



**LENA SOLEDAD MONZÓN DÁVILA**

**“AVALIAÇÃO DA CRISTALIZAÇÃO DO GELO EM GELATINA A  
DIFERENTES VELOCIDADES DE CONGELAMENTO E RECRISTALIZAÇÃO  
EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM”**

**CAMPINAS**

**2014**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**LENA SOLEDAD MONZÓN DÁVILA**

**“AVALIAÇÃO DA CRISTALIZAÇÃO DO GELO EM GELATINA A  
DIFERENTES VELOCIDADES DE CONGELAMENTO E RECRISTALIZAÇÃO  
EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM”**

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

**Orientador: Prof. Dr. Vivaldo Silveira Júnior**

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pela aluna Lena Soledad Monzón Dávila e orientada pelo Prof. Dr. Vivaldo Silveira Júnior.  
assinatura do orientador

---

**CAMPINAS**

**2014**

iii

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Claudia Aparecida Romano de Souza - CRB 8/5816

M769a Monzón Dávila, Lena Soledad, 1979-  
Avaliação da cristalização do gelo em gelatina a diferentes velocidades de congelamento e recristalização em diferentes condições de estocagem / Lena Soledad Monzón Dávila. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Vivaldo Silveira Júnior.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Recristalização. 2. Congelamento de alimentos. 3. Estocagem. 4. Microscopia. I. Silveira Júnior, Vivaldo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Evaluation of crystallization of the ice in gelatin at different freezing rates and recrystallization at different storage conditions

**Palavras-chave em inglês:**

Recrystallization

Freezing foods

Storage

Microscopy

**Área de concentração:** Engenharia de Alimentos

**Titulação:** Doutor em Engenharia de Alimentos

**Banca examinadora:**

Vivaldo Silveira Júnior [Orientador]

Florencia Cecilia Menegalli

Yoon Kil Chang

Jaime Vilela de Resende

Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata

**Data de defesa:** 16-04-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Engenharia de Alimentos

## BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Vivaldo Silveira Júnior  
Orientador

---

Profa. Dra. Florencia Cecilia Menegalli  
Membro Titular  
FEA/UNICAMP

---

Prof. Dr. Flavio Luis Schmidt  
Membro Titular  
FEA/UNICAMP

---

Prof. Dr. Jaime Vilela de Resende  
Membro Titular  
Universidade Federal de Lavras

---

Profa. Dra. Maria Isabel de Berto  
Membro Titular  
Instituto de Tecnologia de Alimentos

---

Prof. Dr. Alfredo de Almeida Vitali  
Membro Suplente  
Instituto de Tecnologia de Alimentos

---

Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata  
Membro Suplente  
Universidade Federal de Campina Grande

---

Prof. Dr. Yoon Kil Chang  
Membro Suplente  
Universidade Estadual de Campinas



## RESUMO

A qualidade dos alimentos congelados esta diretamente relacionada ao tamanho e quantidade de cristais de gelo formados após o processo de congelamento. Para a maioria dos alimentos (carne, peixe, frutas e vegetais), a formação de cristais de gelo maiores durante o congelamento ou estocagem tem mostrado resultados de alterações na textura e nas propriedades organolépticas. Assim, fatores como a baixa temperatura mas com uma oscilação de temperatura controlada inadequadamente durante a estocagem, podem resultar no fenômeno de recristalização dos cristais de gelo, o qual consiste na migração da água de pequenos cristais de gelo formados após a etapa de congelamento para cristais de gelo maiores; podendo provocar perda do teor de água do alimento e conseqüentemente uma diminuição na vida útil do produto. Neste trabalho, avalia-se o fenômeno de recristalização de amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas em diferentes velocidades de congelamento (congelamento médio de 0,007 °C/s, rápido de 0,060 °C/s e ultra-rápido de 0,270 °C/s) e estocadas a  $-12,0 \pm 2,5$  °C,  $-12,0 \pm 5,0$  °C,  $-18,0 \pm 2,5$  °C e  $-18,0 \pm 5,0$  °C por um período mínimo de 4 meses. Pequenos e regulares cristais de gelo foram encontrados para o congelamento rápido e ultra-rápido quando comparados ao congelamento médio. Para a mesma flutuação de temperatura, após 4 semanas de estocagem, uma diferença significativa do tamanho do cristal de gelo foi encontrada para o congelamento médio em relação ao congelamento rápido e ultra-rápido. Tanto para o congelamento rápido, como para o ultra-rápido, houve uma grande diferença do tamanho do cristal de gelo após 90 dias de estocagem. Por outro lado, os tamanhos dos cristais de gelo foram significativamente maiores quando as temperaturas e/ou as flutuações de temperatura, durante a estocagem,

foram maiores. Este estudo também analisou a hipótese de que altas velocidades de congelamento produzem pequenos cristais de gelo iniciais que, ao longo da estocagem, recrystalizam em menor tamanho quando comparadas aos tamanhos dos cristais iniciais de gelo formados por baixas velocidades de congelamento. Foi constatado neste projeto que cristais de gelo iniciais formados por uma velocidade de congelamento rápido, podem recrystalizar ao mesmo tamanho que os cristais de gelo recrystalizados a partir de um tamanho de cristais maiores gerados por uma velocidade de congelamento médio, ou seja, após uma incorreta estocagem a recrystalização afeta ainda mais os alimentos mesmo iniciando-se com um ótimo processo de congelamento.

Palavras Chave: recrystalização, congelamento de alimentos, velocidade de congelamento, estocagem, microscopia.

## ABSTRACT

The quality of frozen foods is directly related to the size and number of ice crystals formed after the freezing process. For most food (meat, fish, fruits and vegetables), the formation of larger ice crystals during freezing or storage have proved to changes in texture and organoleptic properties. Thus, factors such as low temperature but with an inadequately controlled temperature oscillation during storage can result in the phenomenon of recrystallization of ice crystals, which comprises water migration of small ice crystals formed after the freezing process to larger ice crystals; may cause loss of water content of food and consequently a decrease in the shelf life of the product. In this work, we evaluate the phenomenon of recrystallization of samples of gelatin gel 2% (weight / weight) frozen at different freezing rates (quick freezing of 0.007 °C/s, rapid freezing of 0.060 °C/s and ultra-rapid freezing of 0.270 °C/s) and stored at  $12.0 \pm 2.5$  °C,  $-12.0 \pm 5.0$  °C,  $-18.0 \pm 2.5$  °C e  $-18.0 \pm 5.0$  °C for a minimum period of 4 months. Small and regular ice crystals were found for the rapid freezing and ultra-rapid freezing when compared to the quick freezing. For the same temperature fluctuation, after 4 weeks of storage, a significant difference in the ice crystal size was found for the quick freezing. For the rapid freezing and ultra-rapid freezing, there was a big difference from ice crystal size after 90 days of storage. On the other hand, the size of the ice crystals was significantly greater when temperatures and / or temperature fluctuations during storage were higher. This work also examined the hypothesis that high freezing rates produce small initial ice crystals and during the storage, those ice crystals recrystallize in size when compared to the initial ice crystals formed by the low freezing rates. It has been found in this work that smaller initial ice crystals formed by the rapid freezing can recrystallize to the same size of the recrystallized crystals from

the larger initial size crystals generated by the quick freezing, or after an incorrect storage the recrystallization affects more the food even starting with a great freezing process.

Keywords: recrystallization, food freezing, freezing rate, storage, microscopy

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xxi
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
2.1 VELOCIDADE DE CONGELAMENTO .....	3
2.2 CRISTALIZAÇÃO E RECRISTALIZAÇÃO.....	5
2.2.1 <i>Introdução</i> .....	5
2.2.2 <i>Congelamento e Cristalização</i> .....	6
2.2.3 <i>Recristalização</i> .....	10
2.3 TEMPERATURA DE INÍCIO DE CONGELAMENTO.....	11
2.4 LIOFILIZAÇÃO DE ALIMENTOS CONGELADOS .....	14
2.5 MICROSCOPIA DE ALIMENTOS CONGELADOS .....	16
2.6 ESTOCAGEM DE PRODUTOS CONGELADOS .....	17
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 MATERIAL: DESCRIÇÃO GERAL.....	22
3.1.1 <i>Câmara de acondicionamento</i> .....	22
3.1.2 <i>Sensores de temperatura</i> .....	23
3.1.3 <i>Banho termostático</i> .....	23
3.1.4 <i>Freezer de congelamento médio</i> .....	24
3.1.5 <i>Gabinete de congelamento rápido</i> .....	25

3.1.6	<i>Equipamento de congelamento ultra-rápido</i> .....	26
3.1.7	<i>Liofilizador</i> .....	27
3.2	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA.....	29
3.2.1	<i>Acondicionamento das amostras</i> .....	29
3.3	INSTALAÇÃO E CALIBRAÇÃO DOS SENSORES DE TEMPERATURA.....	30
3.4	DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE CONGELAMENTO.....	31
3.5	MONTAGEM DO SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DO HISTÓRICO DE TEMPERATURAS.....	33
3.6	TEMPERATURA DE INÍCIO DE CONGELAMENTO.....	34
3.7	DETERMINAÇÃO DO PERÍODO DE CONGELAMENTO .....	35
3.8	MÉTODO DE LIOFILIZAÇÃO .....	36
3.9	ANÁLISE DA MICROESTRUTURA .....	39
3.9.1	<i>Parâmetros de forma dos cristais</i> .....	41
3.9.2	<i>Diâmetro equivalente dos cristais</i> .....	43
3.10	RECRISTALIZAÇÃO DURANTE A ESTOCAGEM.....	43
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>45</b>
4.1	CALIBRAÇÃO DOS SENSORES DE TEMPERATURA.....	45
4.2	VELOCIDADE DE CONGELAMENTO .....	45
4.3	TEMPERATURA DE INICIO DE CONGELAMENTO.....	48
4.5	PERÍODO DE CONGELAMENTO.....	50
4.6	TAMANHOS DOS CRISTAIS DE GELO.....	51
4.6.1.	<i>Formação do cristal de gelo durante o processo de congelamento</i> .....	51
4.6.2	<i>Recristalização dos cristais de gelo durante o processo de estocagem</i> .....	58

4.6.3 <i>Determinação da Constante de Recristalização(k)</i> .....	70
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>81</b>
<b>6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>85</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>87</b>
<b>7. APÊNDICE.....</b>	<b>93</b>



## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, primeiramente pela vida, por minha família e pelas oportunidades.

Ao meu esposo e filho, obrigada pelo amor e suporte durante o tempo em que ficamos separados por causa dos meus estudos.

A minha mãe, irmãos Carlos e Winny obrigada por seu amor infinito.

Ao Prof. Vivaldo, pela orientação com este trabalho e pelos anos de paciência no laboratório e suporte emocional na minha vida pessoal.

Ao técnico Izaías, pela compreensão e paciência com este trabalho e pela sua amizade.

Ao meu amigo Juliano Fiori, obrigada pela disposição sempre de me ajudar.

A todos meus amigos do LACPA durante todos esses anos, obrigada pela amizade, companheirismo e apoio.

A todos meus amigos pessoais pelo suporte emocional quando meu bebe e eu viemos morar sozinhos ao Brasil.

À UNICAMP, CAPES, CNP-q e ao programa de bolsas PEC-PG pelo apoio financeiro.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1: Esquemática da curva típica de congelamento. Fonte: Fennema (1973). ...5	
Figura 2.2: Esquemática da estrutura do modelo de gel de gelatina no estado congelado. Fonte: Woinet <i>et al.</i> (1998). ....7	
Figura 2.3: Curva característica do processo de congelamento, pontos característicos de início de congelamento da água e do alimento (Fonte: Zaritzky, 2003). ....13	
Figura 2.4: Diagrama de Fases da Água.....15	
Figura 3.1: Fluxograma dos ensaios que foram desenvolvidos até a obtenção dos diâmetros principais de gelo para a amostra gel de gelatina 2% (peso/peso). ....22	
Figura 3.2: Sensor de temperatura do tipo Pt100. ....23	
Figura 3.3: Banho termostático utilizado para a calibração dos sensores de temperatura....24	
Figura 3.4: Freezer utilizado como equipamento para o congelamento médio.....25	
Figura 3.5: Gabinete de congelamento utilizado como equipamento para o congelamento rápido.....26	
Figura 3.6: (a) Grade de plástico utilizado, (b) esquematização do acondicionamento das amostras na grade de plástico e (c) enchimento do nitrogênio líquido sobre as amostras.....27	
Figura 3.7: Liofilizador utilizado no processo de desidratação das amostras. ....28	
Figura 3.8: Esquemática da posição do sensor de temperatura numa placa de petri. ....31	
Figura 3.9: Curva característica do processo de congelamento. ....32	
Figura 3.10: Montagem experimental dos equipamentos para a obtenção do histórico de temperatura. ....34	

Figura 3.11: Período de tempo entre o início de congelamento e o final da etapa de congelamento.....	36
Figura 3.12: Curva de operação automática do liofilizador, demonstrando os cinco segmentos de secagem ao longo do tempo. Figura baseada no gráfico original do manual do equipamento. Fonte: User's Manual, Labconco Corporation.....	38
Figura 3.13: Filmes cortados para a microscopia em relação ao sentido do fluxo de calor.	39
Figura 3.14: Exemplo ilustrativo da determinação da distância em pixels a partir de uma lâmina calibrada para microscopia.....	40
Figura 3.15: Cristais de gelo de gel de gelatina (2 %) observados no microscópio óptico com a identificação do primeiro (mais nítido) e segundo plano (menos nítido). .....	41
Figura 4.1: Histórico de temperaturas para o gel de gelatina 2% (peso/peso) do (a) congelamento médio, (b) congelamento rápido e (c) congelamento ultra-rápido.....	46
Figura 4.2: Curva de sub-resfriamento para o gel de gelatina 2% (peso/peso) do congelamento médio.....	48
Figura 4.3: Microfotografia de gel de gelatina 2% (peso/peso) congelada por velocidade de congelamento médio (Corte paralelo ao fluxo de calor).....	52
Figura 4.4 Microfotografias de filmes de gelatina (2%) congelados a -20 °C (congelamento médio) e liofilizados: a) paralelo ao fluxo de calor e b) perpendicular ao fluxo de calor. ....	53
Figura 4.5 Histogramas do diâmetro equivalente $D_{eq}$ ( $\mu\text{m}$ ) de amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) como função da frequência relativa ( $f_i$ ) congeladas pelos métodos de congelamento médio (a), rápido (b) e ultra-rápido (c). (Corte perpendicular ao fluxo de calor).....	56

Figura 4.6: Microfotografias de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas por (a) velocidade de congelamento médio, (b) velocidade de congelamento rápido e (c) velocidade de congelamento ultra-rápido. (Corte perpendicular ao fluxo de calor) ....	57
Figura 4.7: Temperaturas dos quatro sistemas de estocagem avaliados durante o primeiro mês de estocagem: a): $-12 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , b): $-12 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ , c): $-18 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ e d): $18 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ..	59
Figura 4.8: Microfotografias do crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) em diferentes velocidades de congelamentos: 1) congelamento médio, 2) congelamento rápido e 3) congelamento ultra-rápido; em função de diferentes tempos de estocagem: (a) $t = 0$ dias, (b) $t = 30$ dias e (c) $t = 120$ dias; sob a temperatura de estocagem de $-12,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ .....	60
Figura 4.9: Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) congeladas em diferentes velocidades de congelamentos e em função de uma temperatura de estocagem a diferentes oscilações: a ) $-18,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ e b ) $-18,0 \pm 5,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .....	62
Figura 4.10: Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) congeladas em diferentes velocidades de congelamentos e em função de uma temperatura de estocagem a diferentes oscilações: a) $-12,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ e b ) $-12,0 \pm 5,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .....	63
Figura 4.11: Efeito da recristalização em gel de gelatina 2% (peso/peso) sobre o principal diâmetro equivalente em função dos congelamentos a) congelamento médio, b) congelamento rápido e c) congelamento ultra-rápido.....	65
Figura 4.12: Comparação do principal diâmetro de cristal de gelo para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congelados pela velocidade de congelamento médio e congelamento rápido estocados a diferentes flutuações de temperatura.....	68

Figura 4.13: Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento médio.....	73
Figura 4.14: Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento rápido. ....	74
Figura 4.15: Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento ultra-rápido.....	75
Figura 4.16: Efeito da temperatura de estocagem (-12 °C e -18 °C) para uma oscilação de temperatura $\pm 2,5$ °C sobre a constante de recristalização, $k$ , para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, congelamento rápido e congelamento ultra-rápido.....	76
Figura 4.17: Efeito da temperatura de estocagem (-12 °C e -18 °C) para uma oscilação de temperatura $\pm 5$ °C sobre a constante de recristalização, $k$ , para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, congelamento rápido e congelamento ultra-rápido.....	77

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Classificação da velocidade de congelamento (Dinçer, 2003).....	33
Tabela 3.2: Caracterização dos tipos de superfície das partículas em relação a circularidade (ZHU <i>et al.</i> 2005).....	42
Tabela 4.1. Velocidades de congelamento dos equipamentos utilizados para o processo de congelamento de gel de gelatina 2 % (peso/peso).....	47
Tabela 4.2. Período de congelamento de gel de gelatina (2 %) para os métodos de congelamento.....	50
Tabela 4.3. Comparação do diâmetro equivalente ( $\mu\text{m}$ ) de amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas pelos métodos médio, rápido e ultra-rápido e cortadas no sentido paralelo e perpendicular ao fluxo de calor. ....	54
Tabela 4.4. Resultados da análise microscópica (valor $\pm$ desvio padrão) dos cristais de gelo de amostras de gel de gelatina (2% w/w) congeladas pelo método de congelamento médio, rápido e ultra-rápido cortadas perpendicularmente ao fluxo de calor. ....	55
Tabela 4.5: Diâmetro equivalente do cristal de gelo para amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas por 120 dias em diferentes condições de estocagem.....	66
Tabela 4.6: Diâmetro dos cristais de gelo de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio (estocadas a $-18,0 \pm 2,5$ °C e $-12,0 \pm 2,5$ °C) e rápido (estocadas a $-18,0 \pm 5,0$ °C e $12,0 \pm 5,0$ °C) estocadas durante 120 dias.....	68
Tabela 4.7: Constante de recristalização de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas a $-12,0 \pm 2,5$ °C e $18,0 \pm 2,5$ °C.....	78

Tabela 4.8: Constante de recristalização de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas a $-12,0 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ e $18,0 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .....	78
---	----

## **1. INTRODUÇÃO**

O processo de congelamento reduz a atividade enzimática pela diminuição de temperatura, com conseqüente diminuição da velocidade de crescimento dos microorganismos evitando assim, a deterioração dos alimentos na temperatura ambiente, a qual pode causar mudanças químicas, físicas e nutricionais nos alimentos, tais como perda de água, sabor, aparência, textura, etc. A velocidade com que se diminui a temperatura, ou velocidade de congelamento é muito importante para o processo, pois uma formação rápida dos cristais de gelo obtida por uma velocidade de congelamento rápido, leva à manutenção da estrutura celular do alimento favorecida pela formação de pequenos cristais de gelo. Isto significa que a velocidade de congelamento é um fator que afeta diretamente a qualidade final do alimento. Mesmo com a proposta das empresas de alimentos, de utilizar velocidades de congelamento rápidas, existe a despreocupação da flutuação de temperatura durante o processo de armazenamento e a ocorrência da recristalização que é a alteração do tamanho original do cristal de gelo. Assim, o objetivo do presente projeto foi avaliar a hipótese de ocorrência de uma maior recristalização com o aumento da flutuação de temperatura durante a estocagem causando a perda da qualidade dos produtos, já que não são mantidas as características obtidas após a etapa de congelamento. Sendo assim, para cumprir com o objetivo do trabalho foram realizadas as seguintes etapas:

- Avaliação microscópica do tamanho dos cristais de gelo a diferentes velocidades de congelamento e,
- Avaliação do crescimento dos cristais de gelo a diferentes condições de estocagem.



## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 VELOCIDADE DE CONGELAMENTO**

A velocidade de congelamento é fundamental para definir a qualidade final do produto. Uma baixa velocidade de congelamento resulta na desidratação das células e na formação de grandes cristais de gelo que podem danificar a textura final do alimento (ZARITZKY, 2006).

A influência da velocidade de congelamento sobre a posição, forma e tamanho dos cristais de gelo formados durante o congelamento de alimentos, assim como sua influência na ultraestrutura foram investigados por inúmeros autores. Grujić *et al* (2003) resumem a influência da velocidade de congelamento em amostras de carne congelada. Os autores encontraram que, para um congelamento lento, os cristais de gelo são formados nos espaços intercelulares e apresentam diâmetros maiores. Um incremento na velocidade de congelamento produz uma mudança na posição dos cristais, neste caso são formados nos espaços intracelulares. O número dos cristais aumenta enquanto seu tamanho diminui.

A velocidade de congelamento é uma definição geralmente usada para comparar as condições de congelamento (LE BAIL, 2004).

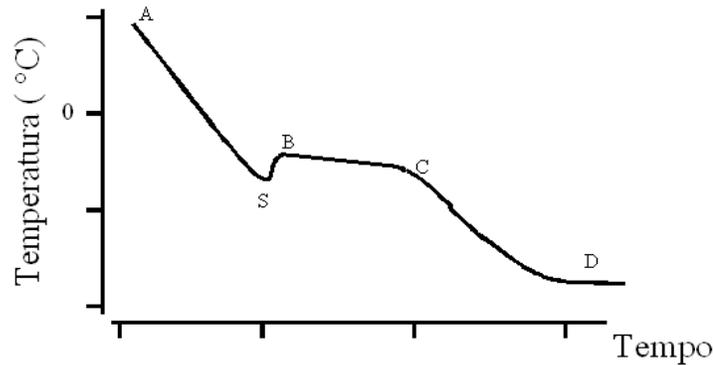
Assim, a velocidade de congelamento determina o tamanho do cristal de gelo. Em pequenas amostras o gradiente de temperatura pode ser praticamente negligenciado. Porém, para amostras maiores, o gradiente de temperatura quando estabelecido, depende da posição ao longo da amostra. Uma maior velocidade de congelamento é observada na superfície de contato da amostra com o refrigerante em relação ao centro térmico da amostra (ZARITZKY, 2006).

Para uma determinada posição ao longo da amostra, a velocidade de congelamento pode ser representada pelo tempo característico nessa posição ( $t_c$ ), o qual é definido como o tempo necessário para a mudança de temperatura desde o ponto inicial de congelamento até que, por exemplo, 80% do conteúdo total de água é convertida em gelo. Cada ponto ao longo da amostra pode ter um valor diferente de tempo característico (ZARITZKY, 2006).

Outra definição para a velocidade de congelamento considera a média da velocidade de formação de gelo ou a taxa da frente de congelamento, o qual é relativo à taxa de remoção de calor da amostra. Na prática, o processo de congelamento completa-se quando a maioria da água líquida congelável do produto tenha sido convertida em gelo (ZARITZKY, 2006).

O Instituto Internacional de Refrigeração (Instituto Internacional de Refrigeração, 1972) definiu o tempo de congelamento nominal como o tempo decorrido para o alimento atingir o intervalo de temperatura de 10 °C abaixo do ponto inicial de congelamento ou do ponto “B” como mostrado na Figura 2.1 (FENNEMA, 1973).

Baseado nesta última definição, Fennema (1973) padronizou o segundo método para determinar a velocidade de congelamento como: Variação de temperatura em relação ao tempo (K/s). Para esta proposta, Fennema (1973) utiliza a parte da inclinação da curva típica de congelamento (segmento C – D da Figura 2.1) justo após a formação do platô da curva. Segundo o autor, este método parece ser o mais apropriado, já que os danos causados pelo processo de congelamento são mais acentuados durante os últimos estágios do congelamento.



**FIGURA 2.1:** Esquematização da curva típica de congelamento. Fonte: Fennema (1973).

Porém, comumente a velocidade de congelamento é determinada de acordo à definição dada pelo Instituto Internacional de Refrigeração (1986):

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{T_2 - T_1}{t_2 - t_1} \quad (2.1)$$

onde:  $T_1$  é a temperatura inicial de congelamento,  $T_2$  é a temperatura final de congelamento e  $(t_2 - t_1)$  é a diferença de tempo entre a variação de temperatura, segmento usado entre os pontos B – D da curva da Figura 2.1 (FARAOUK *et al.*, 2013; KOZLOWICZ & KLUZA, 2012; OLIVEIRA & SALVADORI, 2009; ZHU *et al.*, 2005).

## 2.2 CRISTALIZAÇÃO E RECRISTALIZAÇÃO

### 2.2.1 Introdução

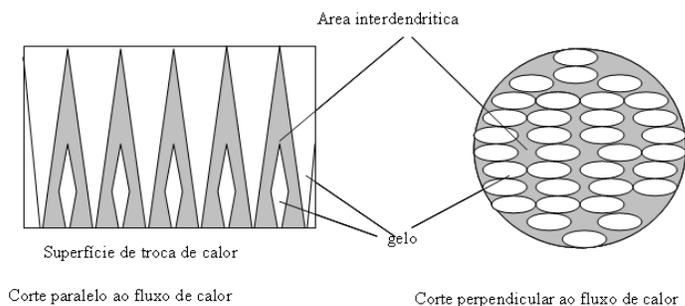
Existem importantes objetivos durante o processamento de produtos congelados. Em sorvetes, por exemplo, o objetivo principal é atingir uma distribuição e tamanho dos cristais de

gelo homogêneas que resultem numa textura suave, e preservar essa homogeneidade do tamanho dos cristais de gelo até ser consumido. No entanto, o processamento (relativo à nucleação e crescimento de cristais de gelo) ou manuseio (relativo à estocagem e distribuição) são fatores que afetam a produção e estabilidade dos cristais de gelo (GOFF & FLORES, 1999).

### **2.2.2 Congelamento e Cristalização**

A cristalização da água líquida é a formação do gelo sistematicamente organizada a partir da fase líquida. O processo de cristalização consiste na nucleação e no crescimento do cristal. A nucleação é a combinação das moléculas numa partícula ordenada de um tamanho suficiente para sobreviver e servir de sítio para o crescimento do cristal. O crescimento do cristal consiste na adição ordenada de moléculas a partir do primeiro núcleo formado (DINÇER, 2003). Quando o arranjo das moléculas durante ou depois de formado o cristal de gelo aparenta ter uma forma alongada pode ser denominado dendrita (WOINET *et al.* 1998).

Segundo Woinet *et al.* (1998), a nucleação inicial ocorre na superfície externa dos produtos próxima das paredes dos equipamentos de congelamento. Em amostras de gelatina congeladas num equipamento, onde foi garantido o fluxo de calor unidirecional, o fenômeno de cristalização ocorre em diferentes etapas, como mostrado na Figura 2.2: primeiro pequenos núcleos de cristal de gelo aparecem repentinamente na superfície da amostra; logo ocorre a cristalização de toda a superfície rapidamente a partir desses primeiros núcleos desenvolvidos, por último, uma frente de congelamento plana, paralela à superfície da placa, migra através da amostra a partir da placa (WOINET *et al.*, 1998).



**Figura 2.2:** Esquemática da estrutura do modelo de gel de gelatina no estado congelado. Fonte: Woinet *et al.* (1998).

Vários trabalhos estudaram a formação dos cristais de gelo em função da velocidade de congelamento, tanto para alimentos como para soluções modelo (MUFTUGIL, 1986, DA-WEN SUN & LI, 2003, CHEVALIER *et al.*, 2000a, ZHU *et al.*, 2005), dentre eles se destacam os trabalhos que diferenciam o tamanho do cristal de gelo no sentido perpendicular ao fluxo de calor e no sentido paralelo ao fluxo de calor. Sendo que maiores cristais de gelo foram observados no sentido paralelo ao fluxo de calor e menores cristais de gelo foram observados no sentido perpendicular ao fluxo de calor (GRUJIC *et al.*, 1993, WOINET *et al.*, 1998, CHEVALIER *et al.*, 2000b, REID & YAN, 2004).

As mudanças que ocorrem durante a etapa de congelamento afetam grandemente a qualidade final dos produtos, pois os alimentos contem alto teor de água (entre 50 a 95%), sendo que o restante consiste de células animais ou vegetais e, ainda em menor quantidade, consiste de sais e outros materiais sólidos. Quando um alimento é refrigerado abaixo de 0 °C, a água contida no alimento é transformada em gelo no ponto inicial de congelamento, que depende da concentração de substâncias dissolvidas. Normalmente os primeiros cristais de gelo são formados fora da célula devido a que, a concentração do soluto aumenta e a atividade de água diminui na região

externa não congelada quando o ponto de início de congelamento é atingido; e devido a que as células contém uma alta concentração de partículas iônicas dentro dela do que no espaço extracelular, espera-se assim que o ponto de congelamento seja muito baixo para o espaço intracelular (DA-WEN SUN, 2006). A velocidade de cristalização do gelo é função da velocidade de remoção do calor e da difusão de água das células para os espaços intercelulares. Se a velocidade de congelamento é lenta poucos centros de cristalização (núcleos) são formados nos espaços intercelulares, assim o cristal de gelo é formado com um tamanho maior.

Segundo Dinçer (2003), existem dois tipos de nucleação: nucleação homogênea (que envolve a orientação e combinação das moléculas de água) e nucleação heterogênea (que envolve a formação dos núcleos ao redor de partículas suspensas ou das paredes celulares). Se a velocidade de congelamento é rápida, a nucleação heterogênea é predominante. Portanto, uma velocidade de congelamento rápida, resulta em um grande número de núcleos de cristalização e um tamanho menor dos cristais.

No caso de células e tecidos, a presença de gelo nos espaços inter ou intracelulares influencia diretamente os danos produzidos pelo processo de congelamento. O gelo intracelular somente é formado a altas velocidades de congelamento. Quando a velocidade de congelamento é menor, esta pode produzir o deslocamento da água, desidratação celular e o aumento de gelo extracelular. Assim, na tentativa de balancear o potencial químico, a água intracelular muda para o exterior, deixando a célula desidratada e com um incremento da força iônica. Da mesma maneira, o crescimento dos cristais pode causar a distorção das membranas e gerar estresse sobre as estruturas rígidas, produzindo danos mecânicos sobre as membranas (DA-WEN SUN, 2006).

Nos sistemas celulares, os danos produzidos pela formação de gelo, são associados diretamente aos danos mecânicos sofridos pelo crescimento do gelo ou indiretamente devido ao

aumento de concentração de solutos na fase não congelada do produto. Mudanças nas forças iônicas da fase não congelada afetam as propriedades funcionais e a estabilidade de biomoléculas, as cinéticas de reação e a capacidade de retenção de água (DA-WEN SUN, 2006).

As mudanças físicas produzidas incluem a perda de água após o descongelamento, a migração de água, o rompimento do produto ou “freeze-cracking” e a recristalização do gelo. O aumento no tamanho dos cristais de gelo pode influenciar sobre os danos que se produzem durante a etapa de estocagem e, portanto levar a perda da qualidade do produto final (DA-WEN SUN, 2006).

Mudanças químicas por sua vez, podem ser detectadas tanto após a etapa de congelamento como durante a estocagem dos alimentos, como a desnaturação de proteína, oxidação lipídica, escurecimento enzimático, deterioração do sabor e degradação de pigmentos e vitaminas. A formação dos cristais de gelo pode produzir uma destruição dos tecidos, dando lugar a liberação de enzimas e substâncias químicas que afetem a qualidade do alimento. Todas essas mudanças físico-químicas afetam a qualidade final do produto (DA-WEN SUN, 2006).

Na revisão de Kiani & Da Wen Sun (2011), confirma-se que a formação de grandes cristais de gelo durante o processo de congelamento pode danificar intensamente os tecidos. Por outro lado, a formação de cristais menores, os quais são distribuídos uniformemente, tanto no interior como no exterior das células, conduz à preservação da qualidade, devido aos danos nos tecidos serem menores (SUN & ZHENG, 2006). Porém, em alguns casos ou processos, tais como na liofilização e concentração por congelamento, os grandes cristais são os mais desejados (SACLIER *et al.*,2010). Portanto, o controle, a compreensão e previsão do processo de cristalização e dos fenômenos relacionados às características do cristal de gelo são essenciais para melhorar os processos de congelamento (KIANI & DA-WEN SUN, 2011).

### **2.2.3 Recristalização**

A estocagem e as condições de transporte são fatores que influenciam a qualidade dos alimentos congelados. A recristalização pode provocar a redução do número dos cristais de gelo, no aumento do seu tamanho e na forma desses cristais durante a estocagem (ZARITZKY, 2003 e GOFF & FLORES, 1999). A principal razão para este fenômeno é a diferença entre a energia superficial de dois cristais adjacentes, sendo que esta energia é proporcional à curvatura do cristal, desta maneira, dois cristais adjacentes formam um cristal maior (ZARITZKY, 2003). Todos os mecanismos pelos quais este fenômeno ocorre foi denominado como redução da energia livre superficial (SUTTON, 1996a). Por exemplo, Goff (1999) afirma que a recristalização “iso-mássica” refere-se às mudanças que ocorrem na superfície ou estrutura interna do cristal de gelo, assim, os cristais com formas irregulares e com uma grande razão superfície/volume assumem uma estrutura mais compacta durante este fenômeno.

Sob condições de temperatura e pressão constante a recristalização é controlada pelas diferenças de energias superficiais dos cristais maiores e dos cristais menores de gelo (FENNEMA, 1973).

A recristalização reduz as vantagens do congelamento rápido, induzindo a mudanças físico-químicas que alteram a qualidade do produto, por isso há uma relação direta entre o tamanho do cristal de gelo e as faces que o cristal tem. Pequenos cristais de gelo com três ou quatro faces apresentam superfícies côncavas e tendem a desaparecer porque o limite do cristal migra para o centro da curvatura. Cristais de seis lados apresentam superfícies planas, são estáveis e oferecem maior tendência ao crescimento. O crescimento dos cristais ocorre numa temperatura constante, mas é acelerado pelas flutuações e mudanças térmicas (MARTINO & ZARITZKY, 1989).

Diversos são os estudos sobre os efeitos da recristalização sobre a qualidade dos alimentos congelados, principalmente em carnes e sorvetes (MARTINO & ZARITZKY, 1988; MARTINO & ZARITZKY, 1989; BEVILACQUA & ZARITZKY, 1982; DONHOWE & HARTEL, 1996 (a); REGAND & GOFF, 2003; REGAND & GOFF, 2006), assim como em soluções modelo ou sistemas aquosos (MARTINO & ZARITZKY, 1987; SUTTON *et al*, 1996a; SUTTON *et al*, 1996b ).

### **2.3 TEMPERATURA DE INÍCIO DE CONGELAMENTO**

No caso de algumas sobremesas congeladas, as quais são compostas por vários ingredientes, o ponto de início de congelamento é um fator crítico de avaliação durante o processamento. Produtos como o sorvete, apresentam um ponto de início de congelamento suficientemente baixo para preservar os cristais de gelo formados homogeneamente. Se o ponto é demasiado alto, uma baixa porcentagem de água é congelada aumentando assim, os efeitos do choque térmico quando há flutuação de temperatura durante o armazenamento (BRADLEY & SMITH, 1983).

A água presente nos alimentos atua como solvente de vários compostos orgânicos e inorgânicos. Quando a temperatura do alimento é gradativamente diminuída, começa a formação de cristais de gelo. Esses cristais se separam da solução e provocam a concentração cada vez maior do soluto na solução remanescente. A temperatura em que esse fenômeno começa a acontecer é ligeiramente inferior ao ponto de congelamento da água pura e é definida como a temperatura de início de congelamento do alimento (HENSE, 1990).

Propriedades térmicas podem ser consideradas praticamente constantes a temperaturas maiores do que o ponto de congelamento, mas abaixo deste ponto as propriedades mudam drasticamente, devido à formação do gelo (PASQUALONE & MASTANDREA, 1995).

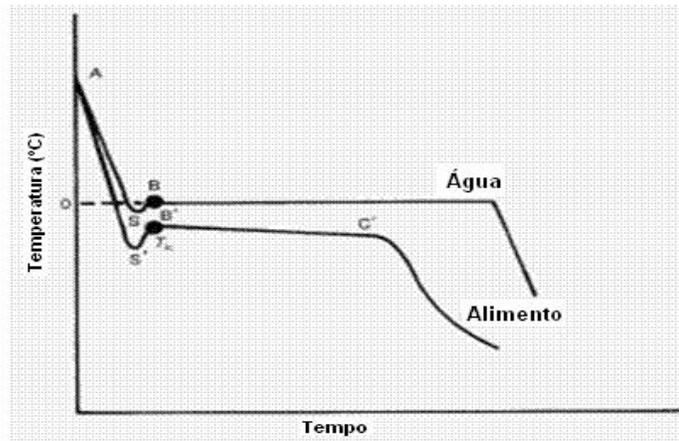
Para os alimentos, durante o congelamento, a queda do ponto de congelamento é obtida a partir da lei de Raoult (BECKER & FRICKE, 1999). A equação da queda do ponto de congelamento foi derivada e expressa na seguinte forma diferencial (BARLETT, 1944):

$$\frac{d(\ln a_w)}{dT} = \frac{M_w \lambda}{RT^2} \quad (2.2)$$

onde:

- $a_w$  - atividade de água ;
- $M_w$  massa molecular da água (kg/kgmol);
- $\lambda$  - calor latente de fusão (kJ/kg);
- $R$  - Constante universal dos gases (8,31 kJ/kgmolK).

Os métodos mais usados para a determinação da temperatura de início de congelamento são baseados em dados experimentais de tempo-temperatura, entalpia-temperatura ou de osmometria crioscópica. Dentre esses métodos, o mais comumente usado é o registro gráfico dos dados experimentais de temperatura em função do tempo durante o congelamento (Hense, 1990). A relação tempo-temperatura de um produto, submetido ao congelamento pode ser esquematizada, conforme apresentado na Figura 2.3.



**Figura 2.3:** Curva característica do processo de congelamento, pontos característicos de início de congelamento da água e do alimento (Fonte: Zaritzky, 2003).

No caso de água pura, a temperatura decresce desde o ponto A para B e o calor sensível é removido (4,18 kJ/kg C); o ponto S representa o sub-resfriamento. Durante a nucleação, calor é também liberado no sistema. Isto causa um aumento na temperatura até 0 °C (ponto de fusão) e a temperatura permanece em 0 °C até que toda a água líquida seja convertida em gelo (o calor latente de fusão para água é 333,15 KJ/Kg). No caso dos alimentos, esta temperatura ou ponto de cristalização (ponto S) também é mais baixa, e em seguida o calor liberado da cristalização causa o incremento da temperatura, até o ponto inicial de congelamento do sistema, o qual é determinado pelo número de moléculas de soluto dissolvidas. A secção B`C` representa o período durante o qual a maior quantidade de água é cristalizada e a concentração do soluto mostra um incremento na fase não congelada. Durante os últimos estágios da zona B`C`, há possibilidade para a formação de misturas eutéticas (quando um soluto atinge a saturação) e sólidos complexos.

## **2.4 LIOFILIZAÇÃO DE ALIMENTOS CONGELADOS**

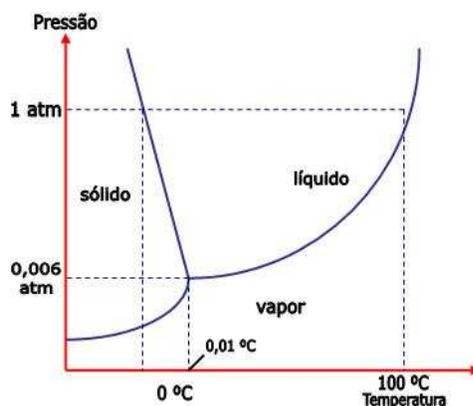
A liofilização ou “freeze drying” é um processo na qual um produto é previamente congelado e então a quantidade de água é extraída, primeiro por sublimação e depois por dessorção para valores tais que impeçam atividades biológicas e reações químicas. (American Liofilizer., 2013).

A liofilização é um processo de secagem a vácuo que vem sendo utilizada há várias décadas. Destaca-se, entre os outros métodos de secagem, devido às vantagens oferecidas em termos de estabilidade térmica e retenção de atividades durante o processo e durante o subsequente armazenamento do produto liofilizado.

Tecnicamente, a liofilização pode ser descrita como:

1. Resfriamento da água;
2. Conversão da água congelável em gelo;
3. Congelamento eutético de componentes cristalizáveis;
4. Persistência de uma matriz amorfa composta de solutos não cristalizáveis e umidade não congelável;
5. Sublimação do gelo sob pressão reduzida e aquecimento;
6. “Evaporação” da água da matriz amorfa;
7. Dessorção da água remanescente na matriz aparentemente seca.

O diagrama de fases (Figura 2.4) representa um papel chave no processo de liofilização. O diagrama mostra as regiões onde as fases sólida, líquida e vapor estão presentes.



**Figura 2.4:** Diagrama de Fases da Água.

A intersecção das três linhas ocorre a uma temperatura de 0,0098 °C e uma pressão de 0,006 atm, chamado de ponto triplo. Neste ponto todas as três fases coexistem. Ao fornecer calor a um produto ou substância abaixo do ponto triplo, a água contida neste produto passará diretamente do estado sólido ao de vapor, sublimando a pressão constante. São nessas condições que ocorre a liofilização, porém, convém mencionar que no processo de liofilização a temperatura do produto congelado deve ser mantida bem abaixo de 0 °C.

Um liofilizador industrial é composto de 4 partes: uma câmara de secagem, um condensador de água, uma bomba de vácuo e um sistema de refrigeração por compressão. A câmara de secagem possui varias prateleiras que estão destinadas a receberem as amostras, ela esta diretamente ligada ao condensador, e este por sua vez, a bomba de vácuo.

Entre as vantagens do liofilizador, destaca-se a baixa temperatura mantida durante todo o processo, evitando qualquer alteração química das substâncias sensíveis ao calor e umidade, inalterando assim a composição química original do produto. Se for convenientemente acondicionado e armazenado poderá manter-se sem alteração por um longo período de tempo.

Além disso, os produtos liofilizados apresentam facilidade na reconstituição, devido à estrutura porosa deixada pela saída da água, garantindo a reprodução fiel do produto original.

A metodologia de liofilização foi utilizada para a avaliação do tamanho dos cristais de gelo em géis de gelatina (2%) por diferentes autores (CHEVALIER *et. al.*, 2000; WOINET *et. al.*, 1998 e ZHU *et. al.*, 2005).

## **2.5 MICROSCOPIA DE ALIMENTOS CONGELADOS**

Existem inúmeras razões do por que avaliar a estrutura dos alimentos congelados, todas elas muito importantes. Estas razões são:

- a) Para monitorar o tamanho do cristal de gelo;
- b) Para monitorar a forma do cristal de gelo;
- c) Para monitorar os danos microestruturais das células e dos tecidos resultantes do congelamento, estocagem e flutuações de temperatura;
- d) Para monitorar alguma provável re-distribuição dos solutos;
- e) Para estabelecer o grau de heterogeneidade dos alimentos e desenhar as importantes correlações entre a microestrutura e a sua textura;
- f) Para monitorar a dinâmica do processo de congelamento diretamente e determinar a temperatura exata na qual a cristalização ocorre.

Uma fonte usualmente utilizada para a observação da microestrutura é a microscopia óptica, pois é possível visualizar os pequenos tamanhos dos cristais de gelo ou espaços deixados pela

previa liofilização dos sistemas hidratados. É uma metodologia que oferece também a vantagem de ser barata e de fácil utilização.

Para todos estes métodos, o tamanho do cristal de gelo pode ser medido diretamente das microfotografias pela medição do diâmetro principal do cristal. A área projetada de cada cristal pode ser determinada pela medição do perímetro e a digitalização desta através de um software apropriado de tratamento de imagens.

## **2.6 ESTOCAGEM DE PRODUTOS CONGELADOS**

O congelamento envolve duas principais etapas: diminuição da temperatura e a mudança da fase líquida para sólida. Ambos os processos tendem a diminuir a velocidade de deterioração, reduzindo as alterações físico-químicas e desta maneira aumentando a vida útil dos produtos (ZARITZKY, 2006).

Ao mesmo tempo, a degradação da qualidade não é própria da estocagem e sim do processo de congelamento. Raras vezes, o congelamento melhora a qualidade do alimento, assim a qualidade do alimento inicial deve ser conservada durante o processo de congelamento e durante a estocagem. Não há uma maneira universal para preservação dos alimentos congelados, só com uma ótima velocidade de congelamento, o qual pode variar de produto para produto. O tempo de estocagem depende não só da temperatura, mas também do tipo de produto e da embalagem. As reações físicas e químicas são retardadas com a diminuição da temperatura, porém, elas não param numa temperatura de estocagem definida. A deterioração do produto durante a estocagem é um processo lento, acumulativo e irreversível.

Os principais fatores que afetam a qualidade do alimento congelado durante a estocagem podem ser divididos em duas categorias: fatores de processamento e da composição. Os fatores de processamento associados aos seus parâmetros são relativos à fase de gelo. Defeitos associados à composição são relativos às reações químicas e afetam o sabor, aparência, cor e propriedades nutricionais.

As propriedades físicas dos alimentos mudam rapidamente dependendo da disponibilidade de água e temperatura. A principal razão relativa à qualidade, à vida útil e à estabilidade é que o alimento deve ser mantido no estado vítreo. A teoria de transição vítrea sugere que a estabilidade de um alimento se dá devido a que a água, nesse estado ( $T_{g_{\text{água}}} = -134 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; GOFF, 1994), permanece imobilizada sem dar lugar a participação de reações (GOFF, 1994). No estado vítreo do alimento congelado, a difusão dos solutos e as reações de degradação são limitadas e com isso se espera uma estabilidade maior durante a estocagem (BLOND & LÊ MESTE, 2004).

Gormley *et al.* (2002) estudaram os efeitos da temperatura constante e da flutuação de temperatura durante a estocagem de diversos alimentos congelados, encontrando que um supercongelamento foi benéfico na vida útil dos produtos, especialmente daqueles que contêm grandes quantidades de gordura. Porém, tais benefícios podem ser obtidos depois de um incremento nos custos do processo quando estocados a  $-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os autores encontraram, também, que as flutuações de temperatura abaixo do ponto inicial de congelamento causaram efeitos adversos, para a maioria dos alimentos com alto teor de gordura, pois foi encontrado um aumento de ácidos graxos livres e de peróxidos nos produtos, sendo recomendada uma estocagem a temperatura constante e abaixo de  $-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Danhowe & Hartel (1996,b) observaram um aumento da recristalização em sorvetes estocados em contentores a granel quando estocados a temperatura constante ( $\pm 0,01 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e com

temperaturas de oscilação ( $\pm 1$  °C). Porém, a taxa de recristalização por eles encontrada não teve diferença significativa quando estocadas numa temperatura de oscilação de  $\pm 2$  °C quando comparada a  $\pm 1$  °C, recomendando então que a oscilação para sorvetes durante a estocagem não ultrapasse  $\pm 2,5$  °C.

Em relação ao tempo em que aparece uma diferença significativa no crescimento do cristal de gelo durante o armazenamento congelado, Donhowe *et al.* (1990) avaliaram o crescimento dos cristais de gelo em sobremesas congeladas, observando que depois de 7 a 14 semanas de estocagem, não existe diferença significativa no tamanho dos cristais de gelo, assumindo, assim, que a recristalização do gelo ocorreu principalmente nas primeiras semanas de estocagem, porém, nem todos os alimentos apresentam diferença significativa nas primeiras semanas de estocagem (CHEVALIER *et al.*, 2001).

Por outro lado, nem sempre a técnica de avaliação da microestrutura pode resultar em diferenças significativas, quando diferentes velocidades de congelamento e a diferentes tempos de estocagem são comparados. Ngapo *et al.* (1999a) observaram que, para amostras congeladas numa velocidade lenta (carne de porco), um aumento da exsudação das amostras foi encontrada quando comparadas a amostras frescas. Eles observaram também que uma diferença significativa sobre a exsudação das amostras aparece após 4 semanas de estocagem quando comparadas com as amostras sem estocagem. Porém, em estudos posteriores, Ngapo *et al.* (1999b) observaram que não houve diferença significativa da exsudação em relação a diferentes velocidades de congelamento. Esses resultados demonstram, segundo os autores, um sistema complexo de efeitos combinados em relação às velocidades de congelamento, estocagem e resfriamento de carnes sobre a formação e crescimentos dos cristais de gelo.



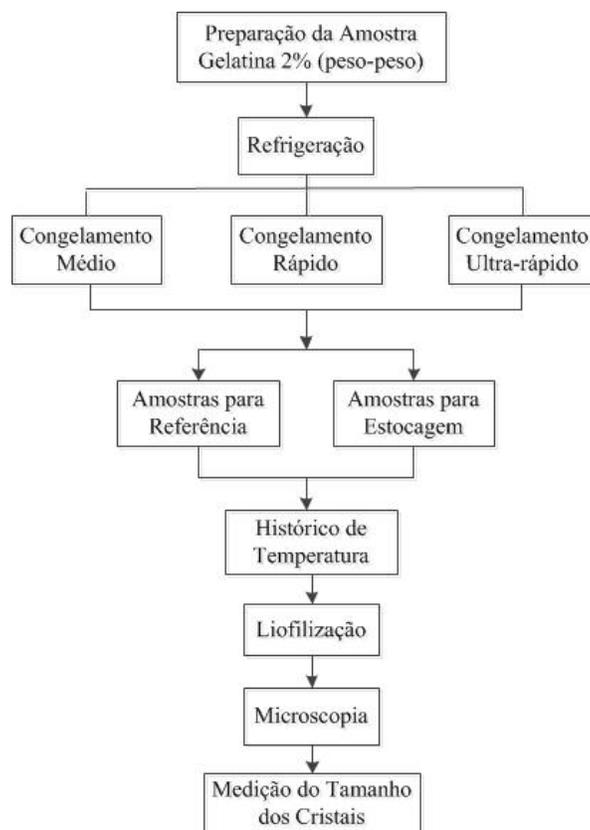
### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O procedimento experimental foi realizado no Laboratório de Refrigeração, Automação e Controle de Processos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP para a determinação do histórico de temperatura e da taxa de congelamento, assim como para a determinação do tamanho dos cristais de gelo formados após o processo de congelamento.

Seis amostras de gelatina, descritas no item 3.2, foram preparadas previamente e em três delas foram instalados sensores de temperatura. Estas amostras foram levadas para o equipamento de congelamento para determinar a temperatura de início de congelamento e a velocidade de congelamento. As amostras restantes foram congeladas em cada um dos sistemas de congelamento e levadas para o equipamento de liofilização (amostra referência) para sublimar/evaporar a água contida na amostra, na qual se identificou através da microscopia, uma porosidade relativa ao tamanho do cristal de gelo formado.

Outra quantidade de amostras também foi preparada, as quais foram congeladas nos diferentes sistemas de congelamento e posteriormente foram distribuídas nas quatro condições de estocagem para a determinação da recristalização.

Na Figura 3.1, é mostrado o procedimento experimental que simplifica os passos durante a determinação dos principais diâmetros dos cristais de gelo de cada ensaio.



**Figura 3.1:** Fluxograma dos ensaios que foram desenvolvidos até a obtenção dos diâmetros principais de gelo para a amostra gel de gelatina 2% (peso/peso).

### 3.1 MATERIAL: DESCRIÇÃO GERAL

#### 3.1.1 Câmara de acondicionamento

A câmara ou refrigerador de acondicionamento (Consul, modelo CRD37, Brasil) foi utilizada para estabilizar as amostras de gel de gelatina antes dos processos de congelamento a uma temperatura de  $4,0 \pm 1,0$  °C.

### 3.1.2 Sensores de temperatura

Os sensores utilizados para a medição de temperatura foram do tipo Pt100 (Novus, modelo CRZ 2005 e CR 1010, Brasil, com dimensões  $2 \times 5 \times 1,5$  mm) como mostrado na Figura 3.2.



**Figura 3.2:** Sensor de temperatura do tipo Pt100.

Os sensores de temperatura de tipo Pt100, são termômetros de resistência, baseados no princípio da variação da resistência elétrica de um metal em função da temperatura, sendo fabricados com ligas de alta pureza de platina, níquel ou de cobre. Neste caso, o material de fabricação foi liga de platina. As principais características deste tipo de sensores são a sua sensibilidade, precisão, repetibilidade e estabilidade em relação a outros sensores de temperatura como termopares ou termômetros comuns.

### 3.1.3 Banho termostático

Um banho termostático é utilizado normalmente para manter a temperatura de um líquido ou sólido constante o qual está submerso em outro líquido chamado líquido de imersão. O banho termostático, além de possuir o líquido de imersão (normalmente água), possui também uma ou mais resistências elétricas, um sistema de refrigeração, um sistema de agitação para uniformizar a temperatura da água e um termostato para manter a temperatura constante.

O banho termostático (*Veb MLW Prufgearate-werk, Medingen/Sitz Freital, Alemã, modelo MK70*) foi utilizado neste caso para a calibração dos sensores de temperatura e é mostrado na Figura 3.3. A solução utilizada como meio de imersão foi 51% de propilenoglicol em água (Volume/Volume total).



**Figura 3.3:** Banho termostático utilizado para a calibração dos sensores de temperatura.

### 3.1.4 Freezer de congelamento médio

O freezer utilizado para congelar as amostras de gel de gelatina foi um freezer de congelamento por convecção natural (Metalfrio, modelo 280, Brasil) como mostrado na Figura 3.4. Um controlador eletrônico de temperatura tipo “on – off” (Full gauge, modelo TiC17-RGT, Brasil), foi instalado para estabilizar a temperatura. do freezer. Este tipo de controlador oferece ligação e parada programada do compressor por meio das suas funções “Set Point” (temperatura desejada) e “ $d_f$ ” (diferencial de temperatura ou incremento de temperatura). A programação do controlador de temperatura foi de  $-20,0 \pm 0,1$  °C.



**Figura 3.4:** Freezer utilizado como equipamento para o congelamento médio.

### **3.1.5 Gabinete de congelamento rápido**

O gabinete de congelamento (White MartinsPraxair INC, Nro. 12055) é um equipamento no qual é injetado vapor de nitrogênio por meio de uma mangueira proveniente de um tanque que possui nitrogênio líquido..Esta câmara possui uma válvula que regula a taxa de entrada do vapor de nitrogênio, pela sua função manual ou automática. No interior da câmara um ventilador permite a circulação interna do vapor de nitrogênio entre todas as prateleiras. O gabinete é mostrado na Figura 3.5.



**Figura 3.5:** Gabinete de congelamento utilizado como equipamento para o congelamento rápido.

A temperatura no interior da câmara foi mantida a  $-20,0 \pm 1,0$  °C e para manter esta temperatura e flutuação de temperatura, o fechamento da válvula de alimentação de vapor de nitrogênio foi programado no modo automático.

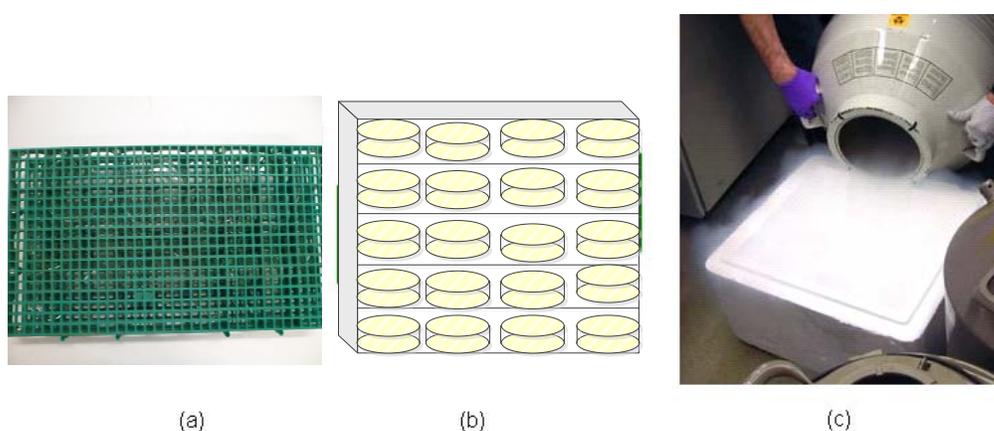
### **3.1.6 Equipamento de congelamento ultra-rápido**

O congelamento ultra-rápido baseou-se na imersão das amostras em nitrogênio líquido.

A imersão das amostras em nitrogênio líquido a  $-206$  °C (na pressão atmosférica da cidade de Campinas, SP) foi realizado até que o centro geométrico da amostra atingisse uma temperatura aproximada de  $-20$  °C. As amostras foram posteriormente estabilizadas em uma temperatura de  $-20,0 \pm 0,1$  °C em um freezer doméstico adaptado com um termostato eletrônico (Full gauge, modelo TiC17-RGT, Brasil).

O sistema adaptou-se numa caixa de isopor com capacidade de 50 litros. O nitrogênio líquido alcançou 1/2 da capacidade volumétrica da caixa de isopor. As amostras já

acondicionadas foram inseridas em uma grade furada de plástico previamente refrigerada a 4 °C e seguidamente foram submergidas no nitrogênio líquido. Porquanto o volume de nitrogênio líquido se consumiu rapidamente, então teve-se a prevenção de esvaziar continuamente maior quantidade de nitrogênio líquido sobre as amostras, até atingirem uma temperatura no centro geométrico de -20 °C. A exemplificação do material utilizado para este processo mostra-se na Figura 3.6.

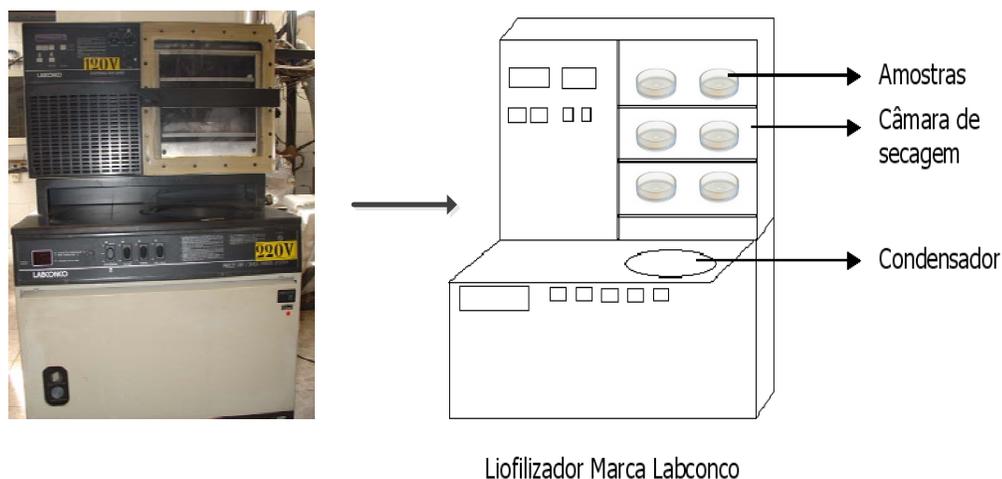


**Figura 3.6:** (a) Grade de plástico utilizado, (b) esquematização do acondicionamento das amostras na grade de plástico e (c) enchimento do nitrogênio líquido sobre as amostras.

### 3.1.7 Liofilizador

A liofilização é um processo em que o produto é congelado e subsequentemente introduzido numa câmara de vácuo para remoção da água por sublimação. Desta forma a água é removida a partir do estado sólido para o meio ambiente gasoso sem passar pelo estado líquido. Para acelerar o processo utilizado por congelamento/sublimação que pode eliminar praticamente toda a água livre existente no produto inicial, preservando a estrutura molecular da substância liofilizada.

O liofilizador (Marca Labconco, Sttopering Tray Drier - 7948000, condensar – 77555-00, Kansas, USA) utilizado neste projeto, como mostrado na Figura 3.7, contém uma câmara de secagem, uma bomba de vácuo e um recipiente-condensador para recepcionar o vapor de água sublimada das amostras.



**Figura 3.7:** Liofilizador utilizado no processo de desidratação das amostras.

A câmara de secagem possui três prateleiras de metal. No interior das prateleiras circula um fluido refrigerante que produz o resfriamento e congelamento das amostras por condução. O sistema de resfriamento da câmara de secagem é próprio, pois possui o seu próprio compressor. O compressor tem capacidade para diminuir a temperatura da câmara até aproximadamente  $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A câmara de condensação ou condensador também possui o seu próprio sistema de resfriamento, por uma serpentina de metal, na qual passa, no seu interior um líquido refrigerante secundário. O compressor tem capacidade para diminuir a temperatura do condensador até aproximadamente  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A bomba de vácuo do liofilizador foi testada previamente no Laboratório de vácuo do Instituto de Física da UNICAMP, constatando que fazia o vácuo necessário de  $133 \times 10^{-3}$  mBar.

### **3.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**

Para a preparação da amostra, foi utilizado o método de Zhu *et. al.*, (2005), que consiste em uma mistura de gelatina-água (2% peso-peso), utilizando um agitador magnético por 60 minutos a uma temperatura de 20 °C e, em seguida, é aquecida a 50 °C com agitação por 30 minutos. A solução foi colocada a uma temperatura de 40 °C em placas de petri de polietileno de alta densidade com dimensões de 9 cm de diâmetro. A espessura aproximada das amostras foi de 5 mm. Assim, uma espessura de apenas 5 mm, origina um fluxo de calor paralelo maior do que o fluxo de calor perpendicular.

A mistura foi preparada com gelatina alimentícia bovina da marca Gelita (Gelita do Brasil) e água destilada.

#### **3.2.1 Acondicionamento das amostras**

Para manter uma uniformidade de condições após a preparação das amostras nos diferentes experimentos, foi utilizada a câmara de condicionamento Consul, modelo CRD37 Brasil, para a uniformização da temperatura ( $T_{\text{câmara}} = 4,0 \pm 1,0$  °C). Antes do

congelamento, a amostra preparada foi resfriada nesta temperatura por 12 horas para estabilizar a textura do gel.

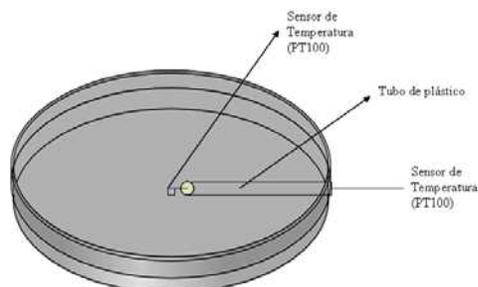
É importante ressaltar que cada uma das amostras foi cuidadosamente condicionada, ou seja, uma vez colocado o gel de gelatina na placa de petri a 40°C, esta foi imediatamente colocada na câmara de condicionamento, pois caso contrário, um resfriamento lento produziria a diminuição da velocidade da formação do gel; uma vez que a sublimação do gelo superficial durante a estocagem a baixas temperaturas pode produzir perda de peso de produtos congelados não embalados adequadamente (CAMPAÑONE *et al.*, 2001), então as placas de petri foram envolvidas com filme de polietileno.

### **3.3 INSTALAÇÃO E CALIBRAÇÃO DOS SENSORES DE TEMPERATURA**

Sensores de temperatura Pt100 (Novus, modelo CRZ 2005 e CR 1010, Brasil, com dimensões 2 × 5 × 1,5 mm) foram instaladas pela lateral das placas de petri dentro de tubos de plástico de PET pequenos e finos, com o objetivo de deixar o sensor posicionado no centro geométrico sem deixar que toque a superfície e que o sensor não se movimente com o enchimento das amostras recém preparadas. Os tubinhos de plástico foram preenchidos com silicone para estabilizar o sensor dentro do tubo.

Os sensores para a medição das temperaturas dos produtos e do ambiente foram instalados primeiramente, no meio dos freezers de estocagem sem deixar o sensor encostar com as partes do freezer ou com as amostras, com o objetivo de obter as melhores

informações de temperatura e corrigir os possíveis desvios; e no caso das amostras, o sensor foi posicionado no centro geométrico como mostrado na Figura 3.8.



**Figura 3.8:** Esquemática da posição do sensor de temperatura numa placa de petri.

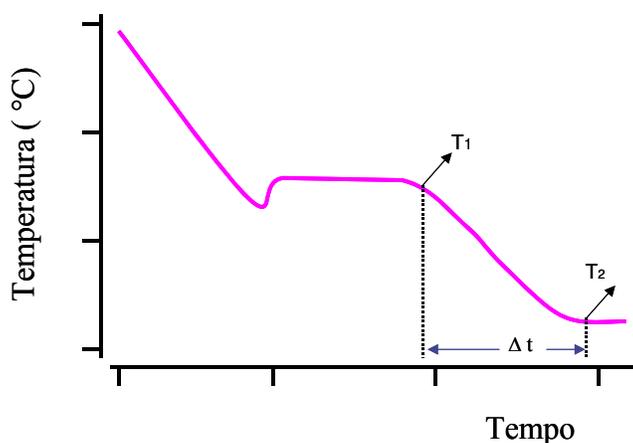
Dados de temperatura dos sensores foram monitorados e corrigidos, segundo as equações de calibração, para obtenção das curvas experimentais. O equipamento utilizado para a calibração dos sensores foi o banho termostático (*Veb MLW Prufgearate-werk, Medingen/Sitz Freital, Alemã, modelo MK70*). A faixa de temperatura de calibração foi de -10 °C a 15 °C. O sistema de aquisição de dados utilizado foi um Controlador Lógico Programável (CLP) (*HI Tecnologia, modelo MCI02-ST*). O software supervisor utilizado para o tratamento de dados do CLP foi o *Indusoft Web Studio 6.0* o qual monitorou os dados de tempo e temperatura por um computador.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE CONGELAMENTO

A velocidade de congelamento foi determinada pela equação 3.1:

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{T_2 - T_1}{t_2 - t_1} \quad (3.1)$$

onde  $T_2$  é a temperatura medida no começo da estabilização de temperatura da amostra e o meio e  $T_1$  representa o início da queda de temperatura no último estágio da curva típica de congelamento de alimentos. Este estágio pode ser observado na Figura 3.9, onde se definem as posições  $T_1$  e  $T_2$  para a determinação da velocidade. A determinação desta equação, através da curva de congelamento, é denominada como Mudança de Temperatura em Unidade de Tempo por Fennema (1973).



**Figura 3.9:** Curva característica do processo de congelamento.

Outra definição para determinar a velocidade ou frente de congelamento considera a diferença de temperatura em relação ao tempo considerando duas posições locais de dois sensores de temperatura inseridos ao longo da amostra, porém para este trabalho a velocidade de congelamento foi determinada apenas em uma posição local, pois somente um sensor de temperatura foi inserido no centro geométrico da amostra.

Como é necessário classificar esta velocidade para cada sistema de congelamento, foi utilizada uma tabela com valores extrapolados a partir da tabela original de Dinçer (2003). A velocidade ou taxa de congelamento em unidades de m/s e em unidades de  $^{\circ}\text{C/s}$  de

alguns produtos vegetais e algumas frutas encontram-se na Tabela 3.1 cujos valores foram utilizados neste projeto para a classificação das velocidades em °C/s.

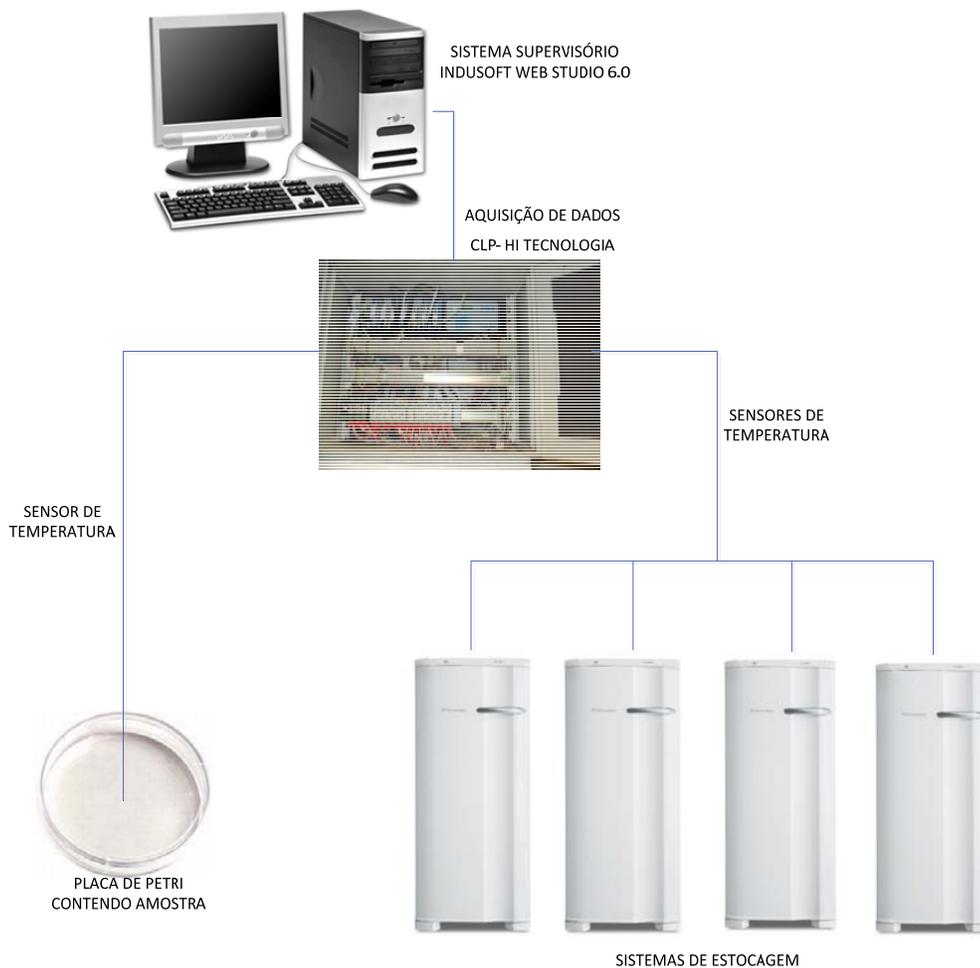
**Tabela 3.1:** Classificação da velocidade de congelamento (Dinçer, 2003)

Velocidade de Congelamento			
	(m/s)	(mm/s)	(°C/s)
Médio	$1,5 \times 10^{-6}$	0,0015	0,003
	$10 \times 10^{-6}$	...	0,02
		0,01	
Rápido	$15 \times 10^{-6}$	0,015	0,03
	$17,5 \times 10^{-6}$	0,0175	0,035
	$18,0 \times 10^{-6}$	0,018	0,036
	$20,8 \times 10^{-6}$	0,0208	0,042
	$30 \times 10^{-6}$	0,03	0,07
Ultra-rápido	$300 \times 10^{-6}$	...	> 0,07
		0,3	

### 3.5 MONTAGEM DO SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DO HISTÓRICO DE TEMPERATURAS

O sistema foi montado, conforme mostra a Figura 3.10. Os históricos de temperatura obtidos por meio dos sensores de temperatura das amostras e dos freezers de estocagem foram monitorados e adquiridos por um Controlador Lógico Programável (CLP) (HI Tecnologia, modelo MCI02-ST). O software supervisor utilizado para o tratamento de

dados do CLP foi o Indusoft Web Studio 6.0 o qual monitorou os dados de tempo e temperatura por um computador.



**Figura 3.10:** Montagem experimental dos equipamentos para a obtenção do histórico de temperatura.

### 3.6 TEMPERATURA DE INÍCIO DE CONGELAMENTO

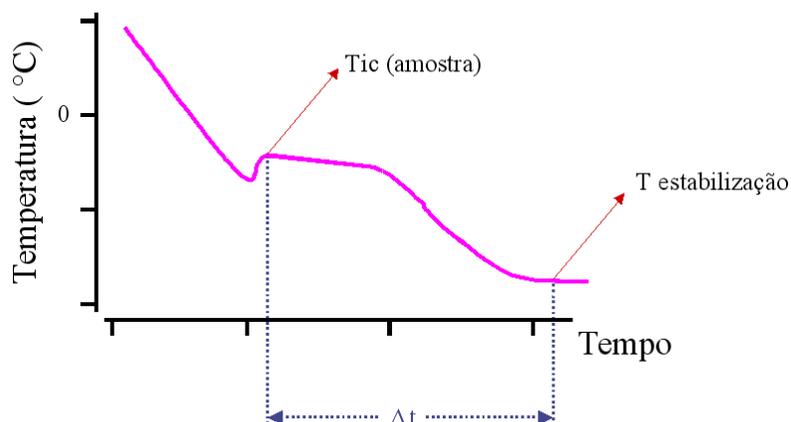
A temperatura de início de congelamento foi avaliada pelos registros de tempo-temperatura do processo de congelamento obtidas no gráfico do histórico de temperaturas

como mostra a Figura 2.3. A partir desses históricos foi possível observar e determinar o valor do ponto B' (Ponto de início de congelamento) de todas as amostras. As medidas foram replicadas, uma vez que este é um valor constante para todas as cinéticas de congelamento e próximo ao da literatura. (Chevalier *et al.*, 2000, Zhu *et al.*, 2005 e Boonsupthip e Heldman, 2007).

### **3.7 DETERMINAÇÃO DO PERÍODO DE CONGELAMENTO**

O tempo necessário para diminuir a temperatura de um valor inicial até um valor final foi estipulado para cada método de congelamento e foi definido como o tempo total de congelamento. Este período de congelamento é muito importante, pois ele define quanto tempo é necessário congelar um alimento até a temperatura desejada no centro geométrico da amostra, segundo o método de congelamento a ser utilizado.

Neste projeto, o período de congelamento foi determinado pela diferença do tempo em que se registra a temperatura inicial de congelamento (Tic) e o tempo em que se registra o início da estabilização da amostra com a temperatura de -20,0 °C, como mostrado na Figura 3.11. O período de congelamento neste caso é definido pelo valor de  $\Delta t$ . O critério de estabilização da temperatura foi determinado como  $\Delta T < 0,5$  °C entre a temperatura da amostra e o meio de resfriamento.



**Figura 3.11:** Período de tempo entre o início de congelamento e o final da etapa de congelamento.

### 3.8 MÉTODO DE LIOFILIZAÇÃO

As amostras congeladas foram secas no liofilizador marca Labconco, Sttopering Tray Drier - 7948000, condensador – 77555-00, Kansas, USA, o qual contém uma câmara de secagem, uma bomba de vácuo e um recipiente-condensador para receber o vapor de água sublimada das amostras, como mostrado na Figura 3.6.

Segundo o princípio da liofilização, este processo finaliza deixando as amostras desidratadas e assume-se que os poros deixados após o processo da sublimação do gelo, são do mesmo tamanho dos cristais de gelo.

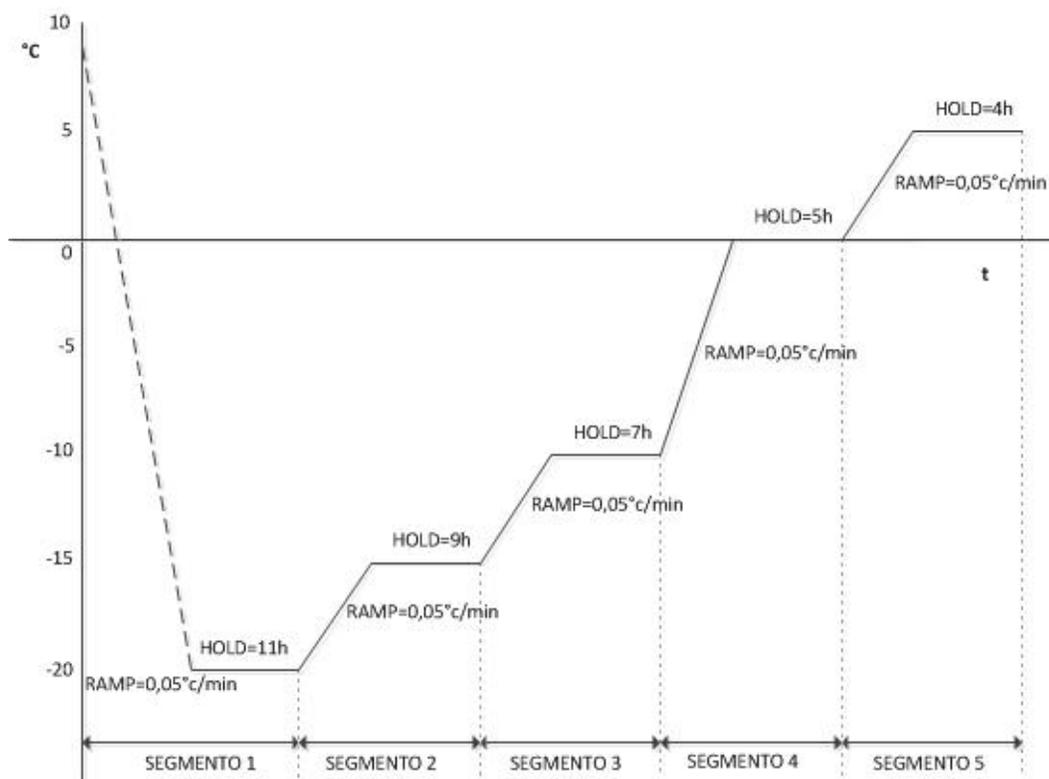
O tempo necessário de liofilização foi influenciado pela quantidade de amostras colocadas na câmara de secagem do equipamento e principalmente pela quantidade de umidade contida nas amostras. Neste projeto, foram testados, previamente, segundo esses dois parâmetros, vários tempos de liofilização e foi definido um tempo mínimo de 36 horas

para garantir a liofilização das mesmas. Com tempos menores, as amostras colapsavam e a liofilização ficava incompleta.

A metodologia utilizada para a programação do liofilizador obedeceu os seguintes parâmetros:

- a) Como a câmara de secagem do liofilizador estava sempre na temperatura ambiente foi necessário um pré-resfriamento desta antes de iniciar o processo de liofilização a uma temperatura negativa próxima da amostra congelada. Neste caso – 20 °C;
- b) Uma vez colocadas as amostras na câmara de secagem o processo de liofilização inicia-se pelo acionamento automático da bomba de vácuo. Este processo, primeiramente, inicia-se com a secagem primária (Segmento 1 da Fig. 3.11) que vai da temperatura mais baixa (– 20 °C) até uma temperatura um pouco mais alta, seguidamente ela passa para um outro segmento, assim, o liofilizador foi programado para um total de 5 segmentos, finalizando o processo da liofilização na temperatura de 5 °C.

Na Figura 3.12, encontra-se o gráfico próprio do liofilizador para a programação dos dois primeiros segmentos. As siglas RAMP e HOLD são próprias da programação, a primeira indica a taxa de resfriamento ou aquecimento (em °C/min) e a segunda indica a temperatura mantida ao longo do tempo até concluir o segmento.



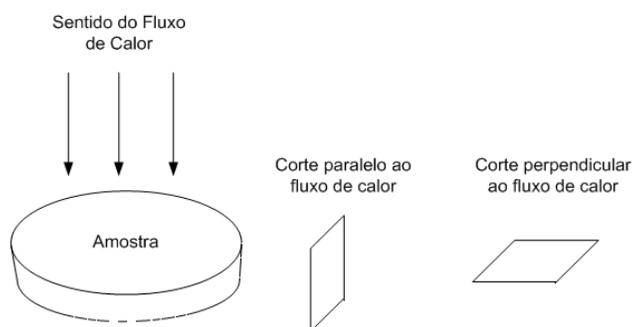
**Figura 3.12:** Curva de operação automática do liofilizador, demonstrando os cinco segmentos de secagem ao longo do tempo. Figura baseada no gráfico original do manual do equipamento. Fonte: User's Manual, Labconco Corporation.

A linha pontilhada da Figura 3.12 refere-se a que o processo de liofilização propriamente dito se iniciou em uma temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e não em uma temperatura acima de  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A representação pontuada se refere à temperatura de abaixamento da temperatura do equipamento desde a temperatura ambiente até  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Quando a temperatura do sistema atingiu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  as amostras foram então inseridas na câmara de vácuo ou de secagem e a bomba de vácuo foi seguidamente ligada, iniciando se assim o processo de liofilização.

### 3.9 ANÁLISE DA MICROESTRUTURA

Após a liofilização, filmes extremamente finos foram cortados da amostra da placa de petri perpendicularmente e paralelamente ao fluxo de calor como mostra a Figura 3.13, utilizando uma fina lâmina de bisturi (No. 23, Embramac, Brasil).

Cada filme foi colocado em uma lâmina para microscopia (lâmina comum sem lapidar, Precision Glass Line, Brasil) junto com um cubre objetos e foi observada em um microscópio óptico (Marca Jenaval, Alemã), o qual possuía uma câmera digital fotográfica acoplada ao microscópio (DCE-2).

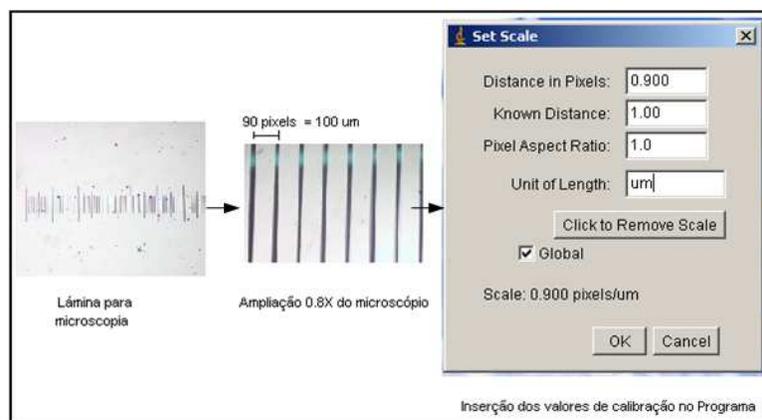


**Figura 3.13:** Filmes cortados para a microscopia em relação ao sentido do fluxo de calor.

As imagens dos filmes foram gravadas e tratadas, utilizando um Software público de Análise de Imagem denominado Image J (Image Processing and Analysis in Java, NIH, Macintosh).

Devido aos problemas para selecionar os cristais de gelo durante o “*thresholding*” e criar o contorno (“*skeleton*”) representativo, a análise foi realizada contornando as imagens do cristal de gelo. Esta técnica também foi utilizada por Flores & Goff, (1999) e Caillet *et al.* (2003). Seguidamente, o software avaliou a área e os parâmetros da forma dos cristais.

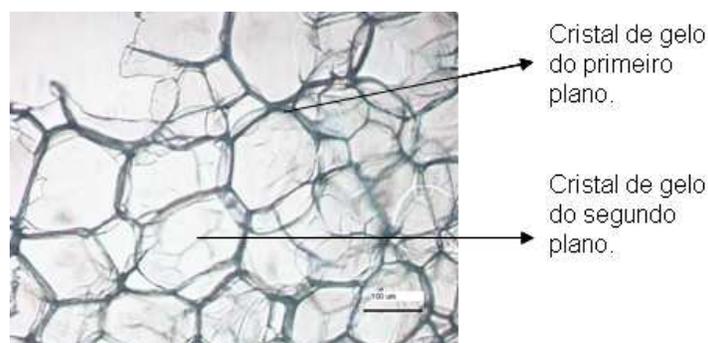
Na Figura 3.14 encontra-se os passos realizados para a inserção dos valores de calibração da lâmina micrometrada (Andrade's Lab, modelo 0.01 mm, Brasil) no programa de tratamento de imagens. Neste projeto foi utilizada uma lâmina com escala de 0,1 mm. Assim, conhecendo a distância em  $\mu\text{m}$  e a sua equivalência em pixels obteve-se o valor da escala já calibrada.



**Figura 3.14:** Exemplo ilustrativo da determinação da distância em pixels a partir de uma lâmina calibrada para microscopia.

É importante destacar que, para a análise de cada uma das microfotografias, se aplicou um critério de pré-avaliação dos cristais de gelo:

Nitidez – Sendo que o microscópio óptico não avalia as imagens na forma tridimensional foi considerado apenas os cristais de gelo do primeiro plano mostrado na fotografia, a qual se destacou pela nitidez do cristal. Na Figura 3.15 encontra-se um exemplo característico dos cristais de gelo mais nítidos (primeiro plano) e os menos nítidos na fotografia.



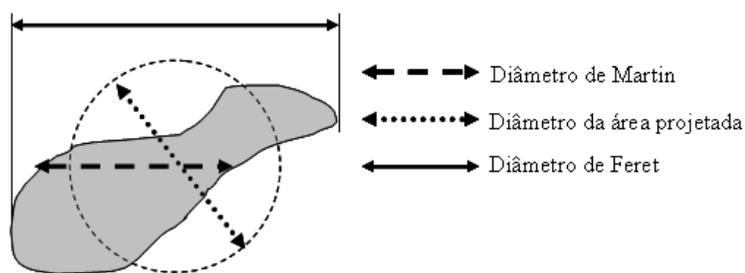
**Figura 3.15:** Cristais de gelo de gel de gelatina (2 %) observados no microscópio óptico com a identificação do primeiro (mais nítido) e segundo plano (menos nítido).

### 3.9.1 Parâmetros de forma dos cristais

O software Image J faz a medida da área de projeção 2D ( $A$ ), perímetro ( $p$ ) e mínimo ( $F_{\min}$ ) e Máximo diâmetros de Feret ( $F_{\max}$ ) dos cristais.

O diâmetro de Martin, o diâmetro de Feret e o diâmetro da área projetada são baseados na imagem dimensional das partículas e eles são muito utilizados na análise de imagem na microscopia óptica e de varredura (SHIH FAN & ZHU, 1998).

O diâmetro de Feret refere-se à média da distância entre duas tangentes paralelas à área de fora da partícula. O diâmetro de Martin é o comprimento entre dois pontos extremos da partícula, sobre um eixo de medida previamente estabelecido como pode ser observado na Fig. 3.16.



**Figura 3.16:** Ilustração esquemática dos diferentes diâmetros de partícula baseados na projeção 2D da imagem. (SHIH FAN & ZHU, 1998)

Utilizando-se então as medidas anteriores, foram calculados os seguintes parâmetros:

$$\text{Circularidade} = \frac{4\pi A}{p^2} \quad (3.2)$$

$$\text{Arredondamento} = \frac{4A}{\pi F_{max}} \quad (3.3)$$

$$\text{Elongação} = \frac{F_{max}}{F_{min}} \quad (3.4)$$

A circularidade caracteriza tanto a alongação quanto a irregularidade do cristal. Os cristais mais alongados ou irregulares possuem menores valores de C (Tabela 2.3).

**Tabela 3.2:** Caracterização dos tipos de superfície das partículas em relação a circularidade (ZHU *et al.* 2005).

Circularidade	Característica
0,8 < C < 1	Circular
0,5 < C < 0,8	Alongada
C < 0,5	Angular

### 3.9.2 Diâmetro equivalente dos cristais

O diâmetro equivalente (Eq. 3.5) é referente à área de projeção bidimensional dos cristais e é descrito pela seguinte equação:

$$D_{eq} = 2 \sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad (3.5)$$

onde: A = área projetada ( $\mu^2$ ).

Uma vez que Zhu *et al.* (2005) utilizaram um número mínimo de 53 a 122 cristais de gelo na avaliação do diâmetro equivalente dos cristais de gelo, então neste trabalho utilizou-se 80 cristais de gelo como mínimo para a determinação do diâmetro equivalente dos cristais.

O teste de Tukey (HSD – honest significant difference) foi utilizado para a avaliação estatística ( $p < 0,005$ ) para detectar as diferenças significativas entre os tratamentos.

### 3.10 RECRISTALIZAÇÃO DURANTE A ESTOCAGEM

Após o congelamento, as amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) foram submetidas a um processo de estocagem durante um tempo mínimo de 4 meses com duas condições diferentes de temperatura ( $-12,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-18,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e com duas diferentes oscilações de temperatura para cada temperatura de estocagem ( $\pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $\pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Durante a estocagem, amostras foram retiradas para serem liofilizadas e observados os tamanhos dos

cristais de gelo pela metodologia da microscopia. As amostras foram coletadas e analisadas com uma frequência de uma vez por mês. Em princípio a fenômeno de recristalização pode ser observado tanto no corte paralelo e no corte perpendicular ao fluxo de calor. Para este trabalho as amostras analisadas referem-se unicamente ao corte perpendicular ao fluxo de calor durante o processo de estocagem devido a que o corte perpendicular oferecia maior contagem de cristais de gelo em menor quantidade de fotografias a analisar.

A temperatura de estocagem de  $-18,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e as oscilações de  $\pm 2,5$  e  $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  foram predeterminadas em um estudo prévio como sendo oscilações de temperaturas de estocagem que causam maiores danos aos alimentos durante este processo (PHIMILSIRIPOL *et al.*, 2008). E observando que comercialmente, ainda são usados os sistemas de estocagem no mercado, com temperaturas comerciais de até  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi pré-determinada uma segunda temperatura de estocagem de  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  com as mesmas oscilações anteriores.

Deve ser considerado também que, durante a estocagem, não houve entrada significativa de calor, apenas nos momentos em que foi necessária a retirada das amostras para serem liofilizadas.

Para se obter as oscilações desejadas de temperatura, em cada sistema de estocagem foram instaladas controladores eletrônicos de temperatura tipo “on – off” (Full gauge, modelo TiC17-RGT, Brasil), previamente adaptados nos sistemas de refrigeração de cada freezer.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 CALIBRAÇÃO DOS SENSORES DE TEMPERATURA**

As curvas de calibração dos sensores de temperatura (Tipo Pt100) foram obtidas pela aquisição de temperaturas realizada em banho termostático, contendo solução de polipropilenoglicol (51 % Volume/ Volume total) ajustada nas temperaturas: -9, -5, 0, 5, 10 e  $15 \pm 0.1$  °C. Valores inferiores a -10 °C não puderam ser ajustadas, pois a faixa de medição de temperatura do termômetro padrão utilizado era de -10 °C a 60 °C o que não é relevante, pois a característica dos sensores Pt100 é de serem lineares.

A partir de 10 aquisições de dados de temperatura coletadas após a estabilização do banho, foram observados os valores mínimo e máximo obtidos. Uma vez calculada a temperatura média de cada sensor de temperatura, foi realizada a correlação entre as temperaturas médias com a temperatura do termômetro padrão e seu respectivo coeficiente de correlação ( $R^2$ ), todos em torno de 0,99, conforme o Apêndice A.

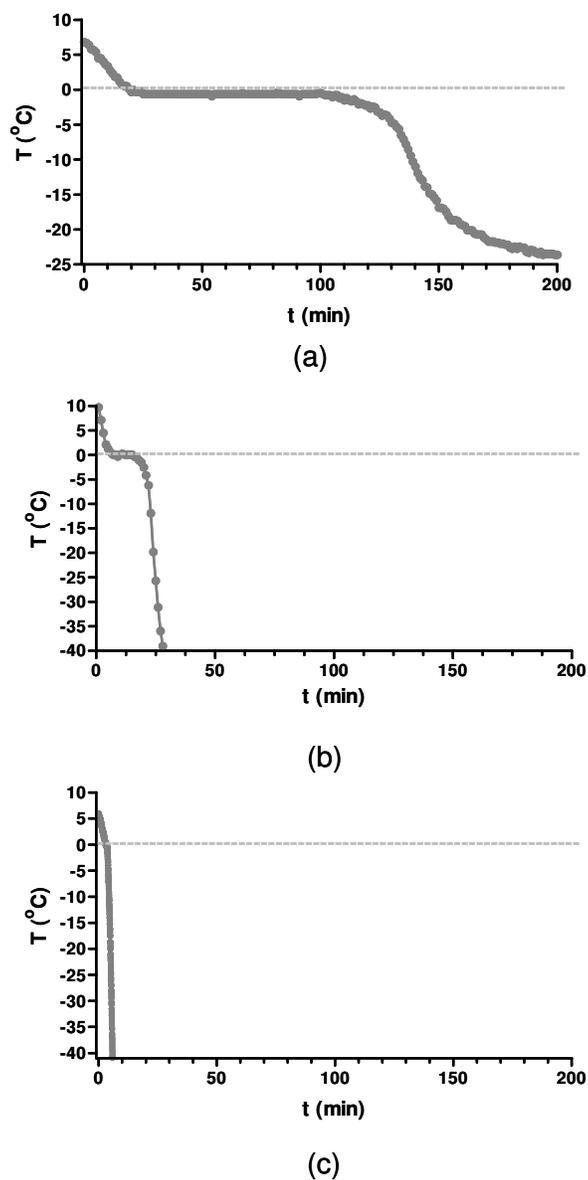
### **4.2 VELOCIDADE DE CONGELAMENTO**

A partir do histórico de temperatura coletados pela aquisição de dados e corrigidos em função do tempo, foram obtidas as cinéticas de congelamento das soluções modelo.

Os históricos das temperaturas de cada ensaio encontram-se no Apêndice B para as amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) analisadas. Nestas curvas observa-se o histórico

de cada processo de congelamento obtidos de sensores de temperatura posicionados no centro geométrico das amostras.

Na Figura 4.1 é mostrada a diferença que há entre os três tipos de congelamento em função do tempo.



**Figura 4.1:** Histórico de temperaturas para o gel de gelatina 2% (peso/peso) do (a) congelamento médio, (b) congelamento rápido e (c) congelamento ultra-rápido.

A partir das cinéticas de congelamento das amostras como mostrada no Apêndice B, foi possível determinar o tempo em que a fase de congelamento se inicia tanto na temperatura  $T_1$  e na temperatura  $T_2$ . Com a diferença dos dois tempos e o valor do incremento de temperatura correspondente foi calculada a velocidade da frente de congelamento, segundo a equação 3.1.

É possível também, observar que o tempo necessário para atingir a temperatura de estabilização da amostra com o meio é muito menor para o congelamento ultra-rápido, pois é o sistema que remove o calor da amostra com maior velocidade quando comparada aos outros processos/equipamentos. O tempo necessário para atingir a temperatura de estabilização da amostra com o meio para o congelamento rápido é menor ao do congelamento médio, porém maior ao do congelamento ultra-rápido, como observado na Figura 4.1.

Os resultados das velocidades de congelamento são mostrados na Tabela 4.1 para todos os métodos de congelamento utilizados.

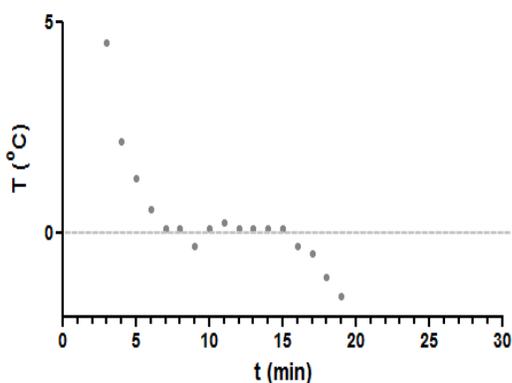
**Tabela 4.1.** Velocidades de congelamento dos equipamentos utilizados para o processo de congelamento de gel de gelatina 2 % (peso/peso).

Método de Congelamento	Média da velocidade de congelamento (°C/s)	Desvio Padrão
Congelamento médio	0,007	0,001
Congelamento rápido	0,060	0,010
Congelamento ultra-rápido	0,270	0,040

Nesta tabela, observa-se que os resultados das velocidades de congelamento foram coerentes com os da literatura (DINÇER, 2003), onde as velocidades de congelamento foram determinadas como congelamento médio ( $0,003 - 0,02 \text{ } ^\circ\text{C/s}$ ), rápido ( $0,03 - 0,07 \text{ } ^\circ\text{C/s}$ ) e ultra-rápido ( $> 0,07 \text{ } ^\circ\text{C/s}$ ).

### 4.3 TEMPERATURA DE INICIO DE CONGELAMENTO

Para todos os ensaios realizados no presente trabalho, o ponto inicial de congelamento foi determinado a partir da cinética de congelamento das amostras (Figura 4.1). A Figura 4.2 mostra o zoom da Figura 4.1 (a) como exemplo da curva de sub-resfriamento para a determinação do ponto inicial de congelamento.



**Figura 4.2:** Curva de sub-resfriamento para o gel de gelatina 2% (peso/peso) do congelamento médio.

Nesta Figura é possível observar que, após o sub-resfriamento, ocorre um aumento na temperatura decorrente da formação dos primeiros cristais de gelo (nucleação). Em seguida, houve a formação do pseudo-patamar, onde a maior parte da água era convertida em gelo. A temperatura de início de congelamento foi medida no início desta fase, que foi seguida por um abaixamento gradual da temperatura para as duas primeiras velocidades e rápida no caso por imersão em nitrogênio líquido.

O valor da temperatura de início de congelamento foi de  $-0,3$  °C. Segundo Zhu *et al.*, (2005), o ponto onde se iniciou o platô da curva de congelamento para gel de gelatina 2 % foi ao redor de  $-0,5$  °C, embora Chevalier *et al.* (2000, a) determinaram o ponto de início de congelamento para gel de gelatina (2 % peso/peso) como sendo de  $-0,3$  °C, portanto o ponto de início de congelamento determinado neste projeto é igual aos valores encontrados na literatura.

Por outro lado, com o objetivo de avaliar a estabilidade das soluções modelo pela determinação da temperatura de início de congelamento foram avaliadas soluções modelo de carboxi-metil-celulose e sacarose em diferentes concentrações depois de repetidos processos de congelamento e recongelamento (BARBIN *et al.*, 2010). Embora a solução modelo seja diferente de gel de gelatina 2% (peso/peso), neste trabalho demonstra-se que a variação da quantidade de sólidos em soluções modelo não provoca alteração da temperatura de início de congelamento depois de repetidos processos de congelamento e recongelamento. Assim também podemos concluir que uma solução modelo pode ser reutilizada para a determinação de temperatura de início de congelamento em até seis repetidos processos de congelamento e recongelamento.

#### 4.5 PERÍODO DE CONGELAMENTO

O período de congelamento foi obtido a partir da diferença entre o tempo de início da etapa de mudança de fase e o início da etapa de estabilização da temperatura, conforme pode ser observado nas Figuras do Apêndice B. Na Tabela 4.2 estão os valores do período de congelamento obtidos em cada ensaio realizado para os diferentes métodos de congelamento.

**Tabela 4.2.** Período de congelamento de gel de gelatina (2 %) para os métodos de congelamento.

Método de congelamento	Media do Período de congelamento (s)	Desvio Padrão
Congelamento médio	8340	523,07
Congelamento rápido	1160	91,65
Congelamento ultra-rápido	89	22,6

Para este caso, considerou-se que o período foi o tempo que demorou até atingir a temperatura de estabilização (-20 °C) com o meio e não o tempo que demorou até atingir 10 °C abaixo da Temperatura inicial de congelamento como proposto pelo IIR, que nesse caso seria um tempo menor (*Recommendations for the Processing and Handling of Frozen Foods*, 1972).

É importante mencionar que o freezer doméstico utilizado no congelamento médio simulou condições domésticas reais e não possuía fluxo de ar forçado. A transferência de calor com a amostra ocorreu apenas por convecção natural do ar. Isto foi um dos principais

fatores que influenciaram no período de congelamento, pois com a utilização de convecção de ar forçado a velocidade de congelamento aumentaria diminuindo o tempo em que a amostra congela.

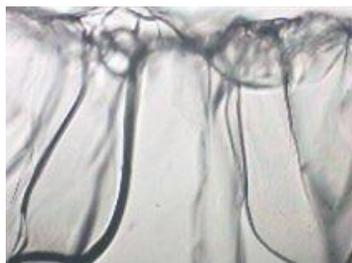
## **4.6 TAMANHOS DOS CRISTAIS DE GELO**

### **4.6.1. Formação do cristal de gelo durante o processo de congelamento**

Nesta pesquisa foram determinados os tamanhos dos cristais de gelo das amostras congeladas pelas diferentes velocidades de congelamento (amostras referências). Assim, foram determinados os tamanhos dos cristais de gelo tanto no sentido paralelo ao fluxo de calor quanto no sentido perpendicular ao fluxo de calor.

Os cortes realizados dentro da amostra para fazer a análise das microfotografias foram obtidos da região central das amostras aproximadamente. Quando os cortes foram realizados na superfície das amostras, a concentração de cristais de gelo não permitia visualizar corretamente os planos na maioria das vezes, ficando ainda mais difícil a visualização para o caso do congelamento ultra-rápido. Porém foram realizados os cortes no sentido paralelo ao fluxo de calor para o sistema de congelamento médio em função da profundidade apenas para se observar como ocorre o fenômeno de cristalização para esta amostra (Figura 4.3). Quando detectados os crescimentos das dendritas na forma de dedos

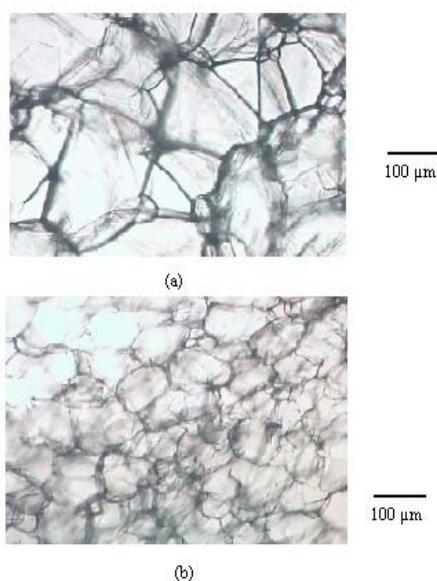
de cristal ou “ice fingers” (Woinet *et al.*, 1998 e Chevalier *et al.*, 2000) os cristais foram de difícil medição pois o cristal ficava com a visualização incompleta devido à limitação da objetiva utilizada pelo microscópio óptico.



**Figura 4.3:** Microfotografia de gel de gelatina 2% (peso/peso) congelada por velocidade de congelamento médio (Corte paralelo ao fluxo de calor)

Na Figura 4.3 é demonstrado que o fenômeno de cristalização neste caso, ocorre de maneira similar à descrita por Woinet *et al* (1998), onde a nucleação inicial ocorre na superfície externa dos produtos, próxima da parede do equipamento de congelamento ou onde a superfície mais longa apresenta maior transferência de calor com o meio de congelamento. Assim, num equipamento onde foi garantido o fluxo de calor unidirecional ou, como neste caso, onde o formato das amostras garantiu esta direção do fluxo de calor, o fenômeno de cristalização ocorre em diferentes etapas: a) primeiramente ocorre o aparecimento repentino de um pequeno núcleo de cristal de gelo na superfície da amostra; b) durante a segunda etapa, ocorre a cristalização de toda a superfície rapidamente a partir desse primeiro núcleo desenvolvido, e c) por último, durante a terceira etapa, uma frente de congelamento plana, paralela à superfície da placa, migra através da amostra, a partir da placa, formando assim cristais de gelo maiores no sentido paralelo ao fluxo de calor (Woinet *et al*, 1998).

Na Figura 4.4, encontra-se como exemplo da diferença que existe entre o tamanho do cristal de gelo para os dois cortes: (a) paralelo e (b) perpendicular ao fluxo de calor. Esta diferença é devida ao formato das amostras na placa petri que apresentam um sentido unidirecional do fluxo de calor, pois a área de cima e de baixo da placa de petri são maiores que a área lateral, permitindo dessa maneira que os primeiros núcleos da cristalização se formem nas áreas maiores em contato com o meio de congelamento.



**Figura 4.4** Microfotografias de filmes de gelatina (2%) congelados a -20 °C (congelamento médio) e liofilizados: a) paralelo ao fluxo de calor e b) perpendicular ao fluxo de calor.

A formação do cristal de gelo durante o processo de congelamento de gelatina já foi estudada por diversos autores (ZHU *et al*, 2005; WOINET *et al*, 1998). Esses trabalhos mostram que existe uma diferença entre os cristais de gelo obtidos no sentido paralelo e no sentido perpendicular ao fluxo de calor. Trabalhos como os do Reid & Yan (2004) para amostras de queijo mussarela e de Grujić *et al*. (1993) para amostras de carne, também

demonstraram esta diferença. Portanto, os resultados da diferença nos tamanhos dos cristais de gelo nos dois sentidos do fluxo de calor são encontrados na literatura.

Na Tabela 4.3, bem como nas Tabelas do Apêndice C.1 a C.6, encontram-se os resultados da análise microscópica da formação dos cristais de gelo das amostras em função dos diâmetros equivalentes nos sentidos paralelo e perpendicular após os diferentes processos de congelamento (médio, rápido e ultra-rápido).

**Tabela 4.3.** Comparação do diâmetro equivalente ( $\mu\text{m}$ ) de amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas pelos métodos médio, rápido e ultra-rápido e cortadas no sentido paralelo e perpendicular ao fluxo de calor.

Método de congelamento	$D_{\text{eq}}$ ( $\mu\text{m}$ ) Corte sentido paralelo	$D_{\text{eq}}$ ( $\mu\text{m}$ ) Corte sentido perpendicular
Congelamento médio	143,89 $\pm$ 49,26	91,75 $\pm$ 18,59
Congelamento rápido	75,15 $\pm$ 22,75	65,73 $\pm$ 21,73
Congelamento ultra-rápido	54,91 $\pm$ 11,36	28,66 $\pm$ 5,80

Na Tabela 4.4, pode-se verificar a variação dos parâmetros de morfologia, tamanho e configuração dos cristais de gelo em função das diferentes velocidades de congelamento. Quando são analisados os efeitos da velocidade de congelamento sobre o diâmetro equivalente do cristal de gelo e sobre os parâmetros de forma, observa-se que os efeitos são determinantes. Neste caso foram escolhidas as amostras cortadas perpendicularmente ao fluxo de calor.

Na Tabela 4.4, observa-se ainda, que a área das cavidades do corte perpendicular deixadas pelos cristais de gelo e congeladas pelo método rápido foram, aproximadamente, 5 vezes maiores do que as áreas deixadas pelo congelamento ultra-rápido e as áreas do

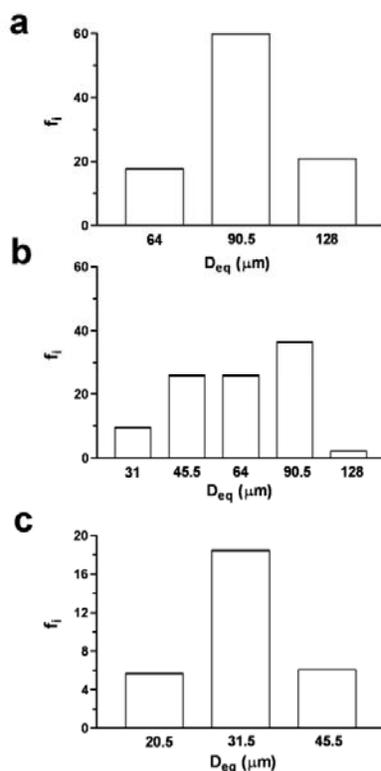
congelamento médio foram, aproximadamente, 10 vezes maiores quando comparadas ao congelamento ultra-rápido.

**Tabela 4.4.** Resultados da análise microscópica (valor  $\pm$  desvio padrão) dos cristais de gelo de amostras de gel de gelatina (2% w/w) congeladas pelo método de congelamento médio, rápido e ultra-rápido cortadas perpendicularmente ao fluxo de calor.

Método de congelamento	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Diâmetro equivalente ( $\mu\text{m}$ )	Circularidade	Elongação
Médio	6880.58 $\pm$ 2831.49 <sup>A</sup>	91.75 $\pm$ 18.59 <sup>A</sup>	0.76 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>	1.32 $\pm$ 0.20 <sup>A</sup>
Rápido	3760.57 $\pm$ 2373.47 <sup>B</sup>	65.73 $\pm$ 21.73 <sup>B</sup>	0.80 $\pm$ 0.07 <sup>B</sup>	1.37 $\pm$ 0.22 <sup>A</sup>
Ultra-rápido	671.03 $\pm$ 275.87 <sup>C</sup>	28.66 $\pm$ 5.80 <sup>C</sup>	0.86 $\pm$ 0.04 <sup>C</sup>	1.33 $\pm$ 0.19 <sup>A</sup>

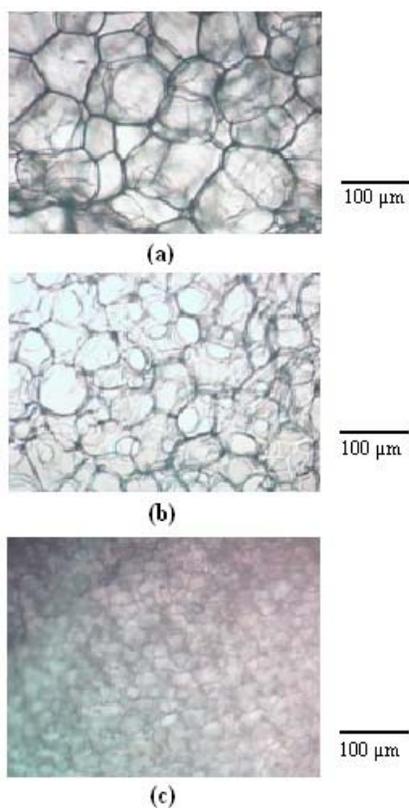
<sup>A,B,C</sup> Valores com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0.005$ )

Na Figura 4.5, compara-se a distribuição do diâmetro equivalente do cristal de gelo formado em função das diferentes velocidades de congelamento. Em esta figura se observa que os diâmetros equivalentes dos cristais de gelo das amostras congeladas em diferentes velocidades de congelamento variam de 28,66 até 91,75  $\mu\text{m}$  no sentido perpendicular ao fluxo de calor. Estes valores situam-se na faixa dos valores encontrados por Zhu *et al.*, (2005) que foram de 44 a 145  $\mu\text{m}$  para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso). Porém, uma comparação direta com este estudo é difícil porque o tratamento das imagens e as condições de processamento variaram consideravelmente.



**Figura 4.5** Histogramas do diâmetro equivalente  $D_{eq}$  ( $\mu\text{m}$ ) de amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) como função da frequência relativa ( $f_i$ ) congeladas pelos métodos de congelamento médio (a), rápido (b) e ultra-rápido (c). (Corte perpendicular ao fluxo de calor)

Na Figura 4.6, pode-se observar a variação dos diâmetros dos cristais de gelo e as morfologias estruturais das amostras congeladas em diferentes velocidades de congelamento e cortadas perpendicularmente ao fluxo de calor. Verifica-se a diferença na distribuição dos diâmetros dos cristais de gelo que também foi observada na Figura 4.5



**Figura 4.6:** Microfotografias de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas por (a) velocidade de congelamento médio, (b) velocidade de congelamento rápido e (c) velocidade de congelamento ultra-rápido. (Corte perpendicular ao fluxo de calor)

Na Figura 4.6 e na Tabela 4.4, observa-se que os cristais de gelo são mais circulares para o congelamento rápido e ultra-rápido do que os cristais de gelo formados para o congelamento médio. Isto é devido ao fato de que, depois do processo de congelamento, uma rede estrutural foi formada imediatamente com um aumento em seu número de núcleos e uma estrutura mais circular pôde ser encontrada para as velocidades de congelamento rápido e ultra-rápido comparada à velocidade de congelamento médio. Evidências destas diferenças na circularidade dos cristais de gelo podem ser encontradas na

literatura em função da velocidade de congelamento (CHEVALIER *et al*, 2001; Zhu *et al*. 2005). As amostras congeladas pelos pesquisadores com o método “Pressure shift freezing” (como congelamento rápido) foram mais regulares e circulares do que as amostras congeladas pelo método “air blast freezing” (como congelamento lento). Os pesquisadores ainda afirmaram que uma nucleação do gelo uniforme e isotrópica resulta em um tamanho de cristal de gelo uniforme e isotrópico (CHEVALIER *et al*, 2001).

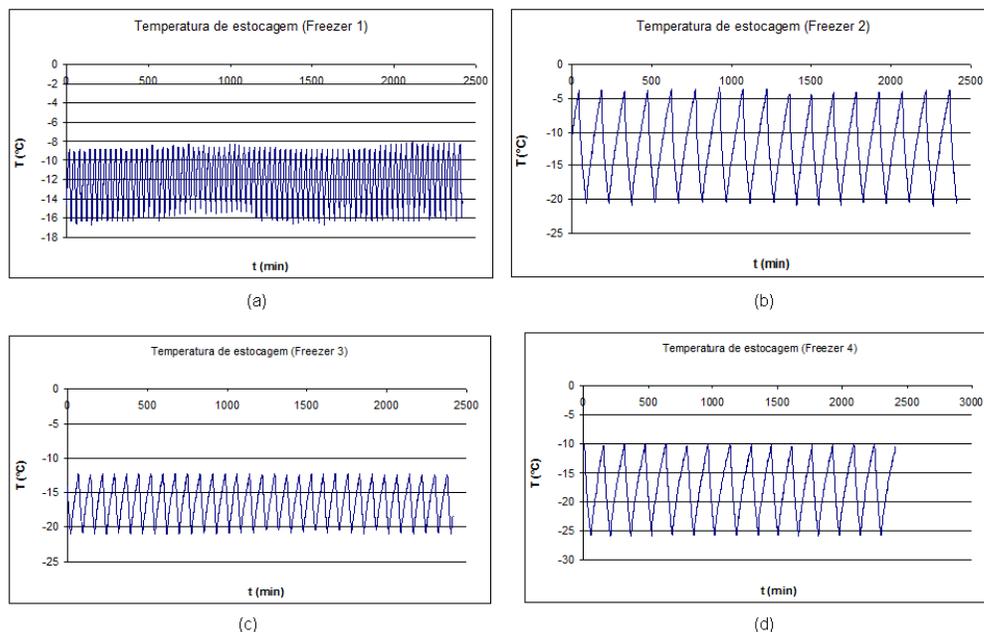
Assim, segundo Zhu *et al*. (2005), a alongação dos cristais de gelo congelados pelas diferentes velocidades de congelamento mostraram valores similares e sem diferença significativa um do outro. Isto se deve a que os valores apresentados são unicamente para as amostras com corte perpendicular ao fluxo de calor.

#### **4.6.2 Recristalização dos cristais de gelo durante o processo de estocagem**

A etapa de estocagem em baixas temperaturas pode ter diferentes efeitos sobre a qualidade dos alimentos dependendo do produto. Assim, por exemplo, a flutuação de temperatura durante a estocagem dos alimentos pode resultar na migração de umidade dos componentes com alta atividade de água para baixa, resultando na perda da qualidade dos produtos (GORMLEY *et al*, 2002).

Neste trabalho, os efeitos da temperatura e das flutuações de temperatura durante a estocagem foram avaliados sobre o tamanho do cristal de gelo formado para os diferentes processos de congelamentos.

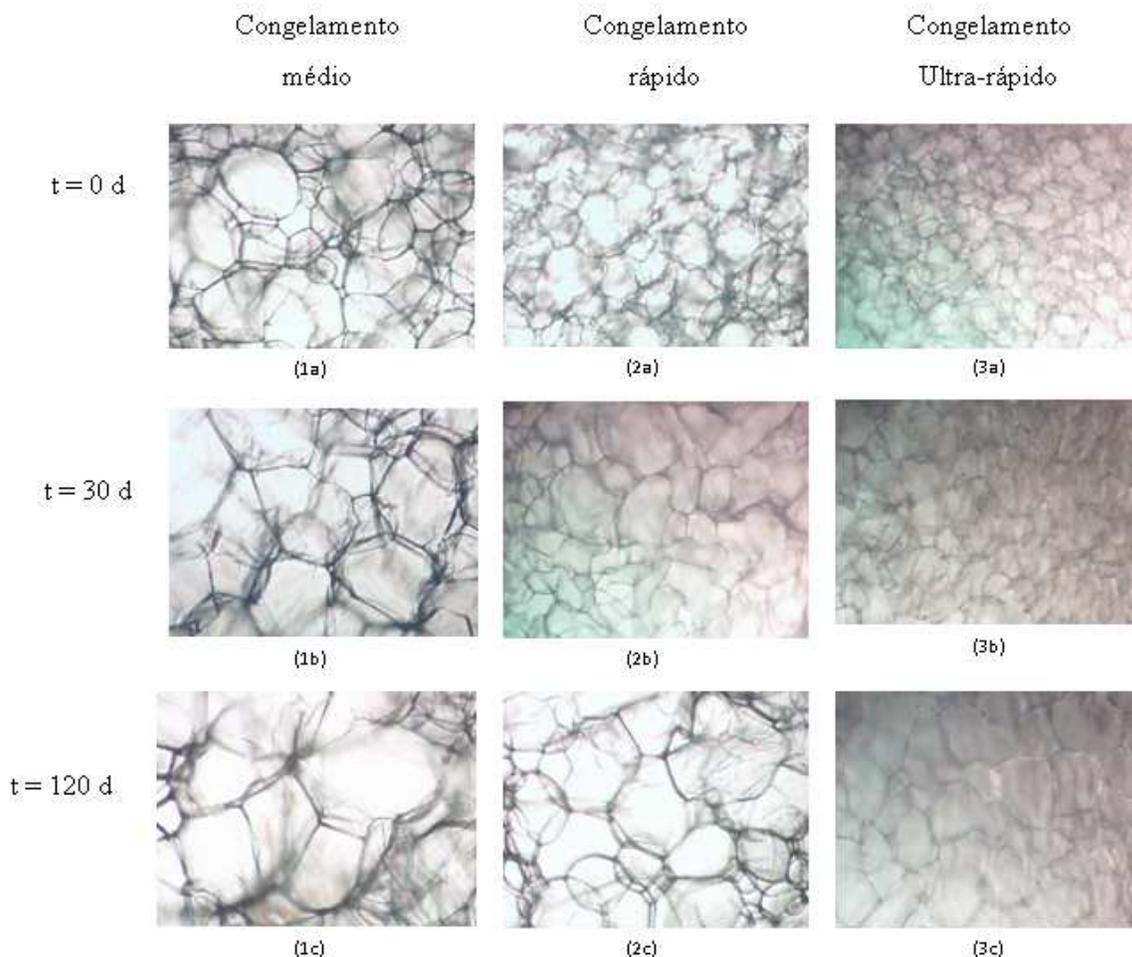
A Figura 4.7 resume os históricos de temperaturas e as suas oscilações coletados durante a estocagem com uma frequência de coleta de uma vez por mês.



**Figura 4.7:** Temperaturas dos quatro sistemas de estocagem avaliados durante o primeiro mês de estocagem: a):  $-12 \pm 2,5$  °C, b):  $-12 \pm 5$  °C, c):  $-18 \pm 2,5$  °C e d):  $18 \pm 5$  °C.

Neste caso, a Figura 4.7 representa a temperatura e oscilação de temperatura para o primeiro mês dos quatro sistemas de estocagem. Os históricos de temperatura durante a estocagem das amostras encontram-se no Apêndice D.

Para cada temperatura de estocagem e suas respectivas oscilações ( $-12,0 \pm 2,5$ ;  $-12,0 \pm 5,0$ ;  $-18,0 \pm 2,5$  e  $-18,0 \pm 5,0$  °C), o cristal de gelo aumenta significativamente em tamanho e forma. A apresentação das microfotografias que mostram um exemplo dessa variação é mostrada no Apêndice E. Um exemplo do crescimento dos cristais de gelo durante a estocagem das amostras é mostrado na Figura 4.8.



**Figura 4.8:** Microfotografias do crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) em diferentes velocidades de congelamentos: 1) congelamento médio, 2) congelamento rápido e 3) congelamento ultra-rápido; em função de diferentes tempos de estocagem: (a)  $t = 0$  dias, (b)  $t = 30$  dias e (c)  $t = 120$  dias; sob a temperatura de estocagem de  $-12,0 \pm 2,5$  °C.

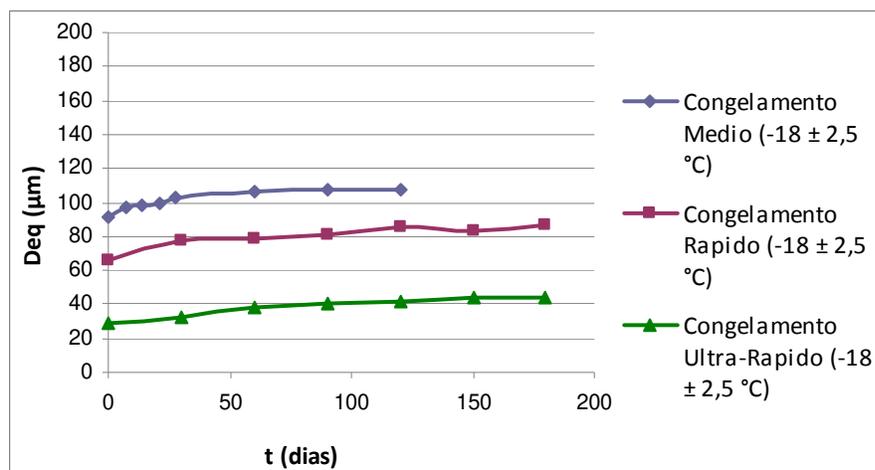
Nesta figura observa-se o efeito da recristalização numa amostra de gel de gelatina 2% (peso/peso) congelada em diferentes velocidades de congelamento e estocadas sob a condição de temperatura de  $-12,0$  °C e flutuações de temperatura de  $\pm 2,5$  °C. Observa-se que, para o caso do congelamento médio, as amostras crescem de um diâmetro inicial de

134  $\mu\text{m}$  para um tamanho de 192  $\mu\text{m}$  após 30 dias de estocagem e se mantiveram com esse mesmo tamanho após 120 dias de estocagem. Para o caso do congelamento rápido os cristais de gelo crescem de um diâmetro inicial aproximado de 73  $\mu\text{m}$  para um tamanho de 82  $\mu\text{m}$  após 30 dias de estocagem e para 125  $\mu\text{m}$  após 120 dias de estocagem. Já para a velocidade de congelamento ultra-rápido o tamanho do cristal de gelo incrementa de um diâmetro inicial aproximado de 38  $\mu\text{m}$  para um tamanho de 54  $\mu\text{m}$  após 30 dias de estocagem e para 59  $\mu\text{m}$  após 120 dias de estocagem.

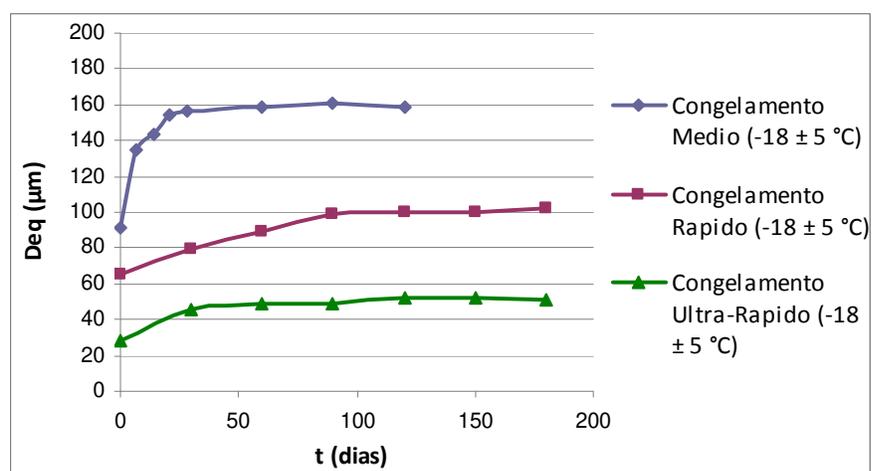
Assim como observado na Figura 4.8, também podem ser observados nas Figura 4.9 (a, b) e 4.10 (a, b), os termos quantitativos, e as comparações dos valores de crescimento dos cristais de gelo de gel de gelatina 2 % congeladas com velocidades de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e, estocadas nas temperaturas constantes de  $-18,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-12,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  com diferentes flutuações de temperatura de  $\pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  e de  $\pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Como em essas figuras, é possível dizer que diâmetros equivalentes menores são formados quando se utiliza maiores velocidades de congelamento, independente da flutuação de temperatura.

Os trabalhos de Calvelo (1981), Smith & Schwartzburg (1985), Martino & Zaritziky (1988) têm mostrado que durante a estocagem sob temperatura constante, sem que mencionem as oscilações ocorridas, os cristais de gelo dos alimentos recristalizam aumentando em tamanho. O efeito é atribuído à migração de água não congelada dos alimentos que envolvem os cristais de gelo para os lugares de baixa concentração de água dos alimentos.

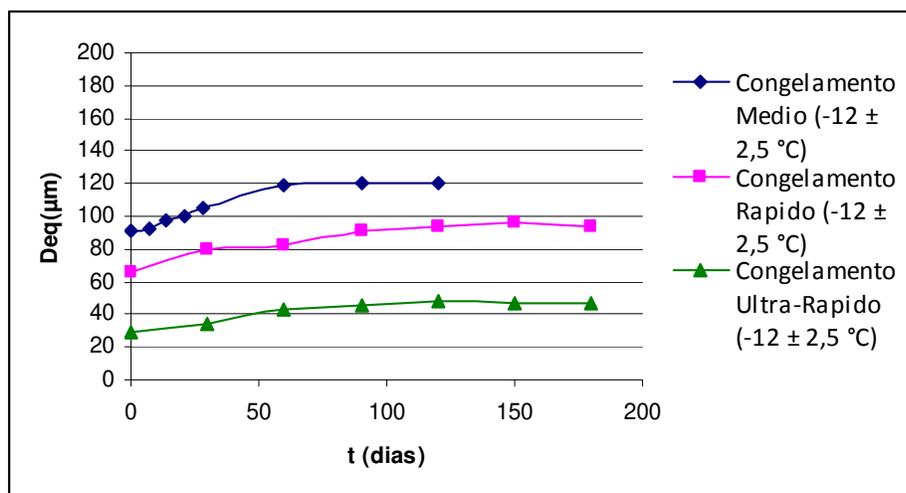


(a)

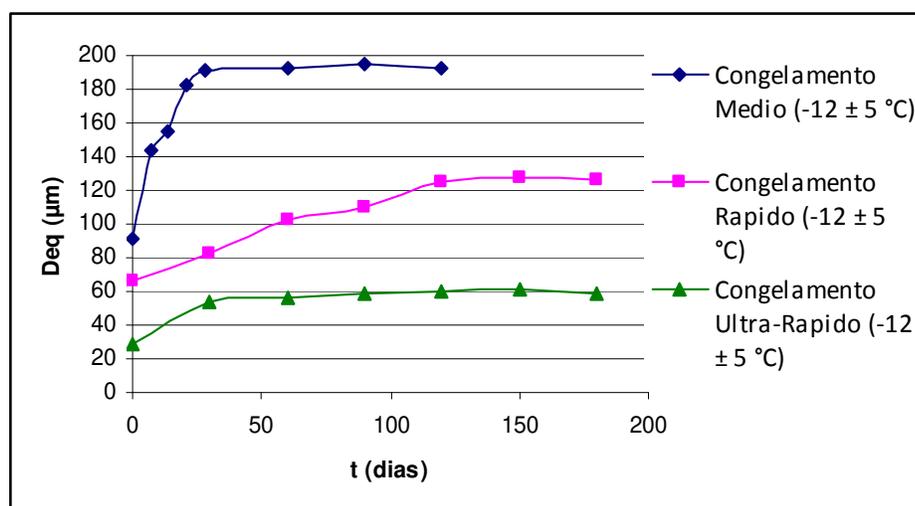


(b)

**Figura 4.9:** Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) congeladas em diferentes velocidades de congelamentos e em função de uma temperatura de estocagem a diferentes oscilações: a )  $-18,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e b )  $-18,0 \pm 5,0 \text{ }^\circ\text{C}$ .



(a)



(b)

**Figura 4.10:** Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) congeladas em diferentes velocidades de congelamentos e em função de uma temperatura de estocagem a diferentes oscilações: a)  $-12,0 \pm 2,5 \text{ } ^\circ\text{C}$  e b)  $-12,0 \pm 5,0 \text{ } ^\circ\text{C}$ .

No entanto, quando comparados os resultados do diâmetro equivalente dos cristais de gelo sob diferentes condições de flutuação de temperatura de estocagem, avalia-se que, assim como o efeito da temperatura de estocagem é importante, o efeito da flutuação de

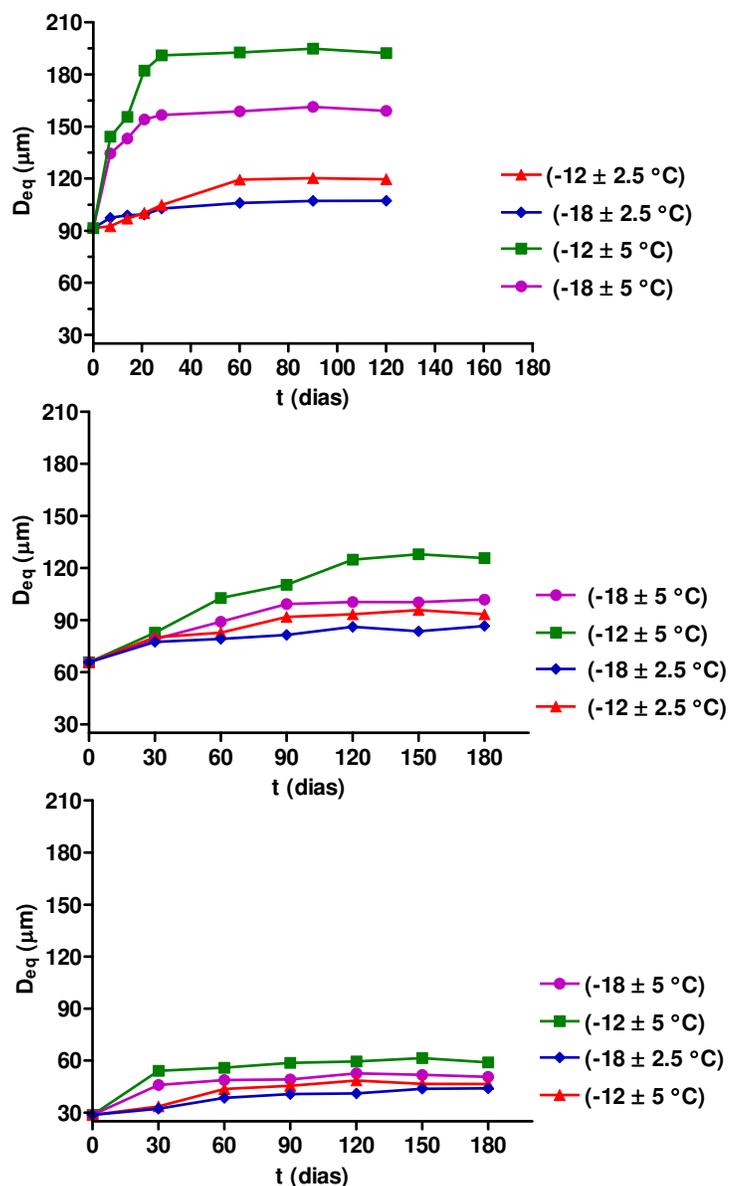
temperatura é importante e indiscriminável. É possível observar na Figura 4.10, que existe uma diferença significativa entre o tamanho dos cristais de gelo de  $-18,0 \pm 2,5$  para  $-18,0 \pm 5,0$  °C. Ou seja, quando comparados os valores, todos os cristais de gelo são maiores quando a flutuação de temperatura também é maior. Isso quer dizer que, quando uma velocidade de congelamento produz um tamanho de cristal inicial, este tamanho poderá ser mantido durante a estocagem apenas se as flutuações de temperatura de estocagem forem menor que 2,5 °C.

Por outro lado, a partir das informações da Figura 4.10 b, observa-se que, para o congelamento médio, o aumento no tamanho dos cristais de gelo foi observado desde a primeira semana de estocagem, e tornou-se mais significativo com o tempo de estocagem, devido à recristalização. Para a maioria das oscilações de temperatura neste congelamento o primeiro mês aparece como o mais importante no período de recristalização, já nas últimas semanas não há um incremento significativo do tamanho dos cristais de gelo.

De fato, existem pesquisas confirmando que há um efeito significativo do tempo de estocagem nas propriedades dos alimentos, como mostrado pelos autores Bárcenas *et al* (2003), onde a entalpia de retrogradação da amilopectina em pães - estocados sob  $-18$  °C - aumenta significativamente desde a primeira semana de estocagem.

Alguns autores têm demonstrado que, dependendo da velocidade de congelamento utilizada, uma diferença significativa do diâmetro de cristal de gelo só aparece depois de dois meses de estocagem. Chevalier *et al.* (2001) têm estudado os efeitos das condições de congelamento e estocagem sobre amostras de file de peixe, neste caso, eles observaram uma diferença significativa no tamanho dos cristais de gelo somente após 75 dias de estocagem (para uma velocidade de congelamento rápido).

Neste trabalho, para as velocidades de congelamento rápido e ultra-rápido, a diferença significativa no diâmetro principal de cristal de gelo aparece depois de aproximadamente 90 dias de estocagem como mostrada na Figura 4.11



**Figura 4.11:** Efeito da recrystalização em gel de gelatina 2% (peso/peso) sobre o principal diâmetro equivalente em função dos congelamentos a) congelamento médio, b) congelamento rápido e c) congelamento ultra-rápido.

Na Tabela 4.5 e na Figura 4.11, podem ser encontradas as diferenças significativas do principal diâmetro de cristal de gelo estocadas em diferentes temperaturas de congelamento.

**Tabela 4.5:** Diâmetro equivalente do cristal de gelo para amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas por 120 dias em diferentes condições de estocagem.

Condições de estocagem (°C)	Congelamento médio Deq (µm)	Congelamento rápido Deq (µm)	Congelamento ultra-rápido Deq (µm)
-18,0 ± 2,5	107,24 ± 35,9 <sup>A,a</sup>	86,10 ± 35,83 <sup>A,b</sup>	41,08 ± 5,50 <sup>A,c</sup>
-12,0 ± 2,5	119,63 ± 29,32 <sup>A,a</sup>	93,37 ± 15,93 <sup>AB,b</sup>	48,49 ± 7,22 <sup>B,c</sup>
-18,0 ± 5,0	159,02 ± 44,55 <sup>B,a</sup>	100,40 ± 15,61 <sup>B,b</sup>	52,64 ± 6,58 <sup>C,c</sup>
-12,0 ± 5,0	192,26 ± 84,30 <sup>C,a</sup>	124,82 ± 48,8 <sup>C,b</sup>	59,50 ± 11,23 <sup>D,c</sup>

<sup>A,B,C,D</sup> Valores com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,005)

<sup>a,b,c,d</sup> Valores com a mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si (p<0,005)

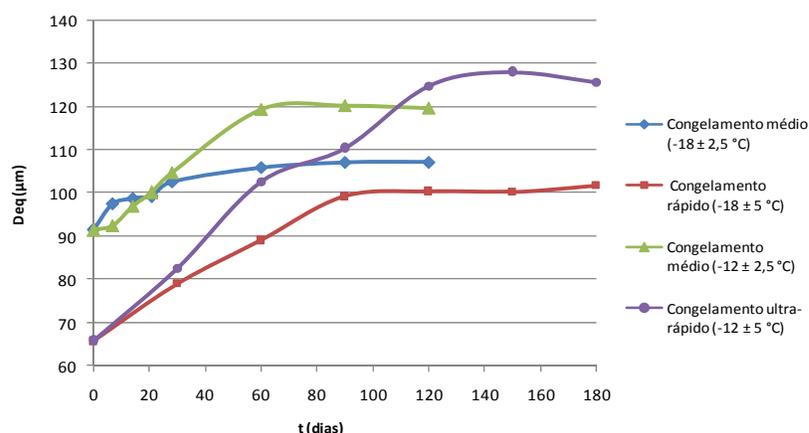
Na Tabela 4.5 observa-se que o diâmetro do cristal é maior para as temperaturas -12,0 ± 5,0 °C e -18,0 ± 5,0 °C do que para -12,0 ± 2,5 °C e -18,0 ± 2,5 °C, respectivamente. Isto devido a que altas oscilações de temperatura do ambiente durante a estocagem resultam em uma maior recristalização quando comparada a menores oscilações. Neste caso, a recristalização aumenta quando a temperatura de estocagem é maior. Muitos trabalhos têm demonstrado os efeitos da recristalização em alimentos em função das flutuações de temperatura, como por exemplo, em amostras de pão congelado, onde as taxas de recristalização e perda de água aumentaram significativamente quando as flutuações de

temperatura foram mais extremas e/ou as temperaturas durante a estocagem foram maiores (PHIMOLSIRIPOL *et al.*, 2008).

Outros trabalhos, como o de Gormley *et al* (2002), demonstraram que flutuações de temperatura durante a estocagem (a temperaturas abaixo do ponto inicial de congelamento) têm efeitos adversos sobre as propriedades dos alimentos, promovendo em alguns alimentos a rancificação. Neste caso, temperaturas muito baixas utilizadas na estocagem são recomendadas quando se manipulam alimentos “sensíveis” como aqueles que contêm um alto teor de gordura. No entanto, sugestões de estocar alimentos a temperaturas abaixo de  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  implicam em elevados custos.

Pela Figura 4.11, também é confirmado que, para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso), quando o diâmetro de cristal aumenta, o tempo necessário para atingir um diâmetro limite do cristal de gelo diminui. Muitos outros autores têm encontrado estes mesmos resultados para amostras com diferentes diâmetros iniciais dos cristais de gelo e estocadas em diferentes condições de congelamento (MARTINO & ZARITZKY, 1987; BALD, 1991).

É possível observar também, na Figura 4.11, que o diâmetro equivalente do cristal de gelo alcança uma estabilização de diâmetro em relação ao tempo de estocagem aparentemente independente da velocidade de congelamento no qual foi congelado. Porém, quando os dados experimentais são comparados (Figura 4.12), observa-se que a estabilização do diâmetro equivalente do cristal de gelo alcançou um tamanho dependente da velocidade de congelamento, quando congeladas em velocidades maiores, como a velocidade rápida e ultra-rápida, no período de estocagem estudado.



**Figura 4.12:** Comparação do principal diâmetro de cristal de gelo para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congelados pela velocidade de congelamento médio e congelamento rápido estocados a diferentes flutuações de temperatura.

Na Tabela 4.6, fica demonstrada que os diâmetros equivalentes dos cristais de gelo após o processo de estocagem acabam sendo iguais para os cristais que se iniciam em grande tamanho pelo método de congelamento médio e para os cristais que se iniciam em menor tamanho pelo método de congelamento rápido.

**Tabela 4.6:** Diâmetro dos cristais de gelo de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio (estocadas a  $-18,0 \pm 2,5$  °C e  $-12,0 \pm 2,5$  °C) e rápido (estocadas a  $-18,0 \pm 5,0$  °C e  $12,0 \pm 5,0$  °C) estocadas durante 120 dias.

Congelamento médio	Congelamento rápido
$D_{eq}$ (μm)	$D_{eq}$ (μm)
$107,24 \pm 35,9^A$ ( $-18 \pm 2,5$ °C)	$100,40 \pm 15,61^A$ ( $18 \pm 5$ °C)
$119,63 \pm 29,32^B$ ( $-12 \pm 2,5$ °C)	$124,82 \pm 48,8^B$ ( $12 \pm 5$ °C)

<sup>A,B</sup> Valores com a mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si ( $p < 0.005$ )

Como observado anteriormente, as velocidades de congelamento encontradas foram 0,005 °C/s para a velocidade de congelamento médio, 0,07 °C/s para a velocidade de congelamento rápido e 0,25 °C/s para a velocidade de congelamento ultra-rápido. Velocidades de congelamento maiores produzem maior número de núcleos e menores tamanhos de cristais de gelo quando comparados às demais velocidades. Por outro lado, o fenômeno de recristalização por migração refere-se em geral, à tendência dos cristais maiores crescerem a partir dos cristais menores. Neste estudo, amostras congeladas a uma velocidade de congelamento ultra-rápido mostraram uma aparente estabilidade da rede estrutural de gel de gelatina após a estocagem. Isto se deve, provavelmente, aos cristais de gelo maiores não terem sido formados durante o processo de congelamento e o método ter contribuído para que não produzisse uma taxa de difusão de água ou migração durante a recristalização. Portanto, o diâmetro limite alcançado pela velocidade de congelamento ultra-rápido não poderia se recristalizar tão abruptamente que pudesse alcançar os diâmetros limite obtidos pelas outras velocidades de congelamento.

Por outro lado, o foco mais importante deste trabalho foi baseado nos resultados da Figura 4.12, onde se demonstra que diâmetros iniciais de gelo menores, formados após um processo de congelamento rápido, não se preservam no produto quando este é estocado a altas temperaturas e altas flutuações de temperatura de estocagem, pois, o crescimento dos cristais apresentam os mesmos valores do que os cristais do congelamento médio, após a estocagem. Ou seja, mesmo que o melhor processo de congelamento produza tamanhos de cristais de gelo menores, um congelamento médio gera o mesmo tamanho final de recristalização do que o congelamento rápido; portanto, não havendo diferença entre eles ao final da estocagem. O uso de um congelamento rápido perde, neste caso, a sua eficiência e

importância, devido as flutuações ocorridas na estocagem. Na prática, a tentativa de melhorar um sistema de congelamento numa empresa envolveria, apenas, em elevados custos e não na obtenção de um produto de boa qualidade ao final da cadeia do frio.

Portanto, se as condições durante o processo de congelamento dos alimentos são otimizadas para se obter um menor diâmetro inicial de cristal de gelo como, por exemplo, a mudança de uma velocidade média para uma velocidade rápida de congelamento, então as altas flutuações de temperatura durante a estocagem não preservam o pequeno diâmetro de cristal de gelo formado, tornando o processo de estocagem mais crítico do que o próprio processo de congelamento.

Com a demonstração dessa perda de qualidade após uma estocagem inadequada, conclui-se que as empresas devem se preocupar tanto ou mais com o processo de estocagem dos seus produtos, pois o elevado preço de um produto, devido ao tipo de processo de congelamento utilizado, pode onerar no preço pago pelo consumidor sem que tenha a esperada qualidade do produto. Assim, quando levado à mesa do consumidor, o preço pago não compensou, pois outro produto mais barato pode oferecer as mesmas qualidades do que um produto caro, processado com congelamentos mais rápidos, porém estocados inadequadamente.

#### **4.6.3 Determinação da Constante de Recristalização(k)**

A avaliação da Figura 4.11 e dos resultados leva à determinação da cinética de recristalização, na qual se observa que o fenômeno de recristalização não somente depende

da curvatura do sistema, mas também depende da diferença entre a curvatura e o limite. Considerando que a cinética de recristalização seja de primeira ordem então foi estimada como:

$$\frac{dD(t)}{dt} = kD(t) \quad (4.1)$$

Onde  $k$  = constante de recristalização

$D(t)$  = Diâmetro de equilíbrio em função do tempo

Separando as variáveis tem-se:

$$\frac{dD(t)}{D(t)} = kdt \quad (4.2)$$

Considerando que  $D_{eq}$  é um valor de estabilização e constante, então o artifício matemático seguinte não altera o perfil da cinética e nem a equação diferencial, pois:

$$\frac{dD(t)}{dt} = \frac{d}{dt}(D_{eq} - D(t)) \quad (4.3)$$

$$\frac{dD(t)}{dt} = 0 - \frac{d(D(t))}{dt} \quad (4.4)$$

Assim o  $D(t)$  cumpre a equação:

$$D(t) = D_{eq} - D(t) \quad (4.5)$$

Então substituindo na equação 4.2 tem-se:

$$\frac{d(D_{eq} - D(t))}{(D_{eq} - D(t))} = kdt \quad (4.6)$$

As condições de contorno do sistema são:

Para  $t=0$ , tem-se:  $D(t)=D_o$

Para  $t=t$ , tem-se:  $D(t)=D(t)$

onde:  $D_o$  = Diâmetro inicial do cristal de gelo.

Agora integrando a equação temos:

$$\int_{D_o}^{D(t)} \frac{1}{D_{eq} - D(t)} d(D_{eq} - D(t)) = \int_0^t k dt \quad (4.7)$$

$$-\ln(D_{eq} - D(t)) \Big|_{D_o}^{D(t)} = kt \Big|_0^t \quad (4.8)$$

$$-\left[\ln(D_{eq} - D(t)) - \ln(D_{eq} - D_o)\right] = k(t - 0) \quad (4.9)$$

$$\ln(D_{eq} - D_o) - \ln(D_{eq} - D(t)) = kt \quad (4.10)$$

$$(-1)\left[\ln(D_{eq} - D_o) - \ln(D_{eq} - D(t))\right] = kt(-1) \quad (4.11)$$

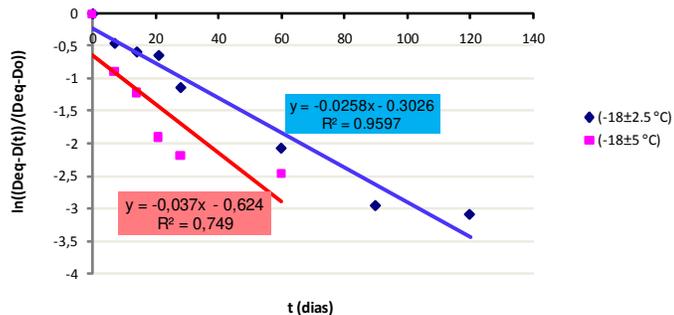
$$\ln(D_{eq} - D(t)) - \ln(D_{eq} - D_o) = -kt \quad (4.12)$$

Assim:

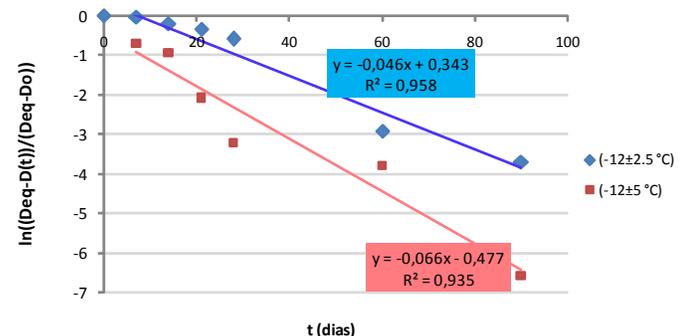
$$\boxed{\ln\left[\frac{D_{eq} - D(t)}{D_{eq} - D_o}\right] = -kt} \quad (4.13)$$

Uma vez estimado o modelo matemático como uma cinética de recristalização de primeira ordem foi então calculada a constante de recristalização ( $k$ ) para todos os sistemas de congelamentos em função do tempo de estocagem.

Na Figura 4.13 (a,b) são mostrados os ajustes dos dados experimentais a partir da cinética proposta (Equação 4.13) para o congelamento médio. A equação do ajuste determina a constante de recristalização a partir da pendente da curva.



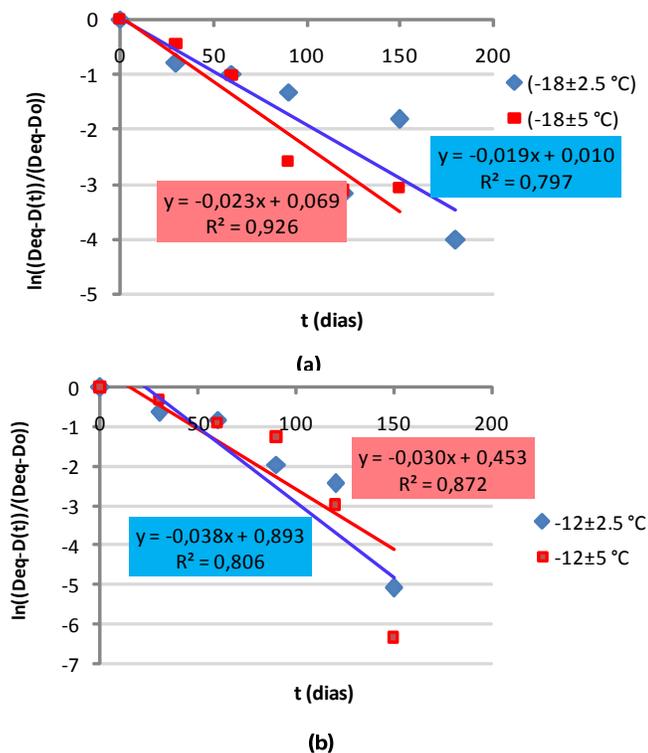
(a)



(b)

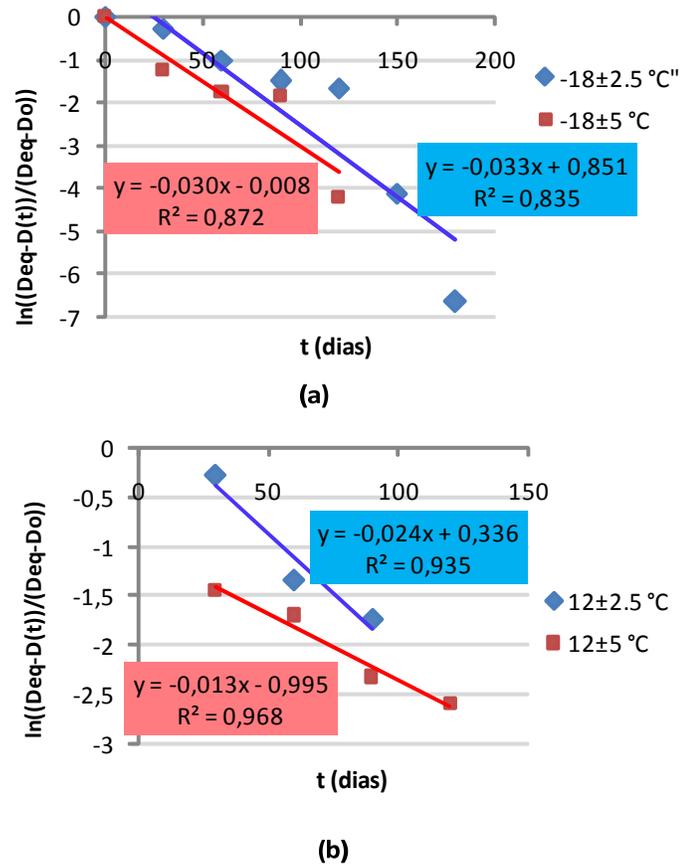
**Figura 4.13:** Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento médio.

Na Figura 4.14 (a,b) também são mostrados os ajustes dos dados experimentais a partir da cinética proposta (Equação 4.13) para o congelamento rápido.



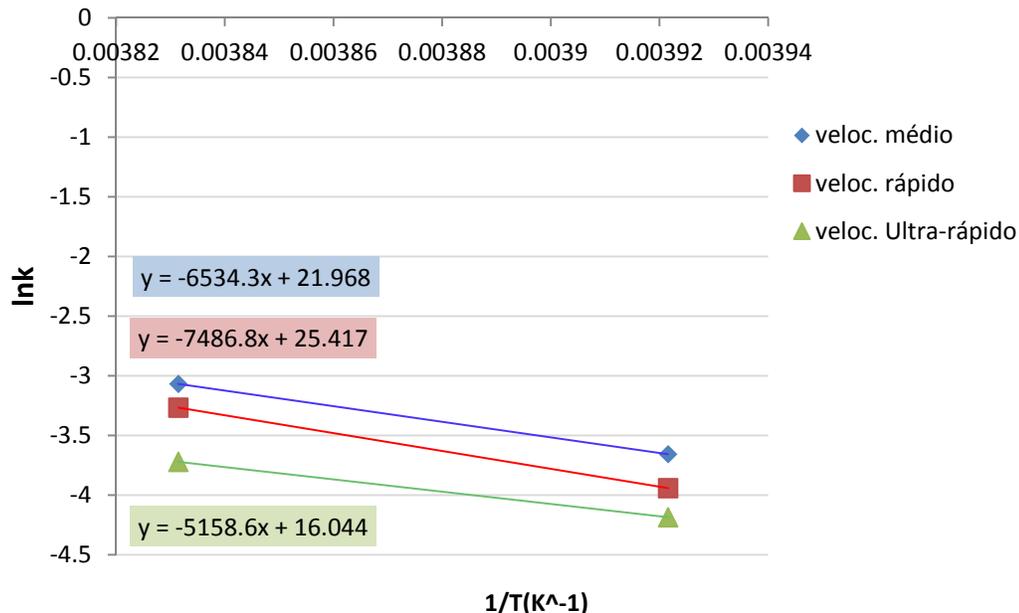
**Figura 4.14:** Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento rápido.

Por último na Figura 4.15 (a,b) são mostrados os ajustes dos dados experimentais para o congelamento ultra-rápido.



**Figura 4.15:** Ajuste dos dados experimentais a partir da cinética de recristalização para determinar a constante de recristalização para o congelamento ultra-rápido.

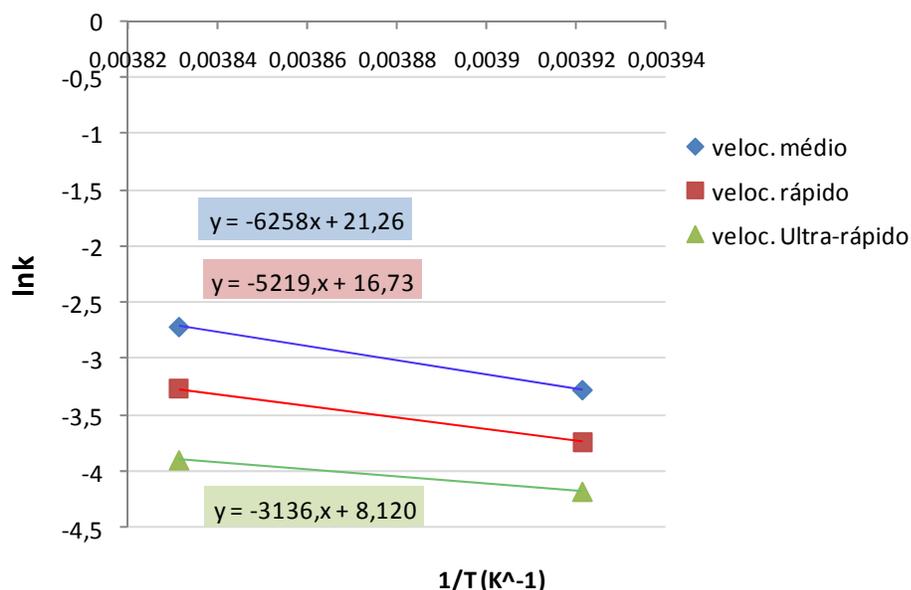
Nas Figuras 4.16 e 4.17 são mostrados os efeitos das temperaturas sobre a constante de recristalização,  $k$ , como uma aproximação considerada do tipo Arrhenius, também sugerida por Martino & Zaritzky, 1989, determinadas a partir da regressão linear dos dados experimentais. Em esta figura é mostrada a variação da constante de recristalização em função das temperaturas de estocagem de:  $-12\text{ °C}$  e  $-18\text{ °C}$  para oscilação de temperatura de  $\pm 2.5\text{ °C}$  e para as diferentes velocidades de congelamento.



**Figura 4.16:** Efeito da temperatura de estocagem (-12 °C e -18 °C) para uma oscilação de temperatura  $\pm 2,5$  °C sobre a constante de recristalização,  $k$ , para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, congelamento rápido e congelamento ultra-rápido.

Como observada na Figura 4.16 o valor da constante de recristalização é maior para temperaturas de -12 °C do que para -18 °C. Isto devido a que os cristais de gelo recristalizam a um tamanho maior quando estocadas a altas temperaturas. Assim também observamos que constante de recristalização é maior para menores velocidades de congelamento do que para maiores velocidades de congelamento.

Na Figura 4.17 também é mostrado o efeito das temperaturas de estocagem sobre a constante de recristalização,  $k$ , em função da temperatura -12 °C e -18 °C para uma oscilação de temperatura de  $\pm 5$  °C.



**Figura 4.17:** Efeito da temperatura de estocagem (-12 °C e -18 °C) para uma oscilação de temperatura  $\pm 5$  °C sobre a constante de recristalização,  $k$ , para amostras de gel de gelatina 2% (peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, congelamento rápido e congelamento ultra-rápido.

Da comparação da Figura 4.16 e Fe 4.17 confirma-se que a constante de recristalização é maior quando as temperaturas de estocagem são mais altas e quando as oscilações de temperatura aumentam em amplitude.

A Tabela 4.7 mostra de forma comparativa o efeito das temperaturas de estocagem sobre a constante de recristalização,  $k$ , para -12 °C e -18 °C com oscilação de  $\pm 2,5$  °C para os diferentes tratamentos de congelamento conforme mostrado na Figura 4.15.

**Tabela 4.7:** Constante de recristalização de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas a  $-12,0 \pm 2,5$  °C e  $18,0 \pm 2,5$  °C.

	Congelamento médio	Congelamento rápido	Congelamento ultra- rápido
$-12 \pm 2,5$ °C	0,0465	0,304	0,0242
$-18 \pm 2,5$ °C	0,0258	0,0194	0,0132

A Tabela 4.8 mostra o efeito da temperatura sobre a constante de recristalização para temperaturas de estocagem de  $-12$  °C e  $-18$  °C a uma oscilação de temperatura de  $\pm 5$  °C como mostrada na Tabela 4.7., conforme mostrado na Figura 4.16.

**Tabela 4.8:** Constante de recristalização de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas nas velocidades de congelamento médio, rápido e ultra-rápido e estocadas a  $-12,0 \pm 5$  °C e  $18,0 \pm 5$  °C.

	Congelamento médio	Congelamento rápido	Congelamento ultra- rápido
$-12 \pm 5$ °C	0,0661	0,0381	0,0136
$-18 \pm 5$ °C	0,0376	0,0238	0,0153

Como observada na Tabela 4.7 e 4.8 os cristais de gelo recristalizam a um tamanho maior quando estocadas a altas temperaturas e altas temperaturas de oscilação, para um mesmo sistema de congelamento observamos que sempre a constante de recristalização é

maior para temperaturas elevadas de estocagem e para altas temperaturas de oscilação. Assim também quando comparamos entre os sistemas de congelamento, as constantes de recristalização sempre são maiores quando se utilizam sistemas de congelamento mais lentos, isto devido a que a constante sempre indica que existe maior recristalização dos cristais de gelo devido ao maior tamanho inicial formado durante os processos de congelamentos mais lentos do que em velocidades de congelamento mais rápidos.

Para este caso podemos concluir que mesmo utilizando uma temperatura de estocagem baixa (-18 °C) comparada a uma temperatura de estocagem amplamente utilizada pelas empresas (-12 °C) quando estocadas em altas flutuações de temperatura, os cristais de gelo acabam recristalizando com o mesmo efeito não permitindo a conservação do tamanho inicial obtido tanto por um congelamento menos sofisticado e que envolve menos custo de operação ou por um congelamento mais significativo e que envolve mais custo de operação.

Em este trabalho os experimentos foram rodados em escala de laboratório, porem, com a determinação da constante de recristalização conclui-se que a constante sempre será um valor elevado quando a escala utilizada seja semi-industrial ou industrial, a constante de recristalização sempre será maior em velocidades mais lentas, em condições de estocagem com temperaturas elevadas e com flutuações de temperatura também elevadas.



## 5. CONCLUSÕES

- Técnicas simples, confiáveis e baratas podem ser utilizadas para determinar os efeitos do tempo de estocagem e das flutuações de temperatura sobre a recristalização dos alimentos, como por exemplo, a técnica de microscopia óptica.
- As velocidades de congelamento rápido e ultra-rápido produzem menores e regulares cristais de gelo em comparação à velocidade de congelamento médio.
- Os tamanhos dos cristais de gelo recristalizados são significativamente maiores quando as flutuações de temperatura possuem maiores amplitudes são extremas, neste estudo na ordem de + 5 °C, bem como em temperaturas de estocagem mais altas, neste estudo de -18 °C para -12 °C.
- O uso de temperaturas de estocagem mais baixas pode ajudar na conservação das propriedades originais dos alimentos, no entanto, deve-se ter cuidado com a oscilação da temperatura utilizada, sugere-se que esta oscilação não ultrapasse a 2,5 °C.
- A velocidade de crescimento dos cristais de gelo é maior quanto menor a velocidade de congelamento e quanto maior a amplitude de flutuação de temperatura às quais são submetidas.
- O crescimento dos cristais de gelo formados após o processo de congelamento rápido crescem também rapidamente, dependendo das condições de estocagem e dependendo da flutuação de temperatura às quais são submetidas.
- Cristais de gelo formados após o processo de congelamento ultra-rápido não crescem rapidamente mesmo sendo estocados em longos períodos de tempo, pois a

rede de cristal formada após o processo de congelamento pode ser mais forte e estável.

- Os diâmetros dos cristais de gelo de amostras de gel de gelatina (2% peso/peso) congeladas a uma velocidade de congelamento médio e estocadas durante 120 dias alcançaram um diâmetro de equilíbrio de  $107,24 \pm 35,9 \mu\text{m}$  para as amostras estocadas a  $-18,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , de  $119,63 \pm 29,32 \mu\text{m}$  para as amostras estocadas a  $-12,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e para o congelamento rápido o diâmetro de equilíbrio alcançado foi de  $100,40 \pm 15,61 \mu\text{m}$  para as amostras estocadas a  $-18,0 \pm 5,0 \text{ }^\circ\text{C}$  e de  $124,82 \pm 48,8 \mu\text{m}$  para as amostras estocadas em  $12,0 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- As constantes de recristalização determinadas pela cinética de crescimento dos cristais apresentaram valores maiores para velocidades de congelamento menores e para as altas temperaturas de estocagem. Assim também as constantes de recristalização foram maiores quando as amplitudes das oscilações de temperatura durante a estocagem foram maiores.
- Os resultados apresentaram relevância industrial, porque as flutuações de temperatura durante a estocagem podem afetar o crescimento dos cristais de gelo em função da velocidade de congelamento.
- Na prática, existe uma incompreensão dos efeitos da estocagem na recristalização dos alimentos quando o principal motivo da preocupação das empresas é apenas o controle da variável “taxa ou velocidade de congelamento”. A preocupação das empresas não deveria estar focada em apenas seus novos investimentos na área do processo de congelamento, mas também na área do processo de estocagem e

transporte, devido a seus efeitos sobre a recristalização como demonstrado neste trabalho.

- Considerando que cada diferente velocidade de congelamento produz diferentes diâmetros iniciais de cristal de gelo, na etapa de estocagem, a conservação do tamanho ou o crescimento dos cristais de gelo não diferiram significativamente entre os processos de congelamento, caso fossem estocados às mesmas oscilações de temperatura, desde que essas oscilações não ultrapassem os 2,5 °C.



## **6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Sugere-se analisar o crescimento de cristais de gelo durante pequenos e longos períodos de estocagem de amostras alimentícias que principalmente apresentam pouca qualidade após o seu descongelamento, devido à destruição das membranas celulares por efeito da formação de diferentes tamanhos de cristais de gelo, por efeito do processo de congelamento ou pela recristalização durante o processo de estocagem, como por exemplo, morangos, brócolis, peixes, etc.
- A avaliação do crescimento dos cristais de gelo para alguns alimentos apresentam diferenças significativas muitas vezes desde o primeiro mês de estocagem, porém durante a estocagem de alguns alimentos, não necessariamente essas diferenças significativas, se apresentam em curtos períodos de estocagem, nem mesmo em até 6 meses de estocagem. Cada alimento difere de outro na análise de tamanho do cristal de gelo durante a etapa de estocagem, porém cada alimento congelado possui a sua vida útil predeterminada e neste caso, sugere-se uma avaliação do efeito de diferentes condições de estocagem sobre a recristalização num tempo mínimo de 6 meses.
- Muitas das técnicas que tem sido utilizadas para analisar o tamanho dos cristais de gelo durante a etapa de estocagem, principalmente a microscopia óptica e eletrônica. A visualização dos efeitos sobre as membranas e estruturas celulares ou os efeitos nos espaços intercelulares podem ser facilmente identificados pela microscopia ótica para muitos alimentos, porém, em virtude da microscopia eletrônica poder oferecer uma visualização de imagens tridimensionais, sugere-

se o uso desta técnica para a análise do crescimento dos cristais de gelo durante a estocagem, assim como para determinar quais outras estruturas estão sendo afetadas pela recristalização.

- Após a análise do crescimento dos cristais de gelo em gel de gelatina 2% (peso-peso) realizado no presente trabalho, sugere-se analisar amostras com menor teor de água possível ou então não trabalhar com soluções líquidas ou aquosas, pois nenhuma solução líquida apresenta um diâmetro de cristal de gelo final e sim apenas um crescimento indeterminado e neste caso pode ser impossível determinar qual é o efeito das diferentes condições de estocagem sobre o crescimento do cristal de gelo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN LIOFILZER, INC. In: [www.freezedrying.com/freeze-drying-principles.html](http://www.freezedrying.com/freeze-drying-principles.html). Último acesso: 22 de abril 2013.

BALD, W. B. Food freezing: Today and Tomorrow. York University . Institute for applied biology, Springer Verlag, London, 203 p, 1991.

BARBIN, D. F, MONZÓN DÁVILA, L. S., M., SILVEIRA JÚNIOR, V. Avaliação da estabilidade de soluções modelo (CMC-Sacarose) em recongelamentos. **B. CEPPA**, v. 28, pp. 125 - 132, 2010.

BARCENAS, M. E, HAROS, M., BENEDITO, C. & ROSELL, C. Effect of freezing and frozen storage on the staling of parted-baked bread. **Food Research International**, v. 36, pp. 863 - 869, 2003.

BEVILACQUA, A. E. & ZARITZKY, N. E. Ice recrystallization in frozen beef. **Journal of Food Science**, v. 47, pp. 1410 - 1414, 1982.

BARLETT, L.H. A thermodynamic examination of the latent heat of food. **Refrigeration Engineering**, v. 47, pp. 377, 1944.

BRADLEY, R., & SMITH, K. Finding the freezing point of frozen desserts. Dairy Rec. 84:114–115, 1983.

BECKER, B.R.; FRICKE B.A. Food thermophysical property models. **Int. Comm. Heat Mass Transfer**, v. 26, n.5, pp. 627– 636, 1999.

BLOND, G. & LE MESTE, M. Principles of frozen storage. **Handbook of Frozen Foods**, Marcell Decker Inc., 2004.

BOONSUPTHIP W. & HELDMAN, D. R. Prediction of frozen food properties during freezing using product composition. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, pp. E254-E263, 2007.

CAILLET, A., COGNÉ, C., ANDRIEU, J., LAURENT, P. & RIVOIRE A. Characterization of ice cream structure by direct optical microscopy. Influence of freezing parameters. **Lebensmittel- Wiss. u. – Technology**, 36: 743 – 749, 2003.

CAMPAÑONE, L. A., SALVADORI, V. O. & MASCHERONI, R. H. Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. **Journal of Food Engineering**, v. 47, pp. 69 – 79, 2001.

CALVELO, A. Recent studies on meat freezing. In R. Lawrie (Ed). **Developments in meat science**, UK: Applied Science Publishers, 1981.

CHEVALIER, D., LE BAIL, A. & GHOUL, M. Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: part I. Freezing at atmospheric pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 46, pp. 277– 285, 2000.

CHEVALIER, D., LE BAIL, A. & GHOUL, M. Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: part II. Comparison between freezing at atmospheric pressure and pressure-shift freezing. **Journal of Food Engineering**, v. 46, pp. 287– 293, 2000.

CHEVALIER, D., SEQUEIRA – MUÑOZ, A., LE BAIL, A., SIMPSON, B. K. & GHOUL, M. Effects of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*) Evaluation of pressure shift freezing vs airblast freezing. **Innovative Food Science & Engineering**, v. 1, pp. 193– 201, 2001.

DA-WEN SUN & BING LI. Microstructural change of potato tissues frozen by ultrasound-assisted immersion freezing . **Journal of Food Engineering**, v. 57, pp. 337 – 345, 2003.

DANHOWE, D. P. & HARTEL, R. W. Recrystallization of ice cream during bulk storage of ice cream. **International Dairy Journal**, v. 6 pp. 1209 – 1221, 1996. (a)

DANHOWE, D. P. & HARTEL, R. W. Recrystallization of ice cream during controlled accelerate storage. **International Dairy Journal**, v. 6 pp. 191-208, 1996. (b)

DANHOWE, D. P., HARTEL, R. W. & BRADLEY, J. R. Determination of ice crystal size distributions in frozen desserts. **Journal of Dairy Science**, v. 74 pp. 3334 - 3344, 1990.

DINÇER, I. Food Freezing. **Refrigeration systems and applications**. John Wiley & Sons, Ltd., England, 2003.

DO, G.; SAGARA, Y.; TABATA, M.; KUDOH, K.; HIGUCHI, T. Three-dimensional measurement of ice crystals in frozen beef with a micro-slicer image processing system. **International Journal of Refrigeration**, v. 27, pp. 184 – 190, 2004.

FAROUK, M. M., KEMP, R. M., CARTWRIGHT, S. & NORTH, M. The initial freezing point temperature of beef rises with the rise in pH: A Short communication. **Meat Science**, v. 94, pp. 121 – 124, 2013.

FENNEMA, O. R., POWRIE, W. D. & MARTH, E. H. **Low-temperature preservation of foods and living matter**, Marcel Dekker Inc., New York, 1973.

FLORES, A. A. & GOFF, H. D. Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. **Journal of Dairy Science**, 82: 1399 – 1407, 1999.

GOFF, H.D. Measuring and interpreting the glass transition in frozen foods and model systems. **Food Research International**, v. 27, pp. 187 – 189, 1994.

GOFF, H. D. & FLORES, A.A. Recrystallization in ice cream after constant and cycling temperature storage conditions as affected by stabilizers. **Journal of Dairy Science**, v. 82, pp. 1408 – 1415, 1999.

GORMLEY, R., WALSH, T., HUSSEY, K. & BUTLER, F. The effect of fluctuating vs constant frozen storage temperature regimes on some quality parameters of selected food products. **Lebensmittel- Wiss. u. – Technology**, v. 35, pp. 190 – 200, 2002.

GRUJIC, R., PETROVIC, L., PIKULA, B. & AMIDZIC, L.. Definitions of the optimum freezing rate – 1. Investigation of structure and ultrastructure of beef M. longissimus frozen at different freezing rates. **Meat Science**, v. 33, pp. 301 – 318, 1993.

HAGIWARA, T. & HARTEL, R. W. Effect of sweetener, stabilizer and storage temperature on ice recrystallization of ice cream. **Journal Dairy Science**, v. 79, pp. 735 – 744. 1996

HENSE, H. Avaliação dos parâmetros termofísicos e cinética de congelamento de cação. **Tese de Mestrado**. Faculdade de Engenharia de Alimentos. UNICAMP, 1990. 167 p.

KIANI, H. & DA WEN-SUN. Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, pp. 407 – 426, 2011.

KOZLOWICZ, K. & KLUZA, F. Gel products properties influenced by freezing different conditions. **International Journal of Refrigeration**, v. 35, pp. 1715 – 1721, 2012.

LE BAIL, A. Freezing Processes: Physical Aspects. **Handbook of Frozen Foods**, Marcel Dekker, Inc., 2004.

LI, B.; SUN, D. W. Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing. **Journal of Food Engineering**, v. 55, pp. 85 – 90. 2002b.

MARTINO, M. N.; & ZARITZKY, N. E. Effects of temperature on recrystallization in polycrystalline ice. **Sciences des Aliments**, v. 7, pp. 147 – 166, 1987.

MARTINO, M. N.; & ZARITZKY, N. E. Ice crystal size modifications during frozen beef storage. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 6, pp. 1631 – 1637, 1988.

MARTINO, M. N.; & ZARITZKY, N. E. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. **Meat Science**, v. 50, pp. 303 – 313, 1989.

MARTINO, M. N.; OTERO, L.; SANZ, P. D.; ZARITZKY, N. E. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. **Meat Science**, v. 50, pp. 303 – 313, 1998.

MUFTUGIL, N. Freezing time and rate of cauliflower florets under different freezing conditions. **Revist International of Froid**, v. 9, pp. 155-157, 1986.

NGAPO, T. M., BABARE, I. H., REYNOLDS, J. & MAWSON, R. F. Freezing and thawing rate effects on drip loss from samples of pork. **Meat Science**, v. 53, pp. 149-158, 1999. (a)

NGAPO, T. M., BABARE, I. H., REYNOLDS, J. & MAWSON, R. F. Freezing rate and frozen storage on the ultrastructure of samples pork. **Meat Science**, v. 53, pp. 159-168, 1999. (b).

OLIVEIRA, D. & SALVADORI, V. Effect of freezing rate in textural and rheological characteristics of frozen cooked organic pasta. **Journal of Food Engineering**, v. 90, pp. 271– 276, 2009.

PASQUALONE, S.; MASTANDREA, N. Le proprietà termiche degli alimenti congelati. **Industrie Alimentari**, v. 34, n. 3, pp. 261 – 267, 1995.

PHIMOLSIRIPOL, Y., SIRIPATRAWAN, U., TULYATHAN, V. & CLELAND, D. J. Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. **Journal of Food Engineering**, v. 84, pp. 48 – 56, 2008.

PLANK, HAM, Q. T.; WEE, H. K.; KEMP, R. M.; LINDSAY, D. T. Determination of the enthalpy of foods by and adiabatic calorimeter. **Journal of Food engineering**, v. 21, pp. 137 – 156, 1941.

REID, D. S. & YAN H. Rheological melting and microstructural properties of cheddar and mozzarella cheeses affected by different freezing methods **Journal of Food Quality**, v. 27, pp. 436 – 458, 2004.

REGAND, A. & GOFF, D. Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, pp. 95 – 102, 2003.

REGAND, A. & GOFF, D. Ice recrystallization inhibition in ice cream as affected by ice structuring proteins from winter wheat grass. **Journal of Dairy Science**, v. 89, pp. 49 – 57, 2006.

Recommendations for the Processing and Handling of Frozen Foods. 3<sup>rd</sup> Edição. **International Institute of Refrigeration**, 1972.

SACLIER, M., PECZALSKI, R. & ANDRIEU, J. Effect of ultrasonically induced nucleation on ice crystals' size and shape during freezing in vials. **Chemical Engineering Science**, v. 65, pp. 3064 – 3071, 2010.

SANZ, P. D., DE ELVIRA, C., MARTINO, M., ZARITZKY, N., OTERO, L. & CARRASCO, J. A. Freezing rate simulation as an aid reducing crystallization damage in foods. **Meat Science**, v. 52, pp. 275 – 278, 1999.

SMITH, C. E. & SCHWARTZBERG. Ice crystal size changes during ripening in freeze concentration. **Biotechnology Progress**, v. 1, pp. 111 – 120, 1985.

SUTTON, R. L., EVANS, I. D. & CRILLY, J. Modeling ice crystal coarsening in concentrated disperse systems. **Journal of Food Science**, v. 59, pp. 1227 – 1233, 1994.

SUTTON, R. L., LIPS, A., PICCIRILO, G. & SZTEHLO, A. kinetics of ice recrystallization in aqueous fructose solutions . **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, pp. 741 – 745, 1996. (a)

SUTTON, R. L., LIPS, A., PICCIRILO, G. Recrystallization in aqueous fructose solutions as affected by locust bean gum . **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, pp. 746 – 748, 1996. (b)

SUN, D-W. & ZHENG, L. Innovations in freezing process. In: Da –Wen Sun (Ed),. **Handbook of frozen food processing and packaging**. Boca Raton, FL/London: CRC/Taylor & Francis, 2006.

WOINET, B., ANDRIEU, J., LAURENT, M. & MIN, S. G. Experimental and theoretical study of model food freezing. Part ii. Characterization and modeling of the ice crystal size. **Journal of Food Engineering**, v. 35, pp. 395-407, 1998.

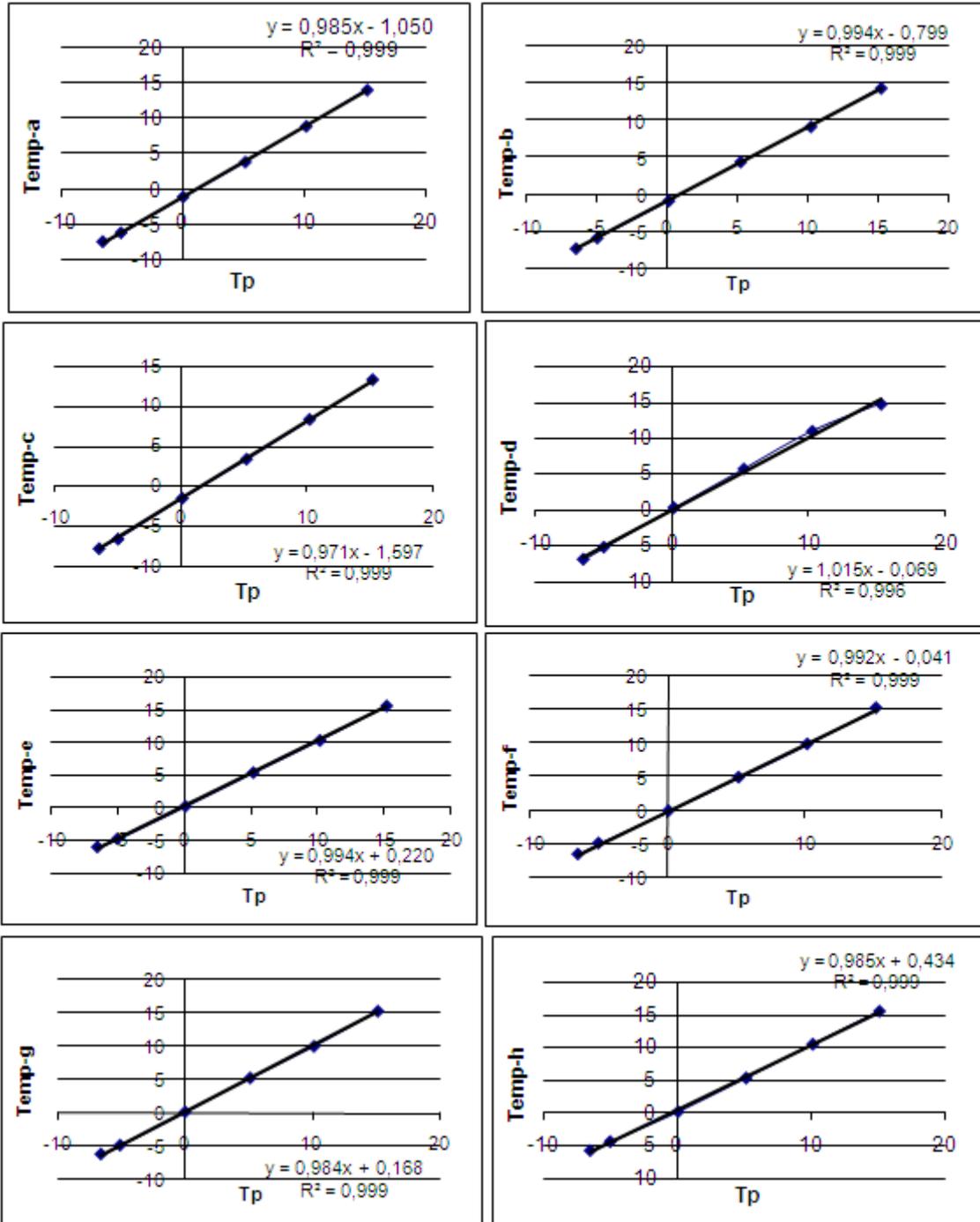
ZARITZKY, N. E. Factors affecting the stability of frozen foods. **Managing Frozen Foods**, CRC Woodhead Publishing, Cambridge – England, 2003.

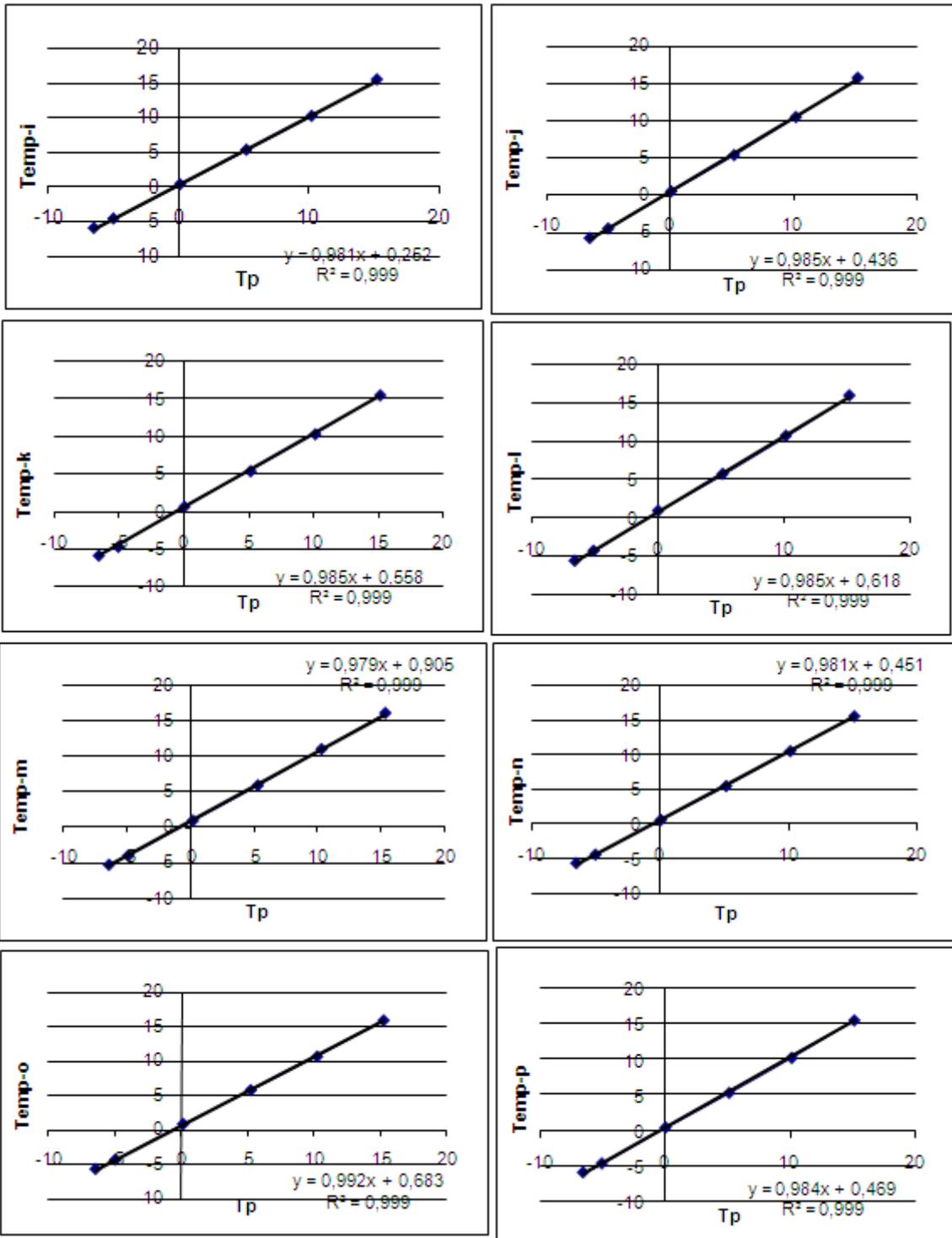
ZARITZKY, N. E. Physical – chemical principles in freezing. In: Da-Wen Sun, **Handbook of Frozen Food Processing and Packaging**, CRC Woodhead Publishing, Cambridge – England, 2006.

ZHU, S., RAMASWAMY, H. S. & LE BAIL, A. Ice-crystal formation in gelatin gel during pressure shift versus conventional freezing. **Journal of Food Engineering**, v. 66, pp. 69 – 76, 2005.

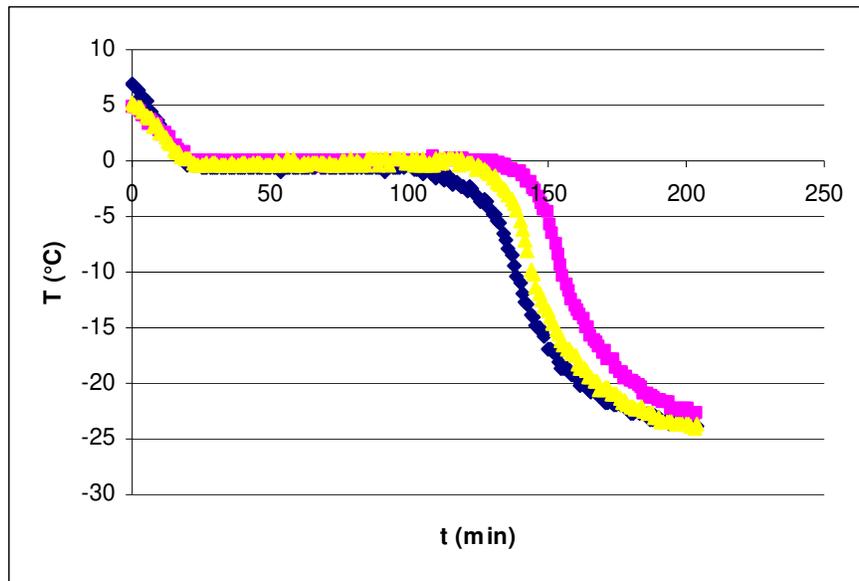
## APÊNDICE

A: Curvas de calibração dos sensores de temperatura Pt100.

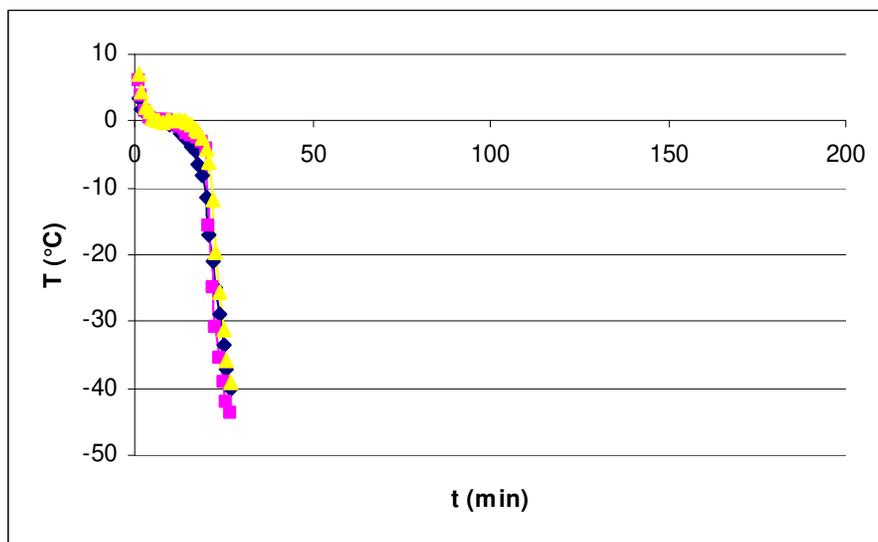




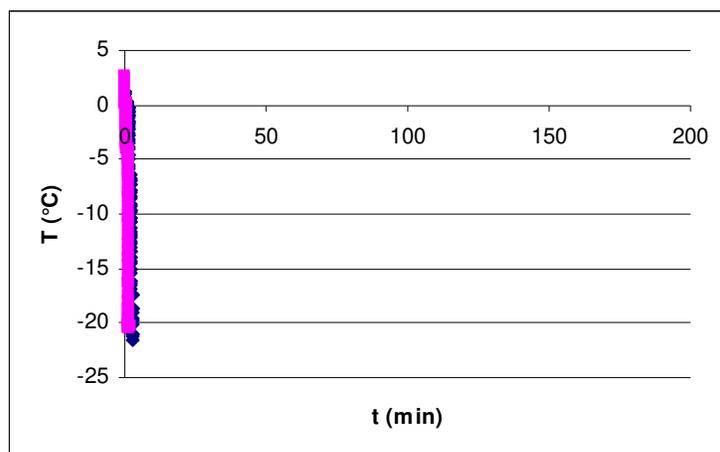
B1: Triplicata do Histórico de Temperaturas do Congelamento Médio.



B2: Triplicata do Histórico de Temperaturas do Congelamento Rápido



B3: Duplicata do Histórico de Temperaturas do Congelamento Ultra-Rápido



C1: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento médio (Sentido paralelo ao fluxo de calor)

Numero de cristais	Deq ( $\mu\text{m}$ )	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Circularidade	Elongação
1	135,73	14469,17	0,801674	1,13
2	144,17	16324,73	0,873347	1,21
3	184,29	26675,37	0,809245	1,17
4	161,54	20495,11	0,820698	1,29
5	103,14	8355,574	0,87638	1,27
6	197,68	30691,43	0,708134	1,31
7	124,89	12249,41	0,698506	1,42
8	175,45	24175,36	0,862198	1,21
9	109,62	9438,293	0,749135	2,00
10	104,83	8630,883	0,801755	1,49
11	124,81	12234,6	0,746152	1,73
12	94,74	7049,398	0,831473	1,23
13	106,87	8970,39	0,813918	1,21
14	81,71	5243,222	0,774219	1,20
15	102,13	8191,376	0,791358	1,30
16	105,14	8681,501	0,703029	1,38
17	116,63	10682,74	0,84467	1,42
18	121,34	11562,99	0,860822	1,17
19	129,79	13229,66	0,803249	1,11
20	224,52	39591,45	0,720351	1,40

21	225,06	39780,34	0,756728	1,38
22	159,12	19885,23	0,826001	1,30
23	201,64	31934,64	0,750313	1,16
24	259,98	53082,83	0,779225	1,28
25	155,64	19024,73	0,811435	1,19
26	145,24	16566,7	0,814969	1,37
27	128,67	13003,73	0,841181	1,20
28	123,61	12000,03	0,822503	1,23
29	116,87	10727,18	0,757164	1,44
30	129,40	13150,65	0,759012	1,51
31	127,00	12667,93	0,791006	1,28
32	131,94	13672,87	0,795801	1,40
33	125,07	12286,45	0,862087	1,17
34	140,18	15433,37	0,785852	1,35
35	159,45	19967,95	0,768665	1,50
36	136,22	14574,11	0,793515	1,21
37	149,26	17497,57	0,848422	1,12
38	161,82	20566,71	0,889377	1,16
39	112,61	9959,281	0,825683	1,12
40	101,85	8146,932	0,864222	1,19
41	82,99	5409,889	0,843662	1,38
42	118,07	10948,17	0,819685	1,06
43	209,48	34464,27	0,866284	1,12
44	116,17	10598,79	0,808168	1,51
45	167,70	22087,7	0,844756	1,32
46	115,28	10437,06	0,838964	1,30
47	108,25	9203,724	0,845156	1,31
48	124,49	12171,63	0,835572	1,04
49	102,33	8224,71	0,878772	1,22
50	96,90	7375,325	0,864193	1,12
51	102,03	8176,561	0,696555	1,62
52	119,45	11206,2	0,792755	1,25
53	213,47	35790,2	0,834481	1,33
54	89,40	6277,792	0,847725	1,24
55	82,27	5316,061	0,867696	1,20
56	117,94	10924,72	0,760547	1,26
57	84,67	5630,877	0,862233	1,31
58	80,61	5103,715	0,73662	1,50
59	92,59	6733,348	0,737552	1,83
60	127,72	12812,37	0,842216	1,17
61	117,73	10886,44	0,836759	1,23

62	89,00	6221,001	0,78205	1,64
63	156,73	19293,87	0,786081	1,24
64	120,84	11467,93	0,865341	1,21
65	200,69	31633,4	0,877862	1,12
66	223,11	39093,91	0,851749	1,17
67	147,46	17077,82	0,843774	1,21
68	164,49	21249,43	0,792336	1,36
69	151,89	18118,56	0,84681	1,38
70	103,24	8371,624	0,712415	1,36
71	179,83	25397,59	0,754397	1,55
72	177,76	24816,11	0,846019	1,17
73	157,77	19550,66	0,748308	1,31
74	198,63	30987,72	0,757632	1,49
75	171,33	23055,61	0,80253	1,38
76	172,90	23479,07	0,873907	1,05
77	93,37	6846,929	0,715914	1,30
78	227,14	40521,08	0,846781	1,23
79	152,13	18176,58	0,739125	1,34
80	211,66	35185,26	0,822247	1,18
81	277,96	60680,38	0,782533	1,42
82	252,15	49935,91	0,819323	1,20
83	209,57	34495,14	0,753821	1,05
84	255,73	51361,84	0,821307	1,11
85	220,04	38027,25	0,889317	1,11
86	204,49	32840,81	0,839373	1,13
87	109,13	9354,342	0,653078	1,37
88	182,04	26027,22	0,729362	1,36
89	140,82	15575,34	0,563327	1,59
90	141,24	15667,94	0,804769	1,41
91	187,57	27632,16	0,841553	1,19
92	116,15	10595,09	0,840951	1,23
93	70,32	3883,959	0,835851	1,29
94	125,89	12448,18	0,877436	1,21
95	95,03	7092,608	0,82529	1,22
96	81,37	5200,012	0,838828	1,49
97	99,19	7727,178	0,706299	1,47
98	110,19	9535,824	0,77565	1,30
99	140,45	15492,63	0,770589	1,33
100	154,15	18661,77	0,856036	1,19
101	87,99	6080,26	0,795676	1,71
102	147,54	17097,57	0,792427	1,41

103	118,26	10983,98	0,765978	1,24
104	134,35	14175,34	0,85024	1,28
105	109,32	9386,441	0,754939	1,17
106	109,24	9371,626	0,747122	1,43
107	105,06	8669,155	0,836477	1,28
108	131,52	13585,22	0,793525	1,12
109	101,50	8091,376	0,816171	1,15
110	166,72	21829,68	0,837633	1,23
111	87,44	6004,952	0,838662	1,33
112	105,29	8707,427	0,833205	1,17
113	84,88	5658,037	0,84993	1,28
114	157,99	19604,98	0,870462	1,22
115	80,72	5117,295	0,846166	1,26
116	82,41	5334,58	0,87511	1,17
117	98,42	7607,424	0,714864	1,60
118	77,70	4741,986	0,870759	1,21
119	168,56	22314,86	0,734666	1,28
120	217,45	37135,89	0,80885	1,22
121	244,03	46771,71	0,796481	1,29
122	178,39	24995,12	0,800061	1,29
123	222,51	38884,04	0,743176	1,96
124	110,24	9544,466	0,815653	1,20
125	102,69	8281,5	0,730029	1,54
126	113,81	10172,86	0,836428	1,28
127	147,70	17134,61	0,833467	1,11
128	152,73	18319,79	0,623442	1,62
129	89,81	6334,582	0,709682	1,45
130	99,55	7782,733	0,794509	1,24
131	111,78	9813,602	0,714649	1,90
132	155,38	18961,77	0,733677	1,49
133	113,75	10162,99	0,731523	1,21
134	263,42	54498,89	0,894245	1,11
135	268,14	56469,26	0,787596	1,26
136	188,05	27774,14	0,804369	1,11
137	103,54	8419,772	0,81586	1,32
138	255,00	51071,72	0,827866	1,34
139	181,35	25830,92	0,83021	1,27
140	230,97	41900,09	0,8093	1,11
141	200,48	31565,5	0,832112	1,16
<b>Média=</b>	<b>143,89</b>	<b>18153,33</b>	<b>0,80</b>	<b>1,30</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>49,26</b>	<b>12847,53</b>	<b>0,06</b>	<b>0,18</b>

C2: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento médio (Sentido perpendicular ao fluxo de calor)

<b>Número de cristais</b>	<b>Deq (µm)</b>	<b>Area (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Circularidade</b>	<b>Elongação</b>
1	77,92	4769,146	0,776915	1,61
2	86,37	5859,272	0,824594	1,10
3	89,14	6240,755	0,823932	1,25
4	78,46	4834,579	0,683869	1,32
5	69,86	3833,342	0,748558	1,62
6	105,20	8692,612	0,764272	1,15
7	70,13	3862,972	0,663815	1,45
8	103,80	8462,982	0,747095	1,24
9	114,66	10325,95	0,778388	1,14
10	76,55	4602,479	0,79603	1,12
11	75,52	4479,022	0,833581	1,16
12	116,13	10591,38	0,798217	1,43
13	98,70	7651,869	0,822067	1,10
14	72,26	4101,244	0,735693	1,27
15	94,27	6979,028	0,799902	1,35
16	75,30	4453,096	0,810038	1,46
17	77,85	4760,504	0,892274	1,20
18	70,61	3916,058	0,594972	1,49
19	82,81	5386,432	0,836823	1,18
20	133,60	14018,55	0,782012	1,20
21	89,16	6243,224	0,825103	1,26
22	67,44	3571,613	0,707683	1,67
23	77,50	4717,294	0,802211	1,14
24	89,84	6339,52	0,84582	1,09
25	112,22	9891,38	0,800928	1,22
26	91,89	6632,114	0,730915	1,20
27	89,86	6341,989	0,750511	1,73
28	93,87	6921,003	0,76053	1,32
29	84,35	5587,667	0,857231	1,21
30	89,24	6254,335	0,786563	1,19
31	97,03	7393,844	0,834272	1,25
32	84,89	5659,272	0,762063	1,63
33	106,56	8918,538	0,755516	1,32
34	107,38	9055,576	0,699212	1,23
35	88,21	6111,125	0,832917	1,26
36	120,10	11328,42	0,773544	1,62

37	77,61	4730,875	0,859534	1,17
38	100,26	7895,079	0,795866	1,17
39	93,83	6914,83	0,769213	1,21
40	82,82	5387,666	0,77467	1,72
41	140,24	15445,71	0,794071	1,11
42	93,91	6927,176	0,67857	1,80
43	84,17	5564,21	0,837126	1,13
44	90,27	6400,014	0,805119	1,30
45	131,54	13588,92	0,764171	1,35
46	87,86	6062,976	0,58625	2,30
47	108,31	9213,601	0,817543	1,28
48	99,81	7824,709	0,729188	1,19
49	85,62	5758,037	0,79582	1,30
50	62,83	3100,007	0,843277	1,32
51	97,68	7493,844	0,785788	1,28
52	122,90	11862,99	0,747919	1,41
53	129,20	13111,14	0,707438	1,39
54	66,96	3520,995	0,844351	1,32
55	97,45	7459,276	0,786552	1,40
56	123,77	12032,13	0,745699	1,28
57	75,33	4456,8	0,741894	1,21
58	64,05	3222,229	0,781248	1,16
59	107,10	9008,662	0,788027	1,42
60	65,33	3351,859	0,807265	1,27
61	102,57	8262,981	0,808709	1,38
62	66,20	3441,983	0,768032	1,22
63	99,28	7740,758	0,724111	1,18
64	138,23	15006,21	0,723225	1,41
65	67,41	3569,144	0,665387	1,20
66	59,63	2792,599	0,801961	1,25
67	115,07	10400,02	0,772043	1,48
68	80,65	5108,653	0,657047	1,27
69	115,94	10558,05	0,660191	1,46
70	101,88	8151,87	0,722976	1,76
71	99,31	7745,696	0,759026	1,42
72	94,62	7032,114	0,795053	1,26
73	93,33	6840,756	0,711487	1,32
74	97,03	7395,078	0,65774	1,60
75	78,68	4861,739	0,663121	1,32
76	80,24	5056,801	0,817418	1,13
77	96,25	7276,559	0,842546	1,33

78	79,47	4960,505	0,73986	1,31
79	64,95	3313,588	0,697717	1,10
80	74,26	4330,874	0,821273	1,23
81	88,83	6197,545	0,719962	1,34
82	63,04	3120,995	0,743167	1,35
83	67,47	3575,317	0,669557	1,23
84	110,54	9597,552	0,804584	1,22
85	107,17	9021,008	0,765269	1,14
86	98,57	7630,881	0,839872	1,15
87	82,11	5295,073	0,571194	1,88
88	90,08	6372,854	0,808348	1,21
89	88,56	6159,273	0,654394	1,37
90	125,22	12314,84	0,819414	1,18
91	99,31	7745,696	0,802082	1,16
92	103,80	8462,982	0,575111	1,27
93	94,18	6966,682	0,690809	1,43
94	89,68	6316,063	0,762597	1,45
95	87,14	5964,211	0,765218	1,13
96	60,00	2827,167	0,744133	1,23
97	60,00	2827,167	0,744133	1,23
<b>Média=</b>	<b>91,75</b>	<b>6880,584</b>	<b>0,76</b>	<b>1,32</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>18,59</b>	<b>2831,489</b>	<b>0,07</b>	<b>0,20</b>

C3: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento rápido (Sentido paralelo ao fluxo de calor)

<b>Número de cristais</b>	<b>Deq (µm)</b>	<b>Área (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Circularidade</b>	<b>Elongação</b>
1	43,12	1460,497	0,864232	1,41
2	62,86	3103,711	0,892259	1,27
3	55,09	2383,956	0,868046	1,36
4	51,92	2117,289	0,889208	1,08
5	107,83	9132,119	0,854569	1,22
6	87,20	5971,618	0,82032	1,39
7	47,33	1759,263	0,873802	1,19
8	58,40	2679,018	0,83953	1,28
9	46,29	1682,72	0,882726	1,13
10	69,02	3741,984	0,890168	1,14
11	82,17	5302,481	0,888915	1,18

12	69,37	3779,021	0,837517	1,28
13	72,80	4162,972	0,853989	1,20
14	87,68	6038,285	0,840552	1,32
15	58,16	2656,796	0,831254	1,34
16	82,98	5407,419	0,838491	1,28
17	80,02	5029,641	0,820012	1,18
18	65,50	3369,143	0,878468	1,07
19	130,40	13354,35	0,852278	1,12
20	74,35	4341,985	0,818229	1,20
21	49,87	1953,091	0,864548	1,15
22	90,02	6364,212	0,790031	1,26
23	53,19	2222,227	0,864215	1,42
24	59,70	2798,772	0,825386	1,29
25	131,06	13491,39	0,795808	1,47
26	91,93	6637,052	0,819963	1,24
27	95,01	7090,139	0,865913	1,17
28	70,98	3956,799	0,848848	1,23
29	60,31	2856,796	0,835933	1,15
30	65,24	3343,217	0,860586	1,20
31	74,09	4311,121	0,819244	1,41
32	83,10	5423,469	0,847385	1,35
33	76,83	4635,813	0,880179	1,29
34	77,58	4727,171	0,839982	1,27
35	77,94	4771,616	0,858721	1,28
36	99,01	7700,017	0,876471	1,28
37	61,13	2934,574	0,902935	1,22
38	77,30	4692,603	0,878034	1,33
39	63,97	3213,587	0,891602	1,17
40	57,92	2634,574	0,864492	1,44
41	103,06	8341,994	0,84198	1,21
42	77,49	4716,06	0,842837	1,18
43	42,15	1395,065	0,915102	1,17
44	63,84	3201,242	0,867737	1,20
45	90,14	6381,496	0,862356	1,22
46	56,77	2530,87	0,757043	1,87
47	68,77	3714,823	0,833479	1,14
48	86,29	5848,161	0,837824	1,25
49	70,81	3938,28	0,754166	1,30
50	71,16	3976,552	0,866213	1,26
51	72,34	4109,886	0,860337	1,28
52	107,55	9083,971	0,843335	1,14

53	79,48	4961,739	0,863637	1,28
54	54,27	2313,585	0,76177	1,23
55	71,09	3969,145	0,8496	1,29
56	72,92	4176,552	0,827546	1,49
57	69,82	3828,404	0,892154	1,13
58	56,28	2487,66	0,828602	1,76
59	56,43	2501,24	0,874661	1,20
60	76,03	4539,516	0,80896	1,34
61	65,34	3353,094	0,894466	1,24
62	135,41	14400,03	0,828248	1,25
63	52,90	2197,536	0,868666	1,40
64	46,76	1717,288	0,848393	1,35
65	54,19	2306,178	0,864196	1,39
66	51,77	2104,943	0,875147	1,21
67	76,87	4640,751	0,816329	1,37
68	65,42	3361,736	0,753959	1,31
69	93,65	6887,67	0,840358	1,20
70	48,70	1862,967	0,845246	1,18
71	132,21	13728,43	0,859039	1,15
72	89,28	6260,508	0,846628	1,13
73	68,36	3670,379	0,843064	1,26
74	85,39	5727,173	0,805399	1,42
75	82,42	5335,814	0,886056	1,25
76	161,50	20485,23	0,777605	1,25
77	81,88	5265,444	0,884146	1,07
78	106,33	8879,032	0,803981	1,62
79	106,92	8977,798	0,884535	1,19
80	52,73	2183,955	0,900089	1,21
81	57,85	2628,401	0,841864	1,31
82	62,39	3056,797	0,840446	1,53
83	63,70	3186,427	0,815076	1,45
<b>Média=</b>	<b>75,15</b>	<b>4836,944</b>	<b>0,85</b>	<b>1,28</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>22,75</b>	<b>3283</b>	<b>0,03</b>	<b>0,14</b>

C4: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento rápido (Sentido perpendicular ao fluxo de calor)

<b>Número de cristais</b>	<b>Deq (µm)</b>	<b>Área (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Circularidade</b>	<b>Elongação</b>
1	66,69	3492,6	0,847635	1,17
2	63,52	3169,143	0,782827	1,20
3	53,94	2285,19	0,789171	1,55
4	62,45	3062,97	0,650681	1,11
5	70,80	3937,046	0,831906	1,32
6	74,59	4369,146	0,843457	1,35
7	76,76	4627,171	0,847627	1,20
8	37,32	1093,83	0,873299	1,20
9	38,32	1153,089	0,855141	1,31
10	39,57	1229,632	0,864467	1,28
11	39,43	1220,99	0,65467	1,83
12	37,42	1100,002	0,854511	1,24
13	43,34	1475,312	0,79383	1,25
14	39,19	1206,176	0,868275	1,24
15	36,72	1059,262	0,824912	1,63
16	38,97	1192,595	0,857045	1,48
17	34,95	959,261	0,858136	1,45
18	44,42	1549,386	0,905351	1,16
19	41,34	1341,978	0,849429	1,26
20	36,85	1066,669	0,850109	1,25
21	36,70	1058,027	0,899875	1,28
22	42,33	1407,411	0,769228	1,44
23	39,15	1203,706	0,864428	1,24
24	37,95	1130,867	0,696364	1,36
25	42,09	1391,361	0,821539	1,25
26	38,32	1153,089	0,760568	1,50
27	34,45	932,101	0,877467	1,31
28	36,92	1070,373	0,750727	1,48
29	57,50	2596,302	0,860009	1,24
30	58,05	2646,919	0,873938	1,13
31	56,25	2485,191	0,875049	1,18
32	51,97	2120,992	0,866096	1,32
33	66,22	3444,452	0,769607	1,59
34	45,46	1623,46	0,896843	1,26
35	48,28	1830,868	0,84269	1,30
36	79,57	4972,851	0,855829	1,35

37	64,88	3306,18	0,849836	1,18
38	56,54	2511,117	0,810909	1,29
39	61,91	3009,883	0,547978	1,62
40	73,10	4196,306	0,840125	1,55
41	52,27	2145,684	0,816616	1,57
42	50,13	1974,078	0,897361	1,34
43	46,66	1709,88	0,799545	1,33
44	44,75	1572,843	0,856592	1,24
45	47,44	1767,905	0,757544	1,24
46	66,09	3430,872	0,621228	2,64
47	45,15	1601,238	0,853049	1,26
48	46,22	1677,782	0,855398	1,15
49	63,34	3150,624	0,78842	1,42
50	62,31	3049,389	0,823298	1,54
51	51,68	2097,536	0,805029	1,45
52	47,89	1801,239	0,784723	1,49
53	53,22	2224,696	0,601522	2,08
54	56,07	2469,141	0,856114	1,19
55	64,09	3225,933	0,839413	1,41
56	54,58	2339,511	0,86751	1,27
57	87,39	5998,779	0,638761	1,53
58	100,20	7885,203	0,70741	1,21
59	87,76	6049,396	0,781848	1,19
60	99,36	7753,104	0,762241	1,15
61	100,67	7959,277	0,739556	1,37
62	76,58	4606,183	0,735669	1,69
63	100,57	7944,462	0,71918	1,29
64	91,32	6549,397	0,804486	1,25
65	93,65	6887,67	0,795671	1,34
66	76,75	4625,936	0,867359	1,19
67	83,07	5419,765	0,709756	1,61
68	78,90	4888,9	0,795787	1,16
69	77,83	4758,035	0,844469	1,31
70	102,13	8192,611	0,774137	1,33
71	94,88	7070,386	0,828038	1,48
72	83,88	5525,938	0,86148	1,21
73	79,90	5013,591	0,672741	1,39
74	72,75	4156,799	0,823632	1,46
75	88,72	6182,73	0,828412	1,27
76	73,22	4211,12	0,70653	1,62
77	71,79	4048,157	0,798974	1,28

78	82,82	5387,666	0,757326	1,48
79	75,28	4450,627	0,759615	1,37
80	80,27	5060,505	0,848058	1,15
81	81,45	5209,888	0,821924	1,24
82	79,49	4962,974	0,767518	1,28
83	87,16	5966,68	0,814425	1,54
84	94,28	6981,497	0,776629	1,10
85	79,21	4927,171	0,688137	1,46
86	118,92	11107,43	0,821325	1,17
87	111,90	9834,59	0,771157	1,29
88	101,86	8149,401	0,730933	1,26
89	83,51	5477,79	0,748933	1,70
90	78,00	4777,788	0,720944	1,62
91	97,29	7433,35	0,81575	1,49
92	89,90	6348,162	0,809944	1,21
93	94,47	7008,658	0,706062	1,90
<b>Média=</b>	<b>65,73</b>	<b>3760,569</b>	<b>0,80</b>	<b>1,37</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>21,73</b>	<b>2373,468</b>	<b>0,07</b>	<b>0,22</b>

C5: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento ultra-rápido (Sentido paralelo ao fluxo de calor)

<b>Número de cristais</b>	<b>Deq (µm)</b>	<b>Área (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Circularidade</b>	<b>Elongação</b>
1	74,94	4411,121	0,871703	1,44
2	62,79	3096,303	0,897058	1,35
3	61,93	3012,352	0,883743	1,24
4	56,29	2488,894	0,859519	1,29
5	63,11	3128,402	0,887315	1,15
6	64,02	3218,526	0,84247	1,31
7	49,50	1924,696	0,892898	1,16
8	59,63	2792,599	0,872368	1,17
9	66,50	3472,847	0,850396	1,51
10	67,21	3548,156	0,885772	1,26
11	63,19	3135,809	0,726269	2,21
12	62,80	3097,538	0,818493	1,68
13	70,59	3913,589	0,824372	1,52

14	64,57	3274,081	0,873389	1,30
15	49,71	1940,745	0,687262	1,70
16	56,68	2523,462	0,729987	1,36
17	47,08	1740,745	0,759782	1,31
18	57,30	2579,018	0,675075	2,12
19	62,34	3051,859	0,783345	1,47
20	56,60	2516,055	0,695574	2,11
21	62,34	3051,859	0,796073	1,52
22	39,21	1207,41	0,872713	1,39
23	41,01	1320,991	0,76	2,06
24	37,07	1079,015	0,902339	1,25
25	48,18	1823,461	0,917568	1,22
26	44,33	1543,213	0,890536	1,20
27	42,16	1396,299	0,838605	1,51
28	47,11	1743,214	0,738041	1,43
29	61,99	3018,525	0,83624	1,41
30	78,32	4817,295	0,861956	1,30
31	66,02	3423,464	0,870078	1,25
32	60,56	2880,253	0,856654	1,22
33	60,51	2875,315	0,889034	1,16
34	78,61	4853,097	0,847127	1,47
35	47,18	1748,152	0,83843	1,24
36	42,52	1419,756	0,852151	1,37
37	46,01	1662,967	0,836807	1,39
38	37,30	1092,595	0,768126	1,72
39	42,26	1402,472	0,82683	1,45
40	49,55	1928,399	0,820068	1,46
41	49,31	1909,881	0,875007	1,30
42	49,88	1954,325	0,784511	1,25
43	71,03	3962,972	0,829583	1,28
44	57,26	2575,314	0,847383	1,44
45	65,70	3390,131	0,818409	1,33
46	52,00	2123,462	0,858081	1,22
47	74,14	4317,294	0,88838	1,14
48	56,79	2533,339	0,824451	1,25
49	70,48	3901,243	0,835382	1,49
50	53,09	2213,585	0,864968	1,38
51	55,80	2445,684	0,895713	1,25
52	50,13	1974,078	0,860498	1,33
53	44,50	1555,559	0,883356	1,21
54	52,79	2188,894	0,853815	1,31

55	76,30	4572,85	0,870178	1,10
56	67,33	3560,502	0,85786	1,38
57	67,64	3593,835	0,76316	1,57
58	69,51	3795,07	0,915274	1,18
59	69,57	3801,243	0,856767	1,40
60	71,09	3969,145	0,705043	1,63
61	60,08	2834,574	0,841234	1,26
62	58,40	2679,018	0,897925	1,10
63	61,16	2938,278	0,836423	1,37
64	55,17	2390,129	0,809707	1,40
65	55,66	2433,339	0,791005	1,52
66	45,90	1654,325	0,843439	1,17
67	48,25	1828,399	0,833374	1,19
68	63,20	3137,044	0,808334	1,52
69	62,40	3058,031	0,862023	1,27
70	41,24	1335,805	0,793374	1,65
71	35,68	1000,002	0,854301	1,36
72	40,47	1286,423	0,852401	1,39
73	38,03	1135,805	0,814852	1,52
74	40,10	1262,966	0,886429	1,35
75	42,09	1391,361	0,846383	1,44
76	42,54	1420,991	0,827289	1,53
77	39,53	1227,163	0,850979	1,39
78	50,04	1966,671	0,859526	1,22
79	39,35	1216,052	0,844679	1,47
80	41,32	1340,744	0,898321	1,24
81	43,74	1502,472	0,855025	1,18
82	51,31	2067,906	0,875509	1,37
83	40,47	1286,423	0,85518	1,43
84	43,20	1465,435	0,853164	1,25
<b>Média=</b>	<b>54,91</b>	<b>2468,48</b>	<b>0,84</b>	<b>1,39</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>11,36</b>	<b>1000,83</b>	<b>0,05</b>	<b>0,22</b>

C6: Tabela dos parâmetros de gel de gelatina 2% (w/w) para o sistema de congelamento ultra-rápido (Sentido perpendicular ao fluxo de calor)

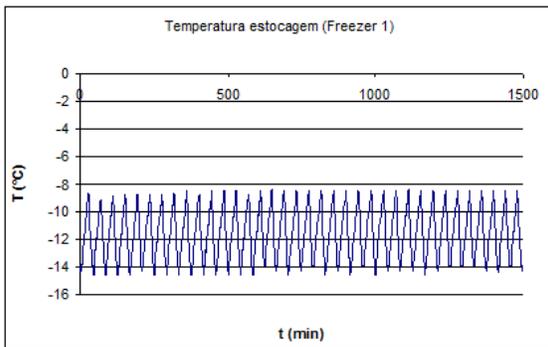
<b>Número de cristais</b>	<b>Deq (µm)</b>	<b>Área (µm<sup>2</sup>)</b>	<b>Circularidade</b>	<b>Elongação</b>
1	41,53	1354,324	0,818968	1,51
2	32,60	834,57	0,839909	1,51
3	39,71	1238,274	0,845668	1,46
4	38,11	1140,743	0,814513	1,31
5	39,07	1198,768	0,849018	1,20
6	36,62	1053,089	0,894027	1,21
7	38,58	1169,138	0,797911	1,18
8	25,28	502	0,849298	1,19
9	23,43	431	0,745156	1,55
10	26,15	537	0,884318	1,23
11	21,70	370	0,883918	1,28
12	26,84	566	0,854108	1,13
13	29,29	674	0,79972	1,46
14	29,14	667	0,808147	1,55
15	25,21	499	0,874705	1,07
16	28,52	639	0,895973	1,31
17	27,43	591	0,849576	1,28
18	26,73	561	0,87148	1,33
19	24,38	467	0,915053	1,14
20	26,22	540	0,881472	1,27
21	27,25	583	0,864011	1,22
22	25,68	518	0,760331	1,65
23	18,61	272	0,75661	1,86
24	22,03	381	0,835538	1,54
25	22,48	397	0,88424	1,29
26	18,47	268	0,870938	1,23
27	18,98	283	0,916734	1,20
28	23,64	439	0,840573	1,47
29	25,13	496	0,87237	1,24
30	22,05	382	0,830168	1,82
31	24,28	463	0,886527	1,36
32	19,90	311	0,850205	1,55
33	24,93	488	0,895125	1,18
34	26,37	546	0,779143	1,35
35	18,30	263	0,858606	1,34
36	25,85	525	0,843741	1,42

37	25,98	530	0,861198	1,48
38	25,85	525	0,848378	1,26
39	24,75	481	0,875018	1,34
40	25,78	522	0,741714	2,13
41	23,12	420	0,889902	1,20
42	26,41	548	0,866381	1,13
43	36,13	1025	0,916202	1,17
44	34,87	955	0,910429	1,21
45	33,44	878	0,832044	1,23
46	33,47	880	0,789827	1,49
47	39,59	1231	0,8738	1,36
48	33,49	881	0,839883	1,14
49	35,50	990	0,834134	1,13
50	38,17	1144	0,864516	1,23
51	38,38	1157	0,892421	1,12
52	32,35	822	0,866967	1,26
53	23,64	439	0,840573	1,47
54	25,13	496	0,87237	1,24
55	22,05	382	0,830168	1,82
56	24,28	463	0,886527	1,36
57	19,90	311	0,850205	1,55
58	29,34	676	0,830215	1,57
59	24,51	472	0,848712	1,22
60	27,15	579	0,871814	1,36
61	26,68	559	0,893466	1,22
62	25,41	507	0,859771	1,18
63	23,62	438	0,831602	1,54
64	25,51	511	0,857684	1,54
65	24,95	489	0,864163	1,20
66	24,82	484	0,836788	1,20
67	24,77	482	0,889334	1,50
68	27,80	607	0,863575	1,13
69	28,88	655	0,812194	1,55
70	24,80	483	0,797217	1,24
71	26,27	542	0,901674	1,23
72	26,96	571	0,831194	1,41
73	38,28	1151	0,85476	1,51
74	38,76	1180	0,891721	1,10
75	40,01	1257	0,873589	1,28
76	39,93	1252	0,924286	1,17
77	39,89	1250	0,895154	1,19

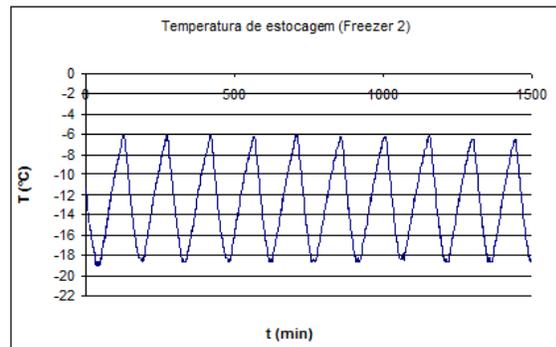
Apêndice

78	23,10	419	0,927256	1,16
79	27,27	584	0,887933	1,19
80	27,48	593	0,901617	1,18
81	26,29	543	0,838978	1,44
82	26,20	539	0,873	1,29
83	33,01	856	0,889268	1,35
84	27,38	589	0,888816	1,22
85	33,79	897	0,869145	1,26
86	33,11	861	0,852323	1,24
87	30,21	717	0,868728	1,43
88	33,53	883	0,856196	1,31
89	33,45	879	0,826005	1,33
90	29,27	673	0,787354	1,38
91	31,17	763	0,867127	1,08
92	32,43	826	0,880599	1,18
93	26,94	570	0,869361	1,47
94	32,25	817	0,839779	1,20
95	28,79	651	0,897039	1,31
96	33,87	901	0,880504	1,18
97	28,90	656	0,871545	1,16
<b>Média=</b>	<b>28,66</b>	<b>671,03</b>	<b>0,86</b>	<b>1,33</b>
<b>Desvio padrão=</b>	<b>5,80</b>	<b>275,8704</b>	<b>0,04</b>	<b>0,19</b>

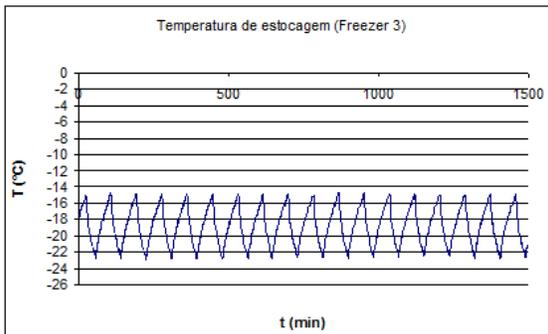
D1: Temperaturas de estocagem para os quatro sistemas de congelamento do segundo mês de estocagem. Temperatura do primeiro sistema de estocagem a):  $-12 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do segundo sistema de estocagem b):  $-12 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do terceiro sistema de estocagem c):  $-18 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e temperatura do quarto sistema de estocagem d):  $18 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .



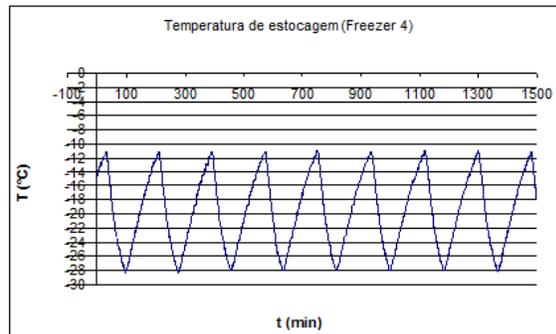
(a)



(b)

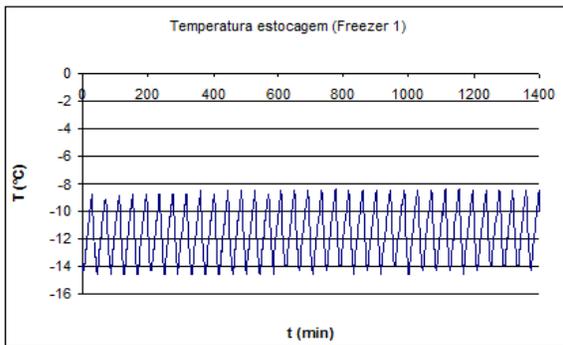


(c)

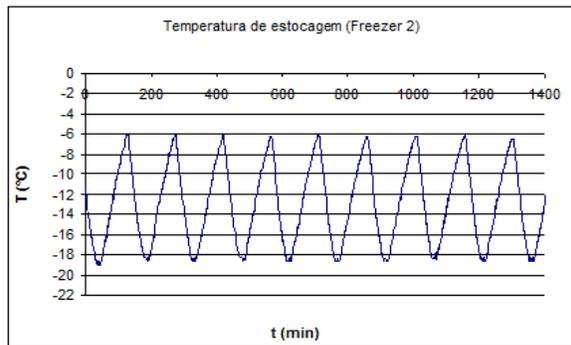


(d)

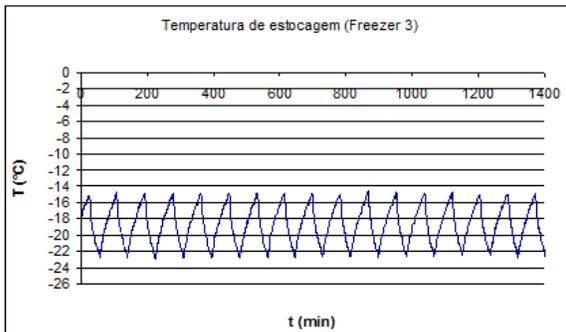
D.2: Temperaturas de estocagem para os quatro sistemas de congelamento do terceiro mês de estocagem. Temperatura do primeiro sistema de estocagem a):  $-12 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do segundo sistema de estocagem b):  $-12 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do terceiro sistema de estocagem c):  $-18 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e temperatura do quarto sistema de estocagem d):  $18 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .



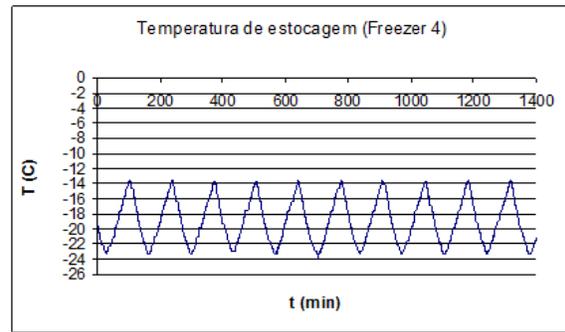
(a)



(b)

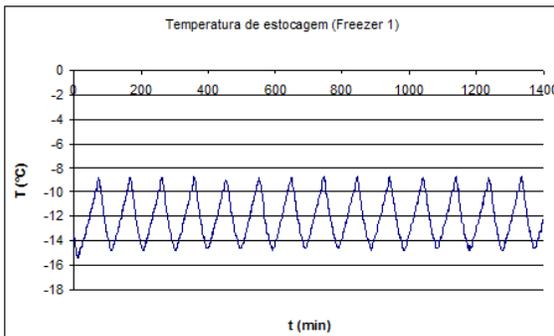


(c)

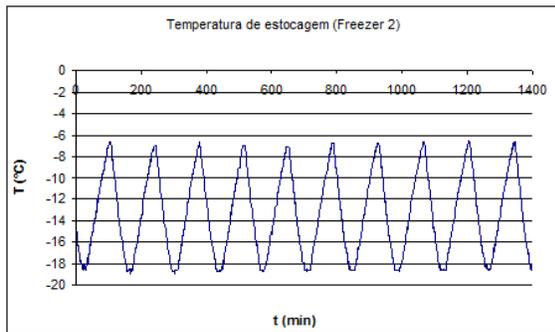


(d)

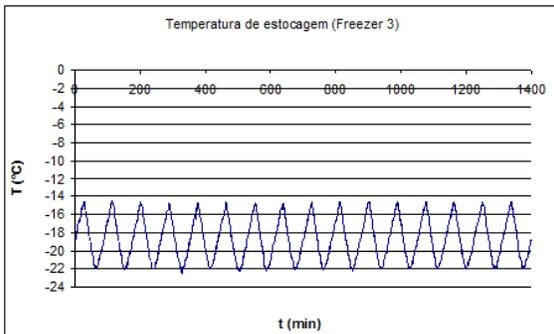
D.3: Temperaturas de estocagem para os quatro sistemas de congelamento do quarto mês de estocagem. Temperatura do primeiro sistema de estocagem a):  $-12 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do segundo sistema de estocagem b):  $-12 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do terceiro sistema de estocagem c):  $-18 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e temperatura do quarto sistema de estocagem d):  $18 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .



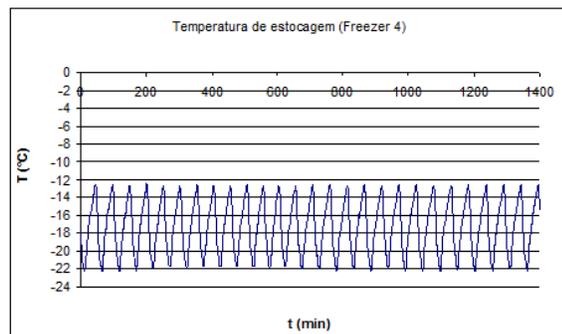
(a)



(b)

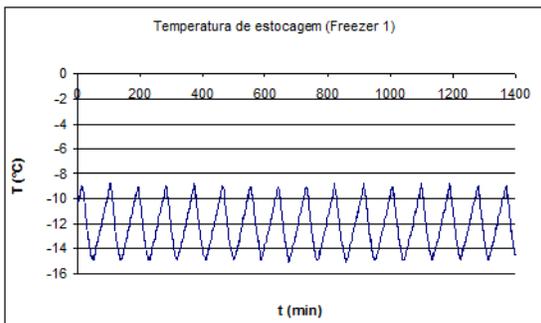


(c)

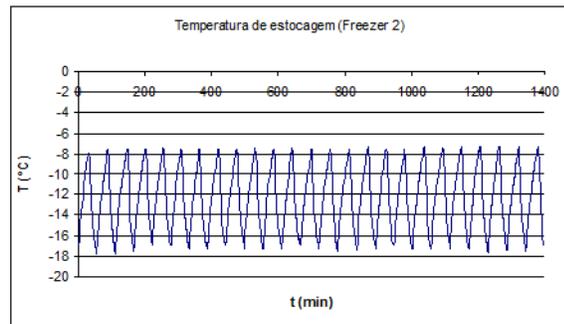


(d)

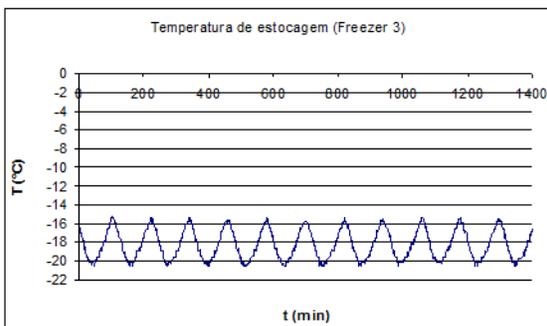
D.4: Temperaturas de estocagem para os quatro sistemas de congelamento do quinto mês de estocagem. Temperatura do primeiro sistema de estocagem a):  $-12 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do segundo sistema de estocagem b):  $-12 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ , temperatura do terceiro sistema de estocagem c):  $-18 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e temperatura do quarto sistema de estocagem d):  $18 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .



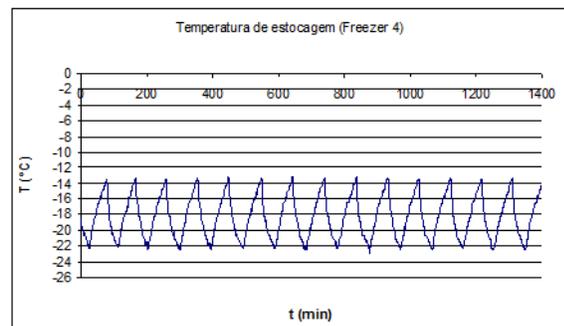
(a)



(b)

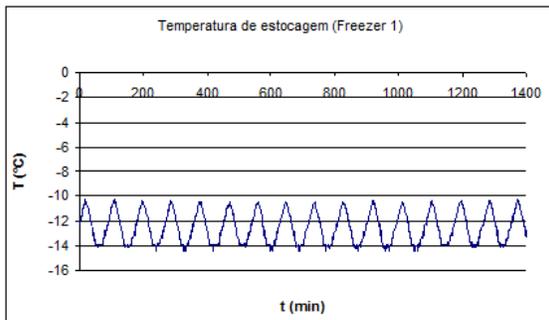


(c)

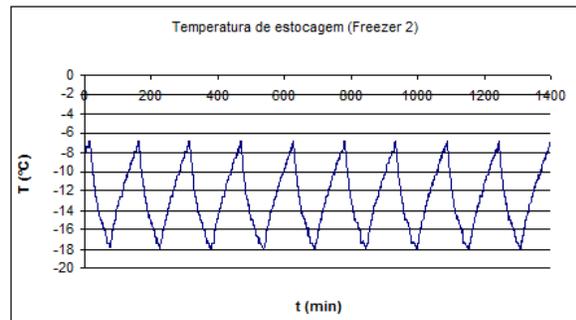


(d)

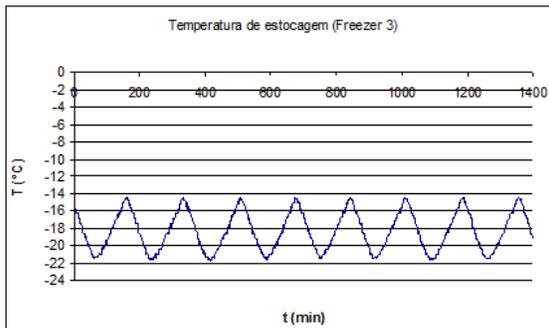
D.5: Temperaturas de estocagem para os quatro sistemas de congelamento do sexto mês de estocagem. Temperatura do primeiro sistema de estocagem a):  $-12 \pm 2,5$  °C, temperatura do segundo sistema de estocagem b):  $-12 \pm 5$  °C, temperatura do terceiro sistema de estocagem c):  $-18 \pm 2,5$  °C e temperatura do quarto sistema de estocagem d):  $18 \pm 5$  °C.



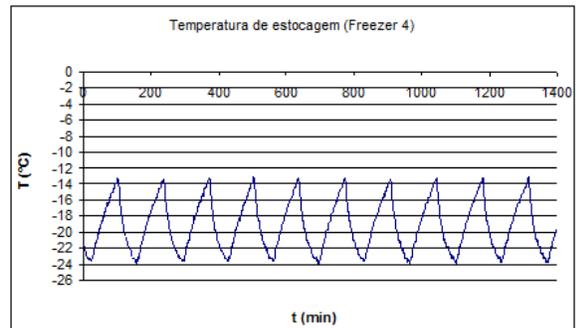
(a)



(b)

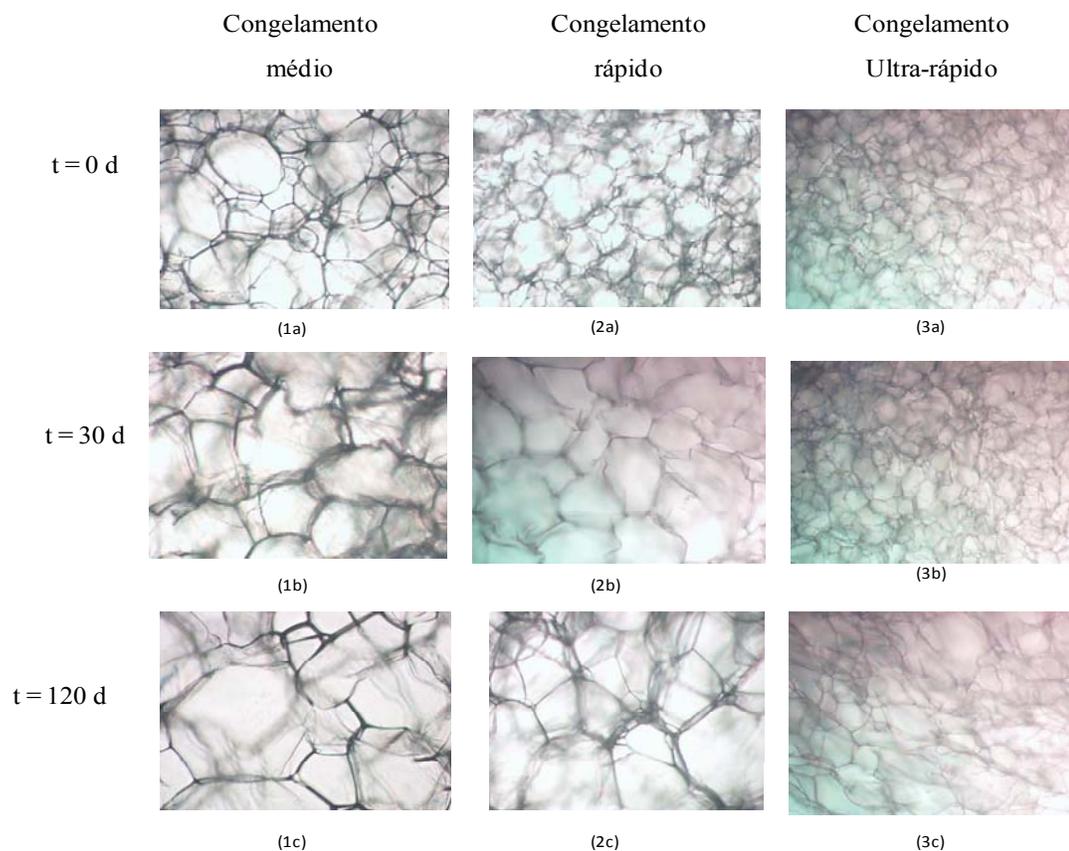


(c)

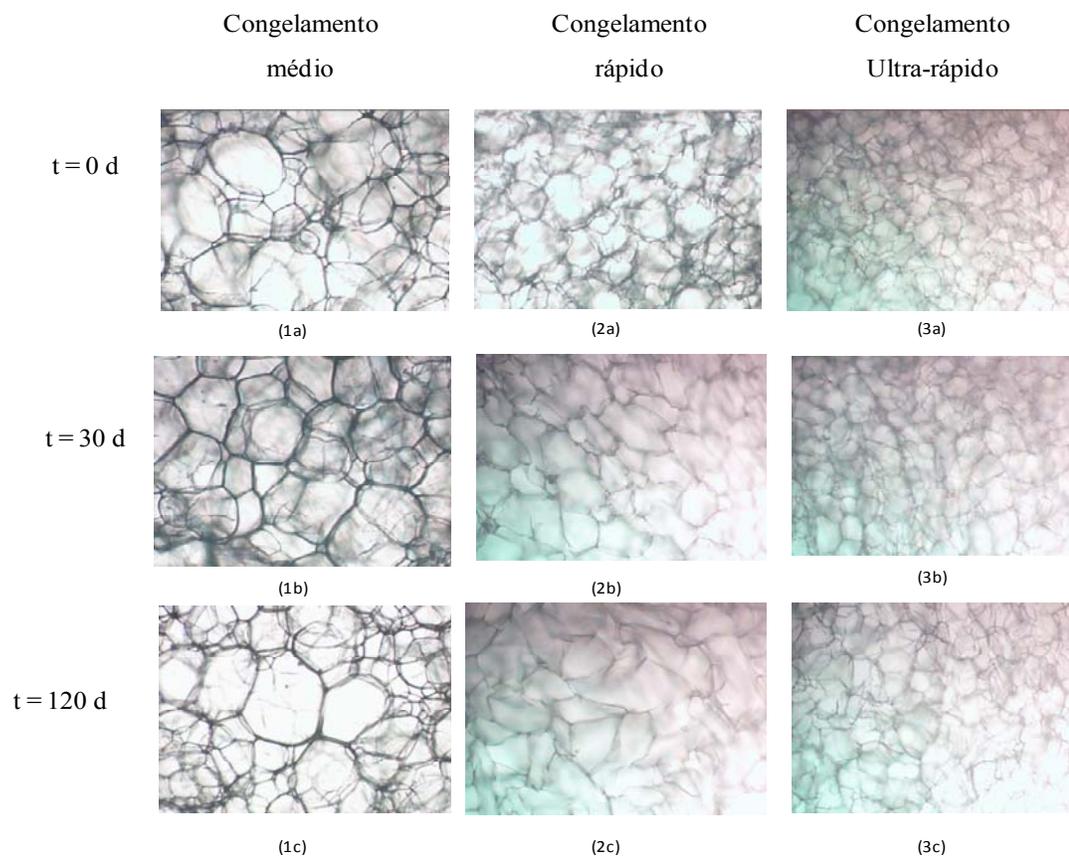


(d)

E.1 Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) em diferentes velocidades de congelamentos: 1) congelamento médio, 2) congelamento rápido e 3) congelamento ultra-rápido; em função de diferentes tempos de estocagem: (a)  $t = 0$  dias, (b)  $t = 30$  dias e (c)  $t = 120$  dias; sob a temperatura de estocagem de  $-12,0 \pm 5$  °C.



E.2 Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) em diferentes velocidades de congelamentos: 1) congelamento médio, 2) congelamento rápido e 3) congelamento ultra-rápido; em função de diferentes tempos de estocagem: (a)  $t = 0$  dias, (b)  $t = 30$  dias e (c)  $t = 120$  dias; sob a temperatura de estocagem de  $-18,0 \pm 2,5$  °C.



E.3 Crescimento dos cristais de gelo para amostras de gel de gelatina 2 % (peso/peso) em diferentes velocidades de congelamentos: 1) congelamento médio, 2) congelamento rápido e 3) congelamento ultra-rápido; em função de diferentes tempos de estocagem: (a)  $t = 0$  dias, (b)  $t = 30$  dias e (c)  $t = 120$  dias; sob a temperatura de estocagem de  $-18,0 \pm 5$  °C.

