Isotherms of Raisins, Currants, Figs, Prunes and Apricots. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 50, n. 6, p. 1594-1597, 1625, 1990.
- VAN DER BERG, C. Development of B.E.T. like models for sorption of water on foods, theory and relevance, In: SIMATOS, D.; MULTON, J. L. *Properties of Water in Foods*. Dordtch, Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1985.
- VANDERHAEGEN, B.; NEVEN, H.; COGHE, S.; VERSTREPEN, K. J.; VERACHTERT, H.; DERDELINCKX, G. Evolution of chemical and sensory properties during aging of top-fermented beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 51, n. 23, p. 6782-6790, 2003.

- WANG, N.; BRENNAN, J. G. Moisture sorption isotherm characteristics of potatoes at 4 temperatures. *Journal Food Engineering*, London, v. 14, n. 1, 1991.
- WATANABE, Y.; FANG, X.; ADACHI, S.; FUKAMI, H.; MATSUNO, R. Oxidation of 6-O-arachidonoyl L-ascorbate microencapsulated with a polysaccharide by spray-drying. *Lebensm.-Wiss. u.-Technology*, v. 37, p. 395-400, 2004.
- WORLD OF FOOD SCIENCE. Alimentos Funcionales. Conceptos y Beneficios Para la Salud. Disponível em: [www.madrimasd.org/.../alimentosfuncionales.htm](http://www.madrimasd.org/.../alimentosfuncionales.htm). Acesso em: 20 nov. 2004.
- YOSHIHIKO, O.; MAYUMI, S.; TAKAHIRO, A.; HIROYUKI, S.; YOSHIHIRO, S.; ICHIRO, N.; TETSUAKI, T. Antimicrobial activity of chitosan with different degrees of acetylation and molecular weights. *Biocontrol Science*, v. 8, p. 25–30, 2003.
- YOUNG, J. F. Humidity control in the laboratory using salt solution. *Journal of Applied Chemistry*, London, v. 17, p. 241-245, 1967.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)