REDEMAT

REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

UFOP – CETEC – UEMG

Wanderson Marinho de Abreu

# Estudo da Temperatura de Transição Vítrea ($T_g$) em Vidros Orgânicos: Mel, Corante Caramelo e Frutose

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da REDEMAT, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Análise e Seleção de Materiais
Orientador: Prof. Antônio Valadão Cardoso

Ouro Preto, maio de 2008

A162e Abreu, Wanderson Marinho de.
Estudo da temperatura de transição vítrea em vidros orgânicos [manuscrito] : mel, corante, caramelo e frutose / Wanderson Marinho de Abreu. – 2008.

xviii, 169 f.: il. color., grafs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Valadão Cardoso.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Rede Temática em Engenharia de Materiais.
Área de concentração: Análise e seleção de materiais.

1. Vidro - Teses. 2. Soluções aquosas - Teses. 3. Açúcar - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

CDU: 666.1.038

Catalogação: sisbin@sisbin.ufop.br

***REDE TEMÁTICA EM ENGENHARIA DE MATERIAIS***
***UFOP - CETEC - UEMG***
Pós-Graduação em Engenharia de Materiais

# *"Estudo da Temperatura de Transição Vítrea (Tg) em Vidros Orgânicos: Mel, Corante Caramelo e Frutose"*

***Autor(a): Wanderson Marinho de Abreu***

Tese defendida e aprovada, em 20 de maio de 2008, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Antônio Valadão Cardoso (DSc) - Orientador
CETEC-Centro Tecnológico de Minas Gerais / REDEMAT

Prof. José Alfredo Gomes Arêas (DSc)
USP-Universidade de São Paulo

Prof. Wilfrid Keller Schwabe (DSc)
UFMG-Universidade Fedral de Minas Gerais

Prof. Ricardo Geraldo de Sousa (DSc)
UFMG-Universidade Federal de Minas Gerais

Profª Margareth Spangler Andrade (DSc)
CETEC-Centro Tecnológico de Minas Gerais / REDEMAT

REDEMAT / Escola de Minas / Universidade Federal de Ouro Preto
Praça Tiradentes, 20 - Centro - CEP 35.400-000 - Ouro Preto - MG
Tel./Fax: 31 3559-1596 - Home page: www.redemat.ufop.br - E-mail: redemat@redemat.em.ufop.br

# *Agradecimentos*

Ao longo desses mais de quatro anos de trabalho, muitas foram as pessoas que contribuíram para que fosse possível a superação de obstáculos, o redirecionamento de idéias e a consolidação de objetivos que culminaram com o texto apresentado nas páginas seguintes. Mesmo sabendo não ser possível mencionar todos, agradeço em especial:

Ao meu Orientador Antônio Valadão Cardoso pela visão, apoio, discussões e estímulo na busca e conquista de cada desafio que marcou o desenvolvimento desse trabalho;

À CAPES pelo apoio financeiro sem o qual a realização deste trabalho não seria possível;

Aos Professores da REDEMAT, pelos conhecimentos transmitidos;

Aos Professores Glaura Goulart (DQ-UFMG), Ricardo Geraldo Sousa (DEQ-UFMG), Kátia Novak (ICEB-UFOP) por terem possibilitado a realização de experimentos preliminares de DSC, que definiram a necessidade de maior aprofundamento nesse tema.

Ao Técnico Leandro Oliveira (ICEB-UFOP) pela ajuda na realização dos experimentos DSC, ao Prof. Tasso Moraes Santos (FAFAR/UFMG) e ao técnico Jamil Oliveira (ICB/UFMG) pela liofilização das amostras.

À professora Maria Inês Bruno Tavares (COPPE-RJ), bem como o Prof. Luis Colnago (EMBRAPA-SÃO CARLOS), o Dr. Renato Bagueira (PETROBRÁS) e ainda o Prof. José Dias Souza Filho (UFMG) pelos experimentos preliminares de RMN, durante a fase de planejamento do trabalho.

Ao Prof. José Alfredo Gomes Arêas e à Equipe do Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Saúde Pública da USP, pelo auxílio fundamental para a realização de experimentos RMN em baixa temperatura nas amostras de mel, que foram importantes no desenvolvimento do trabalho apresentado.

Aos Professores Leif Skibsted, Vibeke Orlien e Mogens Andersen, da Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet (Copenhague, Dinamarca) pela

orientação nos experimentos DSC e RPE que muito contribuíram, com as discussões e orientação, para consolidar o trabalho como uma real contribuição ao estudo da transição vítrea em vidros orgânicos;

Aos apicultores Wellington (Arinos), José de Calazans (Montes Claros), José Humberto (São Gotardo), José Abrahim Gazire (São Gonçalo Rio Abaixo), Lucio Costa (Santa Bárbara) pelo fornecimento de amostras de mel e pelas discussões, durante a fase de planejamento experimental do trabalho.

À então bolsista BIC, Sibelle Andrade Silva, pela ajuda no desenvolvimento paralelo de estudos sobre cristalização em méis do estado de Minas Gerais, que contribuiu para direcionar o tema deste trabalho;

Aos colegas do meio ambiente da PBH pelo encorajamento, apoio e por me ajudar a enumerar as várias possibilidades de uso dos nossos conhecimentos em Engenharia de Materiais, para benefício dos cidadãos de Belo Horizonte;

Aos amigos e amigas na fé, pelo ânimo e amizade: Francisco Eduardo e Rose, Júlio e Regina, José Roland e Nidi, Cida (CETEC), Cássia e tantos outros cujos nomes (me perdoem), não caberão aqui...

À minha família, mãe, pai, irmãs (Luisa, Deyse, Stefânia e Daniele) e sobrinha, pela compreensão quanto às minhas constantes: distância, ausência, falta de tempo... está acabando...

À minha esposa, meu maior amor nessa terra, por estar sendo minha companheira de todas as horas: por ter estado junto, mesmo quando estivemos tão longe um do outro; por ter se entristecido, no momento de entristecer e se alegrado junto comigo, quando era hora de se alegrar... e esse é novamente, o momento...

E a Deus, minha maior riqueza, que no meu limitado entendimento do mundo aparente, me fortalece diante dos obstáculos, me premia e estimula, pelas mãos dos que mencionei acima, a avançar.

# *SUMÁRIO*

*1.0 – INTRODUÇÃO ..... 01*

*2.0 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 05*

*2.1 – O Fenômeno da transição vítrea ..... 06*

*2.2 – Teorias para a transição vítrea ..... 10*

*2.2.1 – Transição de fase termodinâmica .....10*

*2.2.2 – Teorias associadas à transição vítrea .....12*

*2.2.2.1 – O Modelo cinético de Kauzmann .....12*

*2.2.2.2 – O Modelo termodinâmico de Gibbs e Di Marzio .....13*

*2.2.2.3 – Teoria do volume livre, de Cohen e Turnbull ..... .....14*

*2.3 – Temperatura de transição vítrea em materiais alimentícios .....15*

*2.4 – Determinação da temperatura de transição vítrea e a ocorrência de outros eventos térmicos em vidros orgânicos (alimentos) .....16*

*2.5 – Fenômenos associados à transição vítrea em vidros orgânicos: possíveis explicações para os eventos térmicos duplos em materiais hidratados.....21*

*2.6 – O Efeito plastificante da água e diagramas de estado..... 24*

*2.7 – Modelos descritivos do comportamento termo-reológico de fluidos ..... 25*

*2.7.1 – A transição vítrea em corantes caramelo ..... 27*

*2.7.2 – A transição vítrea em mel ..... 28*

*2.7.3 – A transição vítrea em frutose ..... 29*

*2.8 – Métodos de determinação da $T_g$ ..... 29*

*2.8.1 – Reologia : alguns conceitos ..... 30*

*2.8.1.1 – Viscosidade ..... 32*

*2.8.1.2 – Determinando a temperatura de transição vítrea: uso de equações VFT e WFL..... 33*

*2.8.2 – Calorimetria exploratória diferencial – DSC .....34*

*2.8.2.1 – O Funcionamento do equipamento ..... 34*

*2.8.3 – Ressonância magnética (RMN e RPE): princípios básicos..... 36*

*2.8.3.1 – Ressonância magnética nuclear (RMN) .....39*

*2.8.3.1.1 – O Equipamento RMN.....40*

*2.8.3.1.2 – Relaxação spin-spin, $T_2$ .....42*

*2.8.3.1.3 – RMN aplicada ao estudo de transição vítrea e mobilidade molecular .....43*

*2.8.3.1.4 – $T_2$ Aplicada ao estudo de mobilidade molecular e transição vítrea .....44*

*2.8.3.2 – Ressonância paramagnética (RPE) ..... 46*

*2.8.3.2.1 – O Espectrômetro RPE ..... 47*

*2.8.3.2.2 – RPE aplicada ao estudo de transição vítrea e mobilidade molecular em alimentos ..... 49*

*2.9 – Os Materiais: corante caramelo, mel e frutose ..... 52*

*2.9.1 – Corantes caramelo ..... 52*

*2.9.1.1 – Composição química dos corantes caramelo ..... 52*

*2.9.2 – Mel ..... 55*

*2.9.3 – Frutose .....57*

*3.0 – RELEVÂNCIA.....57*

*4.0 – OBJETIVOS ..... 59*

*5.0 – MATERIAIS E MÉTODOS .....61*

*5.1 – Materiais ..... 62*

*5.1.1 – Preparação das amostras ..... 62*

*5.2 – Métodos ..... 63*

*5.2.1 Liofilização .....63*

*5.2.2 – Refratometria.....63*

*5.2.3 – Caracterização reológica.....64*

*5.2.4 – Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....64*

*5.2.5 – Procedimento de recozimento.....65*

*5.2.6 – Ressonância magnética nuclear de baixo campo.....65*

*5.2.7 – Espectroscopia de ressonância paramagnética (RPE).....67*

*5.2.7.1 – Preparação de amostras e soluções de mel para experimentos RPE.....67*

*5.2.7.2 – Preparação de amostras de frutose para experimentos RPE .....67*

*5.2.7.3 – Experimento e parâmetros experimentais RPE.....68*

*6.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....68*

*6.1 – Caracterização das amostras .....69*

*6.1.1 – Determinação dos teores de umidade em corante caramelo e mel.....69*

*6.1.2 – Análise polínica da amostra de mel utilizada.....70*

*6.1.3 – Comportamento reológico de corante caramelo .....70*

*6.1.4 – Comportamento reológico de amostra de mel.....71*

*6.2 – Calorimetria exploratória diferencial.....72*
*6.2.1 – Transição vítrea em amostras com baixa concentração de $H_2O$.....73*
*6.2.2 – Transição vítrea associada à devitrificação .....77*
*6.2.3 – Alta concentração de $H_2O$: $T_g$ e eventos térmicos associados.....82*
*6.2.4 – Concentração de água e devitrificação em soluções de frutose.....90*
*6.2.5 – Recozimento de amostras e a ocorrência de eventos térmicos duplos.....95*
*6.2.6 – Diagramas de estado de vidros orgânicos: mel, frutose e corante caramelo...100*
*6.2.7 – Calorimetria exploratória diferencial : discussão de resultados.....104*
*6.2.7.1 – Uma proposta de explicação para a formação de eventos térmicos A e B....108*
*6.3 – Ressonância magnética nuclear.....110*
*6.3.1 – Amostra de mel com 50% de $H_2O$.....110*
*6.3.2 – Amostras de mel com 30, e 19% de $H_2O$.....117*
*6.3.3 – Amostra com 8% de $H_2O$.....122*
*6.3.4 – Análise de FID – experimentos de pulso único .....124*
*6.3.5 – Análise: relaxação transversal $T_2$ e a temperatura de transição vítrea.....126*
*6.4 – Mobilidade molecular estudada por ressonância paramagnética eletrônica .....133*
*6.4.1 – RPE e transições de segunda ordem em vidros orgânicos.....149*
*7.0 – CONCLUSÕES.....151*
*8.0 – SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....155*
*9.0 – PUBLICAÇÕES RESULTANTES DOS TRABALHOS DESENVOLVIDOS.....155*
*10.0 –. BIBLIOGRAFIA.....156*

# *Lista de Figuras*

*FIGURA 1: a transição vítrea como uma função da variação do volume em função da temperatura (adaptado do trabalho de Kauzmann)..... 06*
*FIGURA 2: Comportamento forte e frágil de vários materiais e viscosidade conforme variação da viscosidade frente à temperatura .....09*
*FIGURA 3: Aspecto típico de um trecho de uma curva DSC convencional em que é exibida a transição vítrea de um material .....17*
*FIGURA 4: Esquema de uma curva DSC de material hidratado, na região de $T_g$. Os eventos térmicos serão indicados como A (temperatura mais baixa) e B (evento de mais alta temperatura) ..... 19*
*FIGURA 5:. Esquema de termograma indicando ocorrência de devitrificação, $T_d$..... 20*

*FIGURA 6: DTA vidro de borato de chumbo.....23*
*FIGURA 7: DTA vidro de silicato de chumbo.....24*
*FIGURA 8: Esquema indicativo da aplicabilidade de modelos de Arrhenius e WLF em função da temperatura e viscosidade .....27*
*FIGURA 9: A deformação de um sólido ideal. A tensão $\sigma$ é obtida dos parâmetros G e da tangente do ângulo de deformação do material ..... 31*
*FIGURA 10: Líquido cisalhado entre duas placas planas e paralelas em duas taxas de cisalhamento ..... 32*
*FIGURA 11: Diagrama esquemático de um equipamento DSC (fluxo de calor)..... 35*
*FIGURA 12:. Espectro eletromagnético indicando as freqüências em que RPE e NMR são utilizadas).....37*
*FIGURA 13: Esquema geral de equipamento RMN..... 41*
*FIGURA 14: Seqüência de pulsos CPMG, para medir $T_2$.....42*
*FIGURA 15: Diagrama esquemático da relação entre os tempos de relaxação de RMN ($T_1$ e $T_2$) e o tempo de correlação molecular ($\tau_c$) ..... 43*
*FIGURA 16: Curva de descaimento de $T_2$ típica para amostra hidratada. .....44*
*FIGURA 17: Esquema de um espectrômetro RPE..... .....48*
*FIGURA 18: Estrutura de molécula de TEMPO .....49*
*FIGURA 19: Sensibilidade de EPR e ST-EPR em diferentes faixas de tempo de correlação rotacional ..... 50*
*FIGURA 20: Espectros RPE para TEMPO em solução de frutose em água, em que são indicados os parâmetros utilizados para o cálculo da mobilidade rotacional:. (a) isotrópico (b) anisotrópico ..... 51*
*FIGURA 21: Estruturas químicas de compostos encontrados em corante caramelo... 54*
*FIGURA 22: Esquema indicativo da metodologia empregada no desenvolvimento do trabalho.....61*
*FIGURA 23: (a) Curva de fluxo para corante caramelo ($20^oC$). (b) Influência da temperatura sobre a viscosidade de corante caramelo .....70*
*FIGURA 24: Comportamento reológico do mel, a $20^oC$. Os pontos de tensão por taxa de cisalhamento ajustam-se ao modelo de Newton ..... 72*
*FIGURA 25: (a) Curvas DSC de corante caramelo, com 1% $H_2O$ e (b) 3% $H_2O$, obtidas sem controle de resfriamento, à taxa de $10^oC$/min, massa de ($3 \pm 0,5$ mg) (c-e). Curvas DSC de resfriamento e aquecimento ($5^oC$/min) para caramelo com concentração de (c)*

*1%,(d)8% e (e) 20% de $H_2O$. (f) Comparação entre as curvas DSC de aquecimento para 1, 8 e 20 % $H_2O$..... 74*

*FIGURA 26: Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para mel com concentração de (a)13, (b)19 e (c) 30% de $H_2O$. (d) Curvas DSC de aquecimento, para soluções de mel em água, com concentração de $H_2O$ entre 13 e 35%, obtidas com controle das taxas de aquecimento e resfriamento (5°C/min)..... 76*

*FIGURA 27: Curvas DSC obtidas a 5°C/min para amostra de frutose com (a)10 (b) 20 (c) 37 % de $H_2O$ durante o resfriamento e aquecimento. (d) Curvas DSC para soluções de frutose, com concentração de $H_2O$ entre 10 e 37%, obtida a taxas de resfriamento/aquecimento de 5°C/min..... 77*

*FIGURA 28 (a-b). Curvas DSC para o resfriamento e aquecimento de corante caramelo com 30% de $H_2O$, obtidas a taxa de 10°C/min, em (8,6 mg). (c) Curvas DSC para amostra com 30% $H_2O$, obtida a 5°C/min (20 mg). (d) Amostra com 30 % de água a taxa de aquecimento/resfriamento de 5, 10 e 20°C/min (não normalizadas)..... 78*

*FIGURA 29: (a) e (b) Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para mel com concentração de 37 e 40 % de $H_2O$. (c) Curvas DSC para soluções de mel em água, com teor de $H_2O$ entre 37 e 45 obtidas a taxas de 5°C/min. (d) Curvas DSC para amostra com 37% $H_2O$ com taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10 e 20°C/min (não normalizadas)..... 80*

*FIGURA 30: Curvas obtidas a 5°C/min para amostras de frutose(a)-(d)Curvas térmicas para soluções de frutose, com concentração de água entre 37 e 45%, obtidas a taxas de*

*FIGURA 31: (a) Curvas DSC de aquecimento, para amostra de corante caramelo com 20, 30 e 45% $H_2O$, obtida a 5°C/min (20 mg). (b-c) Curva DSC para amostra com 46% de $H_2O$, obtida sem controle de resfriamento da amostra, em que são observados os eventos térmicos formados durante o aquecimento a 10°C/min. (d) Curva DSC para corante caramelo, com 72% de $H_2O$ ..... 83*

*FIGURA 32: (a) Curvas DSC de corante caramelo com 50% de $H_2O$, obtidas a taxa de aquecimento e resfriamento de 10°C/min. (b) Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para caramelo com concentração de 45 e (c) 70 % de $H_2O$. (d) Curvas DSC para amostras de corante caramelo, 45 a 100% de $H_2O$, obtido a taxas de aquecimento/resfriamento de 5°C/min. (e) Detalhe evidenciando as diferenças entre os eventos térmicos A e B em amostra com 70% de $H_2O$..... 85*

*FIGURA 33: Curvas DSC para corante caramelo com 45% $H_2O$, obtidas em taxas distintas de aquecimento. O resfriamento das amostras (não apresentado) foi controlado de igual valor ao do aquecimento..... 86*

*FIGURA 34: (a) Curvas DSC para soluções de mel com 50 % de $H_2O$. (b-c). Curvas DSC para soluções de mel, entre 50 e 100% $H_2O$ (d) Curvas DSC para soluções frutose para 50% $H_2O$ (e-f) Curvas DSC para soluções de frutose, com concentração de $H_2O$ entre 50 e 100%. Taxas de aquecimento e resfriamento foi de 5$^oC$/min..... 88*

*FIGURA 35: Curvas DSC aquecimento para soluções de mel com 50% de $H_2O$ obtidas a taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10 e 20$^oC$/min.....89*

*FIGURA 36:. Curvas térmicas para solução de frutose, com concentração de água 50%, obtidas a taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10, 20$^oC$/min ..... 90*

*FIGURA 37: (a) Curvas de DSC de soluções de frutose contendo 40 a 50% de $H_2O$, obtidas a 5$^oC$/min. (b) Comparação entre curvas DSC de soluções de frutose com 48 e 49% de $H_2O$, as modificações na seqüência de eventos térmicos são indicadas nos detalhes (tracejado). (c) Curvas térmicas de resfriamento e aquecimento para a amostra com 48% de $H_2O$. No detalhe (elipse), eventos térmicos possivelmente associados formação de vidro de baixa $T_g$..... 91*

*FIGURA 38: (a) Curvas de DSC de soluções de frutose contendo 40 a 50% de $H_2O$, obtidas a 20$^oC$/min (b) Curva DSC para amostra com 49% de $H_2O$ (c) Evolução da área de pico de devitrificação e fusão do gelo em amostras de frutose entre 40 e 50% de água, em curvas DSC obtidas a 5$^oC$/min..... 93*

*FIGURA 39: Estabilidade $\Delta T$´de vidros de frutose e mel em função da concentração de $H_2O$..... 94*

*FIGURA 40: Evolução dos eventos térmicos (devitrificação e transição vítrea) em curvas DSC de soluções de frutose (40% $H_2O$) recozidas a –50$^oC$..... 95*

*FIGURA 41: Curvas DSC de soluções de frutose 40% e 50% de $H_2O$(última) recozidas a –50$^oC$. A evolução do tempo de recozimento causa formação de duas $T_g$´s após 60 min., que coalescem , formando o padrão de eventos térmicos A, B.....96*

*FIGURA 42: Detalhe expandido da curva térmica de solução de frutose com 40% de $H_2O$, obtidas após recozimento por 60 (a) e 120 (b) minutos.....97*

*FIGURA 43: (a) Solução de mel (40% $H_2O$) recozida a –40 $^oC$. As curvas DSC apresentadas, foram obtidas no aquecimento, a taxa de 5$^oC$/min, após o recozimento. (b) Detalhe da curva, obtida após recozimento por 60 minutos.....98*

*FIGURA 44: (a) Solução de frutose (45% de $H_2O$) recozida a – 50 $^oC$ e (b) solução de mel (45% de $H_2O$) recozida a – 40 $^oC$. (c) Curvas DSC de recozimento para soluções de frutose (43% de $H_2O$) a –50$^oC$. (d) Curvas DSC de recozimento de solução de caramelo (30% de $H_2O$) a –50$^oC$.....99*

*FIGURA 45 (a, b, c): Diagrama de estado para soluções de mel (a), frutose (b) e corante caramelo (c), obtidos a taxa de aquecimento/resfriamento de 5$^oC$/min.....103*

*FIGURA 46: Evolução de eventos térmicos A e B, com relação à taxa de resfriamento. Com taxas mais baixas, a ocorrência de $T_d$ é residual. Quanto mais altas, maior a hidratação do vidro formado, menor sua $T_g$ e mais provável a observação da $T_d$..... 106*

*FIGURA 47: Hipótese para a formação de mais de uma transição vítrea em DSC de solução de açúcares, considerando-se o espaço entre dois cristais em crescimento, preenchido por solução de açúcar. (a) situação inicial (b) situação final..... 109*

*FIGURA 48: Curvas de desmagnetização obtidas por CPMG, para a amostra com 50% de água..... 111*

*FIGURA 49: Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 50% de água, entre +20 e –60 $^oC$..... 112*

*FIGURA 50: Distribuição de tempos de relaxação ajustados segundo equação (26) para o resfriamento de solução de mel (50% $H_2O$) obtidos por CPMG. A linha contínua representa os valores médios de $T_2$ calculados pela equação (25).....114*

*FIGURA 51: Distribuição de tempos de relaxação para amostra com 50% de água, durante o aquecimento desde –60$^oC$..... 116*

*FIGURA 52: Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 30% de água, entre +20 e –60 $^oC$. ..... 118*

*FIGURA 53: Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 19% de $H_2O$, entre +20 e –60 $^oC$..... 119*

*FIGURA 54: Distribuição CPMG $T_2$ para o resfriamento de amostra contendo, 30% de $H_2O$ ..... 120*

*FIGURA 55: Distribuição de tempos de relaxação $T_2$, obtidos em experimento CPMG, para resfriamento de amostra de mel com 19% de $H_2O$..... 121*

*FIGURA 56: Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 8% de água, entre +20 e –60 $^oC$ (CPMG)..... 123*

*FIGURA 57: Distribuição de tempos de relaxação $T_2$, obtidos em experimento CPMG, para aquecimento de amostra de mel com 8% água ..... 123*

*FIGURA 58: Valores de tempo de relaxação transversal $T_2$ obtidos utilizando-se experimento de pulso único de 90$^o$ ( P90) em amostra de mel com 19% de $H_2O$.....125*
*FIGURA 59: Valores de tempo de relaxação transversal $T_2$ obtidos utilizando-se experimento de pulso único de 90$^o$ ( P90) em amostra de mel com 8% de $H_2O$..... 125*
*FIGURA 60: Moléculas de (a) frutose e (b) glicose..... 127*
*FIGURA 61: Tempos de relaxação para amostras de mel contendo 8(M08), 19 (M19), 30 (M30) e 50% (M50) de água..... 132*
*FIGURA 62: Espectro RPE para corante caramelo com (a) 1 mM e (b) sem sonda.. 134*
*FIGURA 63: Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 48% de $H_2O$ (resfriamento) (a) –11$^o$C; (b) –38$^o$C; (c) –78$^o$C; (d) –103$^o$C..... 136*
*FIGURA 64: Espectros de TEMPO em amostra de frutose-água com 20% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento..... 138*
*FIGURA 65: Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 43% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento da amostra entre –11 e –90$^o$C..... 139*
*FIGURA 66: Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 48% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento entre +19 e –100$^o$C..... 140*
*FIGURA 67: Razão de altura de linhas para soluções de frutose com (a) 20 (b) 40 e (c) 70% de $H_2O$. Esse parâmetro está associado à mobilidade isotrópica das amostras..142*
*FIGURA 68: Valores da constante de acoplamento hiperfino ($A´_{zz}$), obtidos no aquecimento e resfriamento (a) amostra de frutose com 20% $H_2O$, com dado da $T_g$ de literatura [79] (b) amostra de mel com 19% $H_2O$ e (c) de frutose com 70% $H_2O$..... 145*
*FIGURA 69: Constantes de acoplamento hiperfino $A´_{zz}$, observadas para solução de TEMPO (1 mM), em função da temperatura para amostras de frutose em água. (a)40, (b)43, (c)45, (d)50 % de $H_2O$. .....147*
*FIGURA 70: Compilação de algumas das formas dos eventos térmicos A e B, observadas em soluções de vidros orgânicos com % $H_2O$ ≥39% (corante caramelo) e ≥45% (mel, frutose) e origens propostas..... 152*

# *Lista de Tabelas*

*TABELA 1. Valores de transição vítrea para soluções de frutose em água, obtidos à taxade 10°C/min.....29*

*TABELA 2. Composição química de corantes caramelo.....55*

*TABELA 3. Propriedades da fração de alto peso molecular de corante caramelo IV...55*

*TABELA 4. Composição geral de méis de vários países (% p/p).....56*

*TABELA 5. Valores de umidade de amostras de corante caramelo e mel.....69*

*TABELA 6. Valores de viscosidade, para amostra de mel, entre 3 e 50°C.....71*

*TABELA 7. Estabilidade de vidros de frutose – Critério de SAAD-POULAIN.....94*

*TABELA 8 : Valores da temperatura de transição vítrea média ($T_g$), temperatura de pico de devitrificação ($T_d$), temperatura de pico de fusão da água ($T_m$), eventos térmicos (A , B ) observados em curvas térmicas de soluções de frutose (esquerda) e mel (direita) em $H_2O$, obtidas à taxa de 5°C/min.....101*

*TABELA 9 : Valores da temperatura de transição vítrea média ($T_g$), temperatura de pico de devitrificação ($T_d$), temperatura de pico de fusão da água ($T_m$), eventos térmicos (A , B ) de soluções de corante caramelo, obtidos por DSC convencional.....102*

*TABELA 10 – Efeito do tempo de recozimento sobre os eventos térmicos observados em curva DSC de amostra de frutose com 40% de $H_2O$, recozida a –50°C. Pontos da curva DSC de aquecimento obtidos a 5°C/min.....107*

# *Lista de Quadros*

*QUADRO 1: Exemplos de substâncias formadoras de vidros para os principais tipos de ligação química .....08*

# *RESUMO*

O comportamento térmico de soluções hidratadas de formadores de vidros orgânicos (soluções de corante caramelo, mel e frutose) foi extensivamente investigado usando DSC convencional com foco na ocorrência da transição vítrea e nos fenômenos térmicos nomeados na literatura A e B (antefusão), relacionados à $T_g$ nestes três materiais. O comportamento térmico e o efeito da concentração da água foram similares nas amostras investigadas. A análise de curvas DSC obtidas durante aquecimento, indicou que a transição vítrea nestes materiais pode ou não ser acompanhada por outros eventos térmicos, dependendo da concentração de água: para amostras com baixa concentração deste plastificante, apenas uma transição vítrea; para amostras com teor intermediário, uma transição vítrea seguida por uma exoterma de devitrificação e endoterma de fusão do gelo; para amostras susceptíveis a cristalização no resfriamento, são observados os eventos térmicos A e B seguidos pela fusão do gelo. Durante o recozimento de amostras de mel e frutose com 40% de $H_2O$, foi possível observar a ocorrência de mais de uma transição vítrea nesses materiais. Observou-se que no recozimento, o pico de devitrificação e a transição vítrea das curvas DSC, tornavam-se, após 120 minutos, similares aos eventos térmicos A e B. A variação na taxa de resfriamento e aquecimento para amostras de frutose com 48% alterou drasticamente seu comportamento térmico, quando resfriadas a taxas mais elevadas, sendo observada uma aparente "conversão" dos eventos térmicos A e B, em uma transição vítrea seguida por um pico de devitrificação. Os experimentos de RMN de baixo campo em soluções de mel, revelaram forte influência da concentração de $H_2O$ nos tempos de relaxação transversal $T_2$ das soluções desses formadores de vidros. Nas amostras com baixa concentração de água, o valor característico do tempo de relaxação $T_2$, em temperaturas próximas da $T_g$, obtido por CPMG, correspondeu ao valor limite de mobilidade característico do experimento (~100μs) e foi descrito por uma única população de tempos de relaxação. Nas amostras com maior concentração de água, em especial a que sofre congelamento do solvente (50% $H_2O$), observou-se brusca redução do valor de $T_2$ durante resfriamento, associada ao processo de concentração por congelamento de solvente. Os experimentos RMN não indicaram a existência de variações bruscas nos valores de $T_2$, que pudessem ser associadas à transição vítrea, tanto em experimentos de pulso único, quanto nos experimentos CPMG. Observou-se que, mesmo a temperaturas próximas à transição vítrea, o tempo de relaxação $T_2$ é sensível à concentração de $H_2O$,

aumentando com o aumento da concentração do solvente. Nos experimentos de pulso único, realizados em amostras com 8 e 19% de mel, a mobilidade molecular ($T_2$) na faixa de transição vítrea é de 20 a 30 μs, em acordo com o observado para outros materiais, abaixo da $T_g$. Por RPE, foram estudadas amostras de frutose, com concentração de água entre 20 e 70% e mel, em concentrações de água de 20 e 50%. O estudo da mobilidade molecular por sondas de TEMPO (1-oxyl- 2,2,6,6-tetrametil-piperidina), com base nos parâmetros de constante de acoplamento hiperfina ($A'_{zz}$) e razão de alturas de linha espectral ($I_{-1}/I_o$ e $I_{+1}/I_o$) indicou que os mesmos não sofrem alterações abruptas, na faixa de temperatura em que a transição vítrea é observada. O estudo por RPE indicou, para todas as amostras estudadas, a formação de espectros do tipo "powder" (pó) , característico de ambiente anisotrópico, a temperaturas abaixo de –50$^o$C, associada à formação de fase sólida. Em amostras menos hidratadas, observou-se que as temperaturas em que os parâmetros de razão de altura de linha espectral de alto campo, tornavam-se nulos, coincidiam com os valores de $T_g$ obtidos em DSC, indicando a perda do movimento rotacional da sonda, característica da formação de domínio anisotrópico. Abaixo da $T_g$, os espectros do tipo "powder" foram pouco sensíveis à variação de temperatura, indicando a baixa mobilidade das sondas de spin introduzidas nas amostras. Para amostras mais hidratadas (50% $H_2O$), foi observada a formação de estado sólido entre −20 e −30$^o$C, fenômeno associado ao processo de concentração por congelamento. Para as amostras em que a devitrificação foi observada nos experimentos DSC, os espectros RPE apresentaram uma transição, indicando a existência de domínios isotrópicos e anisotrópicos simultaneamente. Esse fenômeno foi interpretado como a existência de domínios com viscosidades distintas, formados durante o resfriamento, pelo processo de concentração por congelamento da amostra. Pelo fato de não ser esperada a existência de TEMPO nos cristais de gelo, o aspecto dos espectros pode indicar a formação de mais de um vidros nestas amostras. Essa informação associada à comparação entre termogramas das amostras de DSC convencional e experimentos de recozimento em amostras com baixo e alto teor de água, produziu evidências de que os eventos térmicos A e B sejam respectivamente, uma transição vítrea e a devitrificação de água residual de um segundo vidro, de $T_g$ mais baixa que A. Tanto A como B poderiam ser afetados por outras $T_g$, podendo esses eventos ocorrer com formas distintas, em função dessas interações.

# *ABSTRACT*

For over three decades, the occurrence of multiple thermal events on DSC thermograms has been subject of intense debates about its origin. On frozen samples, they frequently appear as two thermal events A and B, before the ice melting in the sample. It has been attributed to the glass transition (A) followed by the onset of ice melting (B), called *antemelting* or due to a unique glass transition (A or B are ignored in this case) or to a double glass transition. In this study, thermal behaviour of hydrated organic glass forming solutions (caramel colorants, honey and fructose solutions) was extensively investigated using conventional DSC, NMR relaxometry and RPE, focusing on the occurrence of glass transition and related phenomena on these materials. Thermal behaviour and affect of water concentration was found to be similar between these materials. Continuous distributions of spin-spin relaxation time determined by CPMG experiment on honey samples (8-50% $H_2O$) have shown a $T_2$ decreasing when decreasing water content or temperature. For samples between 8 and 30% $H_2O$, the vicinity of glass transition was described by one population with $T_2$ around 100 μs. Freezing the 50% $H_2O$ sample indicated the abrupt formation of low mobility material which also presented a $T_2$ around 100 μs and whose process was attributed to the freezing concentration process of this material. DSC thermograms have shown glass transition followed by other thermal events depending on the moisture content: for very low to low moisture content samples one clear glass transition; for intermediate moisture, a glass transition, crystallization peaks and ice melting; for high moisture samples, a glass transition followed by a shoulder in the baseline (*antemelting*) and ice melting. Higher cooling rates increases the amount of unfrozen water and the area of the crystallization peak on heating. Moisture increase causes a sharp decrease on ($T_c$–$T_g$) gap and glass stability. Sugar solutions in the 40-45% water composition range are prone to crystallization and the DSC runs undergo noticeable change as composition change slightly. Isothermal annealing (–50 $^oC$) produces two transitions in some glass samples and is explained by the formation of two glasses due to ice solidification from the surface to the bulk at the annealing temperature which produces a high viscous liquid at the freezing interface and concentrations differences inside the sample. EPR spectral analysis revealed the freeze concentration process which occurred on higher hydrated samples. EPR spectral analysis from spin probe TEMPO on samples containing 40 to 50% $H_2O$, also revealed the evidence for coexistence of at least, two

distinct mobility domains on these frozen samples. These information and the comparison between DSC thermograms of low and high water content samples and annealing experiments on these materials gave strong evidence that (A) is a thermal event related to at least one glass transition and the *antemelting* (B) is in fact a devitrification peak related to a low glass transition temperature, and affected or not by a another second order thermal event.

# *1.0 - INTRODUÇÃO*

Em junho de 2005, um telejornal brasileiro [1] veiculou a notícia de que uma planta de tâmara (espécie de palmeira comum no Oriente Médio), batizada de "Matusalém", havia germinado a partir de uma semente de 1990 anos, encontrada no deserto de Negev, nas proximidades do Mar Morto, em Israel. A pesquisadora responsável pela condução do trabalho, Dra. Elaine Solowey, adaptou uma metodologia de tratamento da semente baseada na aplicação de ácidos, com o objetivo de quebrar a dormência do embrião, ainda vivo [2,3]. Por trás do sucesso na aplicação da técnica de quebra de dormência das milenares sementes de tâmara, está uma questão não noticiada, mas relevante, que possibilitou a germinação da semente: como foi possível que o embrião se mantivesse vivo por quase dois mil anos? Que condições permitiram sua preservação?

A resposta pode estar diretamente relacionada com o trabalho da pesquisadora holandesa Julia Buitink, que em sua tese de doutorado "Biological Glasses: nature`s way to preserve life" verificou a relação do estado vítreo de tecidos de sementes com a sua preservação [4], ou seja, o sucesso na preservação de sementes está ligado ao fato de que as mesmas sejam mantidas no estado vítreo [5]. Matusalém teria, então, sido originada a partir de um material que, do ponto de vista de estrutura, provavelmente seja um vidro.

O termo "vidro" é comumente utilizado com referência ao produto da fusão de materiais inorgânicos que foram resfriados a um estado rígido sem se cristalizarem. No senso comum, o termo vidro é associado a materiais transparentes como os vidros de silicato, utilizados em janelas e garrafas. Mas considerando a estrutura desses materiais, existem literalmente milhares de outros vidros, todos os quais com sua propriedade e composição química, que não consistem necessariamente apenas de materiais inorgânicos ou transparentes.

Há outros exemplos de vidros, dentre eles os que se incluem na categoria dos vidros orgânicos, como o composto por o-terfenil, a grande classe dos polímeros, os

vidros de açúcares (como o são o familiar algodão doce, obtido a partir de açúcar de cana e as balas de glicose), dentre muitos outros.

Várias são as definições de vidros encontradas na literatura, mas para essa introdução, é suficiente afirmar que:

***"Vidros são sólidos que apresentam estrutura similar à dos líquidos dos quais se originaram."*** [6]

O fato de que a estrutura de vidros seja similar à dos líquidos dos quais se originaram implica em uma desordem estrutural comum nesses materiais ou, em outras palavras, a ausência de ordem de longa distância (periodicidade) característica de materiais cristalinos. Mas a definição acima não exclui os vidros de outros tipos de materiais amorfos e, nesse ponto, é necessário introduzir o conceito de transição vítrea ($T_g$).

A transição vítrea ($T_g$) pode ser definida como o fenômeno no qual um sólido amorfo exibe uma variação "mais ou menos" abrupta nas derivadas de propriedades termodinâmicas (capacidade calorífica e expansividade térmica), em função da temperatura. As magnitudes dessas propriedades variam de valores próximos aos de materiais cristalinos até os próximos do líquido. Uma definição mais específica para vidros pode, então, ser expressa na forma [6]:

***"Vidros são sólidos amorfos que exibem transição vítrea"***

Nessa forma pode-se, definitivamente, desvincular a idéia de que vidros originam-se necessariamente de materiais inorgânicos, sendo a ocorrência do fenômeno de transição vítrea, fator decisivo para associar um material ao estado vítreo.

Abaixo da temperatura de transição vítrea, o material encontra-se em uma forma rígida, com pouca mobilidade molecular o que confere aos vidros inorgânicos em geral, suas úteis propriedades mecânicas. Logo acima da temperatura de transição vítrea, o material tem sua mobilidade molecular aumentada, passando a uma condição em que

seu comportamento mecânico assemelha-se ao de borracha e, com aumento de temperatura, passa ao estado de fluido viscoso.

No caso de vidros orgânicos, em especial os provenientes de materiais biológicos, alimentícios e farmacêuticos, além da importância nas propriedades mecânicas, a restrição na mobilidade molecular abaixo da $T_g$ tem mostrado uma relação estreita com sua preservação[i], o que tem motivado o estudo do estado vítreo nesses materiais [7].

Nos últimos 50 anos, um expressivo número de pesquisas tem investigado a relação entre o estado vítreo e a preservação de materiais alimentícios, farmacêuticos e biológicos. Formulações de carboidratos [8], ácidos graxos [9] e proteínas[10] têm sido utilizadas como modelo para estudo do estado vítreo e sua influência em alimentos com baixa umidade ou congelados.

Muitos dos alimentos e outros materiais biológicos com baixa umidade ou mesmo congelados não são estáveis[ii] e exibem alterações em suas propriedades que dependem do tempo como resultado de fenômenos, tais como, separação de fases, cristalização de componentes, reações químicas, microbiológicas e enzimáticas, perda de aroma e mudanças na textura.

A crio-preservação de alimentos [11] e materiais biológicos tais como óvulos, sêmen e tecidos de origem humana, animal e vegetal, tem demandado especial atenção face ao fato de que a transição vítrea, quando ocorre, está em geral associada à ocorrência de outros eventos térmicos não desejados, como a cristalização de gelo, que causa danos às paredes celulares nestes materiais, inutilizando-os. Por essas razões a determinação da temperatura de transição vítrea nesses materiais é fundamental.

A determinação da temperatura de transição vítrea em biomateriais tem sido, por mais de trinta anos, escopo de debates devido à dificuldade de obtenção clara de seu valor e até mesmo se há nesses materiais uma, duas, várias ou nenhuma transição vítrea.

[i] Em Ciência de Alimentos e Farmacêutica, é comum o uso da expressão "vida-de-prateleira" para indicar o prazo de validade do produto.
[ii] Estabilidade nesse contexto, refere-se ao tempo de validade do alimento.

Responder a essas questões poderia contribuir com o avanço do estudo sobre a crio-preservação de materiais biológicos [12].

Curvas DSC obtidas em experimentos de calorimetria exploratória diferencial de amostras de materiais orgânicos congelados têm revelado a ocorrência de um duplo evento térmico, precedendo à fusão do gelo [13, 14], que dificulta o assinalamento da transição vítrea nesses materiais. Embora bastante discutida na literatura, observou-se neste trabalho, que não há consenso na atribuição de fenômenos físicos para esses eventos térmicos entre vários dos grupos que investigam esse assunto [15]. O fenômeno apresenta diferenças com as transições vítreas duplas observadas em vidros inorgânicos como os de borato de chumbo, em que as mesmas são claramente observadas [16].

Geralmente, o evento térmico que ocorre à temperatura mais baixa é considerado como transição vítrea. O evento térmico de mais alta temperatura tem representado maior dificuldade para sua interpretação. Exemplos deste comportamento têm sido observados em líquidos formadores de vidros orgânicos tais como polímeros semicristalinos, várias soluções congeladas de açúcares [17], polissacarídeos [18], proteínas (albumina [19], caseína, [20]), carnes (alevino [21], suíno [22], frangos [23], bovino [24]), corantes caramelo [25], mel [26] e outros na literatura.

Metodologias e técnicas distintas têm sido empregadas para estudo da transição vítrea nesses materiais, sendo as principais a calorimetria exploratória diferencial convencional (DSC) e a calorimetria exploratória diferencial modulada (MDSC). Essas técnicas têm sido aplicadas ao estudo de soluções específicas de carboidratos (>40% $H_2O$) em que tais eventos térmicos ocorrem.

Embora o fenômeno de transição vítrea tenha sido bastante investigado, o estudo desses eventos térmicos utilizando-se técnicas alternativas tem ainda se mostrado restrito. A investigação da mobilidade molecular em materiais mais hidratados pode trazer luz sobre a questão da ocorrência de transições vítreas múltiplas, quando associadas à cristalização do gelo. Nesse sentido, as técnicas de ressonâncias paramagnética eletrônica e magnética nuclear, poderiam trazer informações relevantes sobre a formação de vidro nesses materiais.

Corante caramelo [25], mel [26] e frutose [17] hidratados, são materiais susceptíveis à ocorrência desses fenômenos térmicos. O primeiro, é constituído de compostos furânicos de baixa, média e alta massa molecular, obtidos do aquecimento de açúcares e o segundo, uma mistura de açúcares obtidos naturalmente por abelhas. O comportamento térmico desses materiais será investigado, utilizando frutose como sistema modelo, em diferentes níveis de concentração de $H_2O$, o que pode permitir uma compreensão da ocorrência de eventos térmicos associados à $T_g$ nos mesmos, determinando sua identificação.

Retomando a discussão inicial, pode-se especular que as baixas condições de umidade do deserto de Negev, provavelmente permitiram a manutenção do estado vítreo e conseqüentemente, a preservação da semente que originou "Matusalém". Do mesmo modo, a manutenção da baixa mobilidade molecular colaboraria para a estabilidade de qualquer tipo de vidro, orgânico ou inorgânico.

Nesse trabalho, realizou-se um estudo reológico, calorimétrico (DSC) e espectroscópico (ressonância magnética nuclear, RMN, e ressonância paramagnética, RPE) para investigar o fenômeno de transição vítrea nos líquidos formadores de vidros orgânicos mel, corante caramelo e frutose, em vários níveis de hidratação.

Pretende-se que o estudo contribua para a melhor compreensão da ocorrência e formação do(s) estado(s) vítreo(s) nesses materiais, e possa trazer luz sobre a determinação da transição vítrea nos mesmos.

# *2.0 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA*

Uma revisão sobre o fenômeno de transição vítrea, suas teorias, importância em alimentos e as técnicas de análise será descrita nas próximas seções. Trata-se de um resumo do embasamento teórico, no qual se firmam as hipóteses tratadas neste trabalho.

## *2.1 - O fenômeno da transição vítrea*

Quando resfriadas, muitas substâncias no estado líquido[iii] estão sujeitas duas situações, ilustradas na FIG 1: o líquido sob resfriamento pode, no ponto b, sofrer cristalização ou, na segunda situação, caso o tempo necessário à formação de núcleos cristalinos tenha sido muito curto, o líquido não cristaliza no seu ponto de solidificação (ponto b) e continua sendo resfriado, passando então a ser denominado *líquido super-resfriado*. À medida que o líquido super-resfriado alcança temperaturas inferiores, sua viscosidade aumenta e o volume diminui, assim como o movimento de suas moléculas. Pouco antes de atingir o ponto c, o material apresenta comportamento similar ao de borracha [27].

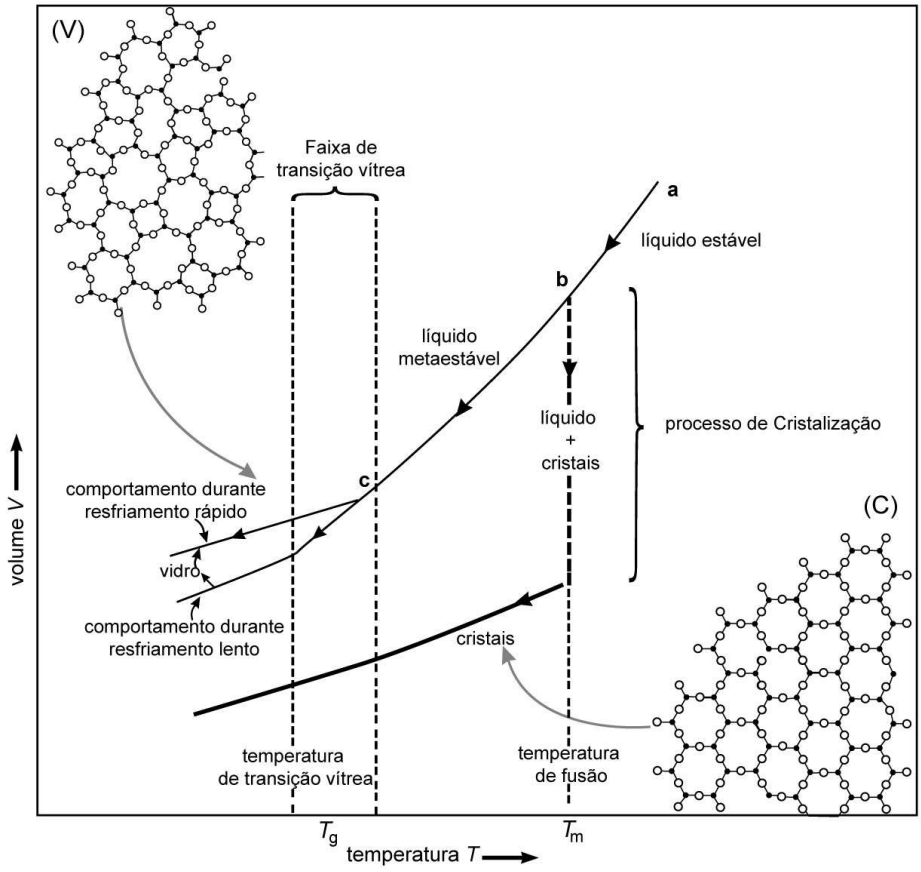



Figura 1: A transição vítrea e cristalização como uma função da variação do volume em função da temperatura (adaptado do trabalho de Kauzmann [34]). A estrutura (C) é a representação em duas dimensões de cristal de composição $A_2B_3$ (ordem de longa distância), enquanto (V) representa a rede vítrea do mesmo composto (ordem de curta distância) [28].

[iii] Para a água pura, a formação de vidro não pode ser descrita da mesma forma [145].

Prosseguindo o resfriamento, o movimento molecular se tornará tão pequeno que as moléculas não terão chance de se reorientar significativamente antes que a temperatura diminua mais. A *escala de tempo* do movimento torna-se tão longa que a estrutura do material parece "congelada" na escala de tempo das observações experimentais, caracterizando, na faixa de temperatura medida, a temperatura de transição vítrea. Outras mudanças relativamente abruptas podem ser também observadas nessa faixa de temperatura, como a redução na entropia e capacidade calorífica e o aumento no valor de viscosidade do material para $10^{12}$ Pa.s [29].

Tal como ilustrado na FIG. 1, o processo de cristalização manifesta-se por uma mudança abrupta de volume à $T_m$ enquanto que a transição vítrea é caracterizada por uma mudança gradativa na inclinação da curva. A região sobre a qual a mudança de inclinação ocorre é chamada de temperatura de transição vítrea, $T_g$. Comportamento similar pode ser exibido por outras variáveis termodinâmicas como a entropia $S$ e a entalpia, $H$ [30].

Conforme se pode observar na FIG. 1, diferentes taxas de resfriamento levam a diferentes valores de transição vítrea do material. Se a taxa de resfriamento é muito alta, haveria pouco tempo para uma maior "acomodação" ou "re-arranjo" das moléculas, o volume decresceria menos e, desse modo, o valor da temperatura de transição vítrea seria maior. Por outro lado, taxas de resfriamento mais lentas permitiriam maior acomodação das moléculas, maior redução de volume e, portanto, um menor valor de temperatura de transição vítrea.

Dessa maneira, a temperatura de transição vítrea de um material depende de sua história térmica. O valor medido da temperatura de transição vítrea pode variar de 10 a 20% para diferentes de taxas de resfriamento. Conclui-se assim que não se pode esperar que vidros preparados de maneira distinta exibam transição vítrea na mesma temperatura. Por outro lado, para uma dada classe de materiais que possuam o mesmo tipo de ligação e sejam aproximadamente iso-estruturais, podem ser observadas tendências na variação de $T_g$ se forem negligenciadas pequenas diferenças em razão da variação nas taxas de resfriamento [6].

Algumas funções de estado (volume, entalpia, entropia, por exemplo), em função da temperatura, são contínuas na faixa de transição vítrea, mas exibem uma mudança na inclinação da curva nessa faixa. Isso significa que na $T_g$ deverá ocorrer uma descontinuidade nas derivadas dessas variáveis, tais como o coeficiente de expansão térmica $\alpha_T=(\partial \ln V/\partial T)$, de compressibilidade $\kappa_T=-(\partial \ln V/\partial P)_T$ e capacidade calorífica $C_p= (\partial H/\partial T)_p$ (propriedades intensivas). O valor da capacidade calorífica para um vidro é geralmente comparável àquele do cristal, mas consideravelmente inferior àquele do líquido.

Entretanto, uma marcante diferença de magnitude dos valores de $\Delta C_p$ na $T_g$ é observada em diferentes líquidos formadores de vidros, como aqueles listados no QUADRO 1. Essa diferença pode ser usada para distinguir duas classes de líquidos formadores de vidros: líquidos fortes e líquidos frágeis [70], conforme indicado na FIG. 2. Esses termos estão relacionados com a habilidade do líquido de sofrer mudanças na sua ordem de média distância em função da temperatura.

QUADRO 1: Exemplos de substâncias formadoras de vidros para os principais tipos de ligação química [15] (adaptada).

| **Tipo de Ligação** | **Material** |
|---|---|
| Covalente | $As_2Se_3$, Se |
| Iônica | Fluoretos (Zircônio,bário, lantânio),$KNO_3$-$Ca(NO_3)_2$, AgI |
| Metálica | Zr-Cu, Ni-Nb |
| Van der Waals | orto-terphenil |
| ligações de hidrogênio | $KHSO_4$, soluções aquosas de sais iônicos (ex. LiCl), soluções aquosas de açúcares, proteínas animais e vegetais. |

Líquidos formadores de vidros do tipo “fortes”, a exemplo de materiais com expressivo caráter covalente ($SiO_2$), são resistentes a tais mudanças e, portanto, a quantidade de entropia configuracional no líquido é pequena e, do mesmo modo, a variação da capacidade calorífica na $T_g$, ($\Delta C_p$) é também pequena. Líquidos frágeis, caracterizados predominantemente por ligações não direcionais (iônicas, metálicas ou de van der Waals) têm alta entropia configuracional no estado líquido, e desse modo

$\Delta C_p$ na $T_g$ é também grande [15]. A distinção entre líquidos fortes e frágeis, com base na dependência da temperatura com a viscosidade, pode ser observada na FIG. 2.

As técnicas mais comuns para investigar a ocorrência da transição vítrea em materiais inorgânicos e orgânicos são as calorimétricas, sendo as mais importantes as de calorimetria exploratória diferencial (DSC) [31,32] e a análise térmica diferencial (DTA) [33].

Quanto maior a variação da viscosidade do material frente à temperatura, maior seu caráter frágil. O comportamento está relacionado com a força das ligações intermoleculares e, para vidros orgânicos, conforme observado na FIG. 2, é esperado comportamento frágil para estes materiais.

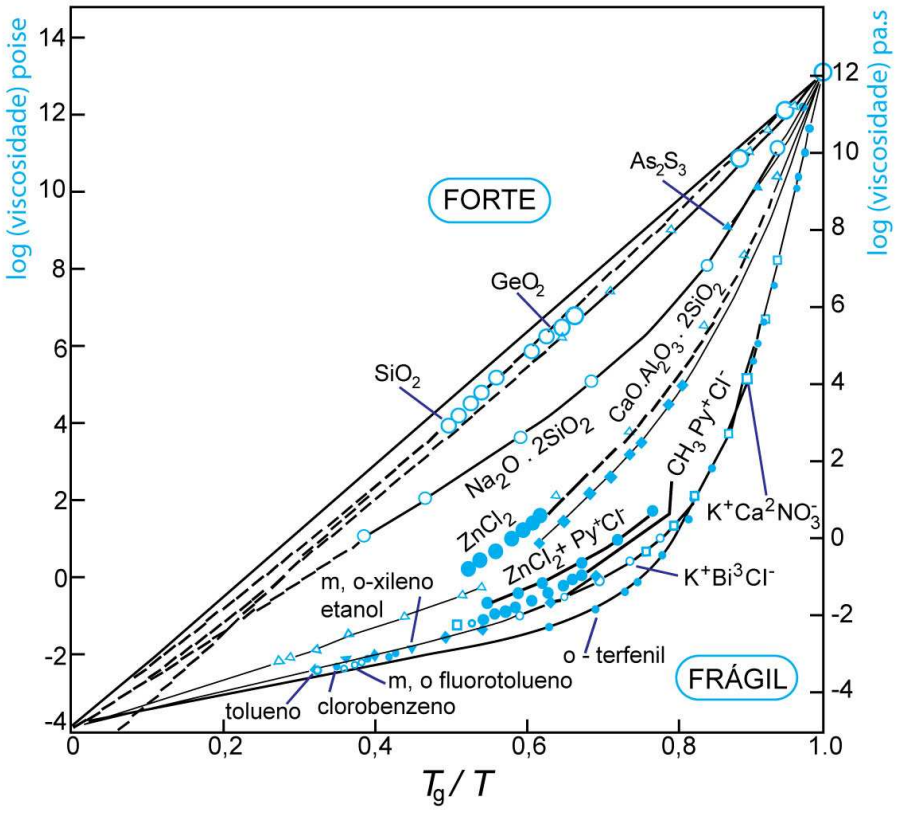



Figura 2: Comportamento forte e frágil de vários materiais conforme variação da viscosidade frente à temperatura (Adaptado do trabalho de Angel) [70].

Nos últimos anos, o uso de técnicas baseadas em princípios espectroscópicos tem se tornado cada vez mais importante, uma vez que fornecem dados que, em

conjunto com valores de DSC ou DTA, permitem uma compreensão mais profunda desse fenômeno. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) $^{1}H$, que é sensível à mobilidade protônica e a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), sensível à mobilidade de sondas spin inseridas no material de estudo, têm sido cada vez mais utilizadas no estudo do fenômeno de transição vítrea em alimentos e outros sistemas biológicos. Uma discussão de cada uma dessas técnicas e seu uso em materiais alimentícios será apresentada nos tópicos seguintes.

## *2.2 – Teorias para a transição vítrea*

A natureza da transição vítrea é muito complexa e até hoje muito pouco compreendida. No entanto, serão revistos aqui alguns modelos que têm sido desenvolvidos visando um avanço na compreensão do fenômeno. Algumas teorias assumem inicialmente que há apenas um único parâmetro que caracteriza o vidro. Esse provavelmente não deve ser o caso, mas tais teorias de parâmetro único são capazes de explicar, no mínimo, parte dos dados de modo simples.

A maioria dos modelos considera os líquidos super-resfriados como sendo compostos de domínios heterogêneos, que são nomeados de forma diferente, dependendo da teoria: volume livre, flutuações de entropia, flutuações de densidade e nano-defeitos.

Para os fins dessa introdução, serão discutidos na seção seguinte, os aspectos termodinâmicos relativos à transição de fase e, nas seções seguintes, algumas das principais correntes teóricas fundamentais acerca do fenômeno de transição vítrea, serão aqui discutidas: a cinética, de Kauzmann, a termodinâmica, de Gibbs e DiMarzio e a do volume livre de Cohen e Turnbull.

### *2.2.1 Transição de fase termodinâmica*

O fato de que certas funções de estado *(ex. V, S, H),* na faixa de transição, sejam contínuas (FIG. 1) e que as derivadas parciais $\alpha_T$, $C_p$, $\kappa_T$ sejam descontínuas, sugere que

a transição vítrea pode ser uma manifestação de transição de fase de segunda ordem. A definição de ordem de reação no esquema de Ehrenfest [30] é a ordem da menor derivada da energia livre de Gibbs que exibe uma descontinuidade na $T_m$, e para vidros $C_p=T\,(\partial S/\partial T)_p=-T(\partial^2 G/\partial T^2)_p$ é descontínua na $T_g$.

Entretanto, essa interpretação simples da transição vítrea falha em muitos casos. Já foi abordado, nesse texto, o fato de que a temperatura de transição vítrea é dependente da história térmica da amostra ou da taxa de resfriamento a que a mesma é submetida, podendo ocorrer variações de várias dezenas graus na temperatura de transição vítrea. Não se pode esperar que tal variação seja explicada por simples fatores cinéticos se a transição vítrea fosse uma verdadeira transição de fase termodinâmica.

Outra dificuldade ocorre quando se examina, em maiores detalhes, as predições para as transições de fase de segunda ordem, em particular a relação entre os vários parâmetros teóricos. Uma transição de segunda ordem se distingue pelo fato de que as variáveis termodinâmicas extensivas de primeira ordem são contínuas na transição. Portanto, por exemplo, as entropias das formas de alta e baixa temperatura de um material (líquido e vidro, respectivamente) precisam ser iguais na temperatura de transição, ou seja, $S_1=S_2$. Variações na temperatura ou pressão precisam ser tais que as duas formas permaneçam em equilíbrio de tal modo que $dS_1=dS_2$ ou em termos de derivadas parciais:

$$\left(\frac{\partial S_1}{\partial T}\right)_P dT+\left(\frac{\partial S_1}{\partial p}\right)_T dP=\left(\frac{\partial S_2}{\partial T}\right)_p dT+\left(\frac{\partial S_2}{\partial p}\right)_T dP \qquad (1)$$

Desde que $C_p = T\,(\partial S/\partial T)_P$, e usando a relação termodinâmica de Maxwell $(\partial S/\partial P)_T=-(\partial V/\partial T)_P$, onde $\alpha_T= 1/V(\partial V/\partial T)_P$, obtém-se finalmente uma expressão para a variação na transição em função da pressão:

$$\frac{dT_g}{dP}=\frac{TV(\alpha_{T_2}-\alpha_{T_1})}{(C_{P_2}-C_{P_1})}=TV\frac{\Delta\alpha_T}{\Delta C_P} \qquad (2)$$

Similarmente, considerando-se a continuidade do volume na transição, a relação envolvendo a compressibilidade $\kappa_T=-(\partial \ln V/\partial p)_T$ é obtida.

$$\frac{dT_g}{dP} = \frac{\Delta\kappa_T}{\Delta\alpha_T} \tag{3}$$

De acordo com dados de literatura, comparando os valores medidos das descontinuidades $\Delta\alpha_T$, $\Delta C_p$, $\Delta\kappa_T$ na temperatura de transição vítrea observa-se que geralmente obedecem a eq. 2 dentro do erro experimental [6,30], mas esses valores para $\Delta\kappa_T/\Delta\alpha_T$ geralmente são apreciavelmente maiores que aqueles de $dT_g/dP$.

Embora a temperatura de transição vítrea seja amplamente aceita como transição de segunda ordem, essa observação indica que há também limitações nesse esquema de classificação do fenômeno [6]. De qualquer modo, neste trabalho o fenômeno de transição vítrea seguirá a classificação usual da literatura, de transição de segunda ordem.

### *2.2.2 Teorias associadas à transição vítrea*

Várias teorias têm sido desenvolvidas para explicar a base molecular do fenômeno de transição vítrea. O objetivo maior dessas teorias é o de permitir uma melhor predição da influência da composição do material e ou o efeito plastificante de pequenas moléculas. Serão discutidos a seguir, os modelos que situam a descrição do fenômeno de transição vítrea em torno de aspectos cinéticos (Kauzmann), termodinâmicos (Gibbs) e de volume livre (Cohen, Turnbull).

#### *2.2.2.1 O modelo cinético de Kauzmann*

Ao se analisar novamente a FIG. 1, tomando por base a curva correspondente ao estado líquido, a partir do ponto c, observa-se que quanto mais lento é o resfriamento, menor é a temperatura de transição vítrea correspondente. Se esse resfriamento fosse suficientemente lento, poderia ocorrer em um dado momento, a situação em que o líquido super-resfriado estaria em uma condição de volume menor que o correspondente cristalino, em uma mesma temperatura. Essa situação é extensiva a outras propriedades do sistema, como a entropia. A essa situação denominou-se de paradoxo de Kauzmann [34], ou seja, a entropia de um líquido super-resfriado passaria a ser menor que a de um sólido cristalino à mesma temperatura.

Para superar esse paradoxo, Kauzmann propôs o modelo cinético para a transição vítrea, em que o estado vítreo possui similaridades com o estado líquido, e considera-se que há alguns graus de liberdade congelados que não contribuem para os valores de funções de estado, como por exemplo, a entropia. Na faixa de temperatura de transição vítrea, os movimentos moleculares se tornam muito lentos e, dentro da escala de tempo experimental, as propriedades permanecem praticamente constantes.

Segundo proposto por Kauzmann, alguns graus de liberdade que se tornam congelados no estado vítreo, deixam de contribuir para os valores das propriedades termodinâmicas do sistema. Estes são chamados graus de liberdade configuracionais e não envolvem mudanças nas posições (momento) das moléculas.

Uma vez que há uma relação entre a escala de tempo do experimento e a velocidade com que o sistema pode relaxar, o valor medido da temperatura de transição vítrea pode variar em função das diferentes técnicas e/ou condições experimentais utilizadas. Portanto, as condições experimentais em que foram medidas as $T_g$, sempre precisam ser especificadas.

### *2.2.2.2 O modelo termodinâmico de Gibbs e DiMarzio*

Gibbs e DiMarzio [35] se propuseram a resolver o paradoxo de Kauzmann assumindo que o estado vítreo é um estado de equilíbrio termodinâmico, existindo dessa forma, uma transição vítrea termodinâmica classificada como de segunda ordem. Estes autores denominaram $T_2$[iv] a temperatura de transição teórica, prevista teoricamente através do modelo estatístico de um retículo, proposto por Meyer-Flory e Huggins [36].

No modelo do retículo trabalha-se com uma distribuição estatística de probabilidades de ocupação de sítios e ao se resfriar o sistema, em condições isobáricas, o número de arranjos possíveis do sistema diminui e, conseqüentemente, o número de possibilidades de alterações configuracionais também se reduz. O ponto em que a entropia total configuracional atinge o valor zero define a temperatura de transição vítrea termodinâmica $T_2$.

[iv] $T_2$ não deve ser confundido com o tempo de relaxação $T_2$, a ser dicutido nas seções referentes à RMN.

Nestes trabalhos, a existência de uma temperatura de transição vítrea prevista teoricamente, cuja natureza seria termodinâmica, não implica que o valor experimental medido coincida com o mesmo. Em muitos casos, a formação do estado de equilíbrio pode ser um processo lento, mais lento que as medidas experimentais e, portanto, o valor da $T_g$ medido poderá ser diferente de $T_2$.

Nesse sentido, a natureza cinética do processo experimental da transição vítrea foi reconhecida considerando que a $T_2$ pode diferir da $T_g$ medida experimentalmente. Entretanto, $T_2$ poderia coincidir com a $T_g$ se o experimento fosse realizado de forma a satisfazer as condições de equilíbrio de cada sistema.

De acordo com este modelo, o estado vítreo pode ser considerado como o quarto estado da matéria no caso de substâncias que não se cristalizam, ou como um estado metaestável no caso de substâncias que, por razões cinéticas não se cristalizaram dentro da escala experimental observada.

### *2.2.2.3 Teoria do volume livre, de Cohen e Turnbull*

Trata-se de teoria bastante difundida, que descreve certos aspectos da transição vítrea [37], e que tem similaridades com as teorias de relaxação. O modelo foi originalmente desenvolvido para fluidos assumindo-os como compostos por esferas rígidas que oscilam termicamente nos seus próprios sítios. Supõe-se que o volume total do líquido é dividido em duas partes: a primeira, ocupada pelas esferas ou moléculas ($V_{oc}$), e a segunda, na qual as moléculas tem liberdade para mover-se.

O volume da segunda parte, permite movimento de difusão e é chamado de volume livre, $V_f$. Aceita-se que o transporte molecular pode ocorrer apenas quando os espaços têm volume maior que um determinado *volume crítico*. O volume livre é compartilhado de modo comum; em outras palavras, é dividido em buracos ou vazios de tamanhos e posições variadas pelo movimento aleatório das moléculas e nenhuma energia livre local é necessária para a redistribuição do volume livre. À medida que a temperatura do líquido diminui, espera-se que tanto o volume ocupado quanto o volume

livre contraiam-se. A diferença essencial entre vidro e líquido neste modelo é, portanto, que:

(a) o volume livre é independente da temperatura;
(b) a redistribuição do volume livre não mais ocorre, ou seja, o volume livre é congelado nas locações ocupadas quando o vidro é formado.

A idéia de que a transição vítrea ocorra quando o volume livre decresce abaixo de um valor crítico foi primeiramente proposta por Fox e Flory [36]. É também a base de expressões empíricas como a de Williams-Landel-Ferry (WLF), que será discutida nos tópicos seguintes.

## *2.3-Temperatura de transição vítrea em materiais alimentícios*

Embora bastante estudado, o atual conhecimento sobre temperatura de transição vítrea é limitado; muito pouco se sabe sobre aspectos teóricos envolvidos [6,30]. O fenômeno é bastante estudado em materiais não alimentícios tais como vidros inorgânicos de silicatos, boratos, fluoretos, polímeros naturais e sintéticos.

Do que já se sabe acerca de produtos alimentícios, parece, entretanto, que as principais características são similares [38]. O que distingue materiais alimentícios de outros materiais é, por um lado, a freqüente heterogeneidade em sua composição química e, por outro, o papel predominante da água como agente plastificante.

O primeiro trabalho dedicado à determinação da temperatura de transição vítrea em alimentos foi publicado no final da década de 50 do século passado [39], mas somente três décadas mais tarde, os estudos nessa área tornaram-se expressivos. A publicação dos trabalhos de Slade e Levine [7], que levantaram a hipótese relevante de que materiais alimentícios estocados abaixo da $T_g$ estariam menos sujeitos às reações de degradação do que aqueles estocados acima da $T_g$.

Desde então, foi crescente o número de trabalhos publicados a respeito da $T_g$ em alimentos [40], tendo sido estudadas centenas de formulações modelo, desde soluções

de sacarose e frutose [69] aos mais diversos tipos de vitaminas, materiais amiláceos [41], culturas lácteas[42] e frutas processadas [43,44].

Em geral, essa hipótese tem se mostrado verdadeira, e a $T_g$ é um parâmetro relevante para a conservação de vários materiais alimentícios. Entretanto, em alguns casos, essa relação não é válida, a exemplo da permeação de moléculas de oxigênio [45] e oxidação [46] que continua ocorrendo em alimentos ricos em gorduras, mesmo quando armazenados abaixo da $T_g$.

A calorimetria exploratória diferencial foi, por muito tempo, a principal técnica usada para o estudo dessas transições de segunda ordem. Atualmente, outras técnicas têm sido empregadas para o estudo e a determinação da temperatura de transição vítrea em materiais alimentícios. Dentre elas, estão as calorimétricas e espectroscópicas (RMN $^1$H, EPR) [96,102]. Todas essas técnicas são empregadas neste trabalho e seus princípios são discutidos nos tópicos seguintes, após uma discussão sobre a transição vítrea em vidros orgânicos. Na próxima seção, a discussão a respeito da análise de transição vítrea por DSC será antecipada devido à sua importância para a definição dos objetivos do trabalho.

## *2.4 - Determinação da temperatura de transição vítrea e a ocorrência de outros eventos térmicos em vidros orgânicos (alimentos)*

Calorimetria exploratória diferencial é a técnica mais utilizada para a investigação da transição vítrea em vidros orgânicos e, em especial, materiais alimentícios. A identificação do fenômeno de transição vítrea, em uma curva térmica convencional típica (FIG. 3) é feita pela observação de uma descontinuidade (variação da linha base) na curva obtida em DSC. Desse modo, a transição é caracterizada por uma variação de capacidade calorífica $\Delta C_p$.

Quando $\Delta C_p$ é pouco intenso, a identificação da ocorrência dessa descontinuidade pode ser auxiliada pela aplicação de uma derivada à curva. O assinalamento da temperatura de transição vítrea pode ser feito definindo-se um dos pontos da faixa de transição (início, meio ou final) e então, atribui-se àquele valor como

o da $T_g$ conforme indicado na FIG. 3. No caso de uma derivada, a máxima observada corresponde ao ponto médio da transição vítrea.

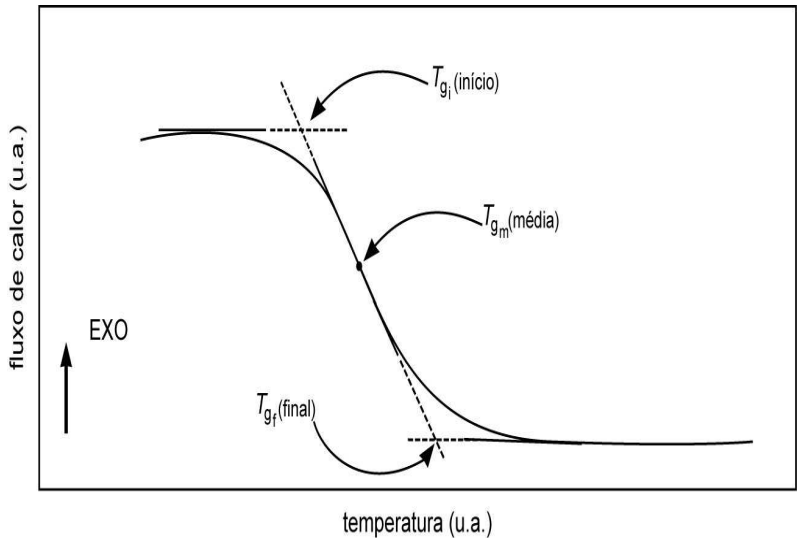



Figura 3: Aspecto típico de uma curva DSC convencional (aquecimento) em que é exibida a transição vítrea[v], $T_g$ e as formas de assinalamento desse fenômeno.

A observação dessa mudança de linha base é clara em parte dos materiais vítreos, cerâmicos e poliméricos, mas não encontra a mesma facilidade quando se trata de muitos materiais que possuem $H_2O$ em sua composição. A presença de agentes plastificantes, como a $H_2O$ (% água >~50%) reduz o valor da capacidade calorífica das $T_g$ dificultando sua determinação, conforme observado em trabalhos com soluções de açúcares [47] e corantes caramelo [25]**.**

O fato de ocorrer fusão (máximo em $T_m$) associada à presença de água, logo após a possível transição vítrea (*A*) na FIG. 4, é um fator que dificulta a localização da transição em materiais muito hidratados, visto que nem sempre é possível observar o prolongamento da linha base. Outros eventos térmicos típicos podem ser observados na mesma figura.

Além disso, a fusão é normalmente precedida por uma descontinuidade, de maior intensidade que a suposta $T_g$, identificada no gráfico por *B* e usualmente denominada antefusão (*antemelting*) [48], que poderia ser outra $T_g$, ou um processo de relaxação associado à $T_g$ [49]. Outra relaxação endotérmica entre as duas transições pode ser também observada.

[v] Em todo o texto, u.a. representará a expressão 'unidade arbitrária"

Com o objetivo de facilitar a discussão, o assinalamento dos eventos térmicos que precedem a fusão nos materiais hidratados estudados neste trabalho, a terminologia que será utilizada, doravante neste texto, será aquela indicada à FIG. 4, ou seja, *A* para o evento térmico de mais baixa temperatura e *B* para o evento térmico que antecede a fusão do gelo. A questão da ocorrência deste evento térmico duplo é discutida na próxima seção.

Dependendo da taxa de resfriamento da amostra e teor de água, observa-se a ocorrência de exoterma entre a $T_g$ e a $T_m$ conforme indicado na FIG. 5. Essa transição origina-se quando o resfriamento muito rápido da amostra não permite uma completa cristalização da água. Atualmente é aceito o fato de que essa água não cristalizada esteja no estado vítreo ou na condição de água não-congelada [50] (*unfrozen water*). A exoterma ou pico de devitrificação $T_d$ surge da re-organização da água não-congelada durante o aquecimento do material [51].

Nos casos em que o vidro exibe devitrificação, procura-se torná-lo o mais concentrado possível a fim de obter temperatura de transição vítrea maximamente concentrada por congelamento (*maximally freeze concentrated glass transition*). Isso pode ser feito por meio de recozimento das amostras, que leva à cristalização da água contida no material e, consequentemente, aumentando a concentração de soluto no vidro. A $T_g$ obtida desse modo é assinalada como $T_g'$. $T_m'$ é a temperatura de fusão resultante quando a temperatura de transição vítrea do vidro maximamente concentrado por congelamento $T_g'$, é obtida.

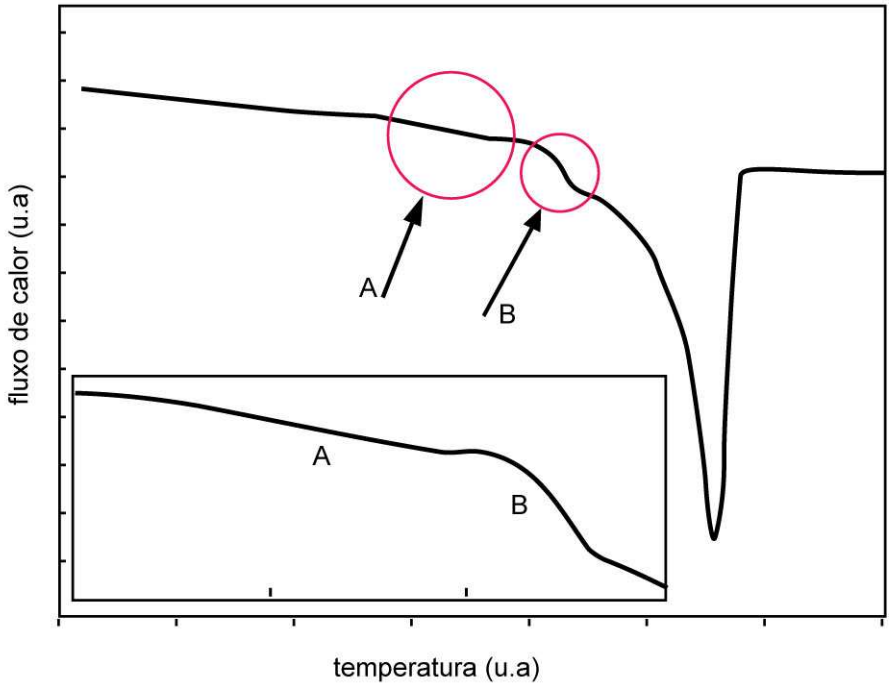



Figura. 4: Esquema de uma curva DSC de vidro orgânico hidratado (~50% $H_2O$), na região de $T_g$. Os eventos térmicos serão indicados como *A* (temperatura mais baixa) e *B* (evento de mais alta temperatura)

A ocorrência do fenômeno de devitrificação causa uma redução no valor da $T_g$ e, para evitá-la, é necessário realizar um prévio recozimento do material (*annealing*), entre a $T_g$ e a $T_m$, para que a concentração máxima de cristais de gelo seja obtida, obtendo-se desse modo a $T_g'$. Ao máximo do pico de devitrificação atribui-se $T_d$ (temperatura de devitrificação) e ao valor inicial do pico de cristalização, $T_c$ (temperatura de cristalização). Esses parâmetros são indicados na FIG. 5.

Importante salientar que a ocorrência de devitrificação é um fenômeno indesejável para muitos vidros inorgânicos, uma vez que prejudica, por exemplo, a transparência do material. Em muitos outros casos, a cristalização controlada é desejável, caso dos materiais vitrocerâmicos, em que sua ocorrência leva a um aumento expressivo na resistência desse tipo de material. De qualquer modo a ocorrência de devitrificação está sempre associada à instabilidade do material, com relação à sua capacidade de manter-se no estado vítreo.

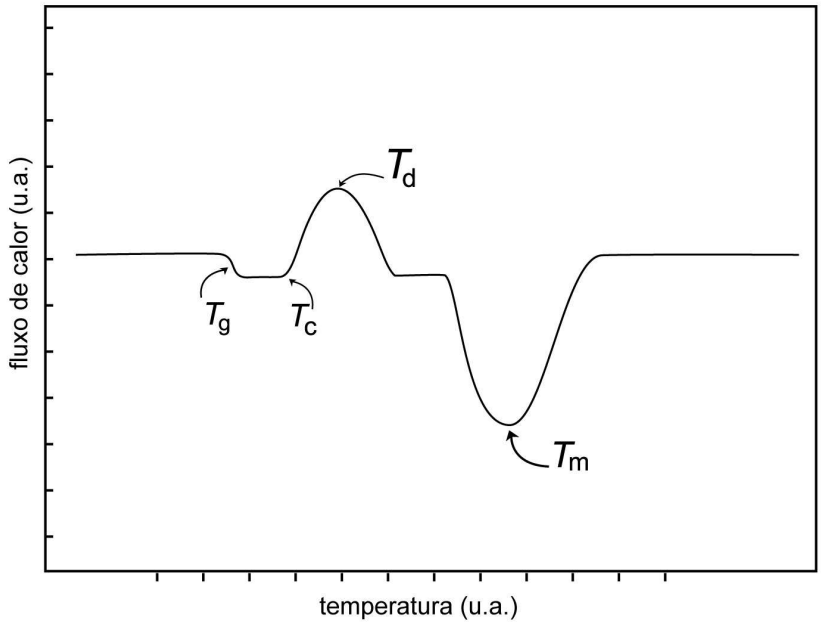



Figura. 5. Esquema de curva DSC para material hidratado, indicando ocorrência de transição vítrea ($T_g$), temperatura de início de devitrificação ($T_c$), temperatura de pico de devitrificação ($T_d$) e a temperatura de fusão ($T_m$).

O mais importante critério para avaliação da estabilidade de vidros é expresso pela relação:

$$\Delta T = T_c - T_g \tag{4}$$

Alternativamente, Saad e Poulain [52] propuseram o critério de estabilidade de formação de vidros, chamada "*weighted thermal stability range*", expresso na forma [53]:

$$\Delta T' = \frac{(T_c - T_g)}{T_g} \tag{5}$$

onde $T_c$ é a temperatura de início de devitrificação e $T_g$ a temperatura de transição vítrea. Quanto maior o valor, mais estável contra a devitrificação é o vidro.

A instabilidade de vidros significa que, para garantir a formação de vidro, o processo de resfriamento precisa ser mais rápido. Baixas taxas de resfriamento levam em geral, à cristalização do solvente. Por sua importância, a contribuição da taxa de resfriamento é incluída em outro critério de avaliação da estabilidade de vidros e é expresso pela razão da diferença entre as temperaturas de devitrificação e de transição vítrea e taxa crítica de resfriamento $R_C$. $R_C$ é definido como a menor taxa de

resfriamento à qual um vidro pode ser submetido sem sofrer cristalização durante o resfriamento a partir de seu estado líquido.

A ocorrência de relaxações à temperatura acima da transição vítrea é outro fator que dificulta o assinalamento de eventos térmicos próximos à $T_g$ em curvas DSC, podendo ser confundido com uma devitrificação ou uma segunda $T_g$, em alguns casos. Efeitos de relaxação em curvas de DSC convencional são em geral, sensíveis à alteração nas taxas de aquecimento, resfriamento.

Além da presença de água, a diminuta massa das amostras empregadas em DSC (em geral entre 2 e 10 mg) pode ser um fator que contribua para que o sinal associado à possível transição vítrea seja considerado pouco intenso, fazendo com que sua determinação nesses materiais seja ainda tema de intensas controvérsias [54,55]. Nesses casos, estudos preliminares para determinação da massa ideal de amostras ou mesmo o uso de outras técnicas podem contribuir para confirmar a ocorrência de eventos térmicos de baixa energia, a exemplo das transições térmicas duplas.

## *2.5 – Fenômenos associados à transição vítrea em vidros orgânicos: possíveis explicações para os eventos térmicos duplos em materiais hidratados*

A ocorrência de eventos térmicos duplos A e B, em formadores orgânicos de vidros hidratados, tem sido, por mais de trinta anos, tema freqüente de investigação na literatura. Tentativas de explicar a ocorrência do evento térmico duplo têm sido propostas por vários grupos de pesquisa, a fim de esclarecer sua origem. Considerando a nomenclatura apresentada à FIG. 4, tem sido proposto que:

(I) O evento térmico de temperatura mais alta (B) é a transição vítrea da fase maximamente concentrada por congelamento da solução, $T_g'$ e o evento térmico de baixa temperatura (A) (vidro parcial) é usualmente ignorado [56,13];

(II) O evento de baixa temperatura (A) representa a $T_g$ enquanto aquele de mais alta temperatura (B) não é uma transição vítrea, mas apenas o ponto de início da fusão de gelo (transição de primeira ordem), que

ocorre logo após a transição vítrea e conhecida como antefusão (*antemelting*) [57];

(III) A transição vítrea está próxima à transição de temperatura mais alta (B) ou entre os dois eventos térmicos [58,59];

(IV) A transição vítrea é uma combinação entre dois eventos térmicos, fusão e $T_g$, chamado ponto de amolecimento (*softening point*) [60] e;

(V) A transição de mais alta temperatura é o início da dissolução do gelo [61,62,63].

As primeiras interpretações acerca da questão foram baseadas em experimentos de DSC convencional. Recentemente, outras estratégias e técnicas têm sido usadas.

Andersen e outros [64] utilizaram experimentos de recozimento e de DSC alternado para estudar o comportamento térmico de solução aquosa de ácido ascórbico (36,7%). As curvas obtidas apresentaram uma seqüência de eventos térmicos assinalados como transição vítrea de baixa temperatura (A), seguida por devitrificação, por outro evento térmico (relaxação entálpica) e finalmente, a fusão do gelo.

Usando DSC modulado para investigar a origem desses eventos térmicos múltiplos A e B em soluções de 10% de sacarose, Chang e outros [65] concluíram que a transição de mais baixa temperatura A, corresponde à fase plastificada por água não congelada, acima do equilíbrio. Concluíram também que o evento térmico à temperatura mais alta B, corresponde à transição vítrea na fase totalmente concentrada por congelamento da fase[vi] rica em soluto, discordando das hipóteses (I-III) acima.

Pyne e outros [66] utilizaram experimentos de recozimento (*annealing*) e obtiveram conclusões similares. Estudando soluções de 45% trealose, observaram dois eventos térmicos a −45 e −31°C. Concluíram que estas duas transições correspondem à dupla transição vítrea, associadas a duas "populações" ou distribuições no material: uma, na fase concentrada por congelamento durante o resfriamento rápido ou "fora do equilíbrio", que corresponde a um vidro mais concentrado em soluto e a outra, que contém uma quantidade maior de água. Concluíram ainda que a transição de alta temperatura (B) se sobrepõe ao início da fusão do gelo.

[vi] A palavra "fase", neste contexto, corresponde a uma das frações do material resfriado.

Transições vítreas duplas são observadas frequentemente em vidros inorgânicos. Para alguns exemplos na literatura, o assinalamento pode ser mais simples, quando eventos térmicos próximos à transição vítrea, tais como os picos de cristalização, devitrificação e endotermas de fusão ocorrem de modo claro. Exemplos são os vidros borato de chumbo [67], cuja curva DTA é apresentada à FIG. 6 e vidros de $PbO$-$SiO_2$-$TiO_2$-$Al_2O_3$ [68], cuja curva DTA é apresentada à FIG. 7.

Comparando os procedimentos adotados na literatura, verifica-se que a ocorrência desses eventos térmicos duplos, tem sido estudada por calorimetria sobre um número restrito de amostras, não sendo possível observar como a variação na concentração de $H_2O$ afeta a observação desses eventos térmicos.

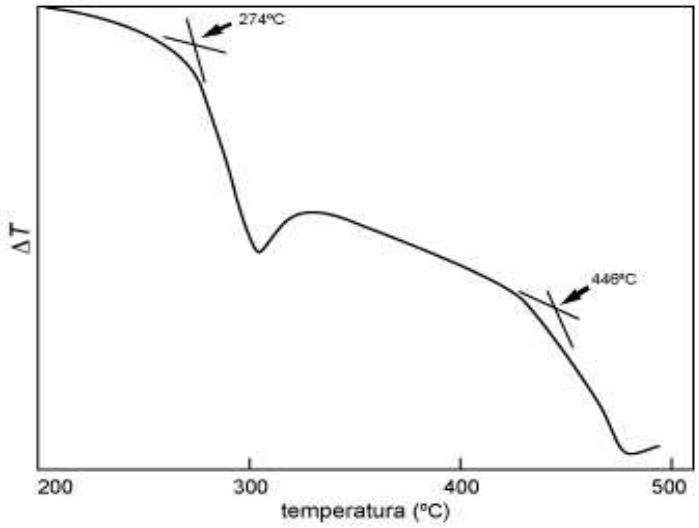



Figura 6. Transição vítrea dupla em DTA típico de vidro de borato de chumbo com 20% mol de PbO [67].

A variação da concentração de água nas amostras de líquidos formadores de vidros orgânicos hidratados, submetida ao estudo calorimétrico, pode contribuir para a melhor compreensão a respeito da formação desses fenômenos térmicos duplos, sua relação com a existência de dupla transição vítrea nesses materiais, bem como sua origem. O efeito plastificante da água, relevante no comportamento desses materiais é discutido a seguir.

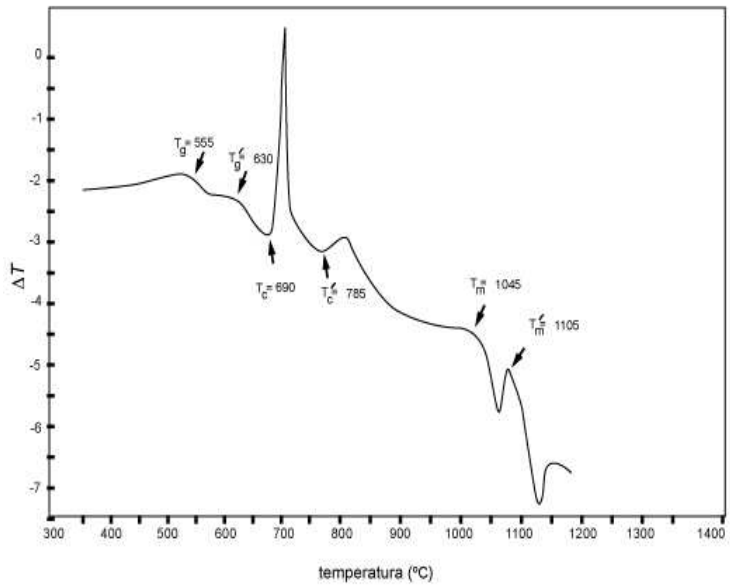



Figura 7. DTA típico de vidro de silicato de chumbo, com eventos térmicos duplos (transição vítrea, devitrificação e fusão) [68].

## *2.6 - O efeito plastificante da água e diagramas de estado*

Do ponto de vista das propriedades mecânicas, a água é um dos mais importantes componentes dos alimentos e tem forte ação plastificante nos mesmos, causando diminuição da viscosidade. Consequentemente, o valor da $T_g$ de uma dada solução cujo soluto é hidrofílico, é sensível à quantidade de água na mesma. A relação entre transição vítrea e a concentração de água ajusta-se a uma função não linear, conforme descrito pela equação de Gordon-Taylor[69]:

$$T_g = \frac{c_s T_{g_s} + k c_w T_{g_w}}{c_s + k c_w} \tag{6}$$

sendo $c_s$ e $c_w$ as frações em massa da substância e da água, $T_g$ e $T_{gw}$ são os valores de $T_g$, do soluto e da água, respectivamente e k uma constante.

Esta expressão é especialmente útil para a construção de diagramas de estado e tem amplo emprego na indústria alimentícia e farmacêutica para este fim específico. Com base no diagrama de estado de um material e dados suplementares de temperatura de fusão da água em soluções com concentração variada, pode-se determinar a temperatura de transição vítrea de material totalmente concentrado por congelamento ($T_g$') e a respectiva concentração desse material ($C_g$').

Embora de amplo emprego na determinação de transição vítrea de materiais alimentícios, o uso dessa equação pode ser questionável, pelo fato de que a ocorrência de transição vítrea em água pura não ser ainda uma questão isenta de controvérsias [70]. O valor de ~ $-135^{o}$C [71] é um dos mais freqüentes nesses cálculos.

## *2.7 – Modelos descritivos do comportamento termo-reológico de fluidos*

Do ponto de vista industrial, o uso de modelos descrevendo a variação de propriedades físicas na faixa de transição vítrea contribui para viabilizar a utilização prática desse parâmetro relevante. Os modelos atualmente em uso, foram obtidos originalmente a partir de observações experimentais, embora existam algumas propostas que atribuam significado físico aos parâmetros desses modelos [38].

A temperaturas acima da $T_g$, a dependência da temperatura com a viscosidade de líquidos super-resfriados não pode ser descrita por uma relação de Arrhenius [72]. Várias expressões foram propostas, sendo as mais populares as de Vogel-Fulcher-Tammann [150,151] (VFT) e a de Williams-Landel-Ferry (WLF), que descrevem a dependência das propriedades dinâmicas acima da temperatura de transição vítrea. A equação de VFT pode ser apresentada na forma:

$$\ln\eta = A + \left(\frac{B}{T - T_0}\right) \tag{7}$$

em que $\eta$ é a viscosidade, A, B e $T_0$ são constantes e $T$ é a temperatura.

A equação de Vogel-Fulcher-Tamman é amplamente empregada para a descrição do comportamento reológico de padrões de vidros inorgânicos em uma faixa superior a 10 ordens de magnitude [73], sendo adotada pelo NIST[vii] para a predição de viscosidade de formulações distintas de vidros. Foi obtida de modo independente por Hans Vogel (que indicou sua utilidade em óleos, água e mercúrio), Gordon Fulcher (vidros inorgânicos) [74] e Tammann e Hesse (que identificaram a validade da relação para fluidos orgânicos).

[vii] Sigla para National Institute of Standards, EUA.

Do mesmo modo, a equação de Williams-Landel-Ferry (WLF) (eq.6), originalmente aplicada a polímeros, tem mostrado sua utilidade na descrição do comportamento da viscosidade em função da temperatura de vidros orgânicos tais como soluções de carboidratos [24,53] e muitos outros materiais alimentícios. A equação de WLF pode ser representada por:

$$Log\frac{\eta}{\eta_g} = \frac{C_1(T - T_g)}{C_2 + (T - T_g)} \tag{8}$$

em que $T_g$ é a temperatura de transição vítrea, $\eta$ é a viscosidade à temperatura $T$, $\eta_g$ é a viscosidade da amostra na $T_g$ e $C_1$ e $C_2$ são as constantes universais de WLF. Inicialmente os valores mais aceitos para essas constantes eram $C_1$(−17,4), e $C_2$ (51,6 K). Entretanto, atualmente se aceita que $C_1$ e $C_2$ oscilam em torno desses valores universais, dependendo do material considerado.

As variações de $C_2$ e de ***B*** correspondem à classificação proposta por Angell, já discutida, de líquidos forte-frágeis, e varia de acordo com a variação de suas propriedades na faixa de transição vítrea. O parâmetro de fragilidade, m, foi introduzido para diferenciar sistemas frágeis (100<m<200), muito sensíveis à variação na temperatura acima da $T_g$ de líquidos fortes (16<m<100) que são menos influenciados pela $T_g$. Por definição, m é a inclinação da curva de viscosidade de Arrhenius quando a temperatura aproxima-se da $T_g$ partindo de temperaturas mais altas, sendo $E_a$ a energia de ativação aparente (kJ.mol$^{-1}$):

$$m = \frac{E_a}{\log_{10}(RT_g)} \tag{9}$$

sendo que o parâmetro *m* pode ser calculado com os coeficientes de VFT e WLF:

$$m = \frac{C_1^2}{B + C_1} \tag{10}$$

Dos poucos dados experimentais disponíveis, açúcares simples (glicose, frutose, sacarose) podem ser classificados como materiais frágeis. A importância do parâmetro m para alimentos reside no fato de que este expressa a sensibilidade do material frente a variações de temperatura.

Voltando aos modelos, obtendo-se os dados de viscosidade em função da temperatura e assumindo que à $T_g$, o valor de viscosidade seja de $10^{12}$ Pa.s, pode-se

obter o valor de temperatura de transição vítrea. Na FIG. 8 é apresentado o diagrama ilustrando as validades de cada modelo para determinados valores de viscosidade [75].

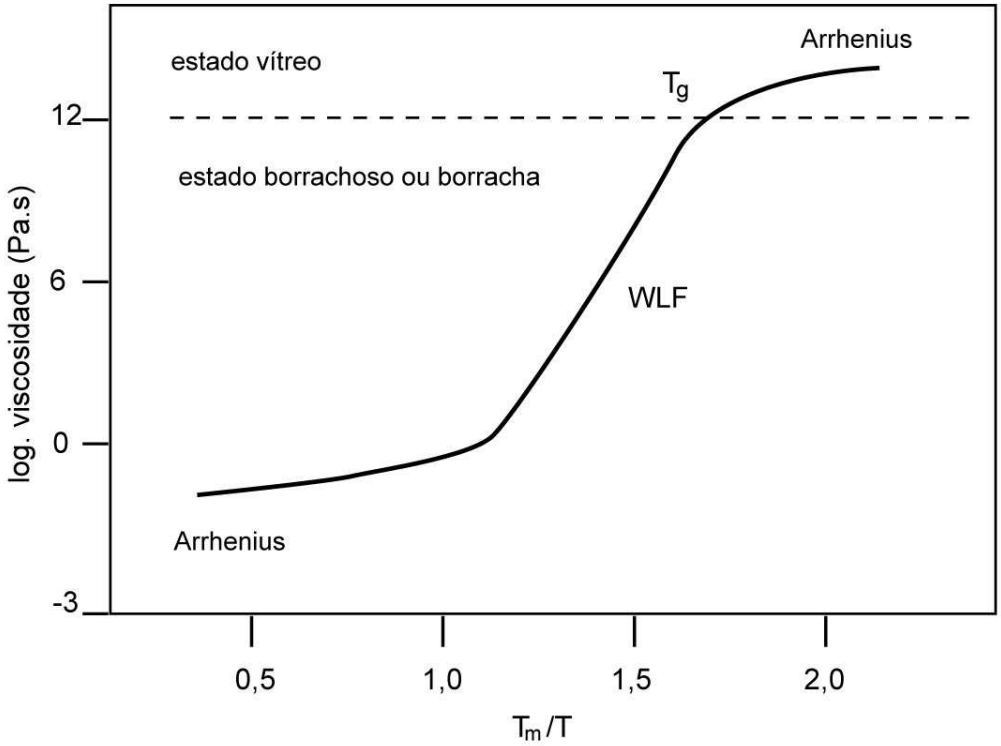



Figura. 8: Esquema indicativo da aplicabilidade de modelos de Arrhenius e WLF em função da temperatura e viscosidade (adaptado de Slade e Levine)[75].

## *2.7.1 – A transição vítrea em corantes caramelo*

Os primeiros experimentos de DSC convencional para esse material indicaram a existência do evento térmico duplo A/B para esse material e, considerou-se a mudança na linha base às temperaturas em torno de –54$^{o}$C (A), como a transição vítrea. Entretanto, devido ao pequeno valor de energia envolvida na variação da linha base ($\Delta C_p$) e também devido à ocorrência de outros eventos térmicos (B) cuja natureza não foi identificada, verificou-se a necessidade de continuação desses estudos [25].

Como anteriormente discutido, o caramelo e outras amostras com maior concentração de água exibem, em experimentos DSC, eventos térmicos cujo assinalamento é mais complexo que em amostras menos hidratadas. Para efeito de comparação, outras amostras foram escolhidas para estudo, ou seja, amostra de mel e

frutose, cujas propriedades podem indicar se o comportamento térmico independe do material ou se é característico desse estado da matéria.

### *2.7.2 - A transição vítrea em mel*

O estudo do fenômeno de transição vítrea em méis e o reconhecimento de sua importância são recentes. Em um dos primeiros trabalhos sobre o assunto, investigou-se a relação entre o fenômeno de transição vítrea e a pureza do mel. Nesse estudo, identificou-se uma diferença entre o valor de $T_g$ de amostras nas quais xaropes industriais de frutose/glicose foram adicionados e os obtidos das amostras originais de mel. Identificou-se que se poderia utilizar tal diferença como parâmetro para verificar sua pureza desses formadores de vidros [76].

Em outros estudos, também recentes, a transição vítrea foi determinada por DSC e por métodos reológicos [77]. Os valores da temperatura de transição vítrea para o mel nesses estudos variaram entre −61 e −39$^o$C [57, 58,59]. O conhecimento da transição vítrea nesses materiais poderia, posteriormente, viabilizar o delineamento de procedimento visando à extensão de sua vida de prateleira.

O estudo de amostras hidratadas de mel é menos freqüente. Rubin e colaboradores [78] usaram como sistema modelo uma solução formada por mel com mais 50% de água, em que foram observados os eventos térmicos mencionados anteriormente. Os dois eventos térmicos foram assinalados como transições vítreas, contradizendo parte considerável dos dados de literatura [59,61,64,56].

Isso reforça a necessidade do estudo de soluções de mel e água, com uma variação maior no teor de água, que poderia permitir melhor compreensão sobre a formação de eventos térmicos nesses formadores de vidros.

### *2.7.3 - A transição vítrea em frutose*

O comportamento térmico de amostras de frutose foi estudado por alguns grupos e em geral, possui valores de transição vítrea bastante similares aos de outros açúcares de baixa massa molecular, a exemplo da glicose. Ablett e colaboradores [79] publicaram um estudo em que foram realizados experimentos de calorimetria exploratória diferencial em diversas soluções de frutose, empregando-se taxas de 10°C/min. Valores de transição vítrea para soluções de frutose, obtidos em alguns destes trabalhos, em uma faixa ampla de concentrações de $H_2O$ são apresentados na TAB. 1.

TABELA 1. Valores de transição vítrea para soluções de frutose em água, obtidos à taxa de 10°C/min.

| ***Solução Frutose (%$H_2O$)*** | ***$T_g$ (°C)*** |
|---|---|
| 39,8 | −85 |
| 35 | −78 |
| 30 | −69 |
| 26 | −63 |
| 24 | −57 |
| 21,5 | −50 |
| 19,9 | −46 |
| 18 | −38 |
| 10 | −17 |
| 5 | +4 |
| 0 | +10 |

## *2.8 - Métodos de determinação da $T_g$*

A técnica mais empregada na determinação da temperatura de transição vítrea em materiais alimentícios é a calorimetria exploratória diferencial (DSC) [80]. Porém nos últimos anos, métodos alternativos para determinação da temperatura de transição vítrea têm sido utilizados. Dentre esses métodos, encontram-se as técnicas de

ressonância magnética nuclear [81], infravermelho [82,83], ressonância magnética de spin ou paramagnética [8], métodos reológicos, dentre outros. O uso dessas técnicas tem permitido estudar outros aspectos a respeito dessa transição, sendo possível obter também, informações acerca da mobilidade molecular na faixa de temperatura correspondente à transição vítrea.

Nas seções seguintes serão apresentados os princípios gerais das técnicas de análise reológica, calorimetria exploratória diferencial (DSC), ressonância magnética nuclear (RMN) e ressonância paramagnética eletrônica (RPE). Ao final de cada seção será abordada a aplicação específica de cada técnica ao estudo da temperatura de transição vítrea e mobilidade molecular em materiais (exceto para DSC).

Embora a análise reológica não seja utilizada, neste trabalho, para a determinação direta da $T_g$, conceitos de reologia serão apresentados, devido à sua importância no estudo desse fenômeno.

### *2.8.1 – Reologia: conceitos básicos*

A maneira como se comporta um material, quando submetido a forças externas está intimamente relacionada com sua estrutura interna. Materiais em que a energia de deformação é totalmente recuperada, quando desaparece a ação da força que a originou, são chamados sólidos elásticos ideais ou corpos de Hooke. Aqueles que se deformam irreversivelmente (fluem) são chamados fluidos viscosos ideais. Nesses, a energia de deformação se dissipa no líquido e no seu entorno sob a forma de calor, não podendo ser recuperada ao desaparecer a ação da força [84].

Por outro lado, sólidos reais podem ser deformados (fluem) irreversivelmente, quando submetidos à aplicação de força superior a um valor limite, característico para cada material. Do mesmo modo, a maior parte dos líquidos não se comporta de modo ideal, podendo-se situá-los em uma região entre líquidos e sólidos. São, em diferente medida, tanto elásticos quanto viscosos, sendo chamados visco-elásticos [85].

Em 1675, ao estudar a deformação de molas submetidas a esforços mecânicos, Hooke encontrou uma relação que provou ser útil para descrever o comportamento de sólidos ideais [86], como apresentado na FIG. 9, que representa a seção lateral de um sólido. Observa-se que o sólido está fixado sobre a base e que está sendo puxado, com uma força ou tensão σ para a direita. A ação da força aplicada sobre o sólido causou deformação de ângulo γ. A tensão σ aplicada sobre a superfície superior é denominada tensão cisalhante. A relação entre a tensão cisalhante e a deformação pode ser expressa por

$$\sigma = G.(dL/dy) \tag{11}$$

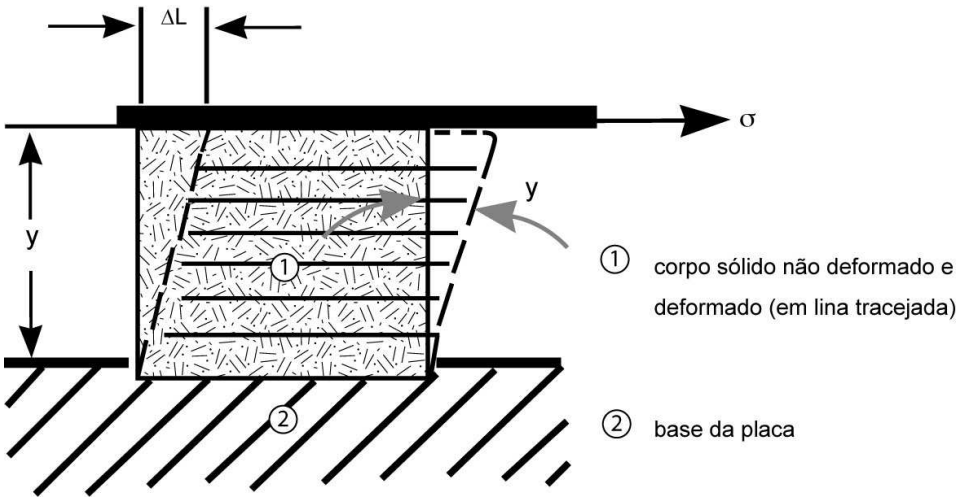



Figura 9 – A deformação de um sólido ideal. A tensão σ é obtida dos parâmetros *G* e da tangente do ângulo de deformação do material [84].

A relação entre dL/dy e σ, G, é o módulo de elasticidade ou módulo de Young, uma constante característica do material e da geometria da amostra. Considerando-se dL/dy como tangente de γ, obtém-se

$$\sigma = G.\tan\gamma \tag{12}$$

que se torna,

$$\sigma = G.\gamma \tag{13}$$

pois a deformação γ de sólidos elásticos é muito pequena. Esta é a chamada Lei de Hooke e as unidades empregadas para σ e G são expressas em $N/m^2$. A tensão de cisalhamento e a deformação são conceitos-chave em Reologia e são necessários para a compreensão do fluxo de fluidos.

### *2.8.1.1 Viscosidade*

Se ao invés de um sólido fosse aplicada uma tensão de cisalhamento a uma quantidade de líquido, confinada entre duas placas planas e paralelas, observar-se-ia que ele se deformaria continuamente com uma determinada taxa, ou seja, fluiria. Se o material flui em camadas ou lâminas, esse comportamento caracteriza o chamado fluxo laminar. Quando estas condições ocorrem, é possível a determinação de alguns parâmetros que descrevem a deformação do material, como ilustrado na FIG. 10 (a,b,c).

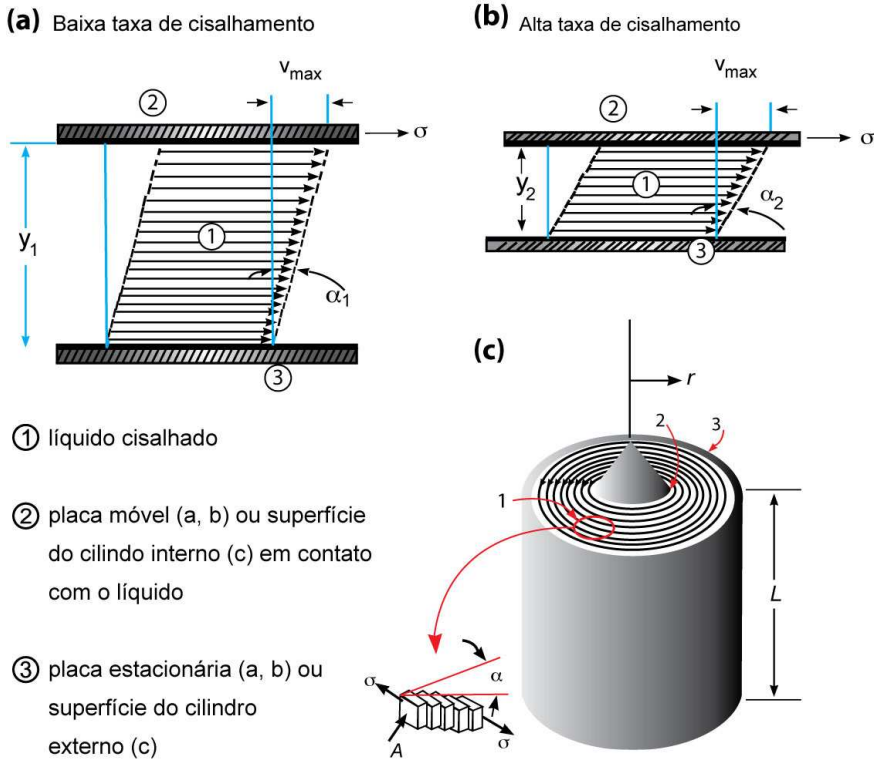



Figura 10: (a,b) Líquido cisalhado entre duas placas planas e paralelas em duas taxas de cisalhamento. (c) O mesmo fenômeno, em cilindros concêntricos (alterada). [84]

Nesta figura, o movimento da placa superior origina uma tensão σ sobre o líquido, que responde com o movimento em camadas. Cada camada movimenta-se com velocidade decrescente em relação à camada adjacente, sendo a maior velocidade correspondente à camada mais próxima da placa 2. A razão entre as diferenças de velocidades de duas camadas adjacentes e a altura de cada camada é o gradiente de velocidade ou taxa de cisalhamento, expresso por dv/dy. Isaac Newton [87] propôs que, em um fluxo laminar, a tensão é proporcional à taxa de cisalhamento, podendo-se relacioná-las pela expressão:

$$\sigma = \eta \frac{dv}{dy} \tag{14}$$

Onde η é a constante de proporcionalidade, chamada de coeficiente de viscosidade. O termo dv/dy pode ser expresso por $\gamma'$ [xi] . A substituição leva a equação 15:

$$\sigma = \eta \times \dot{\gamma} \tag{15}$$

Em que η é a viscosidade (Pa.s), σ á tensão ( $Nm^{-2}$ = Pa) e γ', a taxa de deformação ($s^{-1}$).

A obtenção de valores de viscosidade na faixa de $10^{-2}$ a $10^{4}$ Pa.s pode ser feita com o uso de viscosímetros do tipo de cilindros concêntricos, que reproduzem as mesmas condições de cisalhamento acima discutidas (FIG. 10c). Este tipo de viscosímetro foi utilizado neste trabalho, para caracterização de amostras de mel e corante caramelo.

### *2.8.1.2 - Determinando a temperatura de transição vítrea: uso de equações VFT e WLF*

De posse de dados de viscosidade em função da temperatura, a obtenção de temperatura de transição vítrea pode ser concretizada pelo ajuste das equações do tipo VFT ou WLF, conforme discutido anteriormente**.** Para a obtenção do valor da temperatura de transição vítrea, o cálculo necessita de valores da viscosidade do material à $T_g$, $\eta_g$. O valor mais utilizado para representar a viscosidade na $T_g$ é o de $10^{12}$ Pa.s [88].

Vidros inorgânicos e, mais recentemente, orgânicos tiveram suas temperaturas de transição vítrea determinadas por esse procedimento, incluindo sacarose-frutose-água e soluções em água de glicose, frutose, sorbitol e xilitol. Entretanto, o método necessita valores de viscosidade mais próximos ($\geq 10^{6}$ Pa.s) da $T_g$, para que resultados adequados possam ser obtidos por extrapolação. Nesse trabalho, essa técnica não foi utilizada com essa finalidade específica, mas apenas como procedimento de caracterização das amostras de mel e frutose.

## *2.8.2 – Calorimetria exploratória diferencial – DSC*

O emprego de técnicas de análise térmica consiste, em geral, na medida de uma propriedade do material que muda conforme a variação da temperatura. A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) fornece dados de entalpia de um material quando aquecido ou resfriado a uma determinada taxa. As informações obtidas são úteis para a determinação de pontos de fusão, ebulição, cristalização e transição vítrea, dentre outros eventos térmicos.

Na técnica de DSC, como nas demais técnicas de análise térmica, a taxa de aquecimento ou resfriamento é de grande importância e precisa ser levada em consideração ao se obter resultados. Quando a taxa é muito alta, ocorre um atraso térmico, ou seja, a temperatura da amostra sofrerá variação algum tempo depois da temperatura programada.

Esse gradiente de temperatura sempre deverá existir, principalmente em materiais de baixa condutividade, como polímeros e será maior de acordo com o aumento da taxa de aquecimento ou de resfriamento. Se, por outro lado, a taxa é muito pequena, o material pode sofrer algumas transformações durante a corrida, o que alteraria sua resposta em estágios posteriores. Um material vítreo, por exemplo, aquecido a taxas muito baixas estaria mais sujeito a sofrer um processo de devitrificação a temperaturas acima da $T_g$.

### *2.8.2.1 - O Funcionamento do equipamento*

No método de análise por DSC, quando se trata de equipamento que funciona com o princípio de compensação de potência, o material a ser analisado e uma referência são colocados em aquecedores independentes. No caso de DSC por fluxo de calor, como o de sistema de medida por disco, indicado na FIG. 11, os cadinhos com a amostra e referência são inseridos em um mesmo aquecedor.

---

[xi] Neste texto, $\dot{\gamma}$ e $\gamma$' são utilizados indiferentemente para representar a taxa de cisalhamento.

Quando o forno é aquecido, calor flui através do disco para as amostras. Quando o arranjo é idealmente simétrico (amostras do mesmo tipo), quantidades igualmente grandes de calor fluem para a amostra e para a referência. A diferença de sinal $\Delta T$ originalmente equivale à diferença entre potenciais elétricos, equivale, então, a zero. Se o estado de equilíbrio é perturbado por uma transição da amostra, um sinal diferencial é gerado, o qual é proporcional à diferença entre as taxas de fluxo de calor para a amostra e para a referência [89]:

$$\phi_{FA} - \phi_{FR} \sim -\Delta T \qquad \left(\Delta T = T_A - T_R\right) \tag{16}$$

A medida de sinal ΔT é sempre obtida como voltagem elétrica. Em quase todos os equipamentos DSC de fluxo de calor, a taxa de fluxo de calor $\phi_m$ medida é assinalada pelo equipamento, a este sinal ΔT por meio de um fator de calibração pré-instalado na fábrica:

$$\phi_m = -k'.\Delta T \tag{17}$$

O sinal de saída medido pelo DSC e acessível ao usuário é $\phi_m$ (em μW ou mW).

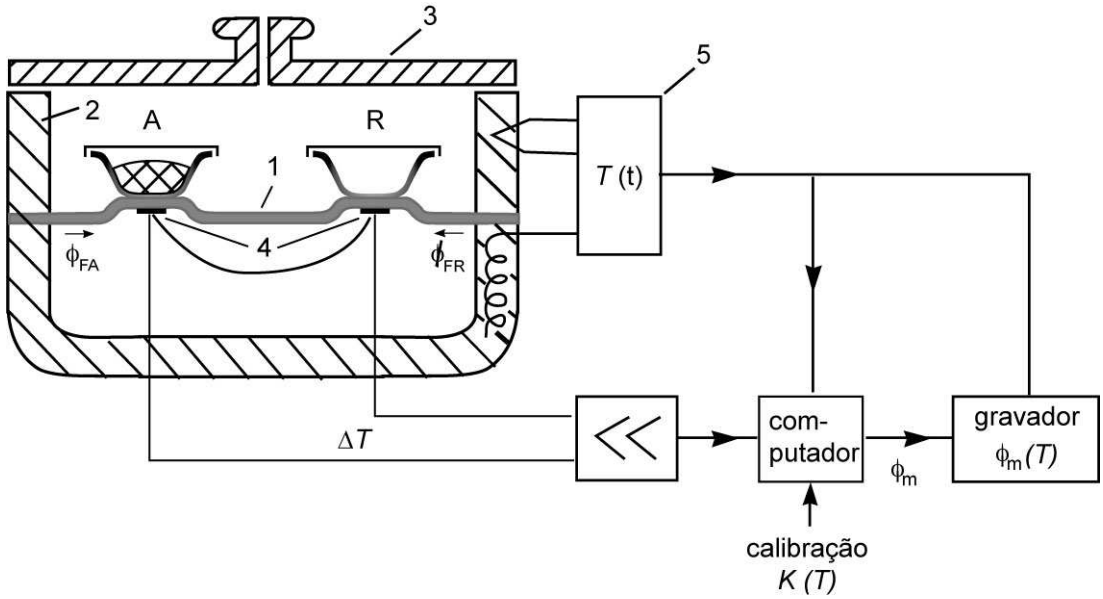



Figura 11. Diagrama esquemático de um equipamento DSC de princípio fluxo de calor, com sistema de medida por disco. 1. Disco, 2 forno, 3 tampa, 4 termopar diferencial, 5 programador e controlador, A cadinho com a amostra, R cadinho de referência vazio, $\phi_{FA}$ fluxo de calor do forno para o cadinho da amostra, $\phi_{FR}$ fluxo de calor do forno para o cadinho da referência, $\phi_m$ valor medida da taxa de fluxo de calor e K, o fator de calibração.

## *2.8.3 - Ressonância magnética (RMN e RPE): princípios básicos*

A exemplo de técnicas de infravermelho e ultravioleta, as ressonâncias magnética nuclear (RMN) e paramagnética (RPE) constituem dois métodos espectroscópicos, cujo princípio baseia-se na interação entre radiação e a matéria, em função do comprimento de onda ($\lambda$) ou da freqüência ($\nu$). Dada identificação da existência da relação entre energia e freqüência, para fótons, expressa pela equação:

$$E = h\nu \tag{18}$$

Onde *h* é a constante de Planck. O conceito de espectroscopia inclui a medição de parâmetros como a energia. Um gráfico de resposta de um material submetido à radiação eletromagnética, em função do comprimento de onda ou da freqüência, constitui o que se chama de espectro do material.

A ressonância magnética nuclear ocorre na faixa de freqüência das ondas de rádio do espectro eletromagnético (MHz) enquanto que a Ressonância Paramagnética Eletrônica ocorre na faixa das microondas do espectro, conforme representado à FIG. 12.

O fenômeno de ressonância magnética pode ser detectado em sistemas que possuam momento magnético $\mu$ como conseqüência da ocorrência de um momento angular $\hbar G$, no qual G pode ser tanto um spin nuclear (I) quanto eletrônico (S). Essas grandezas são relacionadas pela expressão:

$$\mu = \gamma_g \hbar G \tag{19}$$

em que a constante $\gamma_g$ é o raio giromagnético, que pode ser representado por:

$$\gamma_g = g\left(\frac{e}{2m_o}\right) \tag{20}$$

A massa do elétron ou do próton é representada por $m_o$, dependendo se a ressonância paramagnética (RPE) ou ressonância magnética nuclear (RMN) estão sendo consideradas; a quantidade $\left(e\hbar/2m_o\right)$ é denominada de magneto de Bohr ($\beta$) ou magneto nuclear ($\mu_n$). O valor de *e* é negativo para RPE e positivo para RMN. Para RPE, o chamado fator *g* pode ser calculado e, para spin livre é expresso por:

$$g_s \cong 2\left(1+\frac{\mu_o ce^2}{4\pi h}\right) = 2{,}0023 \qquad (21)$$

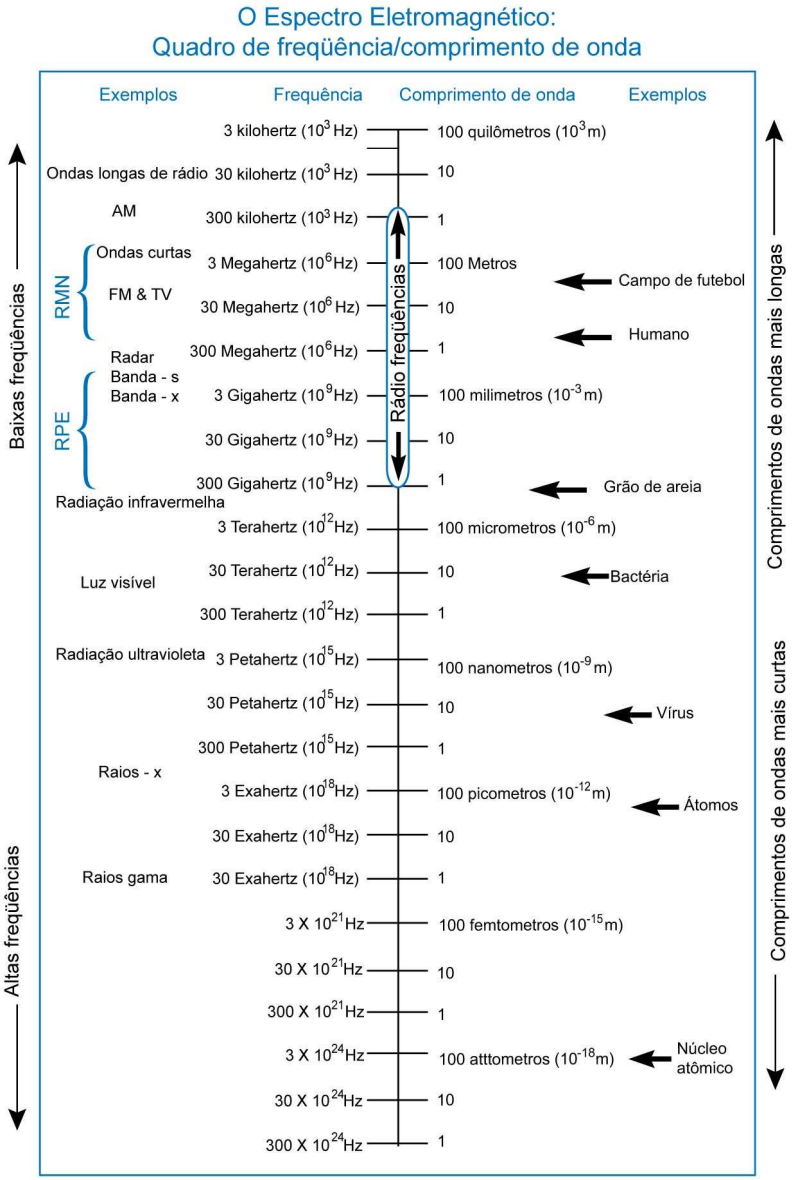



Figura 12. Espectro eletromagnético indicando as freqüências em que RPE e NMR são utilizadas (Adaptado do texto radio astronomia obtido em http://www.nasa.gov).

Quando os momentos de orbital e de spin estão presentes, *g* torna-se função do acoplamento entre ambos e pode também ser calculado; para o caso de RMN, *g* deve ser obtido experimentalmente pela equação 20.

Na presença de um forte campo magnético, H, a interação de Zeeman entre o campo e o momento de dipolo magnéticos $\mu$ é dada por:

$$E = -\mu \cdot H = -g\left(\frac{e\hbar}{2m_o}\right)G \cdot H = -g\left(\frac{e\hbar}{2m_o}\right)mH \qquad (22)$$

e *m* é o número quântico magnético apropriado. A ressonância ocorre quando um campo magnético oscilante de um campo eletromagnético e de freqüência circular na forma

$$\varpi = g\left(\frac{e\hbar}{2m_o}\right)\frac{H}{\hbar} \qquad (23)$$

induz transições entre os níveis de Zeeman. Para RPE e com g=2,2 , H=0,33T, a freqüência de ressonância é ν=9,3 GHz, que se encontra na faixa chamada de Banda X (9,2 a 12,4 GHz) de microondas. Por outro lado, as freqüências de RMN encontram-se na faixa das freqüências de rádio.

A ressonância paramagnética eletrônica é freqüentemente medida pela detecção da derivada do sinal, obtida pela aplicação de campo magnético oscilante de pequena amplitude ao campo estático de Zeeman. A condição de ressonância pode ser alcançada tanto pela variação da freqüência ou do campo magnético, de acordo com a equação (23).

Para RPE e alguns espectrômetros RMN, é o valor do campo que varia enquanto a freqüência permanece constante (onda contínua, c.w.). Espectrômetros RMN utilizados para identificação de compostos químicos, geralmente operam com um campo magnético fixo e aplicam uma série de pulsos de rádio-freqüência nas amostras.

Uma vez que cada pulso (onda quadrada) contém várias componentes de freqüência de Fourier, todas as ressonâncias são estimuladas simultaneamente; a aplicação de pulsos repetidos e a subseqüentemente normalização do sinal leva, portanto, a uma marcante melhora na razão sinal/ruído se comparado com medidas em onda contínua. A resposta da magnetização do núcleo das amostras após a aplicação do pulso de radiofreqüência é monitorada em função do tempo, gerando o chamado decaimento livremente induzido (*Free induction decay*) *FID*.

A ressonância magnética somente é observada em sistemas que possuem um momento angular diferente de zero. Para RMN, essa condição é limitada a aqueles isótopos que possuem spin nuclear não nulo, como nos exemplos seguintes que têm sido

estudados no estado amorfo (I é dado em unidades de $\hbar$ em parênteses): $^{1}$H (1/2), $^{2}$H(1), $^{10}$B(3), $^{11}$B(3/2), $^{17}$O(5/2), $^{23}$Na(3/2), $^{27}$Al (5/2), entre outros.

Por outro lado, o espectro de RPE surge quando existem elétrons não emparelhados ou quando há elementos de metais de transição, terras raras (com níveis de energia d ou f incompletos) presentes, ou quando elétrons não emparelhados existem em defeitos estruturais, tais como ligações quebradas ou radicais livres. Quando o material não possui tais elementos, é necessária a introdução de sondas de spin detectáveis. Os detalhes a respeito dos equipamentos e do uso das duas técnicas para estudo da transição vítrea serão abordados nas seções a seguir.

### *2.8.3.1 – Ressonância magnética nuclear (RMN)*

A Ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica baseada nas propriedades magnéticas do núcleo atômico. O princípio básico de RMN foi predito na década de 1930 pelo físico holandês Gorter. Mas somente em 1945 Bloch e Purcell descobriram RMN na forma como hoje é conhecido. Suas aplicações mais importantes compreendem os ramos da Química, Biologia e Medicina [90].

Em materiais poliméricos, alimentícios, petróleo e outros, RMN têm um papel similar ao daquele que desempenha na Química, ou seja, como ferramenta para determinações analíticas, principalmente na determinação de água em alimentos e de gorduras em óleos. Entretanto, desenvolvimentos recentes de novas técnicas RMN têm permitido o estabelecimento de novas áreas de pesquisa em alimentos tais como RMN no estado sólido, RMN por imagem, RMN metabólico e RMN em duas e três dimensões.

Através de relaxometria**,** RMN tem-se, também, mostrado útil no estudo do estado vítreo e mobilidade molecular em materiais alimentícios, tendo por base relaxações do tipo spin-rede ($T_1$) e spin-spin ($T_2$), a serem descritas nas seções seguintes. Antes, porém, será feita uma apresentação do equipamento. Essa técnica tem permitido, recentemente, um estudo da relação entre mobilidade de prótons em alimentos e o fenômeno da transição vítrea [91,92].

### *2.8.3.1.1 - O equipamento RMN*

O arranjo típico para um espectrômetro RMN [93,94] é apresentado na FIG. 13a e consiste de cinco principais componentes: magneto, fonte de rádio freqüência, sonda RMN, sistema de varredura e sistema de amplificação e processamento de sinal.

É necessário que o magneto possua alta homogeneidade de campo (mais que 1 em $10^8$) podendo ser um magneto permanente, um eletromagneto ou um magneto supercondutor. A força do campo está normalmente na faixa de ~0,5 a 2,3 T (tesla), que corresponde à freqüência de operação de 20 e 100MHz, respectivamente. Essa faixa de valores de campos mais baixos, inclui magnetos permanentes e alguns eletromagnetos.

Altas energias de campo necessitam do uso de solenóides supercondutores os quais estendem a freqüência de operação acima de 300 MHz. A fonte de radiofreqüência é um oscilador controlado por cristal possuindo alta estabilidade (1 em $10^9$). Equipamentos comerciais de baixo campo, por outro lado, operam em freqüências bem mais baixas, entre 2 e 30 MHz, a exemplo do equipamento utilizado para os experimentos deste trabalho.

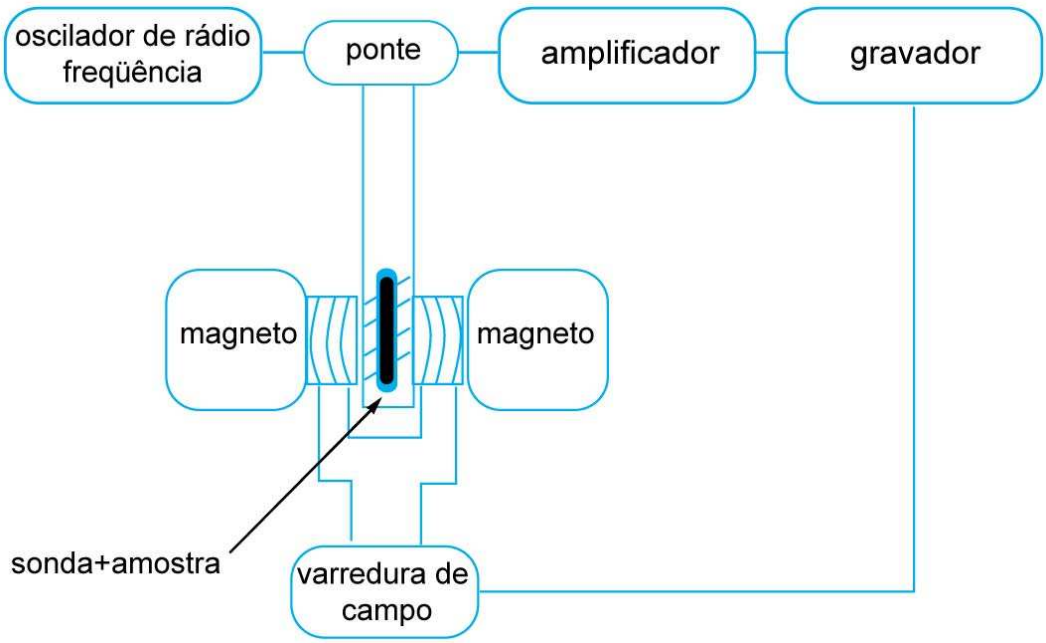
A sonda RMN consiste em uma bobina transmissora e receptora que circunda a amostra e age para acoplar a freqüência de rádio incidente e receber o sinal emitido pela amostra. Quando a condição de ressonância é satisfeita, a amostra absorve energia do transmissor e a mudança é detectada pela bobina receptora, ocorrendo então a amplificação do sinal RMN. A estabilidade aumenta pela modulação simultânea da amostra e pela variação do campo em uma faixa de freqüência audível (5kHz). O sinal resultante é detectado por meio de um detector de fases sensível, que filtra sinais não desejados.

O uso de acessórios de temperatura variável permite que os *FID* de RMN sejam obtidos em faixas de temperatura de –150 a +200$^o$C pelo contato de nitrogênio líquido sobre o suporte de amostras.

O uso de métodos distintos de aplicação de pulsos nos materiais permite que informações sobre as interações de spins com a rede, de spins com spins, possam ser obtidos. Na FIG. 13b, é apresentado um esquema geral de mobilidades que podem ser medidas pelas diversas técnicas de ressonância magnética nuclear.

A técnica empregada nesse trabalho, a relaxometria $T_2$, bem como noções de relaxação $T_1$, serão abordadas nas próximas seções.

**(a)**




**(b)**

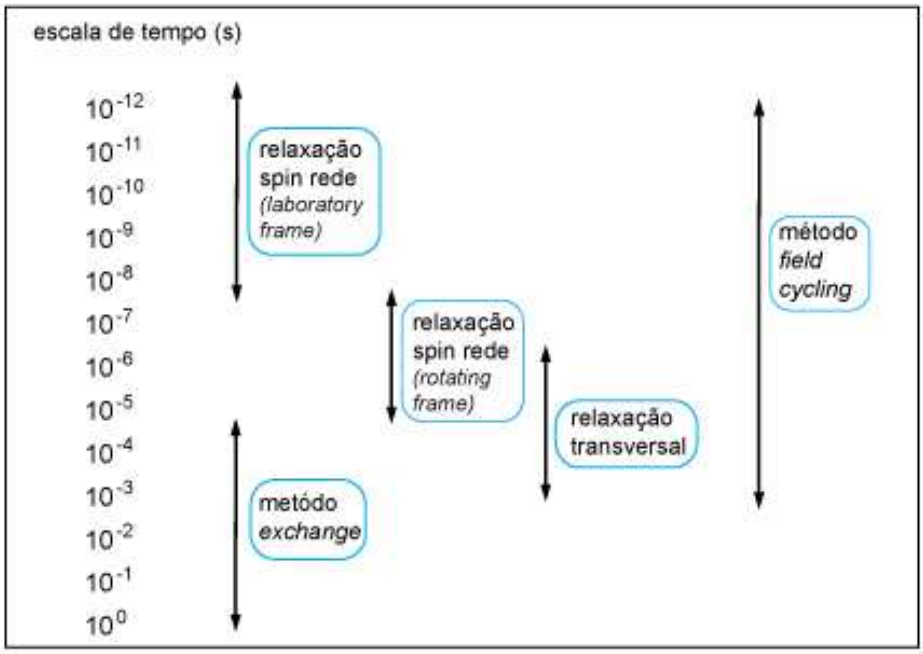



Figura 13. (a) Esquema geral de equipamento RMN [96] (b) Escalas de tempo cobertas por distintas técnicas de ressonância magnética nuclear.

### *2.8.3.1.2 – Relaxação spin-spin, $T_2$*

Após a aplicação de um pulso de rádio freqüência sobre amostra inserida em um campo magnético B, a resultante da magnetização dos spins retorna ao seu estado original por um processo chamado relaxação. Esse processo é caracterizado por duas constantes de tempo designadas $T_1$ e $T_2$. $T_1$ é a relaxação spin rede, e corresponde às interações dos spins com as componentes mais rígidas da amostra, enquanto $T_2$ é corresponde à transversal ou tempo de relaxação spin-spin [50].

Após a aplicação de um pulso, a componente transversal da magnetização sofre decaimento até desaparecer. Para um magneto homogêneo ideal, este decaimento é governado pelo tempo constante, $T_2$. Esse tempo constante é relacionado com a largura da ressonância em um espectro RMN, no qual a largura de linha é inversamente proporcional a $T_2$. Isto corresponde à incerteza do tempo de vida dos spins em seus estados de energia. Para magnetos não homogêneos, $T_2$ pode ser recuperado em um experimento RMN que é chamado eco de spin RMN**.** Este é realizado pela aplicação de um pulso de $180^o$ que refocaliza as componentes lenta e rápida da magnetização transversal resultantes da não homogeneidade do campo.

O valor de $T_2$ é obtido a partir do decaimento da altura do eco de spin, por meio de ajuste de equações de decaimento exponencial. A seqüência de pulsos desse tipo mais utilizada é a de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), apresentada na FIG. 14 e tem a característica de minimizar os efeitos da não homogeneidade do campo, no FID [95].

Na próxima seção serão discutidos os procedimentos utilizados para o estudo da mobilidade molecular por RMN.

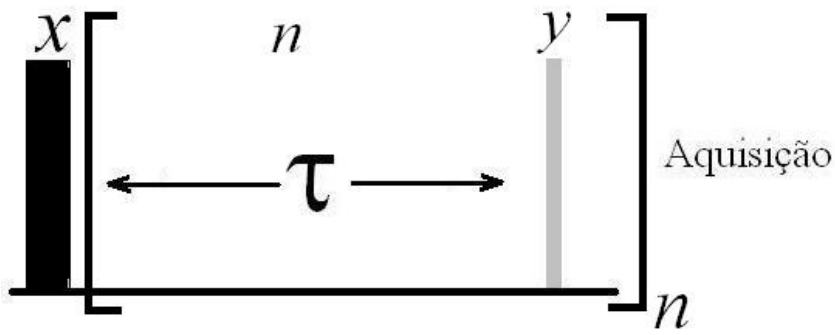



Figura 14: Seqüência de pulsos CPMG, para medir $T_2$. Adaptado da ref. [136].

### *2.8.3.1.3 – RMN aplicada ao estudo de transição vítrea e mobilidade molecular*

RMN é uma técnica particularmente poderosa para investigação da mobilidade molecular da água e do soluto de modo independente na faixa de transição vítrea. Os tempos de relaxação $T_1$ e $T_2$ permitem a obtenção do tempo de correlação rotacional $\tau_c$. O comportamento geral da mobilidade de um material frente aos tempos de relaxação $T_1$ e $T_2$, pode ser observada na FIG. 15.

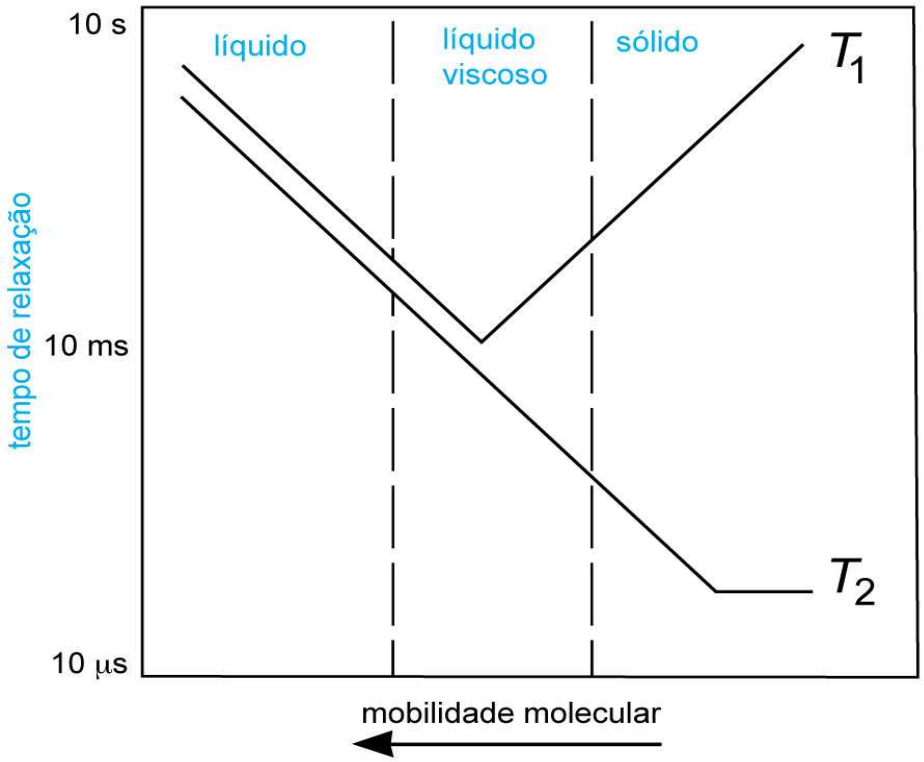



Figura 15: Diagrama esquemático da relação entre os tempos de relaxação de RMN ($T_1$ e $T_2$) e o tempo de correlação molecular ($\tau_c$) [97].

Na figura, são representados domínios de alta e baixa viscosidade e seu efeito geral sobre a mobilidade de um material submetido ao campo magnético [97]. Amostras sólidas apresentam mobilidade de spins muito baixa e são caracterizadas por $T_2$ curtos, e amostras líquidas, apresentam $T_2$ longos.

Inicialmente, o comportamento da relaxação $T_1$ é similar àquele observado para $T_2$, em espécies moleculares muito móveis, mas passa por um mínimo quando a relaxação $T_1$ torna-se mais eficiente. Isto ocorre quando a freqüência do movimento

molecular torna-se comparável à da freqüência medida pelo espectrômetro. O uso da técnica pode, então, ser útil para obter informações adicionais obre a mobilidade em torno da $T_g$.

A mudança brusca de inclinação da curva de relaxação $T_1$ apresentada no diagrama da FIG. 15 tem sido associada à temperatura de transição vítrea em muitos materiais [96]**.** $T_2$ é sensível às interações spin-spin, sofrendo diminuição gradativa em seus valores característicos em função de uma redução na temperatura ou aumento da concentração de sólidos do material. A aplicabilidade do uso de $T_2$ para investigação da mobilidade molecular e a transição vítrea, é descrita na próxima seção.

### *2.8.3.1.4 – $T_2$ aplicada ao estudo de mobilidade molecular e transição vítrea*

O comportamento observado durante a desmagnetização protônica de uma amostra hidratada (curva de decaimento de $T_2$), é apresentado esquematicamente na FIG. 16. Duas componentes podem ser distinguidas: uma componente inicial de decaimento rápido, que é caracterizada pelo curto tempo de relaxação $T_2$ e a outra componente, de decaimento muito mais lento, que é caracterizada por longos tempos de relaxação $T_2$ [97].

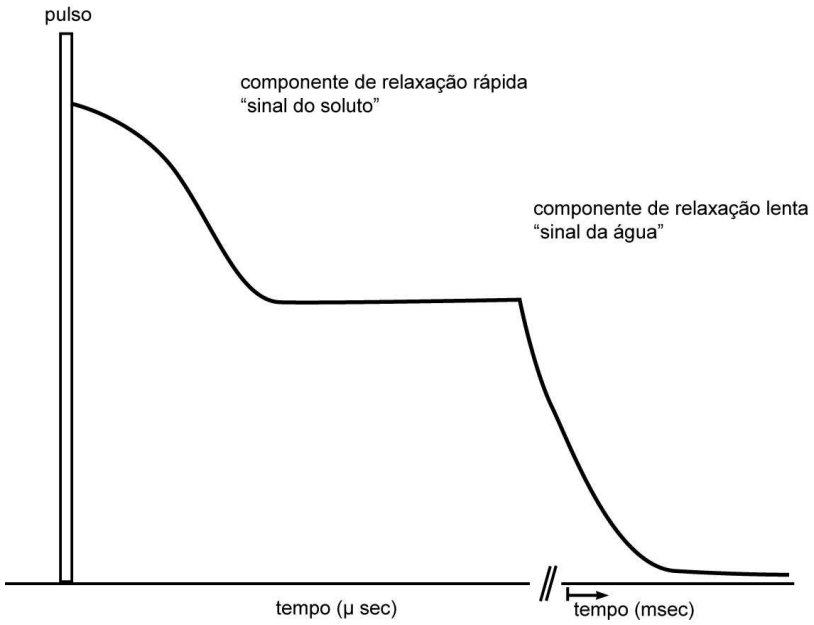



Figura 16. Curva de decaimento de $T_2$ típica para amostra hidratada [97].

Em amostras de materiais alimentícios hidratados, a comprovação de que a componente de decaimento rápido origina-se de regiões moleculares de baixa mobilidade molecular tem sido confirmada quando se substitui $H_2O$ por $D_2O$. Este tipo de experimento evidencia o sinal dos prótons provenientes apenas do soluto, que estão em geral, associadas aos tempos de relaxação mais curtos. Por essa razão, muitas vezes, a componente de decaimento lento é chamada de sinal da água e a de decaimento rápido de sinal do soluto.

Os processos de relaxação $T_2$ são conhecidos por sua sensibilidade a freqüências de movimento muito baixas e conseqüentemente, verifica-se que há uma correlação direta entre DSC obtido por $T_g$ e a temperatura para o comportamento limite da rede rígida expresso por $T_2$. A obtenção de valores de $T_2$ para uma ampla faixa de temperaturas entre os estado vítreo e o viscoso revela, em geral, uma descontinuidade associada à transição vítrea [96].

A relaxação spin-spin, também chamada de relaxação transversal, ocorre pela perda de coerência no plano $t_{xy}$, devido à mútua troca de energia de spins entre os núcleos. Experimentos com seqüências de pulso CPMG [Carr, Purcell, Meiboon e Gill] [95] eliminam a contribuição da relaxação devida ao instrumento pela falta de homogeneidade do campo e permitem assinalar inequivocamente à amostra a relaxação $T_2$ observada. Por meio de experimentos CPMG, expresso pela seqüência de pulsos:

$$\left(\frac{\pi}{2}\right)_x - \tau - \pi_y - 2\tau - \pi_y - 2\tau\pi_y - .... \qquad (24)$$

A perda gradativa do sinal é medida de acordo com a equação:

$$M = M_0 e^{-t/T_2} \qquad (25)$$

onde $T_2$ é o tempo de relaxação spin-spin.

Nos experimentos CPMG, procura-se sempre um número de ecos suficientes para o completo decaimento da magnetização e, dessa maneira, utilizam-se valores de $\tau$ menores que 200μs, o que torna desprezível o efeito da difusão de spins que podem causar perda do sinal. Desta forma, os $T_2$ calculados pelo ajuste dos pontos experimentais à equação 22 acima, correspondem exclusivamente à amostra.

No caso de substâncias puras, o $T_2$ calculado pelo ajuste da curva de decaimento da magnetização corresponde ao $T_2$ da substância. No caso de amostras complexas, como no presente trabalho, o $T_2$ obtido corresponde a uma média dos vários componentes presentes.

Para caracterizar cada componente pode-se proceder ao ajuste dos pontos experimentais a uma somatória discreta de exponenciais, obtendo-se assim duas ou mais populações de prótons relaxando a diferentes $T_2$. Outro procedimento utiliza a somatória contínua de exponenciais em uma combinação linear de funções com um parâmetro de regularização de ordem zero [123].

$$M = M_0\left[k_1 e^{-\frac{\tau}{T_2}(1)} + k_2 e^{-\frac{\tau}{T_2}(2)} + k_3 e^{-\frac{\tau}{T_2}(3)} + .....k_n e^{-\frac{\tau}{T_2}(n)}\right] \qquad (26)$$

O resultado produz um conjunto valores (populações) de $T_2$ possíveis para aquela amostra em um dado intervalo de tempo, denominado relaxograma. Algoritmos voltados para tais ajustes são disponibilizados com equipamentos de RMN.

A técnica permite, desse modo, investigar a existência de domínios com distintos valores de mobilidade molecular nas amostras complexas, tornando-se por essa razão uma ferramenta potencialmente útil para descrever os sistemas aqui investigadas, nas vizinhanças da temperatura de transição vítrea.

## *2.8.3.2 – Ressonância paramagnética (RPE)*

Ressonância paramagnética eletrônica é útil para obtenção de informações acerca da mobilidade molecular de sondas de spin em materiais biológicos, expressa na forma de tempo de correlação rotacional, $\tau_c$. Uma faixa muito ampla de tempos de correlação rotacional pode ser estudada por essa técnica. RPE convencional é sensível à região de mobilidade para $\tau_c$ de $10^{-11}$ a $10^{-6}$ s. Na faixa de mobilidades para $\tau_c > 10^{-6}$, RPE por transferência de saturação (ST-RPE) pode ser usado para obter espectros sensíveis a movimentos moleculares até o limite final de ~$10^{-3}$s.

A importância de RPE para o estudo de transição vítrea e mobilidade molecular em materiais alimentícios e outros vidros orgânicos tem sido verificada em muitos trabalhos. Ito [98] demonstrou que para sistemas orgânicos de baixa massa molecular a mudança na matriz devido à transição vítrea é refletida por um decréscimo no tempo de correlação rotacional de sondas de nitróxido.

Hamada [99] e outros mostraram que o tempo de correlação de diferentes sondas de spin em filmes de nylon diminuía com o aumento do teor de água a uma dada temperatura. Em estudos com soluções de malto-oligossacarídeos, Hemminga [100] e outros mostraram que na temperatura em que ocorre uma transição líquido-vidro, ocorre também uma queda brusca da mobilidade rotacional das sondas de spin, tendo-se observado que as temperaturas em que a mobilidade reduziu-se correspondiam aos valores de $T_g$ obtidos por calorimetria exploratória diferencial. RPE tem-se revelado, então, uma alternativa para o estudo do fenômeno da transição vítrea em diversos vidros orgânicos.

### *2.8.3.2.1 – O Espectrômetro RPE*

A absorção de energia a partir de campo magnético oscilante de microondas ocorre quando a condição de ressonância $h\nu = g\beta H$ for satisfeita. Observa-se que é mais conveniente operar a freqüência constante e observar os sinais de RPE pela variação do campo magnético *(H)* sobre a posição de freqüência de ressonância.

Em princípio, é possível observar transições em qualquer campo de força assumindo que a condição de ressonância seja satisfeita. Observa-se que a maior sensibilidade é alcançada pela operação em freqüências tão altas quanto possível. Os principais componentes de espectrômetros RPE (FIG. 17) são a fonte de radiação de microondas (válvula de Klystron), a célula de absorção ou cavidade de ressonância, o eletromagneto e o sistema de detecção.

A saída da válvula de Klystron pode variar de 1 nW até alguns W. A constante de freqüência é estabilizada por meio de um controle automático de freqüência (AFC) que controla a voltagem da válvula de Klystron possibilitando estabilidade da ordem de $1 \times 10^{-6}$. Para espectrômetros de banda X, a radiação eletromagnética é transmitida para a cavidade por meio de uma guia de ondas retangular de comprimento de onda de 3 cm.

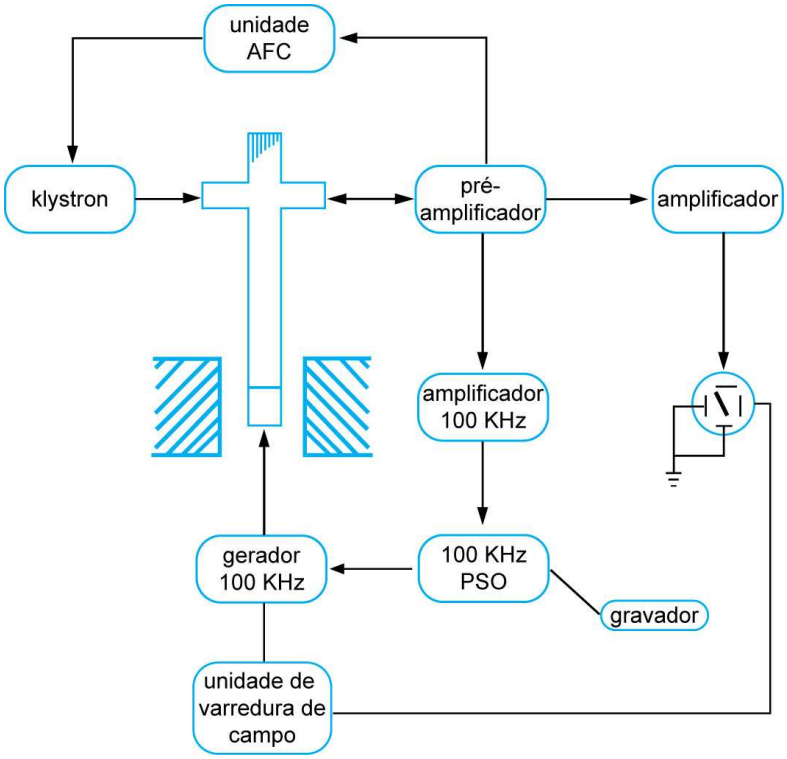



Figura 17: Esquema de um espectrômetro RPE.

A mais simples forma de cavidade de ressonância, a cavidade de transmissão, consiste de uma seção de guias de onda de extensão integral de comprimento de onda (usualmente 2), vazias em cada extremidade com pratos que possuem pequenas aberturas no centro, que funcionam para acoplar a radiação de microondas dentro e fora da cavidade. Uma onda fixa é direcionada para a cavidade servindo para concentrar a energia de microondas na amostra, localizada na região de vetor campo magnético máximo.

Entretanto, a maioria dos espectrômetros comerciais emprega cavidades de reflexão em conjunto com várias formas de pontes de rede que têm a função de aumentar a sensibilidade. As cavidades de reflexão têm simetria cilíndrica, sendo particularmente úteis para estudos de cristais simples. A eficiência de cavidades é descrita pelo fator Q o qual é a razão da energia armazenada na cavidade para a razão da energia perdida por ciclo. Fatores Q para cavidades de espectrômetros comerciais estão tipicamente na faixa de 3000-7000. O fator Q e, portanto, a sensibilidade das cavidades é reduzida substancialmente pela absorção dielétrica da amostra ou seu suporte.

A sensibilidade de espectrômetros RPE é usualmente expressa em termos de números mínimos de spins detectáveis vezes a largura de linha do sinal (ΔH). Espectrômetros comerciais têm sensibilidades na ordem de 1,5 x $10^{10}$ ΔH.

### *2.8.3.2.2 – RPE aplicada ao estudo de transição vítrea e mobilidade molecular em alimentos*

Conforme as explanações anteriores, para que RPE possa ser aplicada é necessário que existam elétrons desemparelhados no material. Quando esses elétrons não existem, podem ser incorporados com o uso de sondas de spin. Há várias sondas disponíveis no mercado e, para alimentos, N-oxil- 4-hidroxi-2, 2, 6,6-tetrametil-piperidina (TEMPOL) e 1-oxyl-2,2,6,6-tetrametil-piperidina (TEMPO) são muito utilizadas para estudo da mobilidade molecular. Sua estrutura é apresentada na FIG. 18.

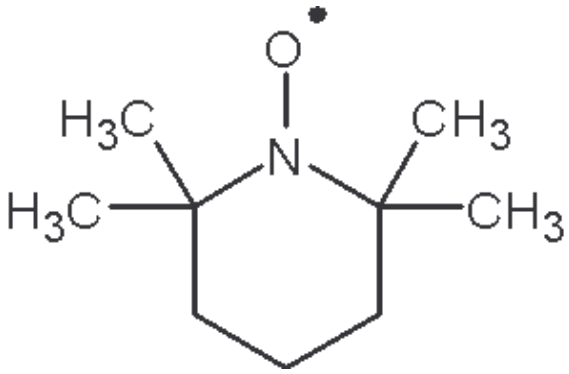



Figura 18: Estrutura de molécula de 1-oxyl- 2,2,6,6-tetrametil-piperidina (TEMPO)**.**

Em espectroscopia RPE, o movimento molecular tem o efeito de igualar as interações isotrópicas magnéticas que surgem a partir do tensor fator-g e do tensor hiper-fino. Se o movimento é muito rápido ($\tau_c$<$10^{-11}$s), o espectro RPE de sondas de nitróxido consiste de três linhas estreitas de mesma altura e espaçamento em torno de 1,5 mT. À medida que o movimento torna-se progressivamente menor, ocorre um alargamento das linhas no espectro, enquanto que a posição das linhas permanece constante. Esse comportamento caracteriza a região de movimento rápido.

Para valores de $\tau_c$= 3 x $10^{-9}$s uma distorção da posição e forma das linhas é observada. Essa região é chamada de região de movimento lento. Na região de movimento muito lentos ($\tau_c$> $10^{-6}$s) o espectro de "pó rígido" é obtido por EPR

convencional, no qual os todos os efeitos das interações anisotrópicas magnéticas são observados, não sendo sensíveis, porém, a um maior abaixamento na temperatura.

Nessa região, entretanto, os resultados obtidos em espectros de ressonância paramagnética eletrônica com transferência por saturação (RPE-TS) são sensíveis a movimentos moleculares até um limite final de $\tau_c \sim 10^{-3}$s. Na FIG. 19 é apresentada uma seleção das várias regiões de mobilidade características de espectros de RPE convencional e RPE-TS para movimento isotrópico. Na mesma figura, pode ser observada a associação da forma da linha espectral de RPE e RPE por saturação, com os tempos de correlação rotacional de uma sonda de spin nitróxido.

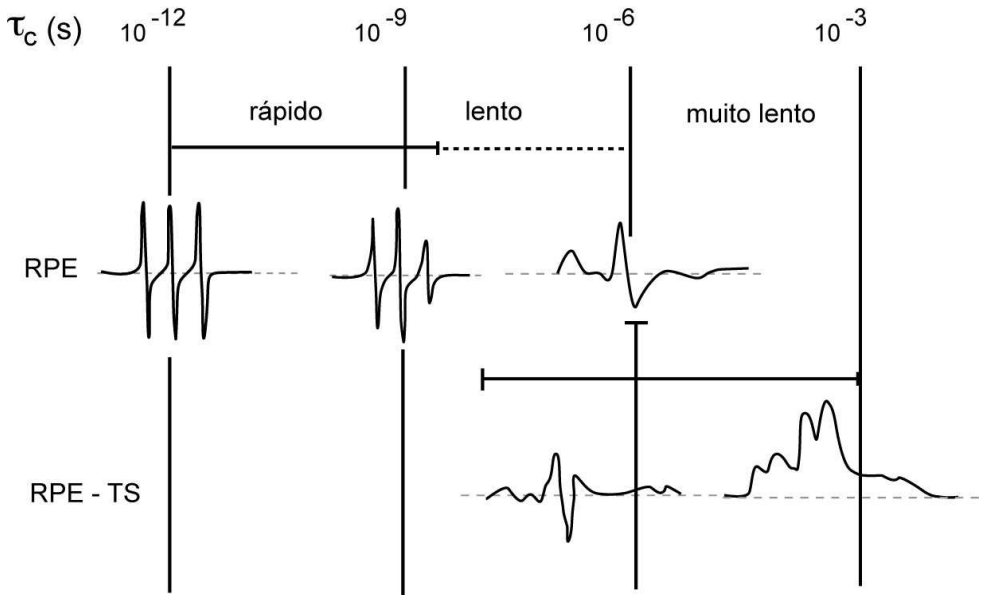



Figura 19: Sensibilidade de RPE e RPE-TS (sondas de nitróxido), em diferentes faixas de tempo de correlação rotacional [82].

Na região de movimento rápido, o tempo de correlação rotacional das sondas de spin (em s) pode ser obtido diretamente a partir do espectro pela equação:

$$\tau_c = 6{,}5\times10^{-6}\times B_0\times\left[\left(\frac{h_H}{h_c}\right)^{\frac{1}{2}}-1\right] \qquad (27)$$

na qual $h_H$ e $h_C$ são as alturas das linhas de campo alto e central no espectro RPE, respectivamente. $B_0$ é a largura de linha da linha central, em tesla (T). Considera-se que o movimento rotacional das sondas de spin seja isotrópico. A equação (7) aplica-se somente a espectros RPE obtidos na região de microondas de banda X. Na FIG. 20a é

apresentado exemplo de espectro isotrópico para sonda TEMPO em amostra de Frutose. Os parâmetros isotrópicos são indicados na FIG. 20 b.

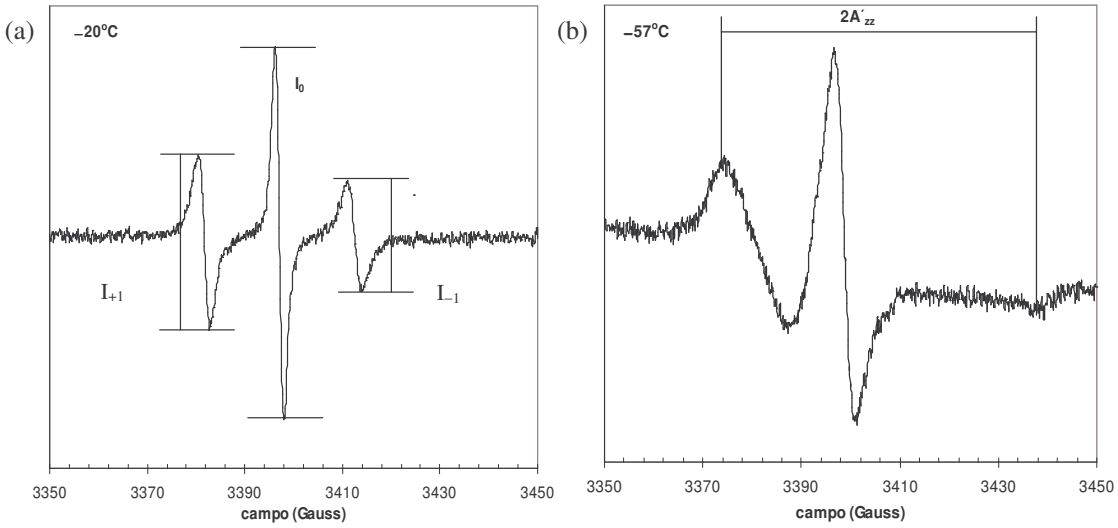



Figura 20. Espectros RPE para TEMPO em solução de frutose em 20% de $H_2O$, em que são indicados os parâmetros utilizados para o cálculo da mobilidade rotacional. a) isotrópico, em que são apresentados os parâmetros $I_{-1}$, $I_0$, $I_{+1}$ b) anisotrópico, em que é apresentada a forma de obtenção da constante de acoplamento hiperfina.

Para tempos de correlação rotacional $\tau_c > 10^{-6}$ s, EPR convencional produz o espectro na forma limite de pó rígido que é insensível à taxa de movimento do spin [61]. Nesses casos, EPR por saturação é indicado para a obtenção de tempos de correlação mais longos.

Entretanto, o estudo da mobilidade a baixa temperatura pode ser realizado de forma indireta, utilizando parâmetro de alargamento de linha, $A'_{zz}$. A obtenção dos valores de $A'_{zz}$ é realizada a partir de espectros de pó, que são adquiridos em temperatura em que não mais é observado o alargamento espectral. Hansen, por exemplo, obteve tais valores a $-196^oC$. Pode-se ainda, caracterizar tal a baixa mobilidade utilizando a constante de acoplamento hiperfina, definida como a metade da distância entre os extremos do espectro EPR (vide figura.) ou:

$$A_{zz}' = \left( \frac{2A_{zz}'}{2} \right) \tag{28}$$

em que $2A'_{zz}$ é a separação dos extremos hiperfinos externos no espectro EPR e $A_{zz}$ é o valor limite rígido para essa mesma quantidade. $A'_{zz}$ é um parâmetro sensível à variação de temperatura [101] e tem sido utilizado para investigação da mobilidade no estado vítreo em materiais como sementes [102] e alimentos [103, 104].

## *2.9 – Os materiais: corantes caramelo, mel e frutose*

Nas seções seguintes, são apresentadas e discutidas algumas das características dos materiais selecionados para estudo da transição vítrea e eventos térmicos associados: corante caramelo, mel e frutose.

### *2.9.1 – Corantes caramelo*

Corantes caramelo são materiais obtidos pela degradação térmica de açúcares em condições controladas de temperatura, na qual açúcares são submetidos a reações de caramelização e de Maillard, levando à formação de polímeros, que conferem a cor característica desses materiais.

Depois de seu processamento, as reações persistem à temperatura ambiente, levando a uma gradual mudança na viscosidade e cor desses materiais, tornando-os impróprios para o consumo em, no máximo, 12 meses. Esse período pode ser significativamente menor ou maior, dependendo da temperatura de armazenamento, conforme indicado por Abreu e Cardoso [15].

#### *2.9.1.1 – Composição química dos corantes caramelo*

Embora bastante investigada, a estrutura das substâncias que compõem os corantes caramelo não é totalmente conhecida. Diversas técnicas têm sido utilizadas para elucidar a composição química dos corantes caramelo e as reações envolvidas no processo de produção do mesmo, a caramelização. Os produtos dessa reação incluem substâncias voláteis e não voláteis. A fração de voláteis já foi razoavelmente bem caracterizada. Entretanto, segundo Defaye e Fernandez [105], a composição de cerca de

95% dos constituintes não voláteis do caramelo, permanece pobremente estudada ou ainda desconhecida.

Na primeira publicação sobre o tema (1858), Gelis [106] concluiu que a sacarose caramelizada continha três componentes principais: um produto da desidratação do açúcar denominado caramelano, $C_{12}H_{18}O_9$ e dois polímeros, o carameleno $C_{36}H_{50}O_{25}$ e o caramelino $C_{96}H_{122}O_{51}$. Estes três constituintes eram na verdade, misturas de compostos incolores, bem próximos da sacarose e de substâncias marrom escuras (melanoidinas) com propriedades de colóides hidrofóbicos [107].

O caráter coloidal dos corantes caramelo, relacionado às melanoidinas, é uma propriedade atualmente reconhecida como de importância comercial para as formas corantes. Segundo White e Munns [29], essa característica reproduz, de certo modo, as propriedades coloidais das proteínas encontradas em algumas bebidas, o que garante a estabilidade do corante no meio.

Outros componentes do caramelo incluem substâncias de baixo ponto de fusão tais como compostos furânicos cujo exemplo principal é o 5-hidróxi-metil-2-furaldeído (HMF), que pode corresponder até 70-90% do total de componentes voláteis [27].

Entre as substâncias já identificadas incluem-se aquelas de baixa massa molecular como o laevoglucosan, celobiose, maltose, isomaltose, gentiobiose e vários difrutosedianidridos, 1,6-anidro-β-D-glucopiranose, α-D-fructofuranose, β-D-fructofuranose [108]. Há ainda uma determinada porcentagem de açúcares remanescentes, utilizados no processo produtivo e, provavelmente, açúcares em estado amorfo [27]. Segundo Defaye e Fernandez [109], oligossacarídeos correspondem a cerca de 20% da composição desses corantes.

Ainda não se conhece a estrutura química dos polímeros presentes nos corantes, embora algumas tenham sido propostas. Tomasik et. Al. [110], citado por Kroh [111] consideram que o HMF, furfural e 2-hidróxi-acetil-furano (HAF) sejam precursores desses polímeros. Estruturas químicas de alguns dos compostos presentes nos corante caramelo são apresentadas na FIG. 21a e algumas estruturas hipotéticas dos polímeros são apresentadas na FIG. 21b.

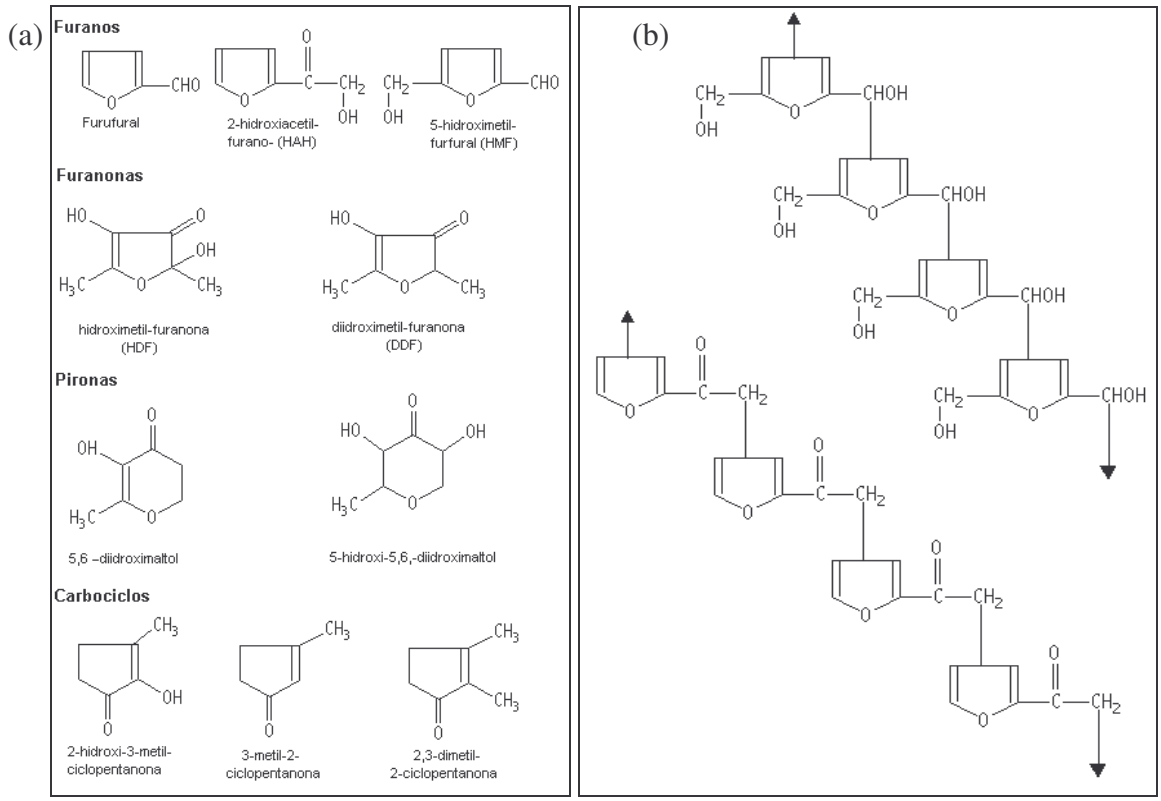



Figura 21: À esquerda, são apresentadas estruturas químicas de compostos encontrados em corantes caramelo; à direita, são apresentadas estruturas hipotéticas de polímeros de corantes caramelo, formadas por caramelização ou reação de Maillard.[112]

As propriedades funcionais dos corantes caramelo tais como intensidade de cor, propriedades estabilizantes e emulsificantes, são determinadas por sua composição química que, por sua vez, é determinada pela natureza dos reagentes usados no processo produtivo [29]. Desse modo, para cada tipo de corante, uma ampla faixa de intensidade de cor e viscosidade pode ser produzida, para atender demandas específicas do mercado.

A composição química de corante caramelo, relativa à presença dos compostos como $SO_2$, $NH_3$, polímeros de alta, média e baixa massa molar é apresentada na TAB. 2. Os dados referentes ao corante caramelo Tipo IV foram obtidos por Licht e outros [112].

Licht e outros [113] utilizando ultrafiltração, cromatografia líquida de alto desempenho e espectrofotometria UV/VIS dentre outras técnicas, analisaram 90 amostras dos corantes caramelo Tipo IV, produzidas por 11 fabricantes de 7 países . Neste mesmo trabalho, analisou-se a composição da fração de alta massa molar desses

corantes, cujos resultados são apresentados na TAB. 3. Determinou-se ainda, que a fração de alta massa molar é a principal responsável por sua coloração.

TABELA 2: Composição química de corantes caramelo.

| **PROPRIEDADES (g/100g)** | **Tipo IV** |
|---|---|
| Sólidos totais (g/100g) | 49,0-71,0 |
| N (g/100g) | 0,8-7,1 |
| S (g/100g) | 1,0-9,3 |
| Material de BMM (g/100g) | 51,0-86,0 |
| Material de MMM (g/100g) | 5,0-21,0 |
| Material de AMM (g/100g) | 7,0-33,0 |

Fonte: LITCH et. al. [112].

Os dados apresentados são representativos para corante caramelo Tipo IV, embora valores específicos para uma determinada amostra sejam dependentes do fabricante, do processo e da aplicação.

TABELA 3: Propriedades da fração de alto peso molecular de corante caramelo IV.

| PROPRIEDADE | FAIXA DE VARIAÇÃO |
|---|---|
| massa molecular média(Da) | 7900-42100 |
| N (g/100g) | 2,5-7,2 |
| S (g/100g) | 1,7-10,8 |

Fonte: LITCH et al. [112].

### *2.9.2 – Mel*

Denomina-se comumente de mel, as soluções concentradas de açúcares, obtidas pela conversão de soluções de dissacarídeos (néctar) pela ação de enzimas. Esse processo é conduzido por abelhas das mais diversas origens, mas as principais são as da espécie *Apis mellifera*, cuja produção corresponde a cerca de 80% do total no mundo.

A composição do mel varia significativamente em função da origem botânica do néctar, mas em geral, consideram-se a glicose e a frutose como seus principais

componentes, perfazendo um total de 60 a 70% da composição. A água está presente, em massa correspondente a 20 a 30% e demais açúcares, 10 a 20% do total [114]. Componentes menores são os sais minerais, as proteínas (enzimas), polissacarídeos e partículas coloidais como grãos de pólen. Na Tabela 4 é apresentada uma compilação de composições de méis de vários países e a composição da amostra utilizada neste trabalho, obtida em estudo anterior [115].

Tabela 4. Composição geral de méis de vários países (% p/p).

| *País* | *Nº amostras* | *Água* | *Açúcares Redutores totais* | *Glicose* | *Frutose* | *Sacarose* | *Maltose* | *Dextrina* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Inglaterra | 13 | 18,9 | | 34,6 | 39,8 | | | |
| Bulgária | 190 | 21,3 | 71,7 | | | 1,6 | | |
| Holanda | 41 | | 30,5 | 41,5 | | | 4,6 | 2,3 |
| Portugal | 18 | | 32,2 | 36,2 | 0,96 | | 6,7 | 1,9 |
| Romênia | 257 | 16,5 | 75,6 | 34 | 38,4 | 3,1 | | 3,8 |
| Espanha | 23 | 17,3 | | 28,4 | 36,5 | 0,9 | 8,2 | 1,1 |
| Rússia | 217 | 18,6 | 73,8 | 35,9 | 37,4 | 2,1 | | |
| Argentina | 58 | | | 34,3 | 40,9 | | | |
| Chile | 10 | 16 | 79,2 | 32,7 | 44,1 | 2,5 | | |
| Uruguai | 32 | 17,3 | 67,3 | | | 4,9 | | |
| **Amostra utilizada neste trabalho (Brasil)** | 1 | 19 | | 35 | 37 | | | |

Por se tratar de uma solução supersaturada de açúcares em água, o mel cristaliza-se naturalmente [116]. Entretanto no Brasil, esse processo de cristalização torna o produto menos atraente do ponto de vista comercial, sendo considerado um processo indesejável.

Para evitar a rejeição do produto no mercado, o mel armazenado, já cristalizado é normalmente aquecido até que ocorra a fusão dos cristais, fazendo com que o produto volte a apresentar seu bom aspecto visual. Entretanto, como no mel há carboidratos e proteínas, nesse processo, o mel fica sujeito às mesmas reações que ocorrem nos corantes caramelo, que levam a seu escurecimento e a formação indesejável compostos furânicos, como hidroxi-metil-furfural. O conhecimento da temperatura de transição

vítrea nesses materiais pode contribuir para, no futuro, delinear procedimento visando, por exemplo, a preservação do mel.

### *2.9.3 – Frutose*

Ao lado dos açúcares glicose e sacarose, a frutose é um dos mais abundantes carboidratos que ocorrem na natureza. Tem uma ampla gama de funções no interior de organismos vivos, e possui um número cada vez mais expressivo de aplicações na indústria química e alimentícia. Recentemente [117] obteve-se, a partir da frutose, um bio-combustível (DMF, dimetil-furano) de maior poder calorífico que o etanol, com possibilidades de aproveitamento futuro.

Pelo fato de ser constituído de uma molécula simples, de ser um dos açúcares que compõe o mel e ainda ser bastante estudada na literatura, por análise térmica, frutose será utilizada neste trabalho como sistema modelo, a fim de comparar o efeito da hidratação sobre a $T_g$ com os demais formadores de vidro complexos, soluções de caramelo e mel.

## *3.0 – RELEVÂNCIA*

Segundo P.W. Anderson [118], a transição vítrea é provavelmente "o mais profundo e mais interessante problema ainda não resolvido na teoria do estado sólido" [119]. De fato há muitas questões sendo atualmente investigadas, e figuram entre as mais importantes, a questão da real natureza desse fenômeno: se termodinâmico ou se puramente cinético. No que se refere à determinação da $T_g$ em vidros orgânicos hidratados, há ainda diversas questões por esclarecer. Citam-se duas abaixo:

a) A questão da $T_g$ da água: especula-se que parte considerável da água presente no universo esteja no estado vítreo [120]. Entretanto, embora tenham sido propostos diversos valores para a $T_g$ da água, sua existência não é plenamente aceita.

b) Ocorrência de $T_g$ dupla em vidros orgânicos: A existência de transições vítreas múltiplas em líquidos formadores de vidros (especialmente com >50% de água) tem sido debatida a mais de três décadas conforme já abordado. A dificuldade de assinalamento dessas transições está relacionada com as baixas energias envolvidas e a ocorrência de transições adjacentes de maior energia, que afetam sua forma típica.

Independentemente das controvérsias que permeiam a discussão sobre o fenômeno da transição vítrea, e da tardia compreensão desse fenômeno em materiais alimentícios por parte de cientistas e engenheiros de materiais [56], o estudo do fenômeno e suas aplicações em vidros orgânicos de materiais alimentícios e sistemas biológicos, apresentou franca expansão nas últimas décadas.

O interesse em se estudar o fenômeno de transição vítrea em materiais alimentícios justifica-se na sua importância como parâmetro de determinação da conservação de alimentos e materiais biológicos, comprovados em dezenas de sistemas modelo, conforme abordado em tópicos anteriores. E nesse contexto, a determinação de valores de $T_g$ nesses materiais, bem como a elucidação de fenômenos associados é imprescindível.

Em face dessas condições, questiona-se o seguinte:

- Qual o real valor da temperatura de transição vítrea de corantes caramelo e outros materiais hidratados?
- Há de fato a ocorrência de mais de uma transição de segunda ordem nesses materiais?
- Se não se tratam de transições de vítreas, que tipo de fenômeno térmico está relacionado aos eventos descritos na literatura?
- A ocorrência desses eventos térmicos afeta a mobilidade de prótons ou mesmo de sondas de spin inseridas nesses materiais?

Neste trabalho, tais questões são abordadas com base nos objetivos, apresentados a seguir.

## *4.0 - OBJETIVOS*

O objetivo do trabalho proposto será o de investigar o fenômeno da transição vítrea em vidros orgânicos do grupo dos materiais alimentícios, mais especificamente, corante caramelo e mel, e ainda um sistema modelo, soluções de frutose, a fim de contribuir para a elucidação das questões acima mencionadas.

Mais especificamente, os objetivos são:

**1-** O estudo do fenômeno de transição vítrea em corante caramelo, mel e soluções de frutose por calorimetria exploratória diferencial convencional, considerando a influência da água presente nesses materiais, para que se definam os intervalos de concentração em que outros eventos térmicos além da $T_g$ , são formados (devitrificação, A, B);

**2-** O desenvolvimento e aplicação de experimentos de recozimento em calorimetria exploratória diferencial, a fim de observar a alteração, em função do tempo, das fases e estados físicos de amostras que exibem o fenômeno de devitrificação e sua relação com os eventos térmicos (A,B);

**3-** O estudo da mobilidade molecular ($T_2$) de materiais alimentícios nas vizinhanças da transição vítrea empregando ressonância nuclear magnética, a fim de se obter um mapeamento da mobilidade molecular desses materiais;

**4-** O estudo da mobilidade de sondas por RPE, nas faixas de temperatura abaixo e acima da $T_g$, que poderá contribuir para compreender a influência da formação de domínios rígidos no material e seu efeito na mobilidade da sonda spin;

Comparando as várias estratégias usadas na literatura, para o estudo da transição vítrea e fenômenos relacionados em vidros orgânicos, identificou-se a possibilidade de estudar o comportamento térmico desses formadores de vidros, variando o teor de umidade das amostras, com o objetivo de entender como esses eventos térmicos se originam e se alteram em função da concentração de água (Objetivo 1). Tal metodologia, com esta finalidade, não foi observada na literatura, e pode contribuir para responder questões pendentes relativas ao assinalamento de eventos térmicos associados à transição vítrea.

Para analisar os picos de devitrificação frente à umidade, um protocolo de recozimento foi adaptado e aplicado às amostras onde a devitrificação foi observada, e as curvas DSC foram comparadas com as curvas de DSC convencionais, a fim de se observar como tais eventos térmicos se originam e desaparecem e sua relação com a formação dos eventos térmicos A e B (Objetivo 2). Esse tipo de abordagem, para aplicação em várias amostras, também não tem sido muito explorado na literatura.

Desse modo, o objetivo geral do presente trabalho é o de contribuir para ampliar o conhecimento sobre a determinação da temperatura de transição vítrea de vidros orgânicos, especificamente dos materiais alimentícios hidratados, e sua relação com os eventos térmicos adjacentes tal como a possível transição vítrea dupla (A,B), a devitrificação e a fusão de gelo.

Além da contribuição para uma visão mais profunda sobre esses eventos térmicos, pretende-se que a análise contribua para ampliar o conhecimento do comportamento térmico desses três materiais e o efeito dominante da água sobre os mesmos. Dada a importância da água nos organismos vivos, na indústria farmacêutica e de alimentos, espera-se que a contribuição efetiva das informações contidas neste trabalho, possam ter alcance bem mais amplo que aos materiais objeto deste estudo.

## *5.0 - MATERIAIS E MÉTODOS*

Os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento desse trabalho, são indicados no diagrama da FIG. 22, onde é apresentado um esquema geral das etapas desenvolvidas neste trabalho.

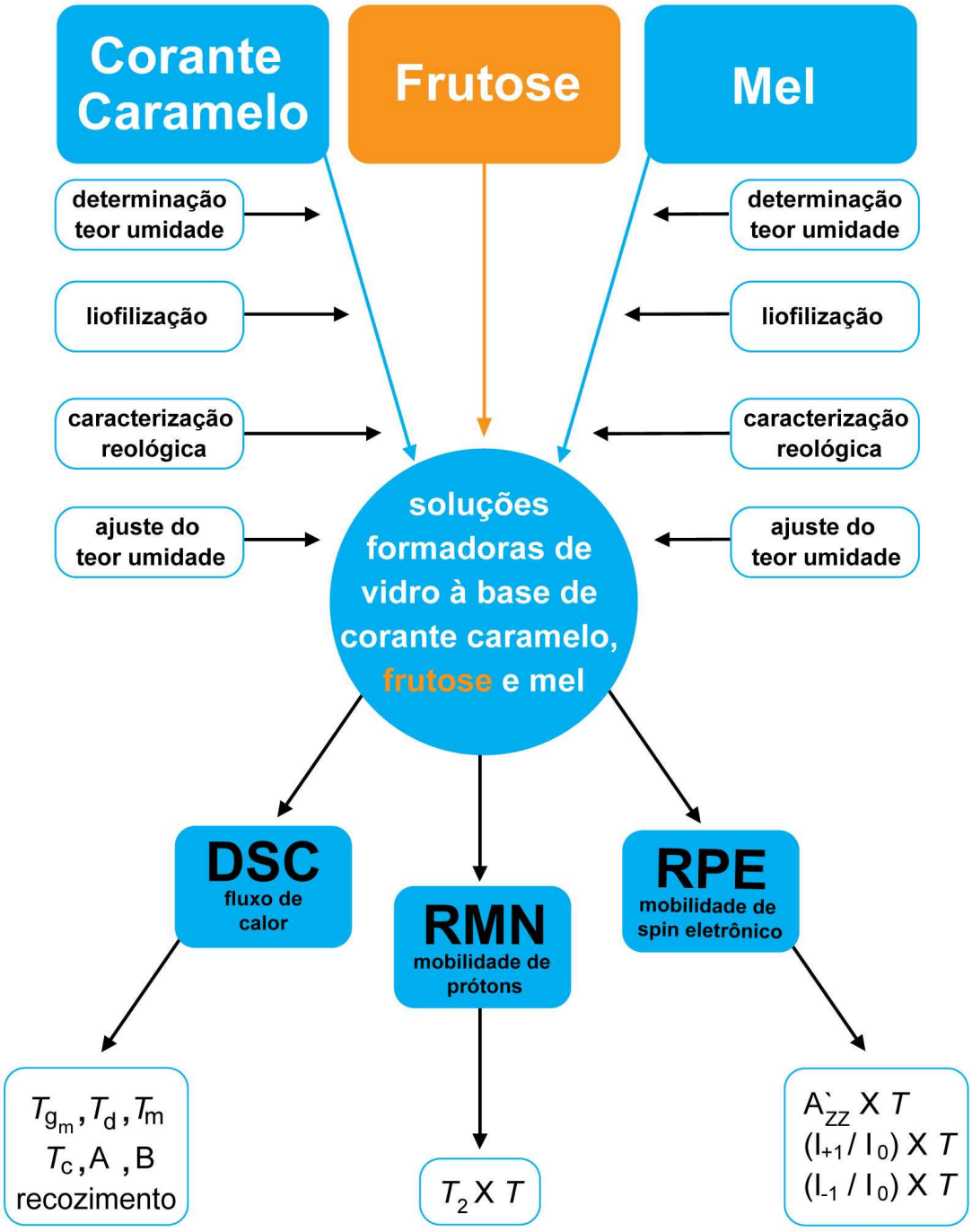



Figura 22: Esquema indicativo da metodologia empregada no desenvolvimento do trabalho.

Os métodos foram separados em métodos para a caracterização e preparo inicial das amostras e métodos para o estudo da transição vítrea. A caracterização e preparo das amostras consistiram da medida do teor de umidade de amostras de corante caramelo (por liofilização) e das amostras de mel (por refratometria) e caracterização reológica. A desidratação das amostras de corante caramelo foi feita por liofilização.

## *5.1 – Materiais*

Nas seções seguintes, são descritos os procedimentos adotados para o preparo das amostras de mel, corante caramelo e frutose, a fim de possibilitar a observação de eventos térmicos associados à transição vítrea.

### *5.1.1 – Preparação das amostras*

***Soluções de mel e água.*** Mel foi utilizado neste trabalho em sua forma natural, liofilizado ou com adição de água. A amostra utilizada foi produzida em Arinos, Minas Gerais, Brasil e foi obtida diretamente do apicultor. A amostra foi coletada durante a estação seca (agosto-setembro 2005). Concentração inicial de $H_2O$ foi medida em refratômetro Abbé (*Leica, Wetzlar, Alemanha*). O teor de umidade nas amostras de mel foi ajustado de acordo com o seguinte procedimento. Amostras com maior teor de umidade foram preparadas pela adição de quantidades apropriadas de água ultra purificada (*Milli-Q plus*) a alíquotas de mel liofilizadas por 48 horas *(Labconco Freeze dryer, Kansas City, Missouri*). O teor final de umidade das amostras com alto e baixo valor de umidade foi verificado por diferença de massa.

***Corante caramelo***: Amostra de corante caramelo utilizadas, foram do Tipo IV e foram doadas pelo fabricante (*Corn Products, Jundiai, Brasil*). Os valores iniciais concentração de $H_2O$ das amostras foram fornecidos pelo fabricante e apresentaram valores de 45 e 46%. Amostras liofilizadas e de alto teor de umidade foram obtidas utilizando mesmo procedimento para as amostras de mel.

***Amostras frutose/água***: Frutose D(-) pura (*Fluka Chemie GmBH, Buchs, Germany*) foi utilizada. Soluções foram preparadas pela adição de quantidades apropriadas de água ultra purificada Milli-Q e verificando a diferença de massa.

## *5.2 - Métodos*

Nas seções 5.2.1 a 5.2.3, são apresentados os métodos para o preparo e caracterização das amostras ou seja, a liofilização, a refratometria e a reologia. Nas seções 5.2.4 a 5.2.7 é apresentada a metodologia empregada para o estudo da transição vítrea e fenômenos a ela associados, por DSC, RMN e RPE em soluções de corante caramelo, mel e frutose.

### *5.2.1 - Liofilização*

A desidratação a frio das amostras ou simplesmente liofilização, é o método mais indicado para retirada da água das amostras sem ocorrência de reações de degradação de materiais biológicos. A liofilização, nesse estudo, tem por finalidade a confirmação dos teores de umidade das amostras e também a obtenção de material seco que foi posteriormente re-hidratado, para estudo da influência da água sobre a temperatura de transição vítrea.

O processo de liofilização consiste no congelamento da amostra, em contato com $N_2$ líquido, e sua posterior introdução na câmara do liofilizador, onde, mantido sob vácuo a temperaturas negativas entre $-50$ e $-60^{o}$C, tem a água, na forma de gelo, sublimada. Em trabalho anterior, Abreu (2001) desenvolveu o procedimento para a liofilização de corante caramelo. A re-hidratatação das amostras foi realizada por adição de água nas amostras liofilizadas, pesadas antes e depois da adição de água.

### *5.2.2 - Refratometria*

O índice de refração obtido em refratômetro de Abbe, foi utilizado para a medição da concentração de sólidos e produz resultados acurados para substâncias puras. Por diferença, obtém-se o valor de concentração de $H_2O$. Embora não seja esse o caso para o mel, material composto por um conjunto variável de açúcares, é um dos métodos mais utilizados para estimar a umidade residual nesses materiais. O método utilizado segue as normas do Instituto Adolfo Lutz [121].

### *5.2.3 – Caracterização reológica*

As medidas de viscosidade foram realizadas para amostras de mel e corante caramelo, na faixa de valores de $10^0$ a $10^3$ Pa.s, em viscosímetro Brookfield LV DVIII, equipado com controlador de temperatura e dotado de sensor de viscosidade do tipo de cilindros concêntricos. Os dados foram ajustados a modelos reológicos utilizando programa fornecido pelo fabricante.

O comportamento reológico desses materiais em função da temperatura, foi descrito por ajuste ao modelo de Vogel-Tammann-Fulcher, utilizando ferramenta Solver do programa Excel$^{(R)}$. Para frutose, não foi realizada esta etapa de caracterização, sendo utilizados dados publicados na literatura [122].

### *5.2.4 – Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

Para os experimentos preliminares de DSC convencional em amostras de mel e corante caramelo foram utilizados dois equipamentos TA 2010 (*TA Instruments, Delaware, CT, EUA*), um dotado de resfriamento com banho de $N_2$ líquido sem controle de temperatura no resfriamento e o outro com sistema de controle de resfriamento da amostras. A massa das amostras variou de 3,0 a 12,0 mg, com taxas (de aquecimento e/ou resfriamento) de 10$^o$C/min. O fluxo de nitrogênio na câmara foi ajustado em 20 mL/min.

O equipamento DSC 820 (*Mettler Toledo, Schwerzenbach, Suíça*), do tipo fluxo de calor, foi utilizado na execução de extensivos experimentos de DSC convencional e de recozimento. Utilizaram-se cadinhos vazios como referência. As taxas de aquecimento e resfriamento usadas para todas as amostras foram de 5, 10 e 20$^o$C/min. Amostras hidratadas de mel, corante caramelo e frutose foram pesadas (20,0 ± 0,4 mg) e hermeticamente seladas em cadinhos DSC de alumínio de 40 μL. Para amostras com baixo teor de umidade (1 a 13%) a faixa de temperatura foi de −50 a +60$^o$C. Para teores mais altos de $H_2O$ nas amostras (19 a 90%) a faixa de temperatura estudada foi de −140 a +25 $^o$C.

Calibração do fluxo de calor e temperatura dos equipamentos foi realizada utilizando indio ($T_m$=156,6 $^oC$, $\Delta H_{fus}$= 28,5 J/g) e zinco ($T_m$= + 419,5 $^oC$, $\Delta H_{fus}$= 107,5 J/g) como padrões. As calibrações de baixa temperatura foram verificadas com decano ($T_m$ = −29,7 $^oC$) e ciclohexano ($T_m$ = + 6,6 $^oC$) ou materiais equivalentes. Antes de executar o experimento, as amostras foram aquecidas a +45$^oC$ por um minuto, para apagar uma possível memória térmica do material. Foram determinados, em todos os experimentos, pontos médio de transição vítrea, *(midpoint*) utilizando softwares que acompanham os equipamentos.

### *5.2.5 - Procedimento de recozimento*

O procedimento de recozimento de Orlien e outros [48] foi adaptado e consistiu no seguinte: inicialmente, uma corrida DSC foi feita em uma amostra e três temperaturas entre a transição vítrea e o pico de devitrificação foram escolhidas para experimentos preliminares de recozimento. A temperatura que apresentou redução mais pronunciada no pico de devitrificação, foi escolhida como a temperatura de recozimento que foi então, realizado até que o pico de devitrificação desaparecesse completamente, quando possível. O tempo de recozimento variou de 30 a 360 minutos.

### *5.2.6 - Ressonância magnética nuclear de baixo campo*

Experimentos de relaxação transversal (espectros de relaxação RMN) foram realizados em espectrômetro de ressonância magnética nuclear de baixo campo, MARAN Ultra 23 MHz (*Resonance Instruments, Oxford, UK*) acoplado a controlador de temperatura e banho de $N_2$ líquido. Utilizou-se seqüência de pulsos CPMG e de pulso único (P90) para a obtenção dos valores de tempos de relaxação de soluções de mel com 8, 19, 30, 50% de $H_2O$. Os valores foram ajustados à equação

$$M = M_0 e^{-t/T_2} \tag{29}$$

utilizando os programas que acompanham o equipamento (WinDXP ou WinFIT, *Resonance Instruments, Oxford, UK*) ou Excel (*Microsoft Corp*.), onde $T_2$ é o tempo de relaxação spin-spin.

Nos experimentos CPMG procurou-se utilizar número de ecos que fosse suficiente para o completo decaimento da magnetização e foram utilizados valores de $\tau$ menores que 200μs, o que torna desprezível o efeito da difusão na perda do sinal. Desta forma, os $T_2$ calculados pelo ajuste dos pontos experimentais à equação 29, correspondiam exclusivamente à amostra.

Para caracterizar cada componente procedeu-se o ajuste dos pontos experimentais a uma somatória discreta de exponenciais, obtendo-se assim duas ou mais populações de prótons relaxando a diferentes $T_2$. Os relaxogramas foram obtidos utilizando-se o software WinDXP 1.6.0 (*Resonance Instruments Ltd, Oxford, UK*), que foi utilizado para este ajuste. Este software [123] considera o ruído ao final da curva de decaimento para uma estimativa do parâmetro de regularização e procede ao ajuste por uma minimização $\chi^2$.

Os valores dos parâmetros de regularização abaixo e acima dos valores calculados pelo software, foram testados manualmente, para verificação de eventuais distorções do relaxograma. Os valores calculados pelo software foram, invariavelmente, os que apresentaram melhores resultados.

As curvas de decaimento da magnetização foram obtidas em um intervalo de temperatura de −70 a +70$^o$C, conforme a amostra, procurando-se obtê-las no intervalo de temperaturas mais próximo da transição vítrea. Utilizaram-se tubos de 10 mm e amostras de 2 mL. Um intervalo de 10 minutos foi deixado a cada experimento, com o objetivo de estabilizar a temperatura das amostras antes da aquisição de dados.

Para baixas temperaturas e para amostras menos hidratadas, curvas de decaimento também foram obtidas pela aplicação de um pulso único de 90$^o$ com duração de 3,75 μs e ajustadas à equação de decaimento exponencial. Apesar de a seqüência CPMG permitir um cálculo de $T_2$ inequivocamente atribuível à amostra, relaxações rápidas, abaixo do tempo estabelecido para a aquisição dos vários ecos, podem ser perdidas. Assim, a seqüência de aquisição após pulso único de 90º torna-se importante para detectarem-se essas relaxações.

### *5.2.7 - Espectroscopia de ressonância paramagnética (RPE)*

As amostras de mel e frutose utilizadas foram as mesmas utilizadas nas análises de DSC e seu preparo seguiu o mesmo procedimento daquelas. Para que tais amostras se tornassem sensíveis ao campo de microondas do equipamento RPE, foi introduzida a sonda molecular TEMPO (Sigma). O procedimento para inserção das sondas spin é apresentado a seguir.

#### *5.2.7.1 - Preparação de amostras e soluções de mel para experimentos RPE*

Experimentos RPE foram realizados em amostras de mel em sua forma original e com água adicionada. A amostra utilizada foi produzida no município de Arinos, Minas Gerais, Brasil e foi obtida diretamente do apiário. A amostra foi coletada em estação seca (agosto-setembro) 2004.

Os valores iniciais de concentração de água foram medidos em um refratômetro Abbé (*Leica, Wetzlar,Alemanha*). Amostras hidratadas de mel são preparadas por uma quantidade apropriada de água altamente purificada (*Millipore Corp., Bedford, MA*) à amostra de mel natural. A concentração final de $H_2O$ nas amostras foi verificada por diferença de peso. Quantidades apropriadas da sonda spin TEMPO (*Sigma*) foram misturadas nas amostras, com agitação vigorosa, para obter concentração final de 1mM.

#### *5.2.7.2 - Preparação de amostras de frutose para experimentos RPE*

Amostras de frutose foram preparadas utilizando-se D(-) frutose (*Fluka Chemie GmBH, Buchs, Germany*) e água altamente purificada obtida no equipamento Millipore Q-Plus (*Milipore Corporation, Bedford, MA*). Frutose foi dissolvida em água à temperatura ambiente, com agitação contínua. Para amostras menos hidratadas (< 30% $H_2O$), as misturas foram aquecidas a 40$^oC$ até a dissolução completa dos cristais. A concentração de $H_2O$ foi ajustada pela adição de quantidades apropriadas de água às amostras. Quantidades apropriadas de TEMPO (Sigma) foram misturadas nas amostras, com agitação vigorosa, para obter concentração final de 1mM.

### *5.2.7.3 – Experimento e parâmetros experimentais RPE*

Espectros de primeira derivada foram obtidos em espectrômetro de banda X Brucker ECS 106 (*Bruker, Rheinstetten, Alemanha*) equipado com cavidade ESR 4103 TM, um controlador de temperatura de fluxo contínuo de nitrogênio líquido Bruker ER 4121 VT e um Dewar para célula plana para amostra hidratada (*Wilmad, Buena, NJ*). A célula plana para amostra hidratada consiste de um invólucro plástico e foi produzido usando duas peças (10 x 130 mm) de filme plástico (PA/PE 30/100), (*SFK Systems, Kolding, Denmark*), seladas em seladora de mesa T300.

A célula plástica contendo a amostra era mantida dentro do Dewar com a ajuda de uma espátula plástica.Os espectros de RPE foram obtidos utilizando-se os seguintes parâmetros: potência de microondas de até 2 mW; freqüência de modulação de 100 kHz; amplitude de modulação de 1 G ; constante de tempo de 328 ms; e tempo de conversão de 164 ms. As amostras foram inseridas à temperatura ambiente e resfriadas até −100 $^{o}$C e em seguida, aquecidas até, no máximo 0$^{o}$C. Os espectros foram obtidos em intervalos que variaram de 5 a 20$^{o}$C.

A partir dos espectros foram obtidos valores das razões de altura de linha dos espectros ($I_{+1}/I_0$ e $I_{+1}/I_0$) e $A'_{zz}$, com base nos quais foi realizada análise sobre mobilidade molecular nos materiais. Foram analisadas amostras de mel (19%, 30% e 50%) e frutose (20, 30, 40, 43, 45, 46, 48, 50 e 70% $H_2O$).

# *6.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO*

Nas seções que seguem, são apresentados os resultados relativos à caracterização das amostras e dos estudos de calorimetria exploratória diferencial, conforme metodologia apresentada no capítulo anterior.

## *6.1 – Caracterização das amostras*

São apresentados, nas subseções seguintes, os resultados da caracterização de amostras de corantes caramelo e mel, no que se refere aos teores de umidade e ao comportamento reológico.

### *6.1.1 – Determinação dos teores de umidade em corante caramelo e mel*

A determinação dos teores de umidade (concentração de $H_2O$) de amostras de corante caramelo utilizadas foi realizada por liofilização, técnica que apresentou resultados idênticos aos fornecidos pelo fabricante. O valor da concentração de $H_2O$ em amostras de caramelo re-hidratadas também foi determinado por liofilização.

O valor de umidade obtido em refratômetro para a amostra de mel original utilizada neste trabalho foi de 19%. O valor obtido está dentro da faixa de valores observados em méis e dentro daqueles considerados aceitáveis pela legislação brasileira. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) [124]. A partir desta amostra, as demais foram preparadas. Os valores de umidade (expresso em % $H_2O$ p/p), para as soluções de mel e corante caramelo, são apresentados na Tabela 5.

TABELA 5: Valores de umidade (concentração % de$H_2O$) de amostras de corante caramelo e mel.

| **Amostras de corante caramelo** | **umidade (%) p/p** | **Amostras de mel** | **umidade (%)p/p** |
|---|---|---|---|
| desidratado_01 | 1 | Mel original_19 | 19 |
| desidratado_02 | 3 | Desidratado_08 | 8 |
| re-hidratado_39 | 39 | Desidratado_13 | 13 |
| original (2004)_46 | 46 | re-hidratado_25 | 25 |
| original (2006)_45 | 45 | re-hidratado_30 | 30 |
| Hidratado_50 | 50 | re-hidratado_37 | 37 |
| re-hidratado_60 | 60 | re-hidratado_40 | 40 |
| Hidratado_70 | 70 | re-hidratado_45 | 45 |
| re-hidratado_72 | 72 | re-hidratado_50 | 50 |
| Hidratado_90 | 90 | re-hidratado_70 | 70 |

## *6.1.2 – Análise polínica da amostra de mel utilizada*

A análise polínica da amostra de mel utilizada nesse trabalho, indicou que se trata de mel multifloral, com predominância de pólen oriundo das famílias *Leguminosae sp.* e *Protium sp.*.O mel continha ainda contribuição de *Schinus sp***,** conhecida como Aroeira, planta típica do cerrado e que floresce na estação seca. A constatação experimental não concorda com o informado pelos apicultores, que associaram a origem do mel à espécie *Vernonia sp*., ou Assa-peixe.

## *6.1.3 – Comportamento reológico de corante caramelo*

Nas FIG. 23 (a) e (b), são apresentadas, respectivamente, a curva de fluxo (20$^{o}$C) e a curva que descreve o efeito da temperatura sobre a viscosidade de corante caramelo. O material apresenta uma relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento, caracterizando o comportamento newtoniano. O comportamento reológico desse material é idêntico ao de amostras de caramelo analisadas em trabalho anterior [25].

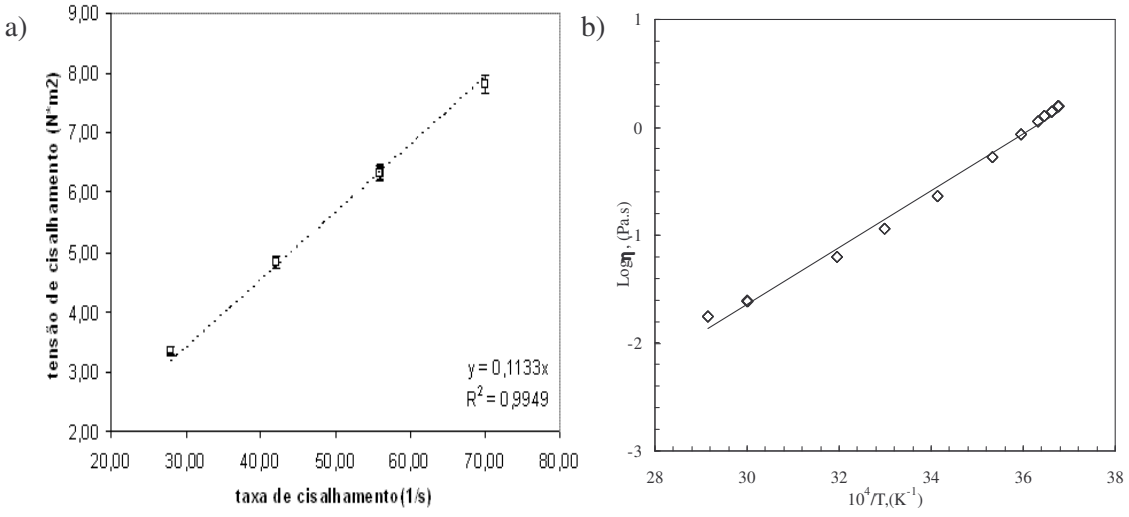



Figura 23(a) Curva de fluxo para corante caramelo (20$^{o}$C) que, nas condições experimentais aplicadas, ajustou-se satisfatoriamente ao modelo de Newton. (b) Influência da temperatura sobre a viscosidade de corante caramelo com ajuste satisfatório à equação de VFT.

O comportamento da viscosidade frente à variação de temperatura para a amostra de corante caramelo também confirma resultados observados naquele mesmo estudo. Devido ao fato de o equipamento não estar preparado para a obtenção de pontos às temperaturas abaixo de 0$^{o}$C, a faixa de valores de viscosidade cujos pontos foram coletados, mostrou-se muito estreita para o estudo da temperatura de transição vítrea. Por esta razão optou-se pela não utilização da equação de VFT, para a extrapolação necessária para a obtenção de valores de $T_g$.

## *6.1.4 - Comportamento reológico de amostra de mel*

Comportamento reológico da amostra de mel utilizada neste trabalho é apresentado na FIG. 24. Conforme se observa pelo ajuste aos pontos experimentais, a amostra analisada apresentou comportamento newtoniano dentro da faixa de taxa de cisalhamento estudada (FIG. 24a). Esse é o tipo de comportamento observado para a maioria das amostras de mel já estudadas na literatura [125, 126], embora mais raramente, tenham sido descritos méis tixotrópicos oriundos da Austrália [93]. A viscosidade da amostra foi de 28.0 Pa.s, a 20$^{o}$C.

Curva de viscosidade em função da temperatura (log $\eta$ x $T$) para amostra de mel, é apresentada na Figura 24b, em uma faixa de valores de viscosidade entre ~$10^{-2}$ e ~$10^{3}$ Pa.s. O ajuste dessa curva à equações de VFT pode ser utilizado para obtenção de valor inicial de $T_g$ para esse tipo de material. O comportamento reológico observado é similar a de méis de outros países, a exemplo de méis poloneses [126], australianos [127] e jordanianos [128] e outros. Alguns valores de viscosidade para a amostra de mel são apresentados na TAB. 6.

TABELA 6. Valores de viscosidade, para amostra de mel, entre 3 e 50$^{o}$C.

| Temperatura ($^{o}$C) | $\eta$ (Pa.s) |
|---|---|
| 3 | 537 |
| 10 | 129 |
| 15 | 54 |
| 20 | 28 |
| 25 | 15 |
| 30 | 7 |
| 40 | 3 |
| 50 | 1 |

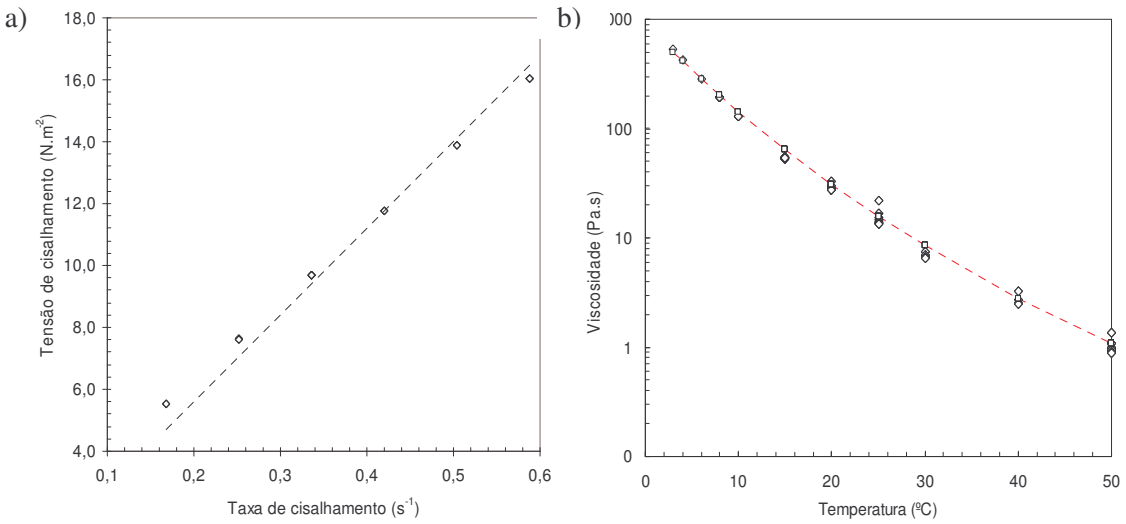



Figura 24. (a) Comportamento reológico de mel. Os pontos de tensão por taxa de cisalhamento ajustam-se ao modelo de Newton a 20°C. (b) Variação da viscosidade de amostra de mel utilizada neste trabalho, em função da temperatura. Todos os pontos medidos experimentalmente são apresentados. A curva tracejada corresponde a um ajuste da equação de Vogel-Fulcher-Tamman, em que a o valor de $T_g$ estimado foi de –27°C.

## *6.2- Calorimetria exploratória diferencial*

Os resultados apresentados nas seções seguintes, foram dispostos em função dos eventos térmicos exibidos pelas amostras, conforme a concentração de $H_2O$ nas amostras foi aumentada. A apresentação dos resultados foi dividida em função dos eventos térmicos observados nas curvas DSC: amostras que exibiram transição vítrea (6.2.1), amostras que exibiram devitrificação associada à $T_g$ (6.2.2) e amostras que exibiram eventos térmicos A e B (6.2.3).

Inicialmente serão definidos os intervalos de concentração de água em que transição vítrea, devitrificação e demais fenômenos associados ocorrem. Uma vez definidos, esses intervalos de concentração de $H_2O$ associados à formação dos eventos A e B, serão investigados em maior detalhe. Serão apresentados e discutidos ainda, experimentos que relacionam a variação no tempo de recozimento de amostras, com a ocorrência dos fenômenos de transição vítrea, devitrificação e, principalmente, dos eventos térmicos A e B.

Com base nesses experimentos, os resultados obtidos acerca dos eventos térmicos A e B serão confrontados com as hipóteses publicadas em literatura acerca dos mesmos, a fim de contribuir para a melhor compreensão sobre a origem desses complexos fenômenos térmicos.

### *6.2.1 – Transição vítrea em amostras com baixa concentração $H_2O$*

Curvas DSC para corante caramelo, soluções de mel e de frutose, que exibiram apenas transição vítrea, referentes às amostras menos hidratadas para cada material analisado, são apresentadas nas FIG. 25, 26 e 27. Para corante caramelo, são apresentadas curvas térmicas obtidas em três equipamentos e condições distintas de resfriamento. As curvas apresentadas nas FIG (25a) e (25b) respectivamente, para corante caramelo com 1 e 3% de $H_2O$, foram obtidas sem controle de resfriamento e com taxa de aquecimento de $10^oC$/min.

A amostra de corante caramelo com 3% $H_2O$, apresentou redução do valor de $T_g$, em relação à amostra com 1% de $H_2O$, efeito esperado. Comparando as curvas DSC da amostra com 1%, obtidas em condições diferentes, apresentadas na FIG. (25a) e (25c), verifica-se uma diferença de $12^oC$, que pode ser explicada pelas condições experimentais distintas de equipamentos, massas (3 ± 0,5 mg e 20± 0,5 mg), taxas de aquecimento ($10^oC$/min e $5^oC$/min), compactação das amostras no cadinho (menos agregada e compactada) e tipo de resfriamento (sem controle e com controle), respectivamente.

As curvas DSC referentes ao resfriamento e aquecimento à taxa de $5^oC$/min, apresentadas nas FIG. (25c) e (25e) indicam, durante o resfriamento das amostras, alterações na linha base (alteração de $\Delta C_p$), associada à formação de vidro. No aquecimento, apenas uma transição vítrea, caracterizada pela variação da linha base, é observada em cada amostra.

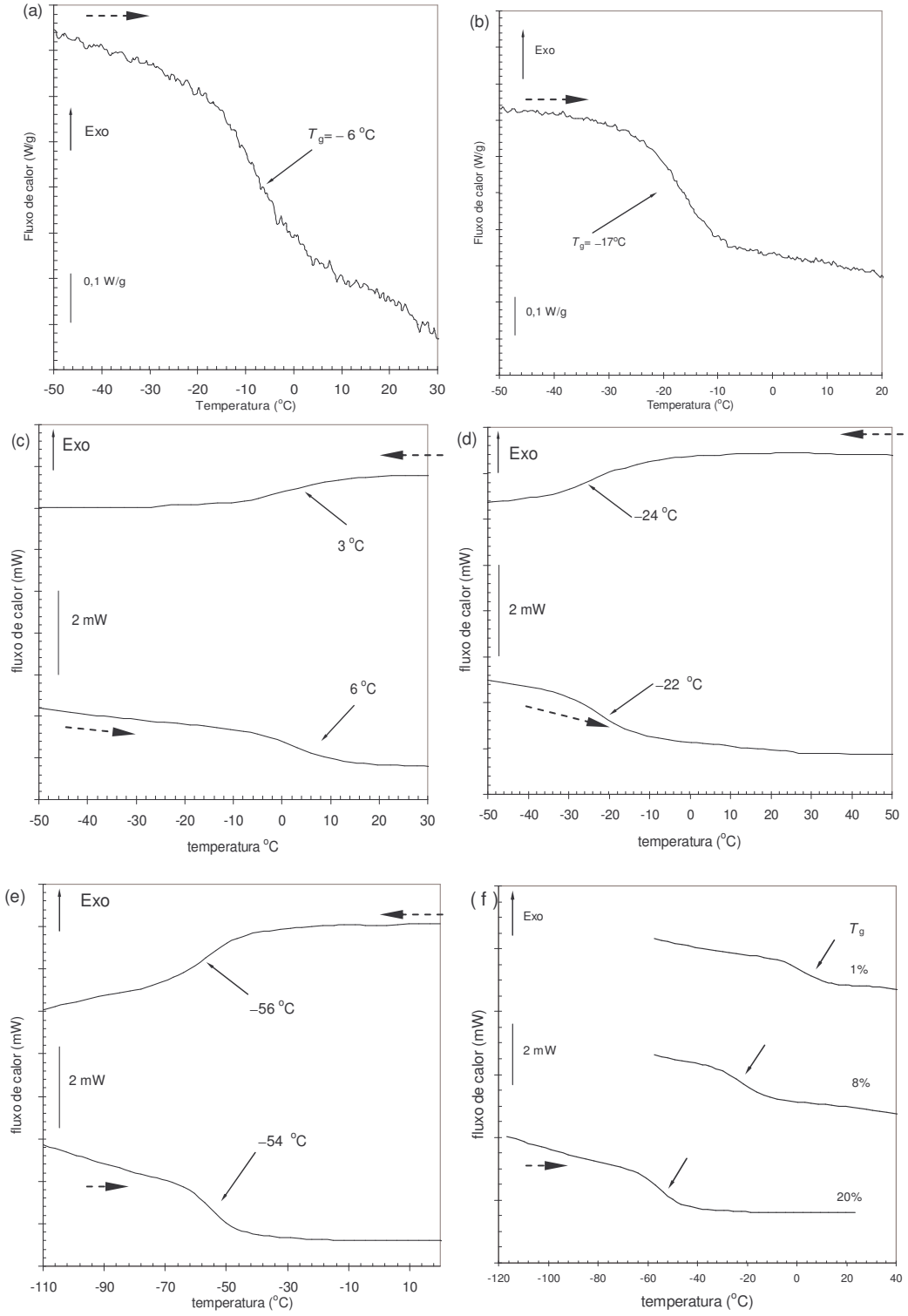



Figura 25 (a) Curvas DSC de corante caramelo, com 1% $H_2O$ e (b) 3% $H_2O$, obtidas sem controle de resfriamento, à taxa de 10°C/min, massa de (3 ± 0,5 mg) (c-e). Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para caramelo com concentração de (c) 1%,(d)8% e (e) 20% de $H_2O$. (f) Comparação entre as curvas DSC de aquecimento para 1, 8 e 20 % $H_2O$.

A diferença entre os valores de temperatura em que o vidro é formado no resfriamento e a transição entre o estado vítreo e o estado líquido super-resfriado (borrachoso), no aquecimento, variou entre 2 e 3$^{o}$C para todas as amostras. A obtenção desses vidros com taxas de 10 e 20$^{o}$C/min (não apresentadas) não causou alterações expressivas nos valores de transições de segunda ordem. Esse comportamento deve estar associado a alta viscosidade, nas condições experimentais, desses materiais pouco hidratados o que contribui para o estabelecimento de vidros estáveis, não sujeitos à ocorrência de cristalização ou devitrificação, na escala experimental observada.

Curvas DSC para mel, em concentrações entre 13 e 35% de $H_2O$ e para soluções de frutose, entre 10 e 37% de $H_2O$ apresentadas respectivamente nas FIG. 26 e 27, indicam comportamento térmico similar ao observado para corante caramelo. Porém um pequeno prolongamento da relaxação (poço endotérmico) ocorreu, em todas as amostras, após o ponto final da $T_g$, e que não foi observado para caramelo.

Observou-se nas curvas DSC para amostras de mel e frutose (FIG. 26a-c e 27a-c) a formação de vidro com uma única transição vítrea, havendo diferenças de até ~ 4$^{o}$C entre as transições de segunda ordem observadas no resfriamento e no aquecimento dessas amostras. A exceção da amostra com 37% $H_2O$, não foram observados outros eventos térmicos endo ou exotérmicos, além da $T_g$ e do poço endotérmico que a segue. A alta viscosidade da amostra (~>$10^4$ Pa.s a 20$^{o}$C), bem como as fortes interações entre solvente e soluto, contribuem para esse comportamento.

O expressivo efeito plastificante, resultante do aumento da concentração de $H_2O$ no material, é verificado pelas FIG. (26d) e (27d), nas quais se observa redução progressiva nos valores da temperatura de transição vítrea de mel e frutose ($T_g$ ~−25 a −72$^{o}$C), para aumento de 25% na concentração de $H_2O$. Este efeito plastificante da água, também foi observado para $T_g$ de corante caramelo, com redução de ~ 64$^{o}$C, para 18% de aumento na concentração de $H_2O$. Esse comportamento pode ser descrito pela equação de Gordon Taylor [129], e será apresentado sob a forma de diagramas de estado na seção 6.2.6.

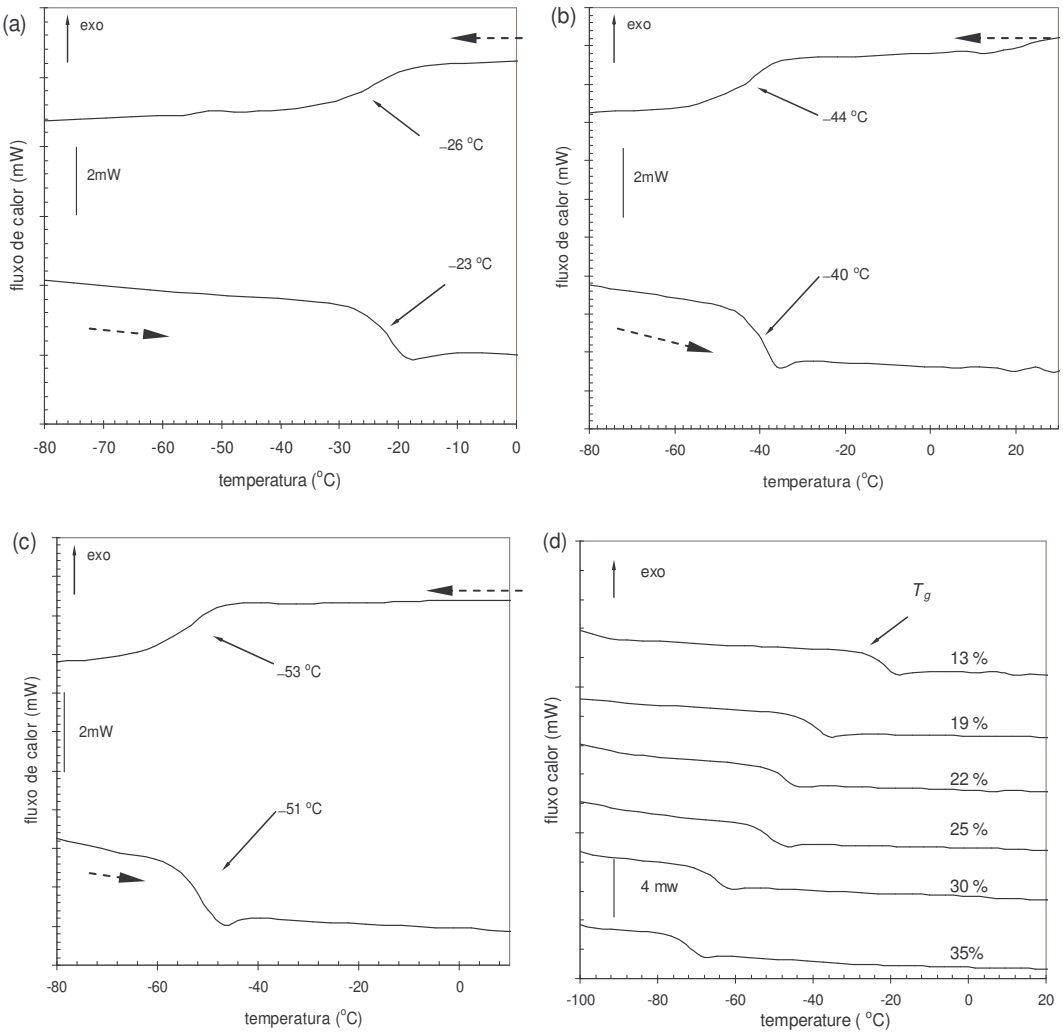



Figura 26. Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para mel com concentração de (a)13, (b)19 e (c) 30% de $H_2O$. (d) Curvas DSC de aquecimento, para soluções de mel em água, com concentração de $H_2O$ entre 13 e 35%, obtidas com controle das taxas de aquecimento e resfriamento (5°C/min).

Os valores de temperatura de transição vítrea das amostras de mel, especialmente para a amostra original (19% $H_2O$) são similares àqueles publicados na literatura [130]. O mesmo ocorre com as amostras de frutose, cujos valores de $T_g$ são compatíveis com os observados na literatura [79]. Entretanto, os valores de $T_g$ de vidros de mel e frutose são superiores àqueles observados para a amostra de caramelo em concentração similar, indicando que as ligações entre açúcar e água sejam mais fortes.

A amostra de frutose com 37% de $H_2O$, exibiu uma pequena endoterma de fusão, embora o pico de devitrificação correspondente não seja claramente observado. Tal fato é um indício do enfraquecimento das ligações entre água e soluto, que causa a

diminuição da estabilidade do vidro, permitindo, portanto, a ocorrência dos fenômenos de devitrificação e fusão. A investigação de amostras com maior concentração de $H_2O$, na seção seguinte, permitirá compreender melhor a formação desses vidros sujeitos à devitrificação [131], bem como, indicar a origem de outros eventos térmicos associados à transição vítrea.

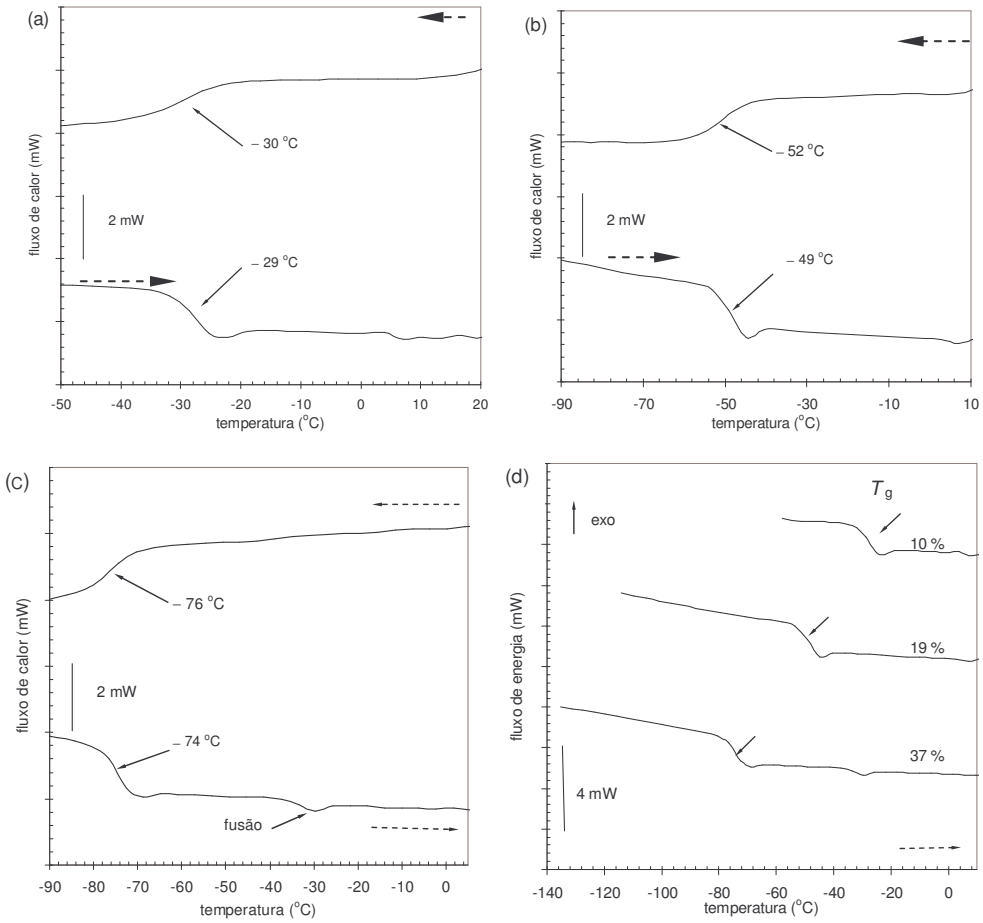



Figura 27. Curvas DSC obtidas a 5°C/min para amostra de frutose com (a)10 (b) 20 (c) 37 % de $H_2O$ durante o resfriamento e aquecimento. (d) Curvas DSC para soluções de frutose, com concentração de $H_2O$ entre 10 e 37%, obtida a taxas de resfriamento/aquecimento de 5°C/min.

## *6.2.2 – Transição vítrea associada à devitrificação*

Quando a concentração de água nas soluções é suficientemente aumentada, a partir de uma determinada faixa de concentração, a diminuição nas interações entre os solutos e a água passa a permitir a ruptura dessas ligações e favorece a formação de

outros eventos térmicos nos vidros orgânicos investigados. Um desses eventos é a devitrificação da água, fenômeno exotérmico que pode ser observado nas curvas DSC para a amostra de corante caramelo com 30% de $H_2O$, à FIG. 28 (a-d).

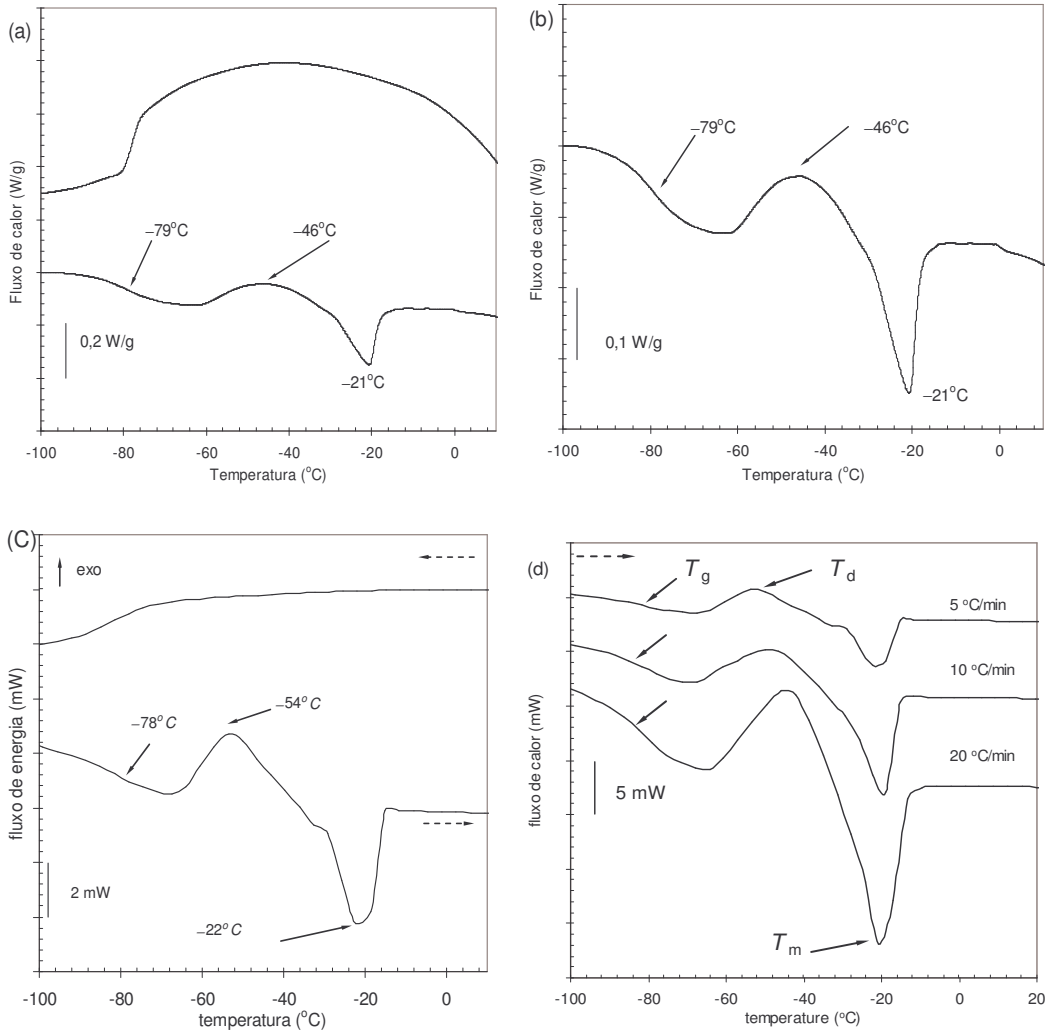



Figura 28 (a-b). Curvas DSC para o resfriamento e aquecimento de corante caramelo com 30% de $H_2O$, obtidas a taxa de 10°C/min, em (8,6 mg). (c) Curvas DSC para amostra com 30% $H_2O$, obtida a 5°C/min (20 mg). (d) Amostra com 30 % de água a taxa de aquecimento/resfriamento de 5, 10 e 20°C/min (não normalizadas).

Nas curvas DSC referentes ao primeiro experimento (taxa de 10°C/min e massa 8,3 mg), apresentada na FIG. (28a-b), a amostra exibe comportamento indefinido durante o resfriamento, ocorrendo alteração de linha base entre ~ −70 e −80°C. No segundo experimento (taxa 5°/min, 20 mg) apresentado na FIG. (28c), a curva de

resfriamento indica tratar-se de formação de vidro, sendo também observada a alteração de linha base, entre −70 e −80°C.

As curvas de aquecimento referentes aos dois experimentos (FIG. 28b-c) indicam a ocorrência de transição vítrea, com diferença de apenas 1°C entre seus valores. A $T_g$, nos dois experimentos, foi seguida por um pico de devitrificação, tendo sido observada diferença de 8°C entre os valores de $T_d$ , que podem ser explicadas pelas condições experimentais distintas. As temperaturas de pico das endotermas de fusão foram similares. A variação das taxas de aquecimento e resfriamento até 20°C/min, pouco alterou as temperaturas de transição vítrea, e para a temperatura de pico de devitrificação ($T_d$) observou-se um pequeno aumento (~+6°C) com a taxa (FIG. 28d, não normalizadas).

Comportamento similar foi observado também para mel e frutose. Curvas DSC desses materiais com concentração de $H_2O$ acima de 35%, também exibiram devitrificação, como pode ser verificado nas curvas apresentadas, respectivamente nas FIG. 29 e 30. Observa-se que todos os vidros são formados no resfriamento sem ocorrência de cristalização visível a exemplo do que foi observado para a amostra de corante caramelo com 30% de $H_2O$. Do mesmo modo, a devitrificação ocorre no aquecimento das amostras.

Um efeito comum observado tanto no mel quanto em frutose nas FIG. 29c e 30d, é a variação da área do pico de devitrificação em função do aumento na concentração de água nas amostras. Observa-se ainda, que ocorre uma expressiva (~35°C) redução da temperatura de pico de devitrificação ($T_d$), em função do aumento de 5% de $H_2O$ para as amostras de mel. Para a solução de frutose observou-se redução de (~30°C) para um aumento de 5% de $H_2O$, comportamento não descrito anteriormente, na literatura.

Esse fato indica o forte efeito da concentração de $H_2O$, que afeta a ocorrência de devitrificação, cujo pico aparentemente tende a ocorrer a temperaturas progressivamente menores (FIG. 29c). Essa faixa de concentração de $H_2O$ será melhor investigada na seção 6.2.4, que permitirá também, obter informações sobre a formação de eventos térmicos duplos, visando maior consistência no seu assinalamento.

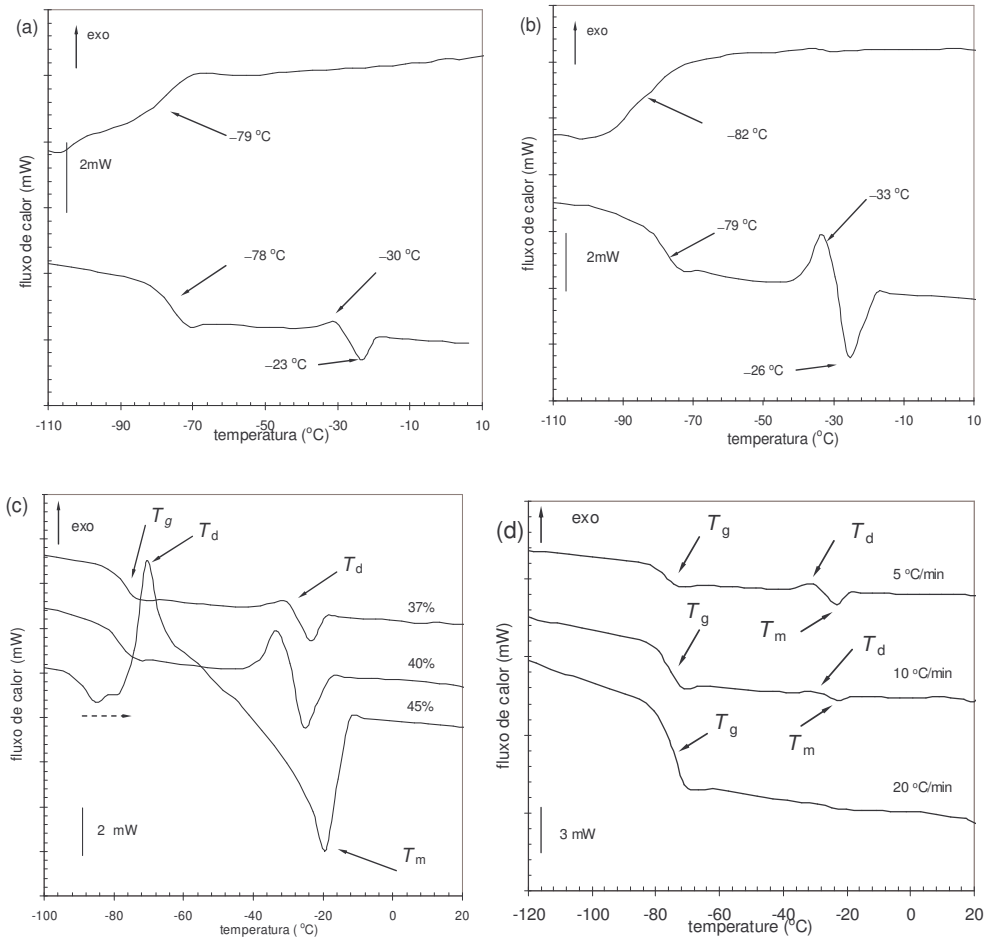



Figura 29. (a) e (b) Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para mel com concentração de 37 e 40 % de $H_2O$. (c) Curvas DSC para soluções de mel em água, com teor de $H_2O$ entre 37 e 45 obtidas a taxas de 5°C/min. (d) Curvas DSC para amostra com 37% $H_2O$ com taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10 e 20°C/min,não normalizadas.

O aumento na taxa de resfriamento e aquecimento para amostra de mel com 37% de $H_2O$, apresentado à FIG. 29d, causou diminuição na área do pico de devitrificação na curva obtida a 10°C/min, e seu desaparecimento quando a curva foi obtida a 20°C/min. Essa observação pode ser explicada pela restrição cinética imposta pelo aumento da taxa de aquecimento e resfriamento, que não permite a ocorrência de devitrificação. O material passa do estado vítreo diretamente para o estado líquido.

Observou-se na Figura 30e, para a solução com 40% $H_2O$, aumento de 1 a 2°C na temperatura de transição vítrea, $T_g$, com o aumento das taxas de aquecimento. As temperaturas de máximo do pico de devitrificação ($T_d$), exibiram maior variação, com

um aumento de ~ +4$^{o}$ C, com a taxa de 10$^{o}$C/min e uma redução para o valor original, quando a taxa foi de 20$^{o}$C/min. A alta viscosidade dessa solução, acima da $T_g$, certamente é um fator que inibiu alterações mais expressivas, tanto na $T_g$, quanto na $T_d$.

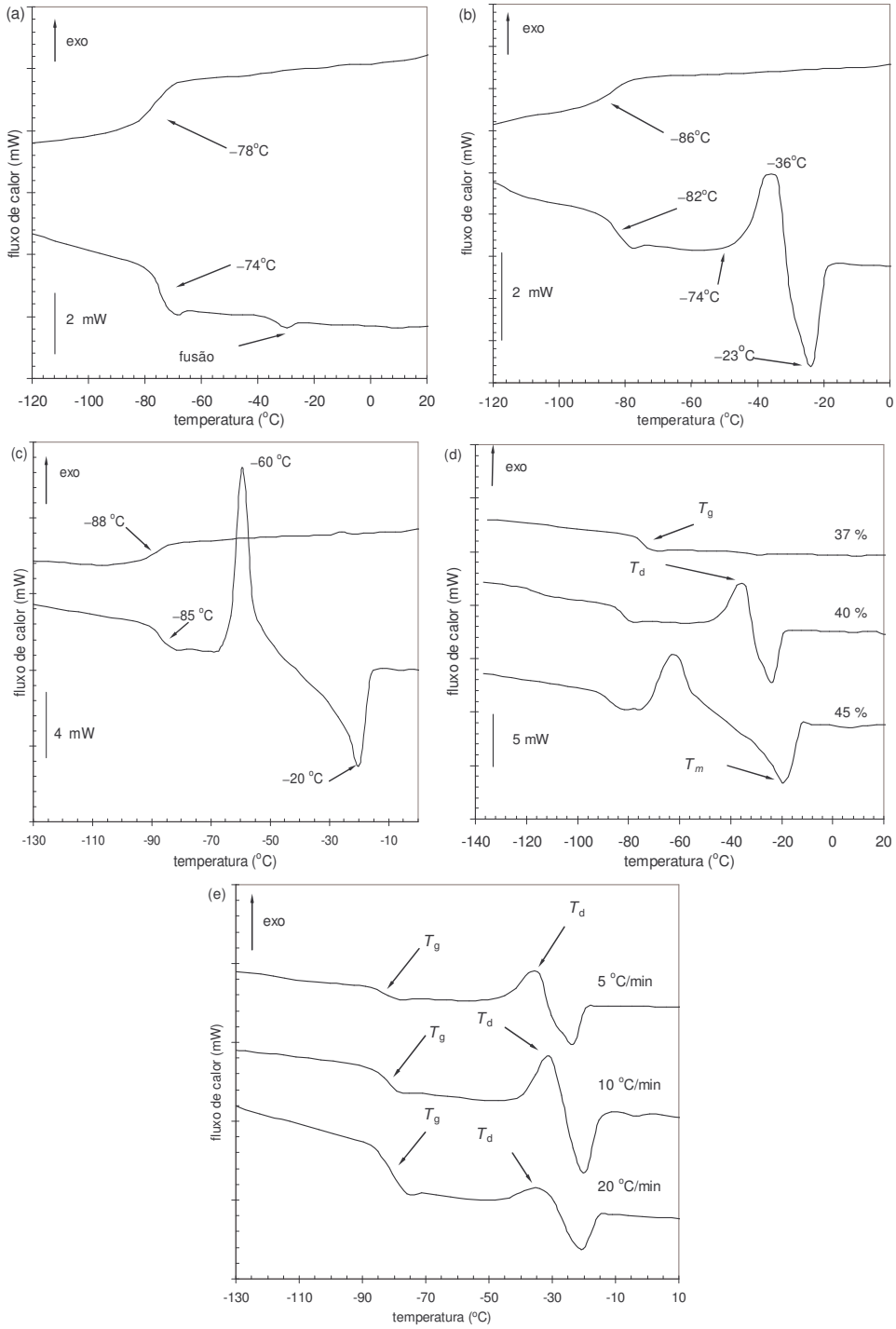



Figura 30. Curvas obtidas a 5$^{o}$C/min para amostras de frutose (a)-(d) Curvas térmicas para soluções de frutose, com concentração de água entre 37 e 45%, obtida a taxas de resfriamento/aquecimento de 5$^{o}$C/min. (e) 40% a 5, 10, 20$^{o}$C/min, não normalizadas.

Já foi mencionado o fato de que, tanto em mel, quanto em soluções de frutose, os primeiros sinais de ocorrência de devitrificação foram observados em amostra com 37% de $H_2O$ e, para caramelo, expressivo pico de devitrificação foi observado em amostra contendo 30% de $H_2O$. A exemplo do que se observou para amostras menos hidratadas, a diferença pode ser explicada pelo fato de que o corante caramelo corresponde a uma mistura de composição distinta dos carboidratos (mel e frutose).

As moléculas de açúcares que compõem o mel bem como as soluções de frutose, formariam ligações mais fortes com a $H_2O$, do que aquelas observadas entre este solvente e as substâncias que compõem o corante caramelo. Por essa razão, a ruptura de ligações durante o resfriamento, que caracteriza as interações soluto-solvente, ocorre em soluções menos hidratadas para corante caramelo que para os outros formadores de vidro. As soluções de açúcares são então, melhores formadoras de vidro que as de corante caramelo.

O aumento na concentração de água, acima dos valores das estudados nesta seção, para os três materiais, altera bruscamente o comportamento térmico desses formadores de vidros, cujas curvas DSC têm como característica, a ocorrência dos eventos térmicos A e B. Os efeitos da maior concentração de $H_2O$ nas soluções formadoras de vidros caramelo, mel e frutose sobre a $T_g$ a $T_d$, bem como a ocorrência de A e B, são investigados na seção seguinte.

### *6.2.3 – Alta concentração de $H_2O$: $T_g$ e eventos térmicos associados*

Curvas DSC para corante caramelo com 20, 30 e 45% $H_2O$ são apresentadas à figura 31a. Observa-se que o aspecto da curva DSC para a amostra com 45% de $H_2O$ não exibe, aparentemente, um pico de devitrificação, a exemplo do observado na amostra com 30% de $H_2O$. Dois eventos térmicos são observados na amostra com 45% de $H_2O$, identificados com as letras A (evento térmico de temperatura mais baixa) e B (evento térmico de temperatura mais alta), nomenclatura adotada previamente neste trabalho.

Nas Figuras (31b-c) e (31d), são apresentadas curvas DSC para corante caramelo com, respectivamente, 46, e 72% de $H_2O$, obtidas sem controle de resfriamento e com taxa de aquecimento de 10°C/min. A forma desses eventos térmicos é a mesma observada na literatura, para um grande número de materiais hidratados, mencionados na revisão deste texto.

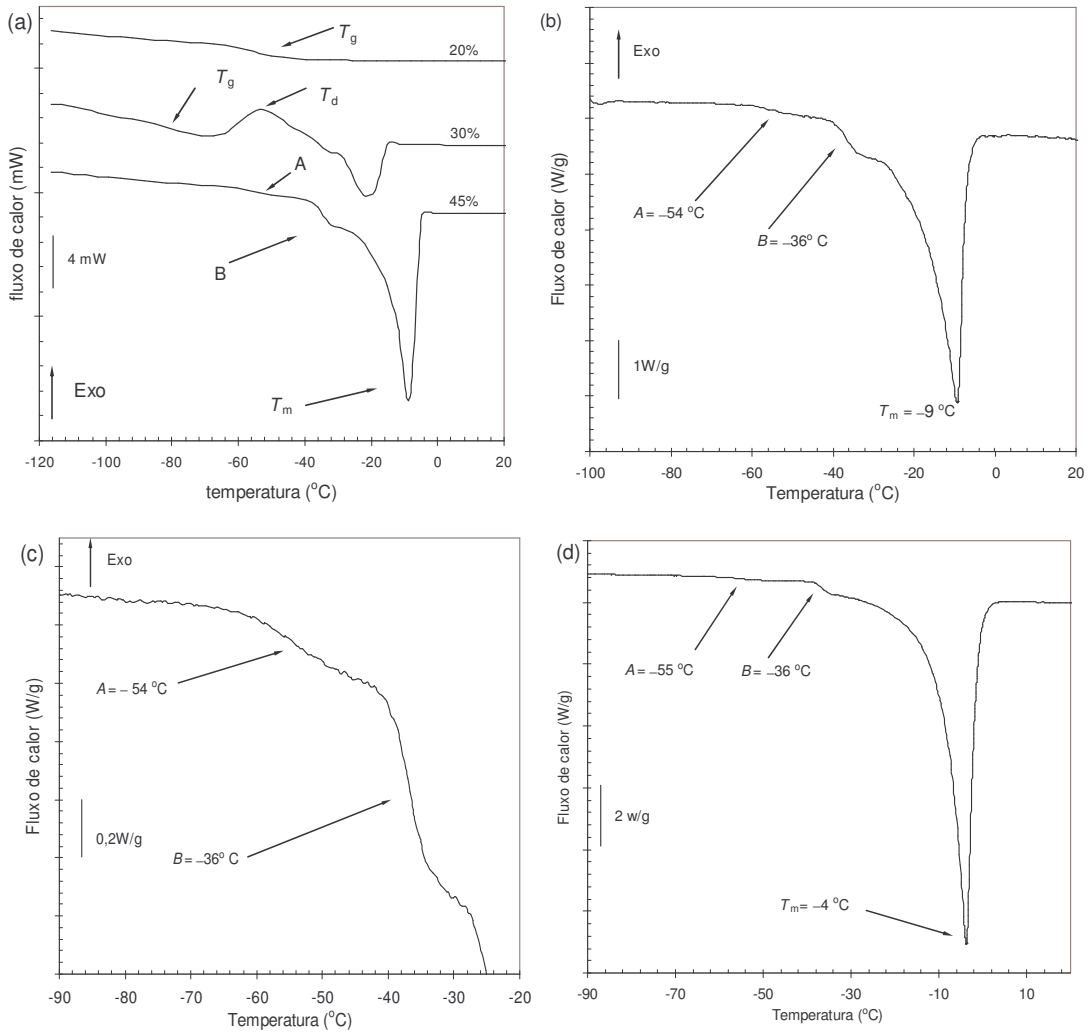



Figura 31 (a) Curvas DSC de aquecimento, para amostra de corante caramelo com 20, 30 e 45% $H_2O$, obtida a 5°C/min (20 mg). (b-c) Curva DSC para amostra com 46% de $H_2O$, obtida sem controle de resfriamento da amostra, em que são observados os eventos térmicos formados durante o aquecimento a 10°C/min. (d) Curva DSC para corante caramelo, com 72% de $H_2O$.

Os valores dos eventos térmicos assinalados A e B, para a amostra contendo 60% de $H_2O$ (FIG. 31a e 31b) foram respectivamente –54 e –36°C. O evento térmico B ocorre então, em temperatura superior às $T_g$ de algumas das amostras de corante

caramelo com menor concentração de $H_2O$, como por exemplo, da $T_g$ observada para amostras com 20% ( $T_g$= −56 $^oC$) e 30% $H_2O$ ($T_g$= −82 $^oC$). A proximidade entre os valores de A e a $T_g$ da amostra com 20% de $H_2O$, pode indicar que exista uma relação entre estes dois eventos, observação que será discutida adiante.

As capacidades caloríficas dos dois eventos térmicos (FIG. 31c) são diferentes, bem como a extensão do intervalo de temperatura em que são observados: a capacidade calorífica de A corresponde, aproximadamente, à metade da observada em B; o evento térmico A ocorre em um intervalo de ~20$^o$C e o evento térmico B, ocorre em um intervalo de ~10$^o$C. Comparando esses eventos térmicos com $T_g$´s de materiais com baixa hidratação, alguns autores observaram a similaridade de A com a $T_g$. Por outro lado, defendem que B não esteja associado a uma segunda $T_g$ [132].

Na FIG. 32a, são apresentadas curvas DSC para corante caramelo com 50% de $H_2O$, obtidas com resfriamento e aquecimento controlados, à taxa de 10$^o$C/min e, nas FIG. (32b) e (32c) são apresentadas curvas para amostras com 45 e 70% de $H_2O$. Os valores de A e B nesses experimentos, concordam com aqueles obtidos nos experimentos realizados sem controle de temperatura (FIG. 32 b-e), embora se tratem de amostras com concentrações distintas de $H_2O$.

Nas curvas DSC de resfriamento para amostras com 45 (32b) e 70% (32c), um pico de cristalização de gelo é observado, na curva de resfriamento, a temperaturas mais altas, conforme a concentração de $H_2O$ cresce. A ocorrência de cristalização durante o resfriamento, causa a formação de solução mais concentrada em soluto, processo conhecido como concentração por congelamento (*freeze concentration process*). Os eventos térmicos A e B, observados nas curvas de aquecimento estão, portanto, relacionados à formação deste material concentrado.

Nas curvas DSC obtidas no aquecimento de amostras com 45, 70, 90 e 100% de $H_2O$, apresentadas nas FIG. (32d) é possível observar a redução da capacidade calorífica do evento térmico *B*, com o aumento da concentração de $H_2O$. A capacidade calorífica de A, nessa situação é pouco afetada. A aparência dos eventos A e B para amostra com 70% $H_2O$ (FIG. 32e) permanece similar à observada para amostra com 46% de $H_2O$.

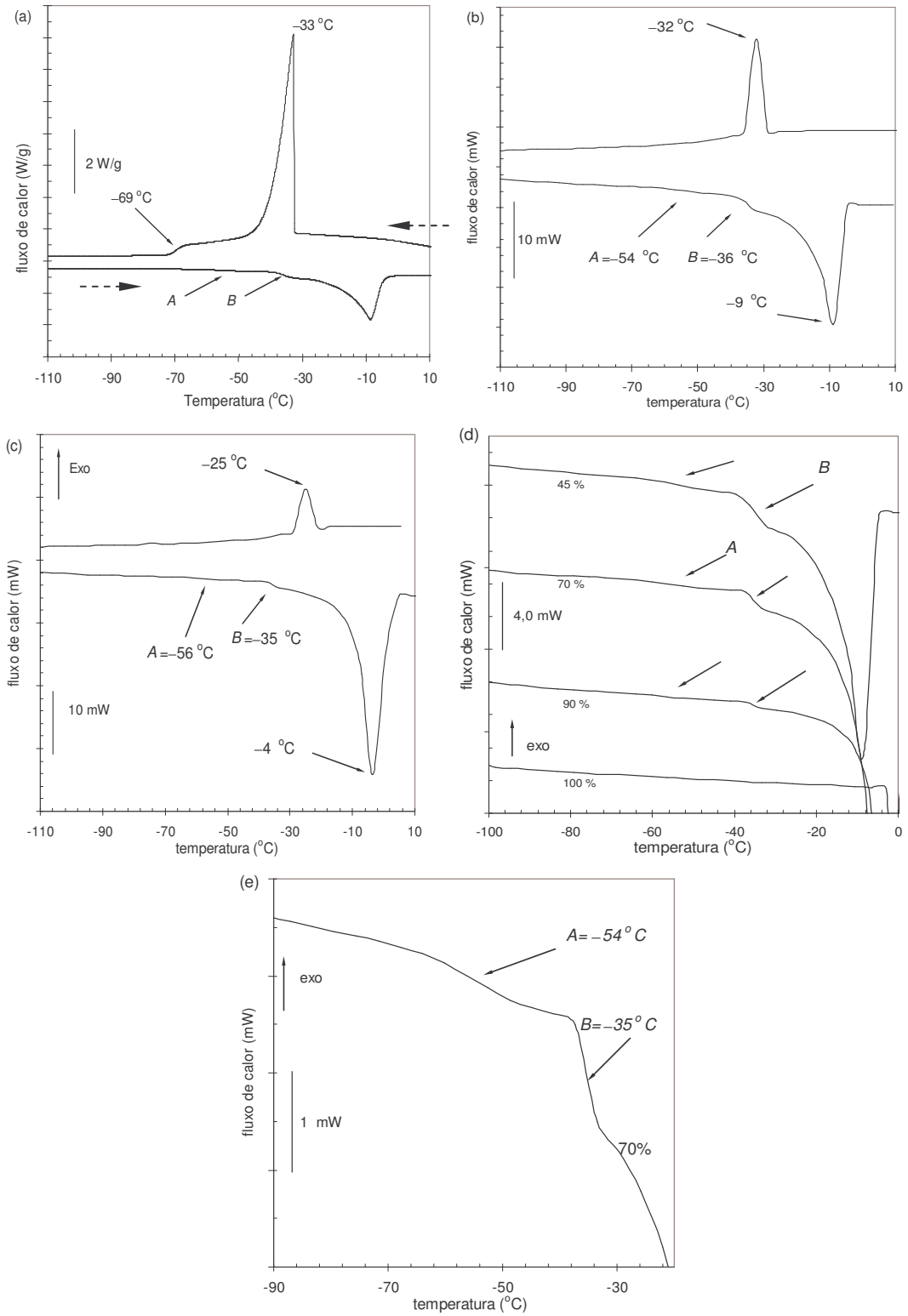



Figura 32. (a) Curvas DSC de corante caramelo com 50% de $H_2O$, obtidas a taxa de aquecimento e resfriamento de 10°C/min. (b) Curvas DSC de resfriamento e aquecimento (5°C/min) para caramelo com concentração de 45 e (c) 70 % de $H_2O$. (d) Curvas DSC para amostras de corante caramelo, 45 a 100% de $H_2O$, obtido a taxas de aquecimento/resfriamento de 5°C/min. (e) Detalhe evidenciando as diferenças entre os eventos térmicos A e B em amostra com 70% de $H_2O$.

Na FIG. 33, são apresentadas curvas DSC para amostra de corante caramelo com 45% de $H_2O$, submetidas a taxas de 5, 10 e 20°C/min. A variação nas taxas de aquecimento para essa amostra causou brusca alteração na ocorrência de eventos térmicos nesta amostra: os eventos A e B, aparentes na curva térmica obtida a 5°C/min, sofrem uma alteração na curva obtida a 10°C/min, tornando-se indistintos, e sendo observado o surgimento de um possível pequeno pico de devitrificação a ~–30°C .

Na curva obtida a 20°C/min, os eventos térmicos A e B já não são observados, ocorrendo entretanto, uma transição vítrea (~–95°C), seguida por um pico de devitrificação (–70°C). Os baixos valores de $T_g$ e $T_d$, indicam que o aumento da taxa de resfriamento, resultou na formação de vidro mais hidratado. A não observação de eventos térmicos A e B, após aumento da taxa de resfriamento, sugere que exista uma relação entre o evento térmico A e o fenômeno de transição vítrea e, também, entre o evento térmico B e a devitrificação.

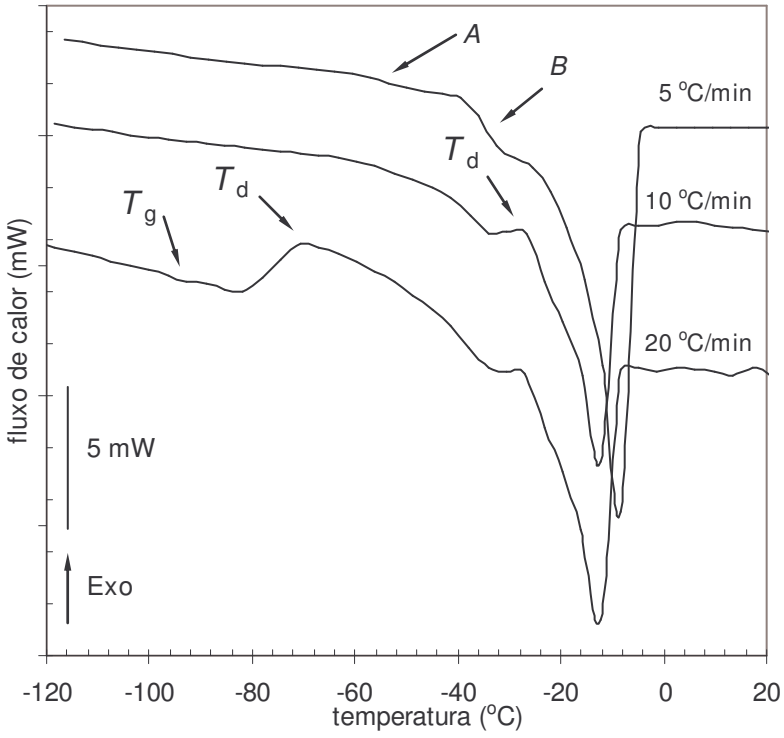



Figura 33. Curvas DSC para corante caramelo com 45% $H_2O$, obtidas em taxas distintas de aquecimento. O resfriamento das amostras (não apresentado) foi controlado de igual valor ao do aquecimento.

Na FIG. 34, são apresentadas as curvas DSC para amostras de mel (34a-c) e de frutose (34d-e) entre 50 e 100% as quais indicam, novamente, a similaridade do

comportamento térmico desses formadores de vidros com relação ao observado para corante caramelo.

Comparando-se as FIG. 34a e 34d, observa-se que a temperatura de cristalização (resfriamento), de fusão e de ocorrência de eventos térmicos *A* e *B* são próximas, variando em ~ 3$^{o}$C . A redução nos valores de capacidade calorífica do evento térmico B, em função do aumento na concentração de $H_2O$ também é observada nessas amostras (FIG. 34c e 34e). Por outro lado, na curva DSC de água deionizada, apresentada nas FIG. 34b(c-e-f), não são observados eventos térmicos com características similares a A e B, indicando que o mesmo ocorre em associação com os solutos.

Curvas DSC de aquecimento para mel com 50% de $H_2O$, obtidas a taxas de 5, 10 e 20$^{o}$C/min, são apresentadas às FIG. 35 e 36 e nelas, pode ser observado o efeito da variação desse parâmetro sobre a seqüência de eventos térmicos A e B. A amostra de mel mostrou-se menos sensível à variação da taxa, entre 5 e 10$^{o}$C/min, uma vez que não houve alteração de A *e* B. Para mel, a taxa de 20$^{o}$C/min causou marcante alteração na ocorrência dos eventos térmicos A e B cujo aspecto sugere que o evento térmico B tornou-se similar a transição vítrea $T_g$ seguida por devitrificação $T_d$.

Nas curvas obtidas a 20$^{o}$C/min, as alterações nos eventos térmicos foram marcantes, com a formação de picos de devitrificação para mel (–48$^{o}$C) e frutose (–82$^{o}$C), FIG. 36. Isso reforça a sugestão do parágrafo anterior de que, os eventos térmicos observados na curva DSC da amostra de frutose, obtida sob taxa de 10$^{o}$C/min, entre ~–100 e ~–84$^{o}$C, correspondam a uma transição vítrea seguida por um pico de devitrificação.

A curva DSC obtida a 10$^{o}$C/min corresponderia então, a uma transição na ocorrência de fenômenos térmicos nesse material, cuja curva DSC exibe os quatro eventos térmicos ($T_g$, $T_d$, A, B). Esses experimentos indicam a importância das taxas de aquecimento e resfriamento para a determinação de eventos térmicos nesses materiais. A seqüência de eventos térmicos observados, sugere que à medida que a taxa de resfriamento é aumentada (20$^{o}$C/min), há tendência maior de formação de vidro com maior hidratação.

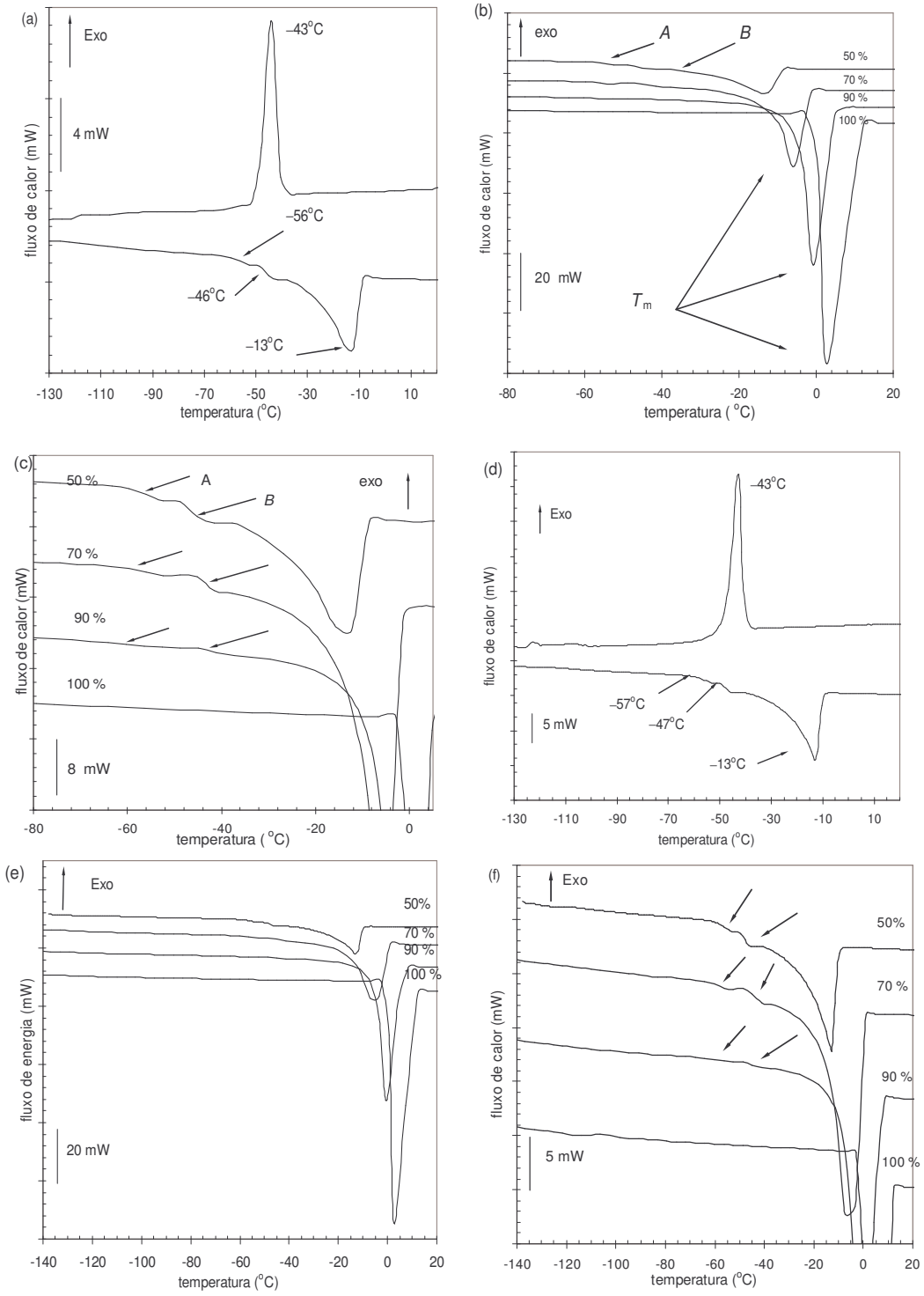



Figura 34. (a) Curvas DSC para soluções de mel com 50 % de $H_2O$. (b-c). Curvas DSC para soluções de mel, entre 50 e 100% $H_2O$ (d) Curvas DSC para soluções frutose para 50% $H_2O$ (e-f) Curvas DSC para soluções de frutose, com concentração de $H_2O$ entre 50 e 100%. Em todos os experimentos, a taxa de aquecimento e resfriamento foi de 5°C/min.

O vidro formado a 20°C/min, possui maior concentração de água, uma vez que o processo de cristalização, durante o resfriamento, é pelo menos em parte, evitado. A maior quantidade de água causa a plastificação do vidro, com a conseqüente diminuição do valor de temperatura de transição vítrea. Trata-se, de vidro instável e, por essa razão, sofre devitrificação à medida que a amostra é aquecida.

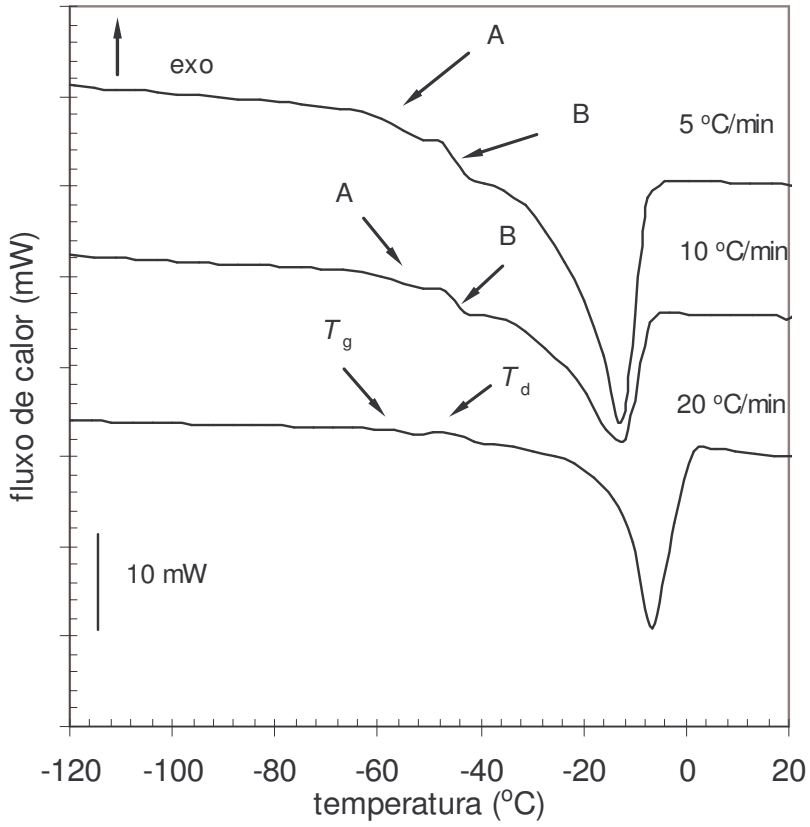



Figura 35. Curvas DSC aquecimento para soluções de mel com 50% de $H_2O$ obtidas a taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10 e 20°C/min.

Observou-se que a faixa de concentração de $H_2O$ entre 37 e 50% (mel e frutose), corresponde àquela em que os picos de devitrificação formam-se, variam de intensidade até não serem claramente distinguidos e dão lugar à ocorrência de A e B. Apesar da diferença de composição entre as soluções dos três materiais investigados, o comportamento térmico geral apresentado pelas mesmas é bastante similar, e indica outros fatores mais relevantes para o comportamento térmico desses materiais: a concentração de solvente e o tipo comum de ligações intermoleculares (hidrogênio) presentes nesses materiais.

A sucessão de eventos térmicos observada nesses experimentos para as soluções formadoras de vidro investigadas, representa novas alternativas de explanação para a seqüência de eventos A e B. Na seção seguinte, a influência da concentração de $H_2O$ no intervalo de concentração de 40 a 50% de $H_2O$, será investigada para estas soluções de mel e frutose, com o objetivo de compreender melhor como surgem os eventos térmicos A e B e confirmar as observações obtidas nesta seção.

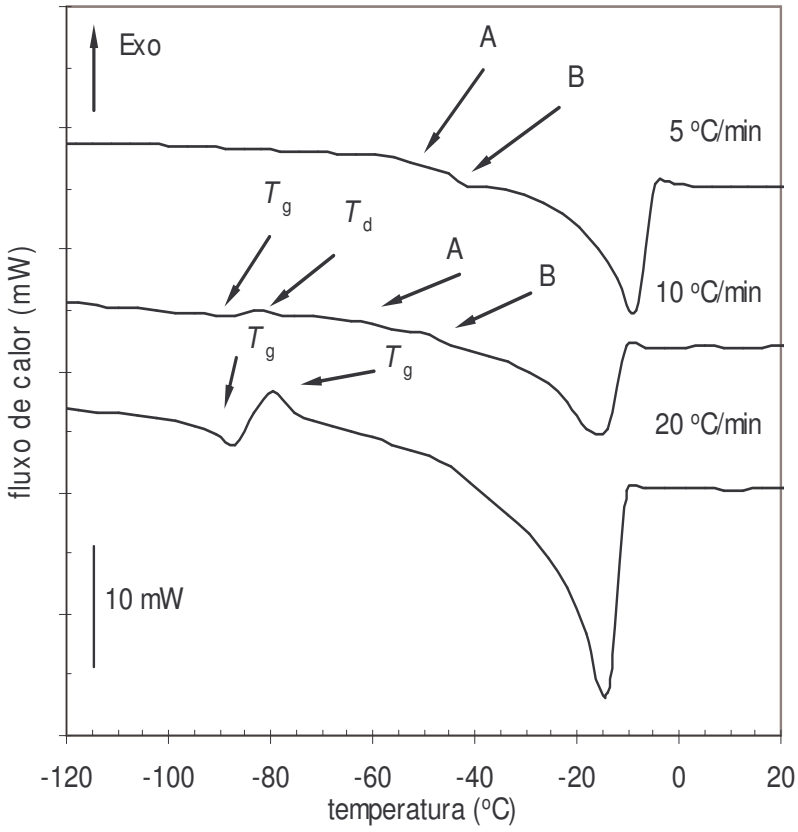



Figura 36. Curvas térmicas para solução de frutose, com concentração de água 50%, obtidas a taxas de resfriamento e aquecimento de 5, 10, 20°C/min.

### *6.2.4 Concentração de água e devitrificação em soluções de frutose*

Curvas DSC de aquecimento (5°C/min), para amostras de frutose em concentração de $H_2O$ entre 40 e 50%, são apresentadas à FIG. 37a. Na figura, confirma-se o fato de que a temperatura de transição vítrea é pouco afetada na faixa de concentração de $H_2O$ entre 40 e 46%, sofrendo a redução de ~8°C. Por outro lado, confirma-se a tendência observada anteriormente, tanto para vidros de mel em água (FIG. 29c), quanto para vidros de frutose em água (FIG. 30d), de diminuição acentuada

no valor da temperatura de pico de devitrificação, para valores cada vez mais próximos da temperatura $T_g$.

Embora os eventos térmicos observados na curva DSC para amostra com 48% $H_2O$ não sejam tão nítidos, a curva exibe $T_g$ e $T_d$ a baixas temperaturas, além de A e B em temperatura inferior à da fusão do gelo. Este aspecto é similar ao observado em curva DSC relativa à solução de frutose com 50% de $H_2O$ , obtida a taxas de 10°C/min (FIG. 36). $T_g$ é visível a ~−100°C, e um pequeno pico de devitrificação ocorre a −90°C (FIG. 36b).

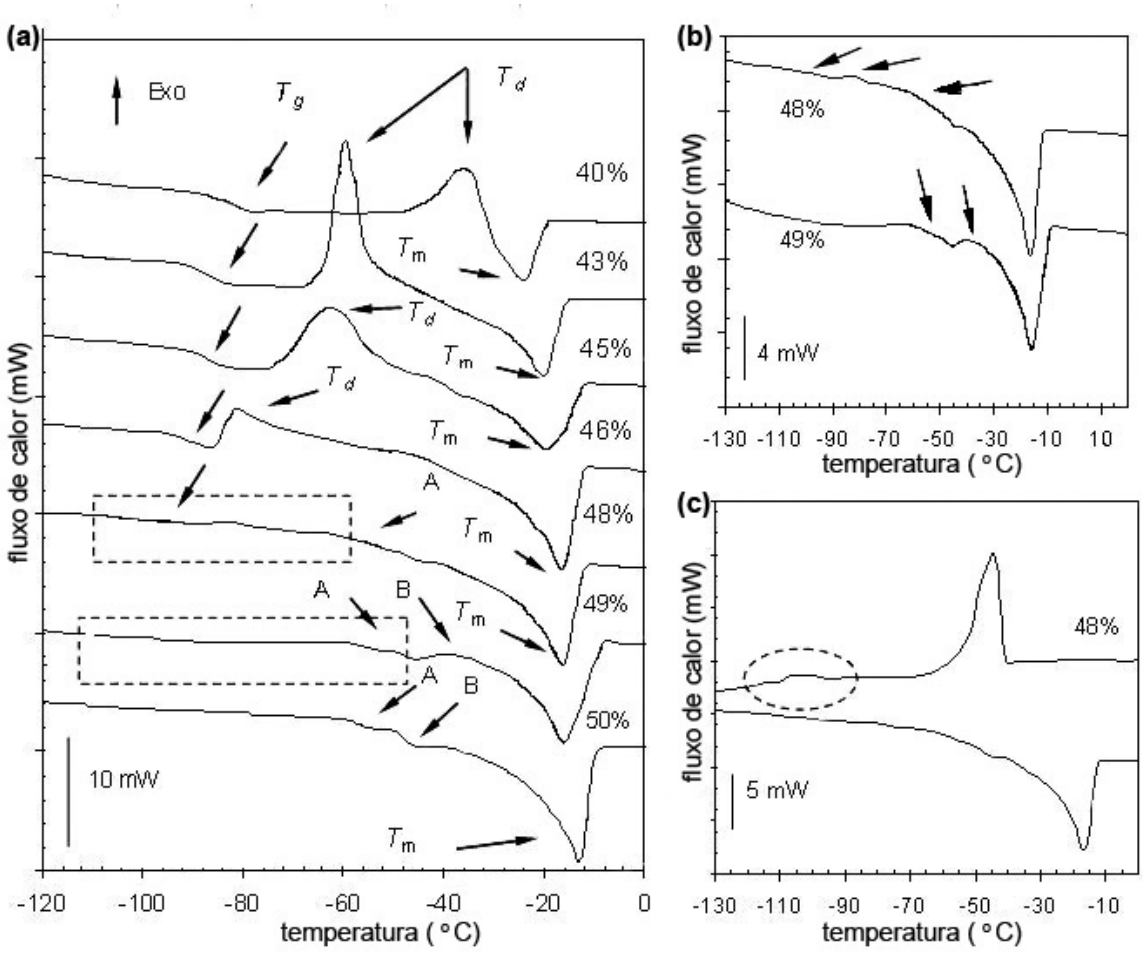



Figura 37. (a) Curvas de DSC de soluções de frutose contendo 40 a 50% de $H_2O$, obtidas a 5°C/min. (b) Comparação entre curvas DSC de soluções de frutose com 48 e 49% de $H_2O$, as modificações na seqüência de eventos térmicos são indicadas nos detalhes (tracejado). (c) Curvas térmicas de resfriamento e aquecimento para a amostra com 48% de $H_2O$. No detalhe (elipse), eventos térmicos possivelmente associados formação de vidro de baixa $T_g$.

A curva de resfriamento para a amostra com 48% indica a ocorrência de cristalização de gelo à temperatura ~ −45°C e seqüência de eventos entre −86 e −114°C (elipse na FIG. 37c) que pode estar associada à formação de vidro. A temperatura de ponto final da transição vítrea torna-se muito próxima à temperatura de início da exoterma de devitrificação. O vidro torna-se tão instável que, no resfriamento da amostra, parte da $H_2O$ se cristaliza e a solução remanescente, formaria vidro.

Na curva referente à amostra com 49%, observa-se variação na linha base (−104 a −80°C), que pode estar associada à $T_g$. Acima dessa faixa de temperatura, o aspecto observado indica a ocorrência de outra aparente transição de segunda ordem (~−65 a −45°C) , seguida por um pequeno pico exotérmico (devitrificação) (−45° a −35°C) (FIG. 37a e 37b).

Voltando à FIG. 37a, na curva DSC referente à amostra com 50% de $H_2O$, não é possível distinguir, claramente, a ocorrência de transições de segunda ordem na curva, entre −120 e −65°C. São observados os eventos térmicos A e B, na mesma faixa de temperatura em que, respectivamente, as possíveis $T_g$ (~−65 a −45°C) e $T_d$ (−45° a −35°C) são exibidas na curva da amostra com 49% $H_2O$. Este fato sugere que A se trate de uma $T_g$ enquanto B, deve possuir relação com o fenômeno de devitrificação .

O aumento das taxas de resfriamento e aquecimento das soluções de frutose para 20°C/min, para faixa de concentração de $H_2O$ entre 40-50% $H_2O$, levou à modificação na ocorrência de fenômenos térmicos observados nas curvas DSC. Em especial, a curva térmica referente à amostra com 48% de água, apresentada na FIG. 38, passou a exibir pico de devitrificação após a transição vítrea, ao contrário da mais complexa seqüência de eventos térmicos observados em curva DSC para a mesma concentração, obtida à taxa de 5°C/min.

A curva DSC da amostra com 49% de $H_2O$ (FIG. 38a, 38b), obtida à taxa de 20°C/min apresentou, também, alteração na seqüência de eventos térmicos, cujo aspecto é similar àquele observado para a curva DSC de amostra com 48% de $H_2O$, obtida a taxas de 5°C/min (vide FIG. 37a, 37b).

Para as amostras que exibiram devitrificação, observa-se que a área do pico, para as curvas obtidas nas taxas de 5 e 20°C/min, inicialmente cresce com a concentração de água, até atingir um máximo e então é reduzida, até não ser mais observada nas curvas DSC. A variação da área do pico de devitrificação de curvas DSC de amostras com 48% de $H_2O$, obtidas a taxas de 5°C/min, pode ser observada na FIG. 38c.

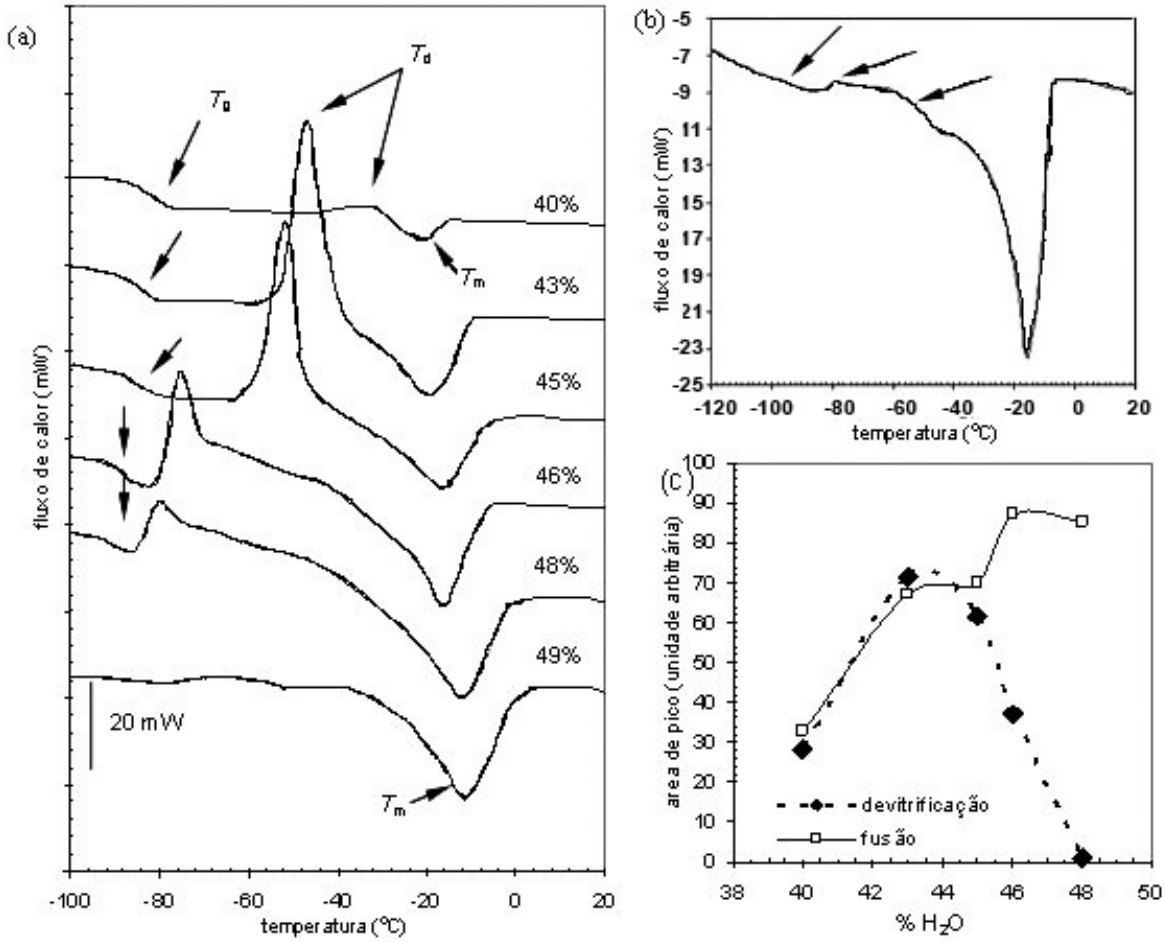



Figura 38. (a) Curvas de DSC de soluções de frutose contendo 40 a 50% de $H_2O$, obtidas a 20°C/min (b) Curva DSC para amostra com 49% de $H_2O$ (c) Evolução da área de pico de devitrificação e fusão do gelo em amostras de frutose entre 40 e 50% de água, em curvas DSC obtidas a 5°C/min.

Conforme discutido nesta seção, os vidros formados após resfriamento das amostras, têm sua estabilidade afetada em função da concentração de $H_2O$ presente nos mesmos. Utilizando o critério de estabilidade proposto por Saad e Poulain [53], (equação 4) $\Delta T'$, os valores obtidos (com dados das curvas DSC obtidas a 5°C/min) para os vidros de frutose (37 a 45% $H_2O$) variaram de 0,51 a 0,17 (FIG. 39 e TAB. 7).

Esses valores confirmam a instabilidade dos vidros formados, que são similares aos $\Delta T'$ de outros vidros inorgânicos instáveis (vidros curtos) como vidros haleto (0,26 a 0,49) [133]. Os valores observados para mel ($\Delta T'$~37 a 45% $H_2O$) são também similares. Observa-se que os vidros de frutose tornam-se ainda mais instáveis, com o aumento na concentração de $H_2O$, o que explicaria sua susceptibilidade à ocorrência de devitrificação.

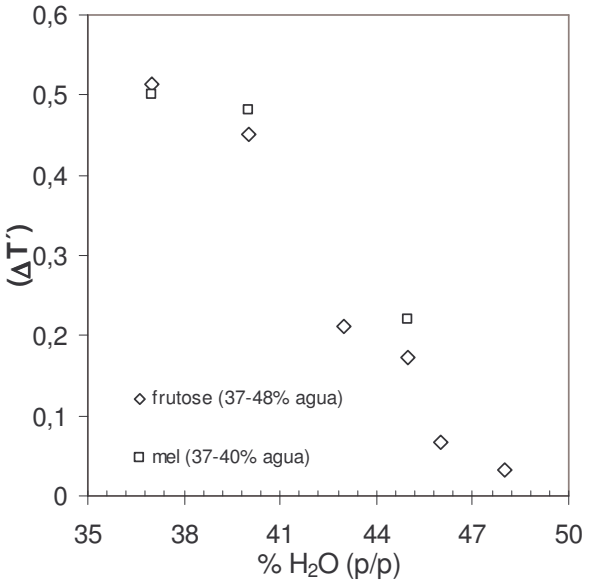



Figura 39. Estabilidade $\Delta T'$de vidros de frutose e mel em função da concentração de $H_2O$.

TABELA 7 – Estabilidade de vidros de frutose – Critério de SAAD-POULAIN

| % $H_2O$ | $T_g$ ($^oC$) | $T_c$ ($^oC$) | $\Delta T'$ |
|---|---|---|---|
| 37 | –72 | –37 | 0,51 |
| 40 | –82 | –45 | 0,45 |
| 43 | –85 | –97 | 0,21 |
| 45 | –87 | –72 | 0,17 |
| 46 | –91 | –85 | 0,07 |
| 48 | –92 | –89 | 0,03 |

Esses resultados experimentais confirmam a influência de $H_2O$ sobre o comportamento térmico desses materiais, no intervalo de concentração (40-50%). Com base nos mesmos pode-se sugerir que a origem da seqüência de eventos térmicos A e B, está associada ao fenômeno de transição vítrea e devitrificação referentes ao vidro formado durante o resfriamento das soluções dos materiais investigados.

Nos experimentos apresentados na próxima seção, o recozimento de amostras cujas curvas térmicas exibiram o fenômeno de devitrificação, permitirá observar a formação de eventos térmicos A e B, a partir da cristalização controlada de soluções de frutose, mel e corante caramelo.

### *6.2.5 Recozimento de amostras e a ocorrência de eventos térmicos duplos*

A relação entre o efeito do tempo de recozimento e a formação dos eventos térmicos A e B, pode ser observada em curvas DSC de aquecimento para amostras com 40% $H_2O$, recozidas a $-50^oC$, apresentadas na FIG. 40. O gráfico da amostra sem recozimento, indica a ocorrência de três eventos térmicos principais: uma transição vítrea, um pico de devitrificação e uma endoterma de fusão.

Após 30 minutos de recozimento, observa-se considerável diminuição na área do pico de devitrificação, mantendo-se a transição vítrea, com aspecto aparentemente inalterado. Após 60 e 1200 minutos de recozimento, o pico de devitrificação torna-se ainda menor, e passa a ser precedido por uma sucessão de degraus que se assemelham a eventos térmicos de segunda ordem.

Comparando a curva DSC da amostra com 40% $H_2O$, recozida por 120 minutos, com a curva térmica de amostra com 50% de $H_2O$, observa-se grande semelhança entre as duas, sendo o pico de devitrificação e os eventos térmicos que a precedem, menos pronunciados na curva referente à amostra mais hidratada. Na FIG. 41, as curvas de recozimento da mesma amostra de solução de frutose (40% $H_2O$) são apresentadas como função da temperatura e são também comparadas com curva de amostra 50% $H_2O$, recozida por 120 minutos.

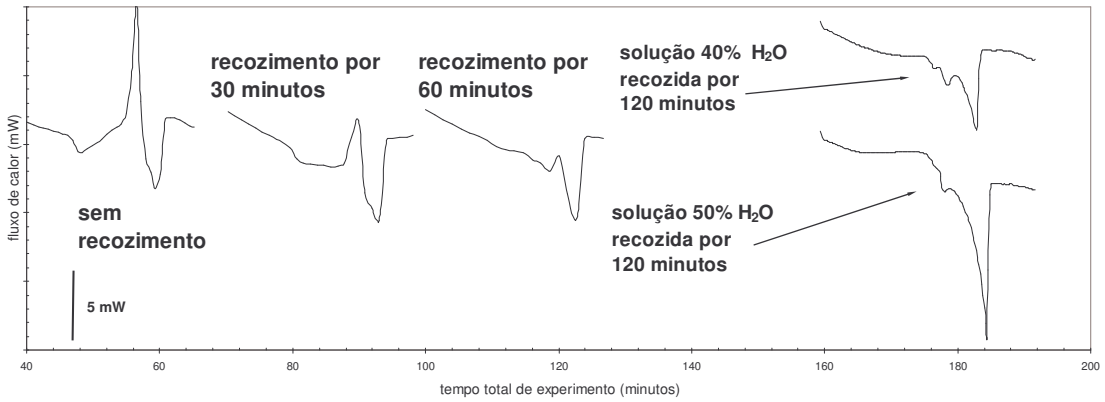



Figura 40. Evolução dos eventos térmicos (devitrificação e transição vítrea) em curvas DSC de soluções de frutose (40% $H_2O$) recozidas a $-50^oC$. As curvas apresentadas foram obtidas durante aquecimento a $5^oC$/min.

Comparando-se as diversas curvas apresentadas na FIG. 41, observa-se que o pico de devitrificação ocorre praticamente à mesma temperatura em todas as curvas. Na mesma figura, a curva obtida após 60 minutos de recozimento apresenta uma $T_g$ à mesma temperatura em que este fenômeno foi observado nas anteriores, além de uma segunda transição precedendo o pico de devitrificação.

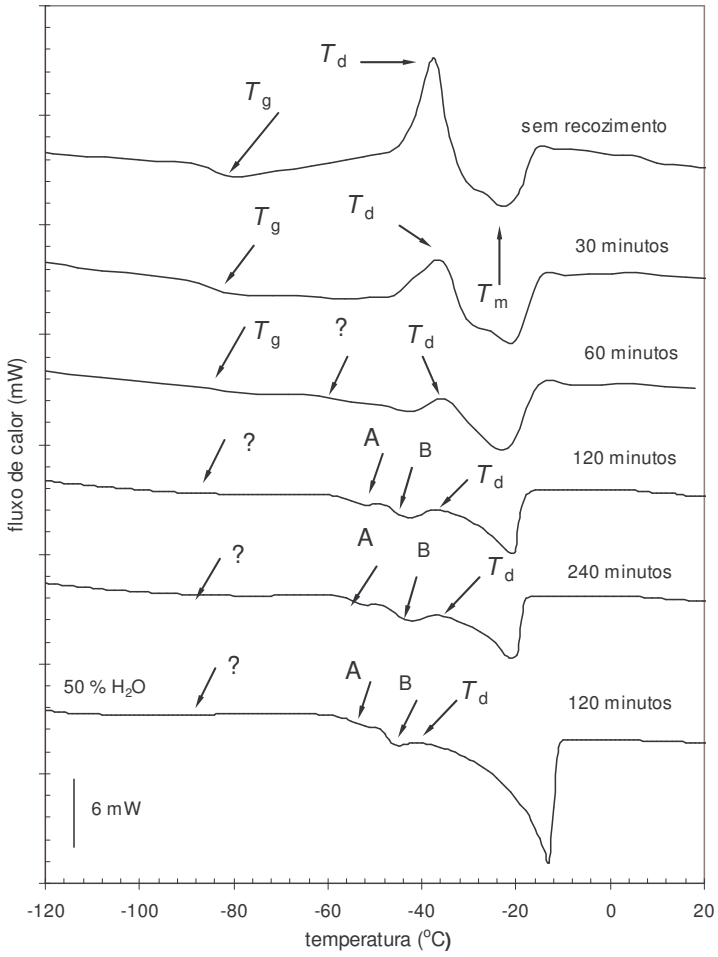



Figura 41. Curvas DSC de soluções de frutose 40% e 50% de $H_2O$ (última) recozidas a **–**50°C. A evolução do tempo de recozimento causa formação de duas $T_g$´s após 60 minutos que, coalescem posteriormente, formando o padrão de eventos térmicos A, B.

Após 240 minutos de recozimento, o aspecto de curva com ocorrência de evento térmico duplo A e B, além de um pequeno pico de devitrificação pode ser distinguido. Novamente, a comparação com a curva térmica de amostra com 50% sugere a grande similaridade entre os fenômenos térmicos observados nos dois casos. A possibilidade de ocorrência de uma $T_g$ de baixa temperatura (−80 a −100°C) é representada por setas e sinais de interrogação (?).

As curvas obtidas após recozimento por 60 e 120 minutos são apresentadas, em maior detalhe, na FIG. 42. Na curva para a amostra recozida por 60 minutos (a), podem ser distinguidos, de fato, três eventos térmicos principais, a temperaturas inferiores a do pico de devitrificação. Estes correspondem a uma sucessão de degraus térmicos, sendo dois mais relevantes entre −80 e −100°C ($T_g$) e −70 a −50°C e que aparentemente, corresponderiam a uma seqüência de temperaturas de transição vítrea. Com o recozimento por 120 minutos (b), apenas dois eventos térmicos são nítidos a temperaturas inferiores à do pico de devitrificação.

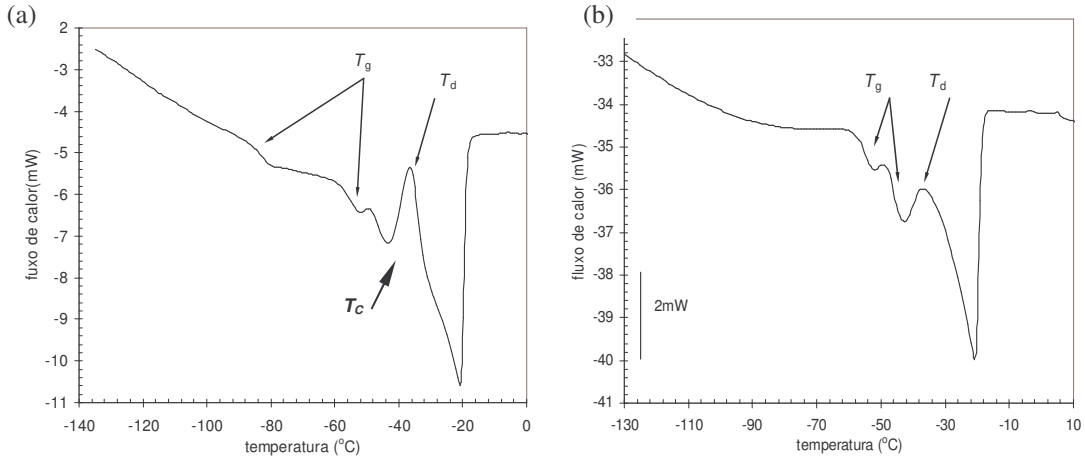



Figura 42. Detalhe expandido da curva térmica de solução de frutose com 40% de $H_2O$, obtidas após recozimento por 60 (a) e 120 (b) minutos. Nelas são identificadas as seqüências de eventos térmicos que ocorrem a temperaturas abaixo do pico de devitrificação.

Curvas DSC obtidas após recozimento de amostra de mel (40% $H_2O$) são apresentadas na FIG. 43a. Após 60 minutos de recozimento, a curva exibiu duas transições em degrau, precedendo o pequeno pico de devitrificação. A curva de recozimento é apresentada em detalhe à FIG. 43b.

Na FIG. 43b, a ocorrência de uma seqüência de eventos térmicos precedendo o pico de devitrificação é mais bem visualizada e é similar ao que foi observado para a curva de recozimento da frutose. A observação repetida desse fenômeno, sugere nesses vidros orgânicos, a ocorrência de mais de uma transição vítrea. Essa observação é reforçada pela comparação entre as curvas de recozimento.

Com o aumento no tempo de recozimento da amostra, a transição de mais baixa temperatura deixa de ser distinguida, embora possa ocorrer na amostra de maneira

residual, assim como um pequeno pico ou às vezes, um "ombro térmico" residual observado nas curvas das amostras, com o aspecto dos eventos térmicos A e B. O recozimento de outras amostras de mel, frutose e corante caramelo, obteve mesmo resultado final.

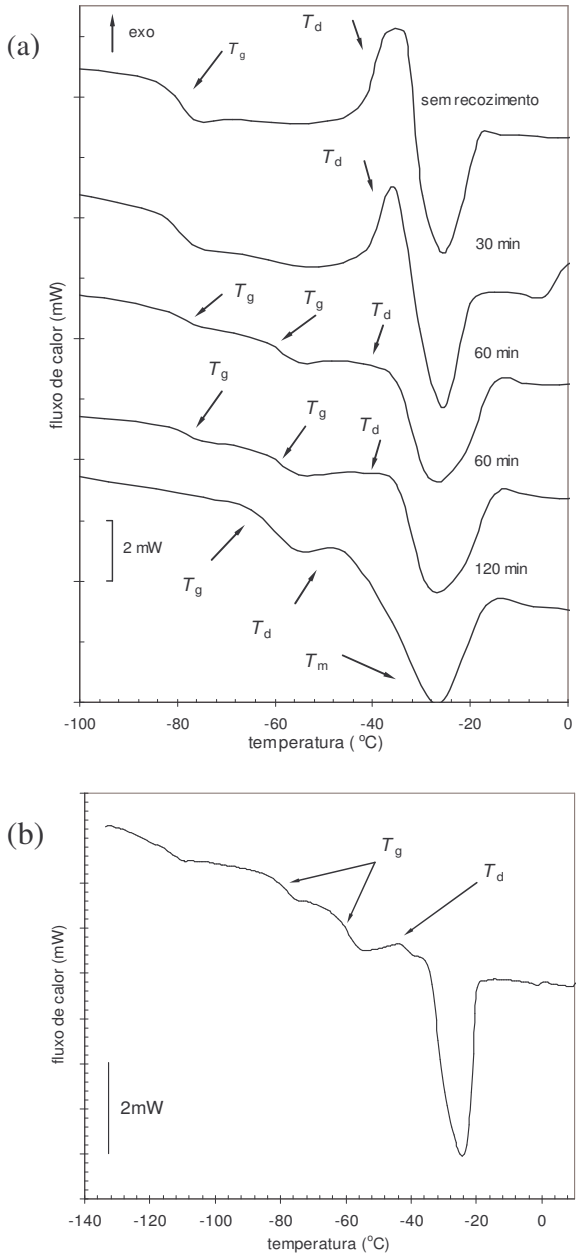



Figura 43. (a) Solução de mel (40% $H_2O$) recozida a –40 °C. As curvas DSC apresentadas, foram obtidas no aquecimento, a taxa de 5°C/min, após o recozimento. (b) Detalhe da curva, obtida após recozimento por 60 minutos. Nela são identificadas as seqüências de eventos térmicos, que ocorrem a temperaturas abaixo do pico de devitrificação.

Curvas térmicas de aquecimento, obtidas após o recozimento de soluções de frutose (45% e 43% $H_2O$), de mel com 45% e caramelo com 30% de $H_2O$, são apresentadas à FIG. 44 (a-d).

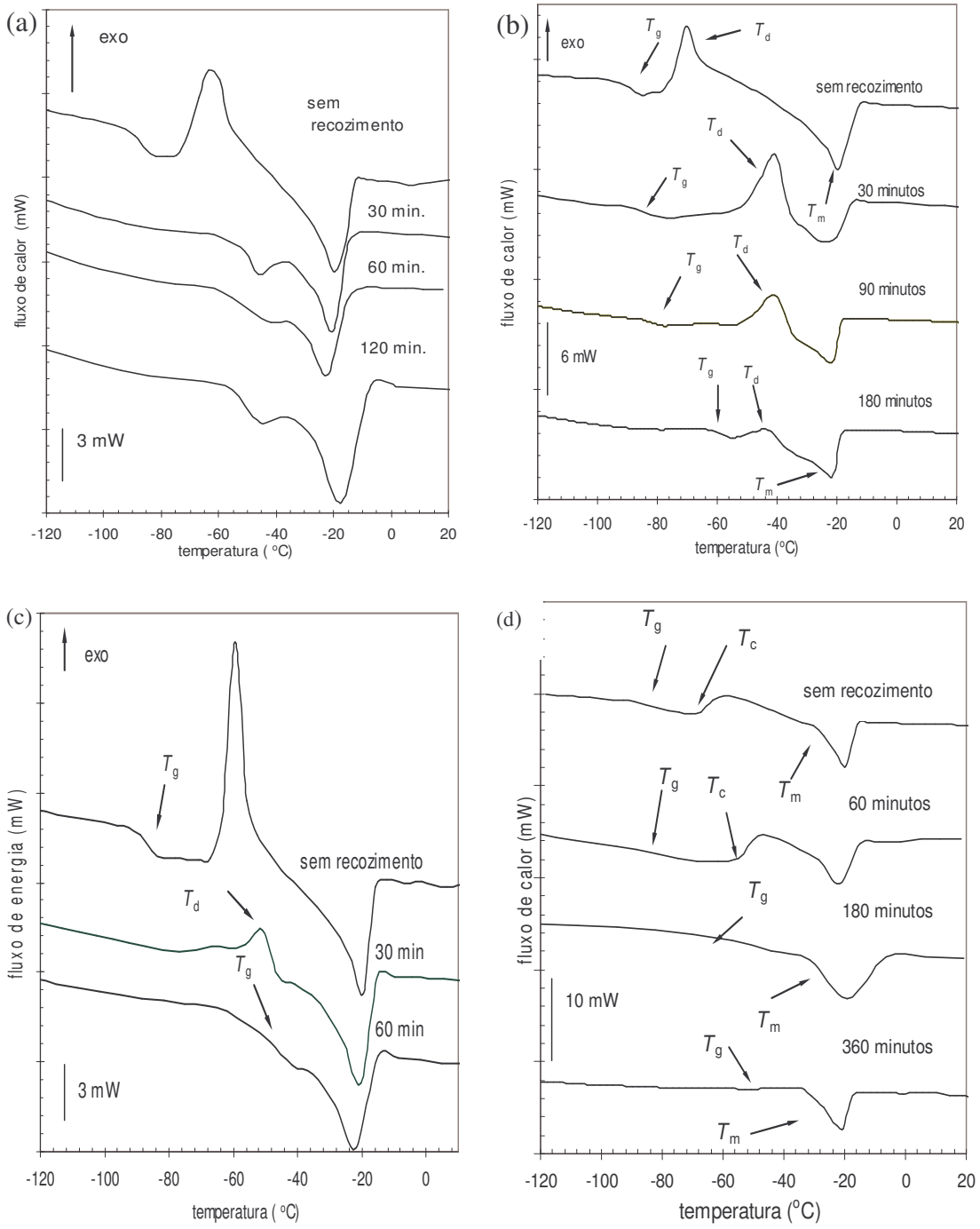



Figura 44. (a) Solução de frutose (45% de $H_2O$) recozida a – 50 °C e (b) solução de mel (45% de $H_2O$) recozida a – 40 °C. (c) Curvas DSC de recozimento para soluções de frutose (43% de $H_2O$) a –50°C. (d) Curvas DSC de recozimento de solução de caramelo (30% de $H_2O$) a –50°C. Setas indicam os eventos térmicos observados nas amostras.

Nas curvas DSC obtidas do recozimento das amostras de frutose, mel e corante caramelo, observam-se que o resultado final do processo é a obtenção de picos de devitrificação cada vez menores, bem como a observação da $T_g$ a temperaturas mais altas e mais próximas da $T_d$. No limite, os fenômenos observados assemelham-se aos eventos térmicos A e B.

Comparando-se as curvas DSC obtidas após o recozimento de amostras, pode-se concluir que o efeito geral é a alteração na composição do vidro remanescente, que será cada vez mais concentrado, conforme o tempo de recozimento é aumentado. Nas curvas de recozimento para as amostras apresentadas, foi possível observar a alteração na seqüência de eventos térmicos que ocorrem no material, resultante do processo de cristalização da água. Para amostras mais concentradas (viscosas) analisadas, observou-se a ocorrência de eventos térmicos múltiplos, precedendo o pico de devitrificação do material.

Essas observações, em conjunto com as demais obtidas neste capítulo, permitem uma análise distinta das hipóteses publicadas na literatura, acerca dos eventos térmicos A e B. A apresentação dos diagramas de estado para mel, caramelo e frutose, além de uma compilação de resultados, apresentada a seguir, precederá o desenvolvimento dessa discussão.

### *6.2.6 Diagramas de estado de vidros orgânicos : mel , frutose e corante caramelo*

Nas TAB. 8 e 9, são apresentados os valores da temperatura de transição vítrea média ($T_g$), máximo do pico de devitrificação ($T_d$) e da endoterma de fusão para frutose, mel e caramelo. Estes dados foram utilizados para obtenção de diagramas de estado para estes materiais.

Os diagramas de estado, referentes às soluções de frutose, mel e caramelo, são apresentados na FIG. 45(a-c). Os diagramas foram obtidos com base no ajuste dos dados experimentais de temperatura de transição vítrea à Equação de Gordon-Taylor (Eq. 6). Os valores das temperaturas do pico endotérmico de fusão, $T_m$ foram utilizadas com o objetivo de obter a concentração máxima de um vidro obtido por concentração

por congelamento da amostra ($C_g'$), bem como o valor de transição vítrea correspondente ($T_g'$). Para os materiais investigados, observa-se que os valores de $T_g'$ são relativamente próximos daqueles observados para o evento térmico A, indicando a relação entre A e o congelamento das soluções.

TABELA 8: Valores da temperatura de transição vítrea média ($T_g$), temperatura de pico de devitrificação ($T_d$), temperatura de pico de fusão da água ($T_m$), eventos térmicos (A, B ) observados em curvas térmicas de soluções de frutose (esquerda) e mel (direita) em $H_2O$, obtidas com controle de resfriamento e com aquecimento à taxa de 5°C/min.

| **Frutose** | | | | | | **Mel** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **%** | $T_g$ | $T_d$ | $T_m$ | **A** | **B** | **%** | $T_g$ | $T_d$ | $T_m$ | **A** | **B** |
| 10 | –26 | – | – | – | – | 8 | –4 | – | – | – | – |
| 19 | –49 | – | – | – | – | 13 | –20 | – | – | – | – |
| 37 | –74 | –37 | –29 | – | – | 19 | –40 | – | – | – | – |
| 40 | –82 | –38 | –23 | – | – | 22 | –47 | – | – | – | – |
| 43 | –85 | –60 | –20 | – | – | 25 | –49 | – | – | – | – |
| 45 | –87 | –63 | –19 | – | – | 30 | –66 | – | – | – | – |
| 46 | –88 | –81 | –16 | – | – | 35 | –72 | – | – | – | – |
| 48 | –92 | –82 | –16 | ? | ? | 37 | –78 | –30 | –23 | ? | ? |
| 49 | ? | –38 | –12 | –56 | –47 | 40 | –79 | –33 | –26 | – | – |
| 50 | ? | ? | –12 | –58 | –47 | 45 | –79 | –45 | –21 | – | – |
| 70 | ? | ? | –4 | –58 | –45 | 50 | ? | ? | –12 | –56 | –46 |
| 90 | ? | ? | –1 | –58 | –44 | 70 | ? | ? | –6 | –57 | –43 |

TABELA 9**:** Valores da temperatura de transição vítrea média ($T_g$), temperatura de pico de devitrificação ($T_d$), temperatura de pico de fusão da água ($T_m$), eventos térmicos (A , B ) observados em curvas térmicas de soluções de corante caramelo, obtidos por DSC convencional.

| % $H_2O$(p/p) | $T_g$ [a] | $T_d$ [a] | $T_m$ [a] | A [a] | B [a] | $T_g$ [b] | $T_d$ [b] | $T_m$ [b] | A [b] | B [b] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | –6 | – | – | – | – | +3 | – | – | – | – |
| 3 | –17 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 8 | – | – | – | – | – | –18 | – | – | – | – |
| 20 | – | – | – | – | – | –54 | – | – | – | – |
| 30 | –79 | –46 | –20 | – | – | –78 | –53 | –22 | – | – |
| 39 | –51 | –31 | –13 | – | – | – | – | – | – | – |
| 45 | ? | ? | –7 | –56 | –37 | – | – | –9 | –54 | –36 |
| 46 | ? | ? | –9 | –54 | –36 | – | – | – | – | – |
| 50[c] | ? | ? | –9[c] | –54[c] | –36[c] | – | – | – | – | – |
| 70 | ? | ? | –4 | –55 | –36 | ? | ? | –4 | –54 | –35 |
| 72 | ? | ? | –4 | –55 | –36 | – | – | – | – | – |
| 90 | – | – | – | – | – | ? | ? | 0 | –53 | –35 |

[a] Experimentos obtidos à taxa de 10°C/min, sem controle de resfriamento (exceto [c]).
[b] Experimentos obtidos à taxa de 5°C/min, com controle de resfriamento das amostras.
[c] Experimentos obtidos à taxa de 10°C/min, com controle de resfriamento das amostras.

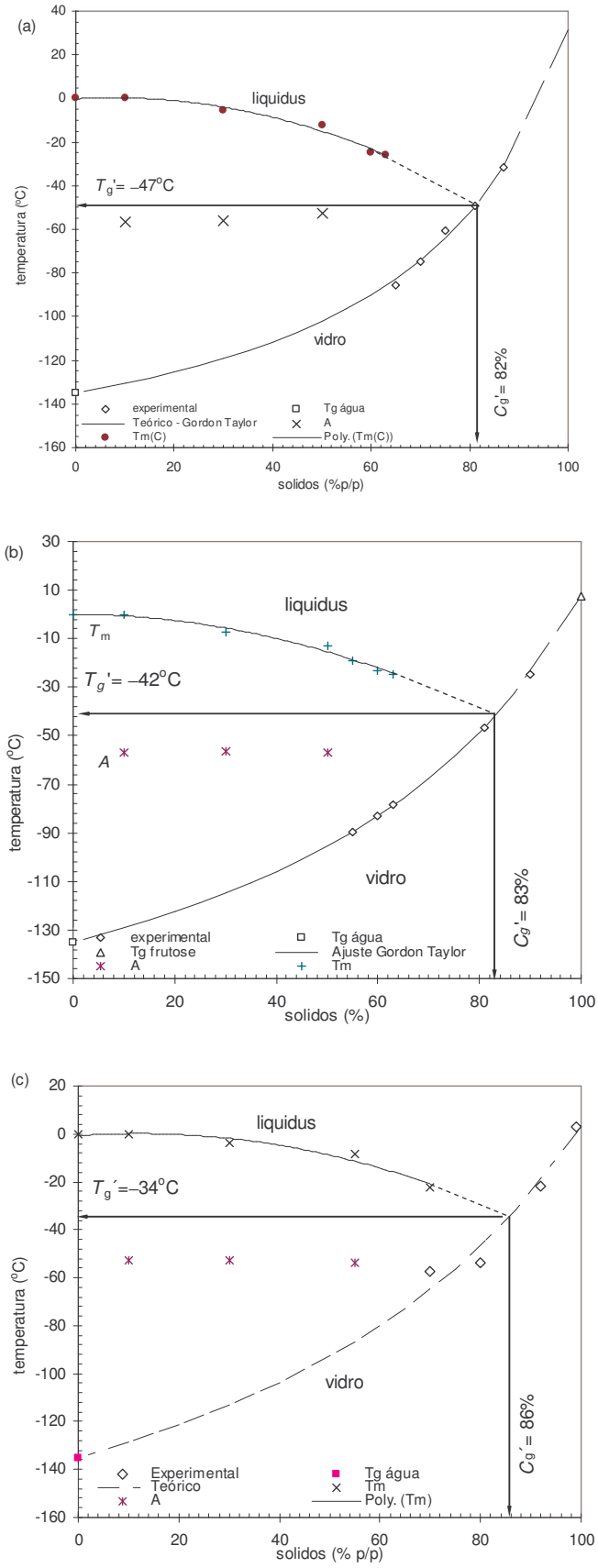



Figura 45 (a, b, c): Diagrama de estado para soluções de mel (a), frutose (b) e corante caramelo (c), obtidos a taxa de aquecimento/resfriamento de 5°C/min.

Os dados experimentais de transição vítrea de todas as amostras ajustaram-se à equação de Gordon-Taylor com $R^2$>0,99 confirmando a descrição adequada dos dados experimentais por este modelo. Os diagramas confirmam o comportamento térmico geral observado, de similaridade entre os materiais estudados. Os valores de $C_g'$ e $T_g'$ correspondem à concentração e transição vítrea, respectivamente, da solução concentrada ao máximo, pela cristalização da água. Em concentrações acima de $C_g'$, não seria possível a remoção de mais $H_2O$ do material. O diagrama de estado para soluções de mel é apresentado à FIG. 44a.

Os valores obtidos para as soluções de mel, apresentaram $C_g'$ ~82% p/p e $T_g'$~–47°C que, considerando se tratar de material rico em açúcares como glicose e frutose, confirmam a coerência desses dados. Para soluções de frutose (FIG. 45b), embora $C_g'$ e $T_g'$ tenham sido obtidos por extrapolação da curva liquidus, cujos dados de $T_m$ não foram obtidos em condição de equilíbrio térmico, os valores obtidos para $C_g'$ (~83% de sólidos ou 17% de $H_2O$, p/p) e $T_g'$ ~–42°C) são superiores, mas coerentes com dados de literatura, com $C_g'$ ~79% p/p e $T_g'$~–48°C [79].

Em comparação com os demais formadores de vidros, o corante caramelo (FIG. 45c) apresentou valor de $C_g'$ (~86% de sólidos ou 14% $H_2O$ p/p) e $T_g'$~–34°C, superiores àqueles observados para mel e frutose. Essa observação confirma a tendência que já havia sido observada anteriormente, da existência de interações solvente-soluto menos intensas nesse material, que aquela observada para mel e frutose.

### *6.2.7. Calorimetria exploratória diferencial: discussão de resultados*

Os experimentos realizados com soluções formadores de vidros orgânicos mel, frutose e caramelo, em condições diversas de concentração de $H_2O$ e taxas de resfriamento/aquecimento, permitiram a obtenção de informações novas e relevantes, que permitem contribuir para uma melhor análise sobre a real origem dos eventos térmicos que se assemelham a transições de segunda ordem. Entre essas novas informações, podem ser citadas as seguintes:

1- Foi observada, em experimento DSC convencional, a ocorrência de eventos térmicos ($T_g$, $T_d$, A, B) múltiplos em curva de aquecimento de amostra com 48% e 49% $H_2O$, valores de concentração de $H_2O$ que representaram, dentro das condições experimentais empregadas, um limite na observação desses quatro fenômenos térmicos;

2- O aumento nas taxas de resfriamento com a composição indicada no item 1 (48% $H_2O$), causou brusca alteração na ocorrência dos eventos térmicos A e B: com o aumento na taxa de resfriamento (de 5 para 20$^o$C/min) , o pico de devitrificação e a transição vítrea foram claramente observados, indicando a relação entre estes fenômenos e os eventos térmicos A e B. Essa mesma observação foi constatada ao longo deste texto, para amostras de caramelo e mel;

3- Nas curvas de recozimento para amostras de mel e frutose com 40% de $H_2O$, foi também constatado indício de ocorrência de múltiplas transições vítreas, além do pico de devitrificação característico. Ao final do processo de recozimento, constatou-se o progressivo aumento dessas múltiplas transições vítreas e diminuição da área de pico de devitrificação. Ao final do processo de recozimento, as curvas DSC de aquecimento apresentaram em todos os casos, aspecto similar aos eventos térmicos A e B, com uma aparente sobreposição entre as várias transições em degrau e em alguns casos, também com o pico de devitrificação;

A relação entre os eventos térmicos A e B e os fenômenos de transição vítrea e de devitrificação, sugerida em vários dos experimentos apresentados neste trabalho, pode ser visualizada no diagrama na FIG. 46. A curva inferior representa o material submetido à menor taxa de resfriamento e aquecimento. Aumentando-se a taxa de resfriamento, o vidro formado terá cada vez mais água, o que é confirmado pela diminuição nos valores de $T_g$ e pelo aumento progressivo da área do pico de devitrificação, observado durante o aquecimento das amostras.

Entretanto, para uma solução de frutose com 50% de $H_2O$, que exibe os eventos térmicos A e B na curva de aquecimento, observa-se pela TAB. 8 e pelo diagrama de estado dessas soluções (FIG. 45b), que, se A corresponde a uma $T_g$, esta seria

correspondente a de uma solução de concentração próxima de ~22% $H_2O$, que como se verificou anteriormente não devitrifica.

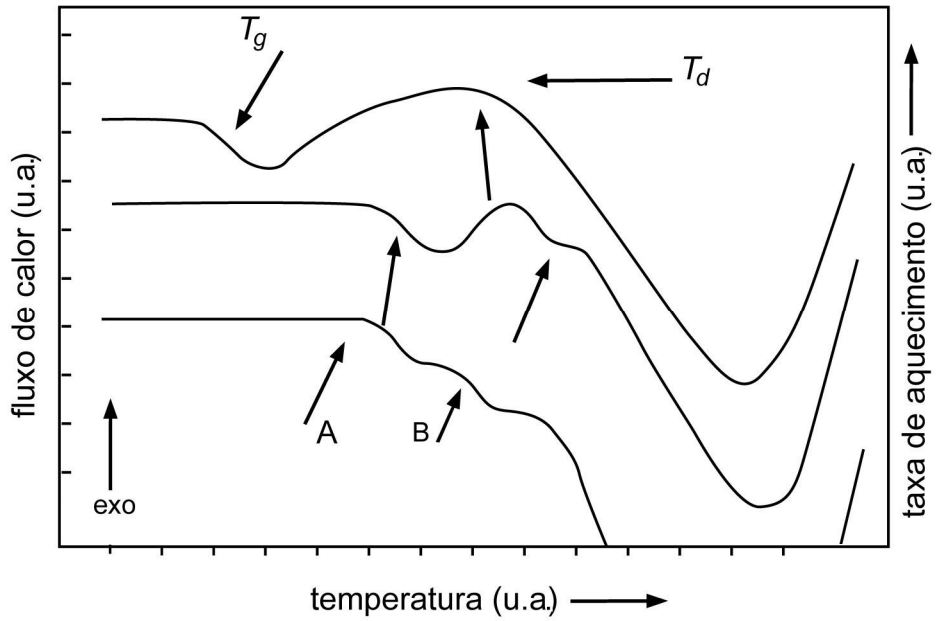



Figura 46. Evolução de eventos térmicos A e B, com relação à taxa de resfriamento da amostra. Com taxas mais baixas, a ocorrência de $T_d$ é residual. Quanto mais altas, maior a hidratação do vidro formado, menor sua $T_g$ e mais provável a observação da $T_d$.

Desse modo, B corresponderia à devitrificação, de um vidro mais concentrado em água e presente em menor quantidade no material. Tal observação confirma a existência de eventos térmicos múltiplos nesse material. Experimentalmente essa hipótese é reforçada pelas curvas de recozimento para as amostras de frutose com 40% de $H_2O$, que indicaram a ocorrência do pico de devitrificação.

Conforme descrito na revisão deste texto, a seqüência de eventos térmicos A e B tem sido interpretada de várias formas, principalmente como: 1- $T_g$ associada ao início da fusão gelo; 2- um dos eventos é a $T_g$ e o outro tem sido ignorado. Em experimento de DSC modulado observou-se, para solução de açúcar trealose (90% $H_2O$), a ocorrência de fenômeno exotérmico entre os eventos térmicos A e B, que foi atribuído à devitrificação [13].

Conforme discutido no Capítulo de Revisão deste trabalho, a possibilidade dos eventos térmicos A e B corresponderem à dupla transição vítrea, tem sido aventada mais recentemente [93] e é atribuída à formação de vidros com concentração distinta, um

mais e outro menos concentrado em $H_2O$. Entretanto deve ser questionado o porquê de somente duas $T_g$´s se formarem nesses materiais e não uma seqüência de várias $T_g$´s.

Nos experimentos de recozimento desenvolvidos neste trabalho, a ocorrência de pelo menos duas transições vítreas foi confirmada e é coerente com o fato de ocorrer devitrificação em temperaturas em torno de $-40^oC$. Em alguns dos gráficos, a exemplo daqueles apresentados às FIG. 42 e 43, foram observadas pelo menos duas transições em forma de degrau, sendo então plausível considerar a ocorrência de mais de uma $T_g$, cuja observação pode ser dificultada pelas quantidades pequenas em que estes vidros podem ser formados. A formação dessas múltiplas transições vítreas está provavelmente, associada com a alta viscosidade dessas soluções à baixa temperatura.

A comparação entre os valores de A e B obtidos do recozimento de amostra, apresentados na TAB. 10, com aqueles referentes às curvas das amostras com mais de 45% de $H_2O$ (TAB. 8), confirma a relação existente entre A e B. Os valores de temperatura de devitrificação também são concordantes.

TABELA 10 – Efeito do tempo de recozimento sobre os eventos térmicos observados em curva DSC de amostra de frutose com 40% de $H_2O$, recozida a $-50^oC$. Pontos da curva DSC de aquecimento obtidos a $5^oC$/min. Tempo em minutos.

| **Tempo de recozimento (min)** | $T_g$ $(^oC)$ | $T_d$ $(^oC)$ | $T_m$ $(^oC)$ | **A** $(^oC)$ | **B** $(^oC)$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | –82 | –38 | –23 | – | – |
| 30 | –84 | –37 | –22 | – | – |
| 60 | –84 | –35 | –23 | – | – |
| 120 | ? | –35 | –25 | – | – |
| 240 | ? | –36 | –19 | –55 | –45 |

Pode se afirmar que B corresponda, nos casos em que $T_d$ é formado a partir de vidro com quantidades residuais de $H_2O$, a uma sobreposição da $T_g$ de mais alta

temperatura, com o pequeno pico de devitrificação formado, o que concorda com as observações de experimentos de DSC modulado [132].

Com base nas observações experimentais, pode-se propor que o evento A estaria relacionado à ocorrência de $T_g$ referente a vidro de alta viscosidade. O evento térmico B corresponderia a um pequeno pico de devitrificação associado a um vidro de alta concentração de água. Entre estes dois eventos térmicos, poderia haver uma outra $T_g$, que afetaria a observação dos mesmos, conforme a temperatura em que é observada, causando alteração na forma típica em que ambos são identificados nas curvas DSC.

O pico de devitrificação ou o "ombro térmico" remanescente estaria associado a um vidro menos viscoso, presente em pequena quantidade e, por essa razão, de detecção mais difícil por DSC. Uma tentativa de explicação para a ocorrência desse comportamento, é apresentada nos parágrafos seguintes, onde se procura descrever qualitativamente a formação desses vidros, considerando as variações de viscosidade possivelmente geradas no processo de nucleação e crescimento de cristais de gelo.

#### *6.2.7.1 – Uma proposta de explicação para a formação de eventos térmicos A e B*

Nas curvas DSC de soluções de açúcares, em que os eventos térmicos A e B são observados, o processo de cristalização da água ocorre principalmente durante o resfriamento. O resultado desse processo de cristalização é uma solução de alta viscosidade, que continua cristalizando, de modo mais lento, conforme o resfriamento prossegue.

O recozimento de amostra com 40% de $H_2O$ é tomado como exemplo: a amostra é resfriada até, por exemplo, $-50^oC$ e permanece nesta temperatura até que o processo de cristalização se complete originando também a formação de uma solução concentrada em soluto. Prosseguindo o resfriamento, a solução tem sua viscosidade gradativamente aumentada e forma vidro a $\sim 10^{12}$Pa.s.

Esses processos dependem da difusão da água no meio altamente viscoso, acima da $T_g$ ($\sim 10^5$-$10^6$ Pa.s), durante o resfriamento do material, para permitir o crescimento de núcleos cristalinos de gelo. Como o crescimento desses cristais depende

do deslocamento de moléculas de água em torno dos mesmos, é possível que ocorram gradientes de concentração da solução remanescente, tornando factível a formação de mais de um vidro nas amostras, em torno dos cristais formados. Tal situação concorda com a ocorrência de mais de uma transição em forma de degrau, observada nas curvas DSC.

A alta viscosidade da solução formada é comprovada por dados de literatura, que indicam para solução de sacarose (40%), a $-32^{o}$C, valores de $10^{7}$Pa.s. Nessas condições o processo de nucleação e crescimento de cristais é menos favorecido e contribui para a formação de soluções de composição distinta. Na FIG. 47 é apresentado um esquema indicando como se originariam essas soluções de composição distinta, entre os cristais. O esquema representa o espaço entre dois cristais, preenchido pela solução remanescente.

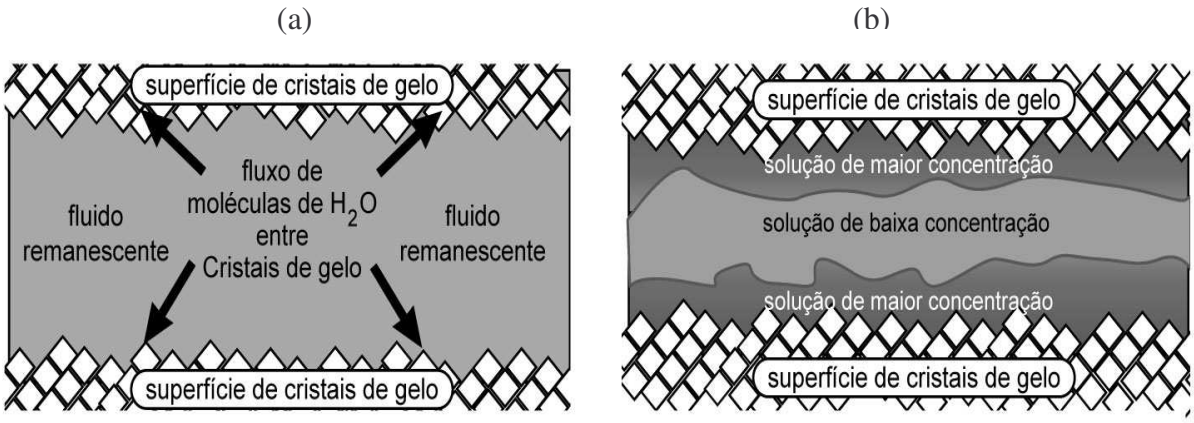



Figura 47: Hipótese para a formação de mais de uma transição vítrea em DSC de solução de açúcares, considerando-se o espaço entre dois cristais em crescimento, preenchido por solução de açúcar. A formação se daria pela difusão por fluxo viscoso (a) situação inicial (b) situação final.

Durante resfriamento (FIG. 47a), o fluxo de água seria dirigido para alimentar o crescimento dos cristais de gelo. À medida que o crescimento dos cristais prossegue, a viscosidade da solução tende a aumentar, dificultando a mobilidade de água para os núcleos e açúcar para o centro. A tendência é que esse fluxo se interrompa , quando a viscosidade próxima aos cristais for suficientemente alta para impedir a difusão de moléculas de $H_2O$, da solução–para os cristais de gelo e, desse modo, uma solução menos concentrada ocorrerá no centro. No limite (b), a solução em contato com gelo

torna-se muito viscosa para permitir, na escala de tempo, a difusão de moléculas de água da solução mais diluída e mais distante dos cristais, representada no centro da figura. Haverá, possivelmente, um gradiente de viscosidades entre os cristais e as soluções formadoras de vidros.

Na FIG. 47b é apresentada a formação de apenas dois vidros de composição distinta, mas como essas composições dependem do caminho percorrido pelas moléculas de água, pode-se especular que haveria a formação de outras transições vítreas. Pelos experimentos apresentados nesse trabalho, a observação de mais de uma $T_g$ para os materiais investigados, sugere que tal possibilidade encontra respaldo experimental, uma vez que poderia explicar a formação dos múltiplos eventos térmicos (A, B) nesses materiais.

## *6.3 - Ressonância magnética nuclear*

Experimentos de relaxometria RMN foram realizados em amostras de mel contendo 8, 19, 30 e 50% de $H_2O$, a fim de investigar o efeito da temperatura sobre o tempo de relaxação $T_2$ desse material, em temperaturas próximas à transição vítrea. Os resultados e a discussão acerca da relação da mobilidade do material com os eventos térmicos descritos por calorimetria DSC, são apresentados nos parágrafos seguintes.

### *6.3.1 - Amostra de mel com 50% de $H_2O$*

Curvas de desmagnetização obtidas entre −5 e −25°C durante resfriamento da amostra de mel com 50% de umidade, utilizando seqüência de pulsos CPMG, são apresentadas à FIG. 48. O ajuste de tais curvas à equação de decaimento monoexponencial, permite a obtenção de valor médio de relaxação transversal $T_2$ da amostra, que descreve o tempo de decaimento do sinal da amostra, após aplicação de pulso magnético.

A relação entre o tempo de relaxação transversal $T_2$ e temperatura, para o resfriamento de amostra de mel contendo 50% de umidade, é apresentada na FIG. 49, em uma faixa de 100 μs a 500 ms. Nessa faixa, a mobilidade molecular expressa pelo

comportamento médio de $T_2$, pode ser descrita em três intervalos distintos de mobilidade.

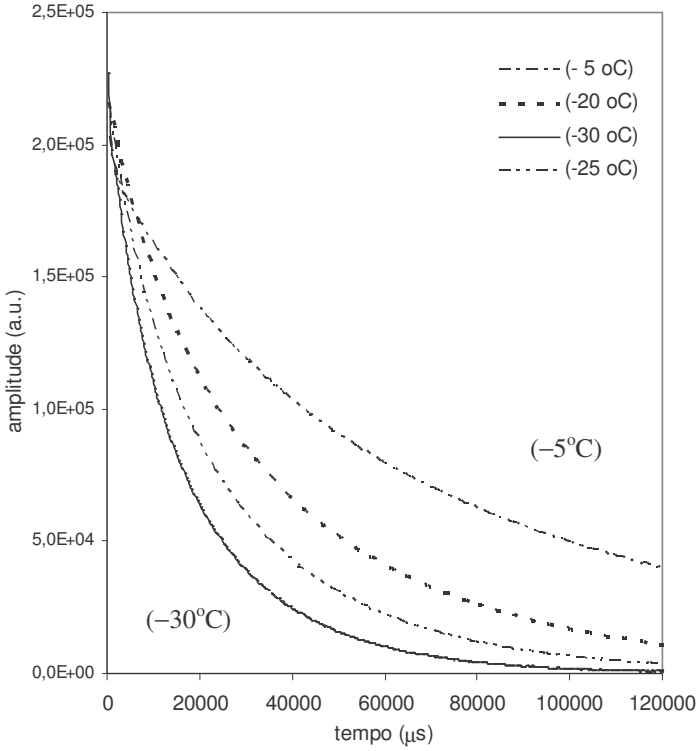



Figura 48. Curvas de desmagnetização obtidas por CPMG, para a amostra com 50% de água.

Entre +20 e −30 °C o tempo de relaxação decresceu de forma contínua, à taxa média de 4225 μs/°C. A mobilidade é reduzida em 1 ordem de magnitude, devendo estar associada também à concentração do líquido formador de vidro. A diminuição dos tempos de relaxação da amostra neste intervalo indica o encurtamento das distâncias entre prótons (aumento das interações entre os prótons), justificando o menor valor de relaxação transversal.

Entre −30°C e −40°C, o decréscimo acentuado em $T_2$ (~$10^4$ a ~$10^2$ μs) é observado e, abaixo dessas temperaturas, os pontos obtidos mantiveram-se próximos a 100μs. Essa brusca alteração de $T_2$ , entre −40 e −60 °C, está provavelmente relacionada à formação de material com relaxação transversal em torno de 100 μs, mobilidade bem mais limitada que o observado anteriormente e no limite inferior de detecção para a seqüência de pulsos CPMG.

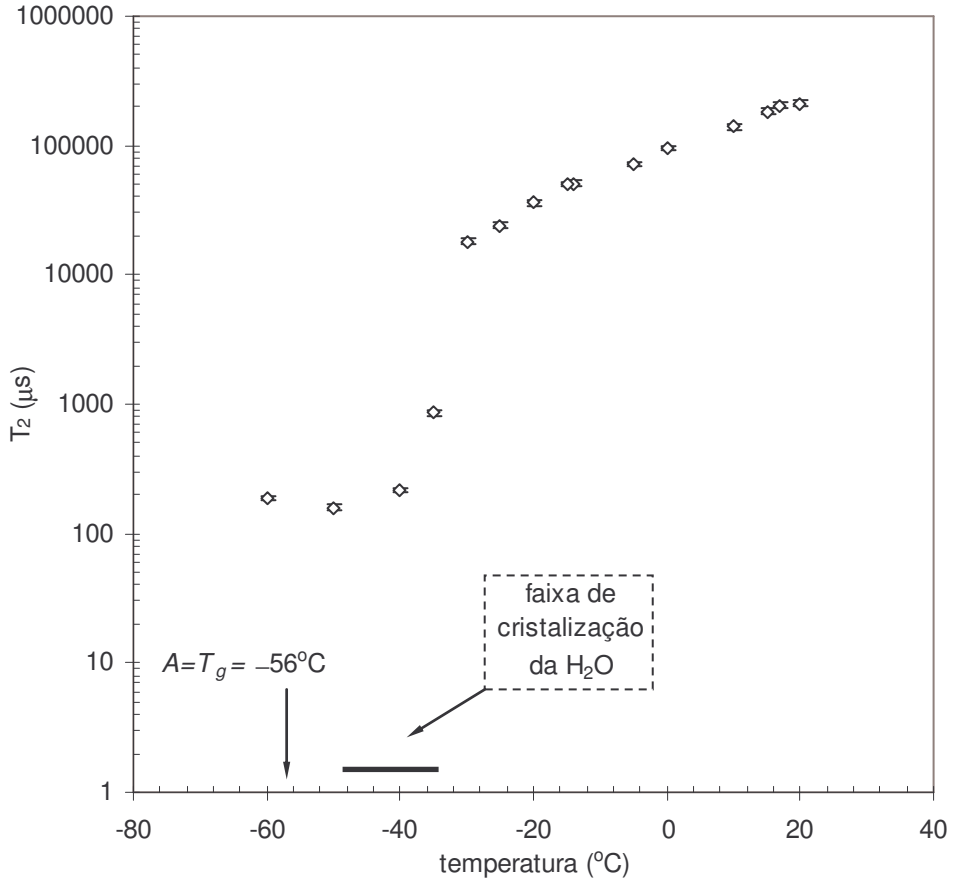



Figura 49. Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 50% de água, entre +20 e –60 °C.

Conforme observado nos experimentos DSC, durante o resfriamento, a amostra com 50% $H_2O$ passa por um processo de formação de cristais de gelo, entre ~–30 e ~–45 °C (vide FIG. 34), com a conseqüente concentração da solução remanescente durante o processo. Embora exista uma diferença entre as taxas de resfriamento no experimento de DSC e no experimento RMN, a diminuição observada nos valores de $T_2$ pode ser atribuída a este processo.

Da mesma forma, a observação de valores de $T_2$ de cerca de ~100µs, entre –37 e –60°C, concorda com o valor de temperatura de transição vítrea da fração concentrada por congelamento no material, de –45 °C. Importante assinalar que a observação da mobilidade a temperatura abaixo de –40°C deve ser atribuída ao vidro formado, uma vez que os valores $T_2$ relativos à mobilidade dos cristais de gelo estão em uma faixa de $T_2$ inferior ao limite de detecção nos experimentos CPMG.

Os pontos apresentados à FIG. 48, descrevem a mobilidade geral de todos os grupos dinâmicos presentes no material, identificados nas condições experimentais descritas. Devido à possibilidade de ocorrência de mais de um grupo, a heterogeneidade dinâmica da amostra, a cada temperatura, pode ser descrita pela distribuição de populações de tempos de relaxação, apresentada à FIG. 50.

Na FIG. 50, observa-se que embora ocorram grupos dinamicamente heterogêneos, os valores médios mostrados na linha contínua representam a maioria das relaxações observadas. Abaixo de −30ºC apenas um componente aparece, provavelmente representando o estado vítreo da amostra. Acima desta temperatura dois componentes respondem pela quase totalidade de relaxações observadas. O de maior valor e mobilidade refere-se ao solvente do sistema (água) e o outro, de menor mobilidade da interação da água com os solutos presentes (açúcares). Quando se atinge o estado vítreo a menor mobilidade do sistema resulta em uma população mais homogênea de tempos de relaxação não havendo água livre, como observados a temperaturas mais altas.

Embora bastante diluída, o valor médio de relaxação transversal $T_2$ para esta solução a 20$^o$C, corresponde a cerca de 1/10 do observado para água pura (~2400000 μs [134]) à mesma temperatura, refletindo a forte restrição causada pela interação das pontes de hidrogênio, formadas entre os açúcares e água. Apenas um grupo de relaxação é significativo para a mobilidade do material (97% do total). A inexistência de outros grupos de relaxação transversal $T_2$, nesta temperatura, indica a homogeneidade dinâmica do material. Favorece tal fato o forte efeito plastificante da água e a grande concentração de prótons oriundos da mesma, que torna a componente do soluto bastante móvel.

O resfriamento da amostra até 0$^o$C reduz o valor de $T_2$, sendo observados três grupos distintos de mobilidade. A população mais representativa está centrada em 117724 μs, a intermediária 29145 μs e a menor em 4931 μs. A ocorrência desses três grupos indica a influência da temperatura sobre a mobilidade do material e a possibilidade de existência de regiões com mobilidade distinta.

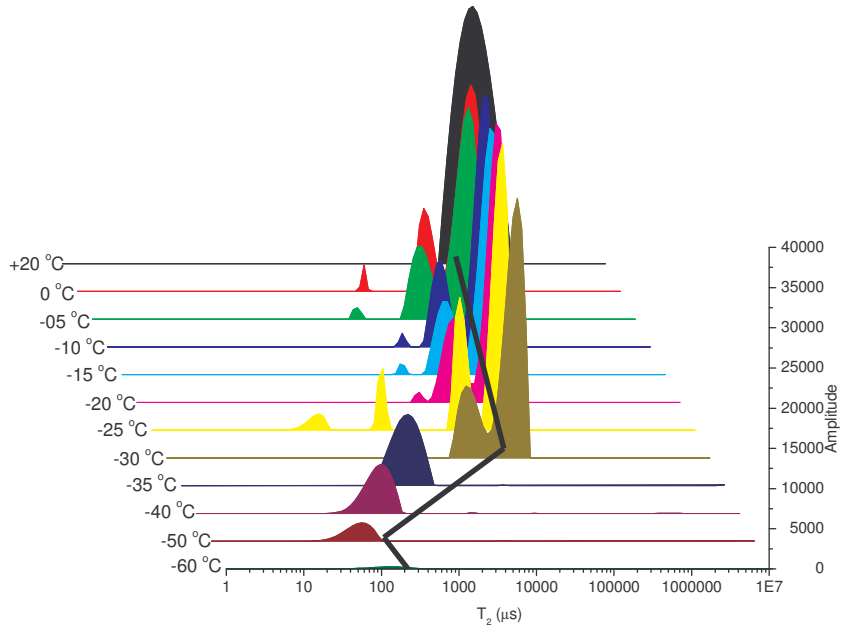



Figura 50. Distribuição de tempos de relaxação ajustados segundo equação (26) para o resfriamento de solução de mel (50% $H_2O$) obtidos por CPMG. A linha contínua representa os valores médios de $T_2$ calculados pela equação (25).

Com o resfriamento da amostra, entre 0 e –20° C, o padrão de mobilidade com as duas populações mais representativas, sofre uma diminuição gradual nos valores de $T_2$ e a –25°C, outros dois grupos são aparentes entre ~100-1000 µs. A ocorrência desses dois grupos de menor mobilidade pode estar relacionada à formação de soluções de concentração distinta de açúcares, associadas à formação de núcleos de cristais de gelo.

A redução na temperatura da solução mostrou o surgimento de dois ou três grupos de relaxação na amostra, todos adjacentes, com tempos característicos cada vez menores conforme a amostra foi resfriada, entre +20°C e –30°C. O grupo mais representativo (mínimo 80%), observado entre 0 e –20°C, possui tempos de relaxação com máximos constantes entre 8000 a 12000µs.

Entre –25 e –35°C a formação e extinção de grupos mais rígidos, (100 e 1000 µs) pode estar indiretamente associada à nucleação e crescimento de cristais de gelo, que não é detectado pelo experimento. Por essa razão ocorreu queda acentuada nos

tempos de relaxação nessa faixa (FIG. 50). Tal situação é favorecida pelos valores mais altos de viscosidade do material formado.

Com o resfriamento a –35°C, aparentemente estes dois grupos coalescem originando um grupo 343 μs. A ocorrência de três populações distintas de tempos de relaxação, nesta temperatura, expressa a heterogeneidade dinâmica da amostra.

A causa desse efeito é que, embora composto por alta concentração de prótons, o sinal dos cristais de gelo não é observado, devido às limitações do experimento CPMG, cuja aquisição de dados inicia após o decaimento completo do sinal de sólido (até ~70μs [135]).

Entre –35 e –60°C apenas um pequeno grupo de mobilidade é observado, cujo tempo de relaxação transversal médio decresce de ~270 a ~100 μs. A intensidade do pico decresce devido ao fato de que a água cristalizada praticamente não é detectada ($T_2$ de sólido < 70 μs [136]). Com o resfriamento da solução, os tempos de relaxação aproximam-se do limite inferior detectável pelo experimento CPMG (~100 μs) [145].

O comportamento observado tanto na curva de valores de $T_2$, quanto na distribuição de populações de mobilidade molecular sugere que haja relação entre as alterações nos tempos de relaxação transversal e os eventos térmicos observados por calorimetria exploratória diferencial. O resfriamento de amostra desse material susceptível à cristalização, levou à formação de dois grupos de mobilidade molecular entre 1000 e 10000 μs (0 e –25°C) e um terceiro entre 100 e 1000 μs (–35 e 40°C).

O grupo $T_2$ sinal detectado a 1000 μs está relacionado à solução formada por concentração de açúcares em água, resultante da formação de gelo (*freeze concentration*). À medida que a temperatura é reduzida, o processo prossegue, obtendo-se solução mais concentrada, com tempos de relaxação cada vez mais curtos (~300μs a –40°C e ~100μs a –50°C). Essa diminuição na temperatura favoreceu o processo de nucleação e posterior crescimento dos cristais de água, que no caso ocorreu em um curto intervalo de temperaturas (~10°C), alterando bastante o comportamento da relaxação de $T_2$ no material.

Na FIG. 51 são apresentadas as distribuições de $T_2$ referentes ao aquecimento da amostra entre −60 e −5°C, observando-se somente uma componente de mobilidade, com máximo em torno ~100 µs entre –60°C e –40°C, com aumento gradual em sua intensidade.

A −35 °C esse grupo de menor mobilidade molecular torna-se mais intenso e, à mesma temperatura, surge um grupo de maior mobilidade (~100000 µs), descrevendo desse modo a ocorrência de populações com mobilidade bem distinta, o que seria coerente com o processo de aquecimento e o conseqüente início da fusão do material.

A −20°C, é observado um grupo único com dois máximos a 4343,05 e 22611,57 µs. Esse grupo permaneceu com duplo pico a −5°C, aparentes a 9133,46 e 27237,4 µs. Aparentemente, a heterogeneidade dinâmica da amostra torna-se clara na faixa de temperatura que compreende a transição vítrea e o processo de fusão de cristais de gelo e dissolução de açúcares. A histerese naturalmente presente neste tipo de amostras pode explicar a diferença de comportamento observada entre o resfriamento e aquecimento.

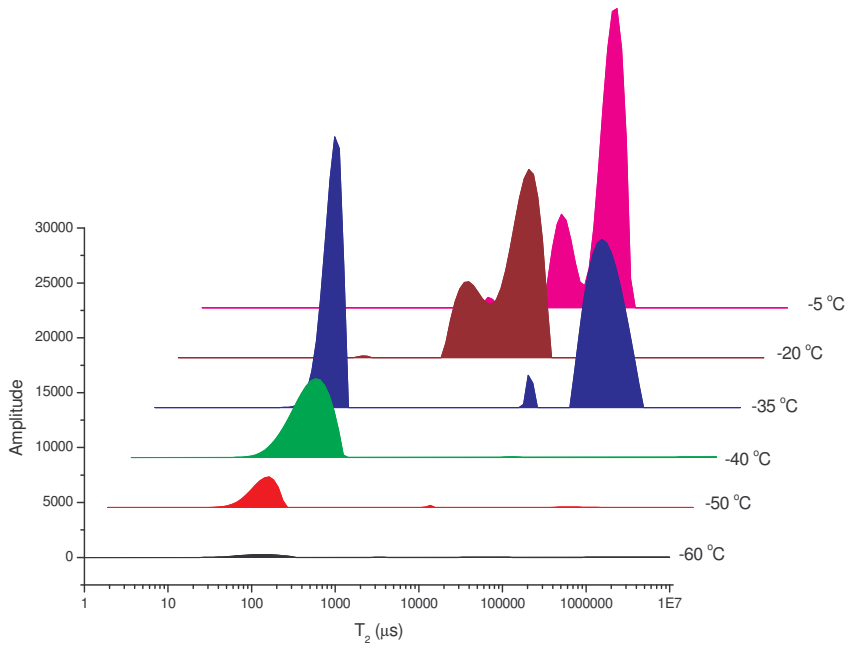



Figura 51. Distribuição de tempos de relaxação para amostra com 50% de água, durante o aquecimento desde −60°C.

Dos gráficos de populações de tempos de relaxação $T_2$ em função da temperatura, observa-se que a faixa de valores próxima à temperatura de transição vítrea é dominada por uma única população, indicando que as moléculas de $H_2O$ remanescentes do processo de resfriamento da amostra, formaram solução de vidro cujo comportamento é homogêneo do ponto de vista da mobilidade. A comparação desses resultados com os de amostras mais concentradas permitirá conhecer melhor as características de relaxação desse formador de vidro.

### *6.3.2 - Amostras de mel com 30 e 19% de $H_2O$*

A redução no teor de umidade da amostra permite a ocorrência de interações de pontes de hidrogênio mais intensas entre os açúcares presentes no formador de vidro e, consequentemente, o aumento no valor de viscosidade e da temperatura de transição vítrea. Os efeitos dessas alterações podem ser observados em curvas térmicas de resfriamento e aquecimento das amostras com 30 e 19% de água, não sujeitas à formação de gelo, que são apresentadas às FIG. 52 e 53.

A relação entre tempo de relaxação transversal $T_2$ e temperatura para a amostra contendo 30% de umidade é apresentada à FIG. 54. De modo diferente do observado para a amostra com 50% de umidade o decréscimo de $T_2$ em função da temperatura foi contínuo, não sendo observadas alterações bruscas desse parâmetro no intervalo de temperatura estudado +50 e $-70^{o}$C. Uma pequena irregularidade é observada entre −45 e −60ºC. Entretanto, o número de pontos disponíveis abaixo desta irregularidade não permite dizer se se trata de uma transição vítrea ou apenas oscilações das medidas.

A menor quantidade de água na amostra favorece o estabelecimento de pontes de hidrogênio mais intensas entre os carboidratos e a água presente no mel. A $-20\ ^{o}$C, a amostra apresentou $T_2$ de 2928 μs, bem inferior ao obtido para amostra com 50% de água à mesma temperatura (59755 μs), indicando maior restrição a interações spin-spin, causada pelo aumento na quantidade de sólidos na amostra.

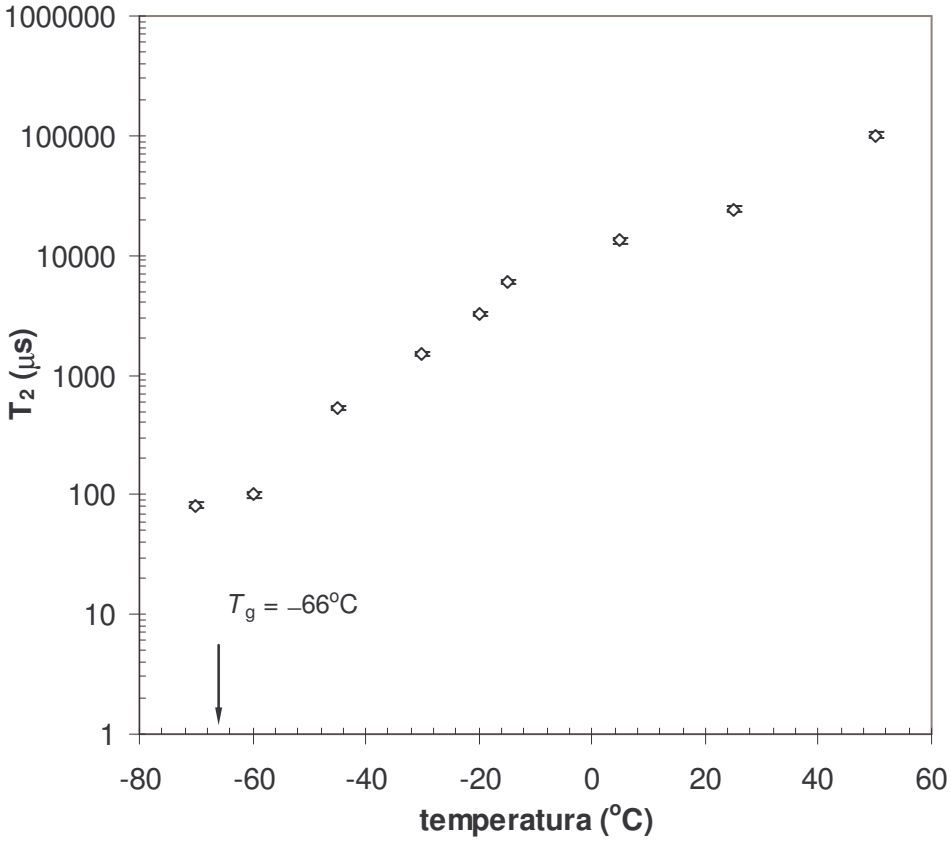



Figura 52. Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 30% de água, entre +20 e –60 °C. Valores $T_2$ calculados pela equação (25).

Diferente do verificado para a amostra com 50% de $H_2O$, não foi observada existência de descontinuidade (mudanças bruscas de inclinação) na curva, entre +20 e –60 °C. Isso confirma a inexistência de cristalização de gelo durante o resfriamento do material. Os pontos coletados à temperatura mais baixas, entre –60 e –70°C devem estar relacionados à formação de vidro no material, com valores de $T_2$ abaixo de ~100μs. Isso é confirmado pelo valor de transição vítrea obtido em DSC, que corresponde a –66°C (taxa 5° C/min).

As interações entre moléculas de açúcares e água, se tornam mais intensas na amostra contendo 19% de $H_2O$, dificultando ainda mais a ocorrência de devitrificação neste material. A relação entre $T_2$ e temperatura é apresentada à FIG. 53, na qual se observa o decréscimo contínuo de $T_2$ até a temperatura de−35°C, quando o limite inferior do método é atingido. Porém tal temperatura é bem próxima do início da

temperatura de transição vítrea ou da formação de vidro exibida por esse material, obtidos por DSC.

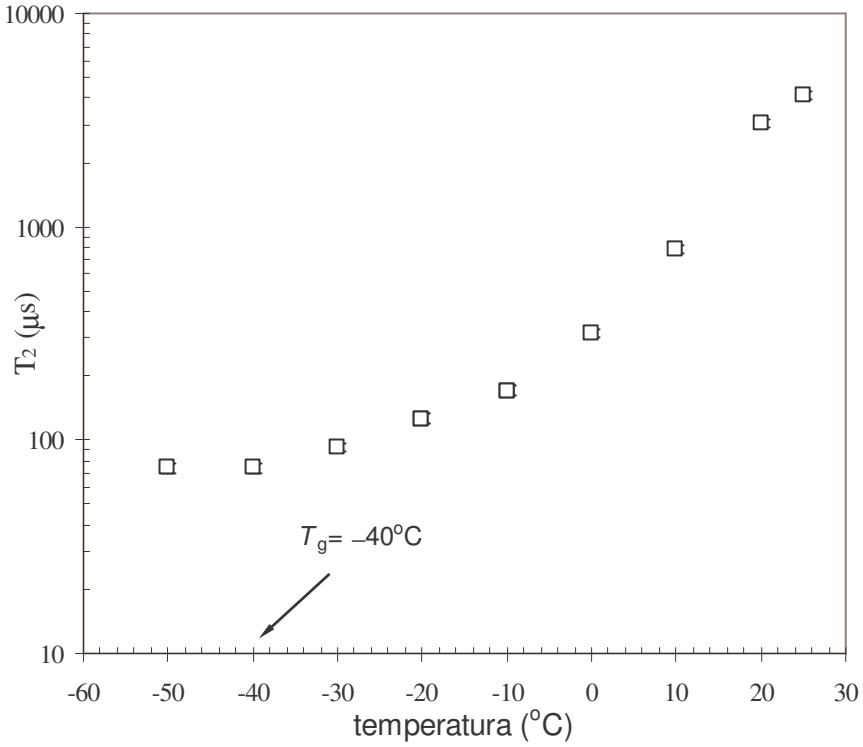



Figura 53 - Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 19% de $H_2O$, entre +20 e −60 °C. Os valores foram obtidos a partir de curvas de desmagnetização oriundas da aplicação da seqüência de pulsos CPMG.

No caso da amostra com 30% de $H_2O$, o início da formação do vidro ocorre a ~−60°C e o intervalo de temperatura em que o vidro é formado finaliza a ~−75°C. Dessa forma, em comparação com os valores obtidos por DSC, a −60°C e −70°C, os pontos de menor temperatura medidos por RMN, corresponderiam à formação de vidro, que estaria se consolidando no material.

A inexistência de descontinuidade na curva de mobilidade da amostra reforça o fato de que não houve cristalização de gelo no material, a exemplo do observado para a amostra com 50% de água. Por outro lado, o baixo valor de mobilidade, no limite de detecção do procedimento CPMG, reforça a possibilidade de se tratar de material com mobilidade próxima do estado vítreo. Com base nessas informações pode-se afirmar que há equivalência entre o aspecto observado no termograma (vidro formando entre −72 e −60°C), e o $T_2$ próximo a essas temperaturas.

Na FIG. 54 são apresentadas as distribuições de tempos de relaxação em amostra com 30% de umidade, entre +50 e −70°C. A +50 °C duas populações são observadas com $T_2$ a 235 e 115619 μs, sendo a última dominante (~98%), indicando ser o solvente mais relevante para a mobilidade da amostra a esta temperatura.

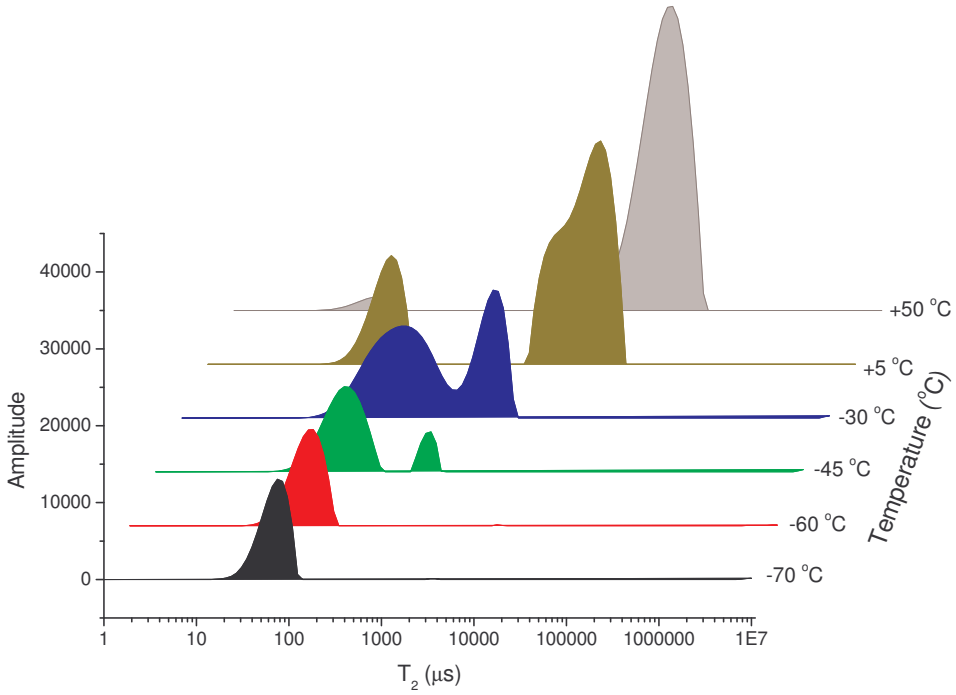



Figura 54: Distribuição CPMG $T_2$ para o resfriamento de amostra contendo, 30% de $H_2O$.

A +5°C, o padrão se altera: duas populações são visíveis, mas com a diminuição relativa daquela de maior mobilidade (máximo 19916 μs) e aumento daquela de menor mobilidade. A −30°C, os dois grupos são observados a 266μs e 2302 μs, com a de menor mobilidade se tornando mais representativa, indicando a coexistência de grupos mais rígidos e móveis (solvente e soluto) determinando o $T_2$ da solução.

A existência de dois grupos com comportamento distinto de mobilidade indica o maior efeito da redução de temperatura sobre moléculas de água e soluto. O aspecto

desses grupos se altera a −45°C, em que o grupo de menor mobilidade (150 µs) torna-se mais representativo e torna-se único a −60 °C (100 µs) e −70 °C (84 µs).

As distribuições de tempos de relaxação para a amostra com 19% de $H_2O$, a amostra original de mel são apresentadas na FIG. 55. Uma única população foi observada no material, entre −60 e +20°C, indicando forte coesão entre as moléculas de solvente e soluto. Entre +30 °C e +60°C são observadas duas populações de tempos de relaxação, mais uma vez indicando o efeito da temperatura sobre os diferentes grupos de mobilidade.

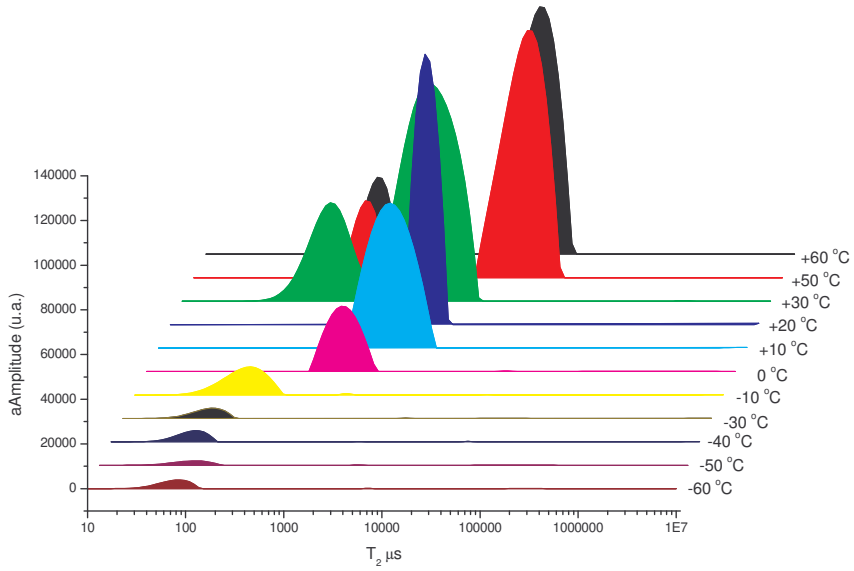



Figura 55: Distribuição de tempos de relaxação $T_2$, obtidos em experimento CPMG, para resfriamento de amostra de mel com 19% de $H_2O$.

A relação entre os valores de $T_2$ em função da temperatura, para a amostra com 19% de umidade, indica a redução nos valores dos tempos de relaxação transversal durante o resfriamento. A 20ºC, $T_2$ apresentou valor de 5000 µs. Entre +20 e −60, o único grupo de mobilidade visível tem sua intensidade aumentada gradativamente na medida em que a temperatura é aumentada. Entre +30 e ~−30, a redução de $T_2$ ajusta-se a uma equação monoexponencial, a exemplo do observado para a amostra com 30% de umidade.

Entre −40 e −60°C, temperaturas que compreendem o intervalo de transição vítrea observado em DSC, os tempos de relaxação transversais detectados por CPMG pouco se alteraram, apresentando valores médios de ~100 μs, limite de detecção para esse tipo de experimento.

### *6.3.3 - Amostra com 8% de $H_2O$*

Na FIG. 56 é apresentado o comportamento geral dos tempos de relaxação transversal médios, obtidos por CPMG. Observa-se o decréscimo contínuo nos valores dos tempos de relaxação do material, em função da temperatura. Os valores de $T_2$ se estabilizaram em torno de 15°C, com valor de ~100μs.

A distribuição de tempos de relaxação transversal é apresentada, para cada temperatura entre +15 a +70°C à FIG. 57. A exemplo do observado com a amostra contendo 19% de umidade, a temperaturas mais baixas, uma única população é identificada no material entre +15 e +35°C, com $T_2$ em torno de 100-150 μs. Com o aumento na temperatura, observa-se o aumento gradativo na intensidade da população e, a +40°C, observa-se o surgimento de um grupo adjacente, de menor intensidade, a ~500μs.

Acima de 40°C, o segundo grupo de mobilidade tem sua amplitude aumentada, até que a +70°C a posição dos grupos aparentemente se inverte, e uma componente mais rígida, de baixa representatividade pode ser observada a ~100 μs, e o grupo de maior intensidade e mobilidade, a ~1000 μs. No resfriamento, para essa amostra, não foi observada diferença expressiva nos tempos de relaxação.

Valor de transição vítrea para amostra contendo 8% $H_2O$, indicou valor de $T_g$ média de 8°C, concordando com os $T_2$ que apresentaram valores de ~100μs nessa faixa de temperaturas. Confirmou-se ainda, que a relaxação spin-spin do material de alta viscosidade formado em temperaturas entre (10-20°C) é atribuída a um único grupo de relaxação, a exemplo do observado nos vidros de mel-$H_2O$ contendo 19 e 30 % $H_2O$.

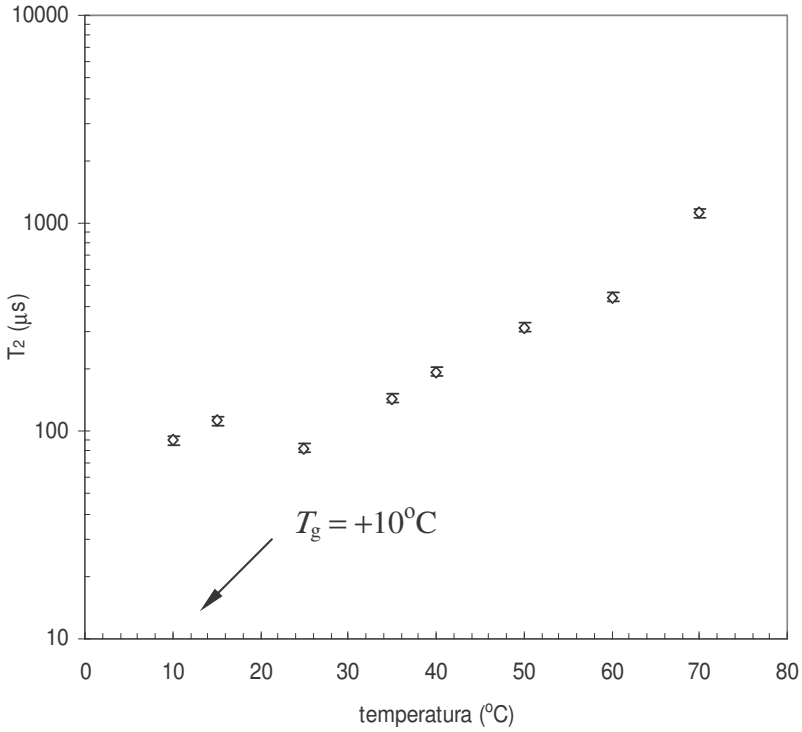



Figura 56. Tempos de relaxação transversal $T_2$, para o resfriamento de amostra de mel com 8% de água, entre +20 e −60 °C (CPMG).

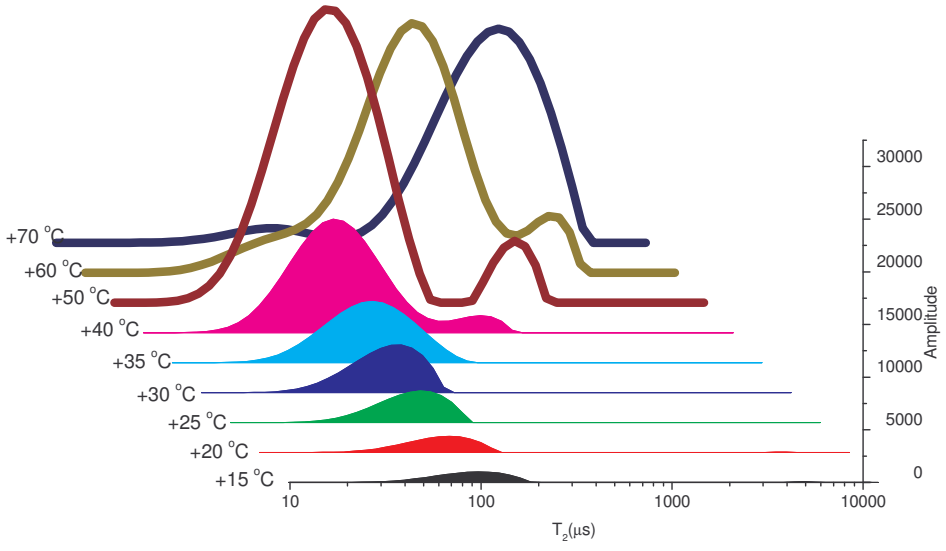



Figura 57 - Distribuição de tempos de relaxação $T_2$, obtidos em experimento CPMG, para aquecimento de amostra de mel com 8% água.

Devido às limitações do experimento CPMG na obtenção de valores de $T_2$ em domínios rígidos ($T_2$ < 70μs), foram utilizados experimentos de pulso único para a análise de amostras com 8 e 19%, com o objetivo de investigar a mobilidade dos vidros formados abaixo da temperatura de transição vítrea. Resultados e discussão acerca desses experimentos são apresentados no próximo tópico.

### *6.3.4 - Análise de FID – experimentos de pulso único*

Curvas de decaimento referentes às amostras contendo 8 e 19% de $H_2O$, foram obtidas utilizando-se pulsos únicos de 90°, com duração de 3,75 μs, com o objetivo de investigar a relação entre as componentes de relaxação mais rápidas (rígidas) desses materiais e a formação de vidro. Os valores $T_2$ foram obtidos para as duas amostras e são apresentados às FIG. 58 e 59.

Os valores dos tempos de relaxação referentes à amostra com 19% de $H_2O$ (FIG. 58), entre +20 e −70°C indicam, como esperado, a redução de $T_2$ em função da temperatura. Nesse intervalo de temperaturas, valores de decaimento livre induzido situam-se entre ~10 e ~300 μs. A faixa em que a $T_g$ foi observada nos experimentos DSC (−37 a −52°C) corresponde a valores $T_2$ de 70 até 25 μs, confirmando o caráter vítreo do material nesse intervalo, identificado nos experimentos CPMG. Essa faixa de valores de $T_2$ não é acessível aos experimentos CPMG.

Os valores dos tempos de relaxação para amostra com 8% de $H_2O$ (FIG. 59), entre +80 e +20°C também confirmam a redução de $T_2$ em função da temperatura, durante resfriamento do material. Nesse intervalo de temperaturas, os valores de $T_2$ obtidos das curvas de decaimento livre induzido são observados entre 40 e1000 μs. A faixa em que a $T_g$ foi observada em DSC (−5 a −10°C) corresponde a valores $T_2$ entre 10-20 μs,confirmando o caráter vítreo do material a baixa temperatura.

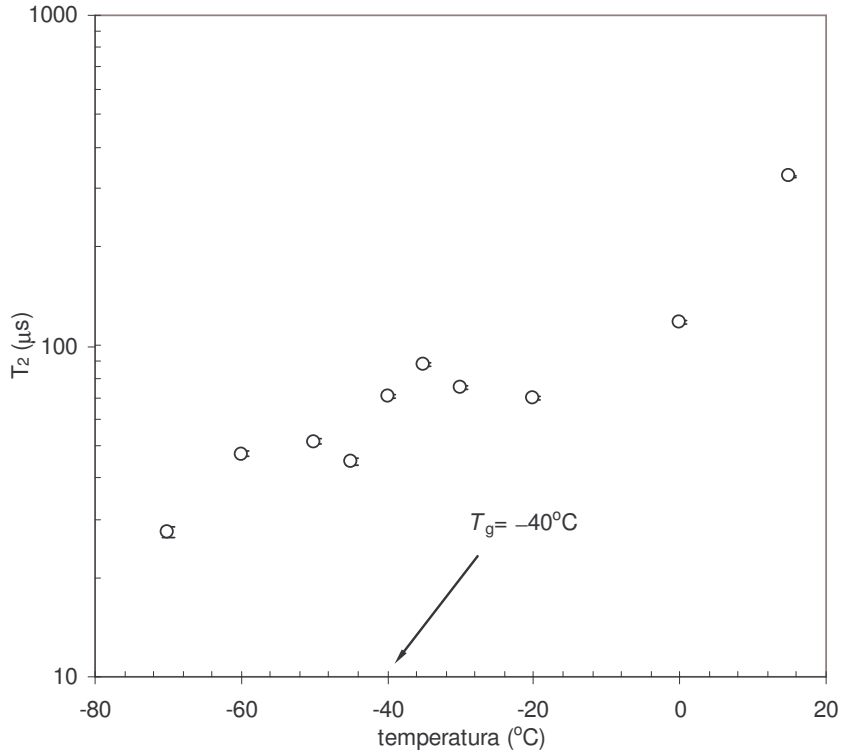



Figura 58. Valores de tempo de relaxação transversal $T_2$ obtidos utilizando-se experimento de pulso único de 90° ( P90) em amostra de mel com 19% de $H_2O$

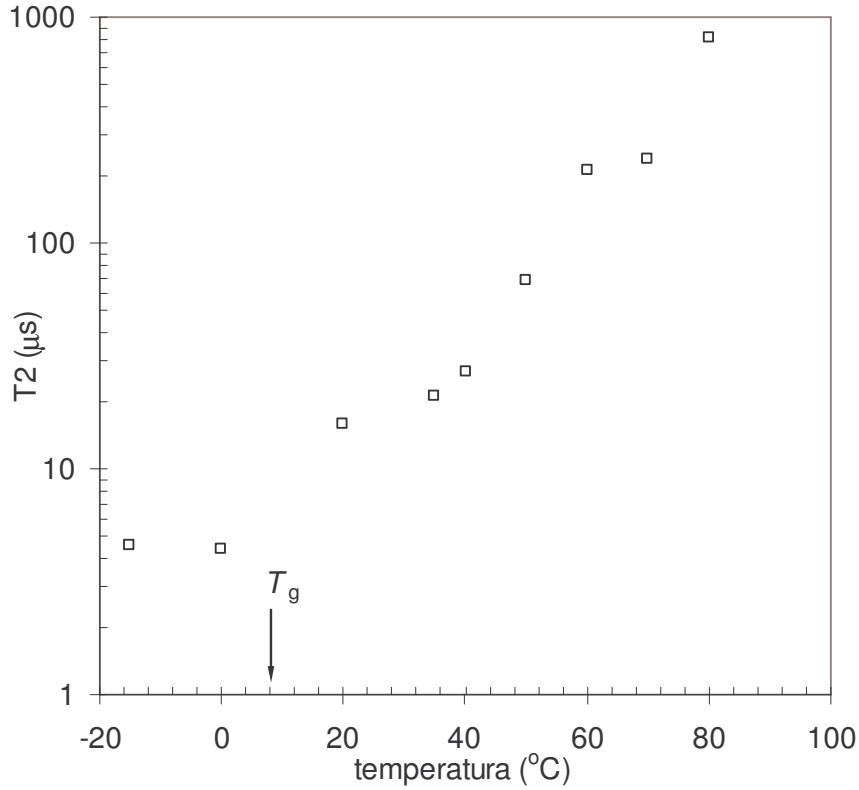



Figura 59. Valores de tempo de relaxação transversal $T_2$ obtidos utilizando-se experimento de pulso único de 90° ( P90) em amostra de mel com 8% de $H_2O$.

Devido ao fato de terem sido coletados pontos em menor número, não se pode afirmar que as curvas obtidas nas amostras com 8 e 19% correspondam ao "L" invertido, obtido por alguns grupos [95], cujo ponto de inflexão corresponderia à temperatura de transição, que os mesmos têm associado à transição vítrea. Porém, os valores de $T_2$ obtidos acima e abaixo da $T_g$, são similares aos valores observados em trabalhos de investigação de relaxações transversais $T_2$ em soluções concentradas de maltose [24], glicose [24] e malto-oligômeros [30], comprovando a validade desse método para investigação do fenômeno de transição vítrea.

### *6.3.5 – Análise: relaxação transversal $T_2$ e a temperatura de transição vítrea*

O estudo da relaxação transversal é uma medida direta da mobilidade da água e outras substâncias que possuam prótons em sua estrutura. A relaxação de prótons, descrita pelo tempo de relaxação transversal $T_2$, compreende a faixa de micro até milisegundos nos ambientes químicos em que os prótons estejam inseridos. Valores mais longos de $T_2$ indicam alta mobilidade das moléculas às quais os prótons estão ligados e que constituem o material.

O ambiente químico de sistemas heterogêneos, tal como a amostra de mel investigada, possui vários sítios que podem interagir, em diferentes níveis, com moléculas de água. Os mecanismos pelos quais essas interações ocorrem podem ser químicos, como as pontes de hidrogênio bem como físicos, como forças capilares, dentre outras. Em razão das diferenças nas interações entre moléculas de um material, a mobilidade protônica pode ser caracterizada por uma, duas, três ou mais populações de tempos de relaxação.

O mel é um material composto basicamente de água e açúcares, obtidos pela conversão enzimática de sacarose oriunda de néctar, realizada por abelhas da espécie *Apis Mellifera*. Embora possam existir frações de mais de 100 tipos de açúcares diferentes no mel, os dois principais são a frutose e a glicose. Desse modo, espera-se que as interações químicas relevantes nesse líquido formador de vidro sejam as ligações de hidrogênio entre a água e os entre grupos H, OH e -$CH_2OH$ dos açúcares.

Nos experimentos RMN de amostras mel, a variação na concentração de $H_2O$ das amostras permitiu uma alteração nas forças existentes entre as moléculas do solvente e açúcares e, conseqüentemente, mudanças no padrão de relaxação exibido pelos prótons ligados às mesmas.

Embora não seja possível, como já discutido, o assinalamento detalhado de todas as componentes que separadamente contribuam para a relaxação protônica, é possível fazer uma análise com relação aos grupos que compõem as populações de tempos de relaxação, que se formam durante o resfriamento e aquecimento desses materiais. As estruturas químicas de dois dos mais relevantes açúcares presentes no mel são apresentadas à FIG. 60.

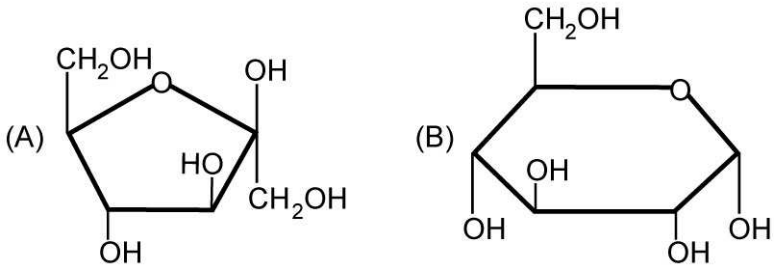



Figura 60. Moléculas de (a) frutose e (b) glicose.

Tanto em frutose, quanto em glicose, os prótons presentes nas moléculas desses açúcares podem ser divididos em três grupos: prótons diretamente ligados aos anéis (3 para a frutose e 5 para a glicose), às hidroxilas (5 para cada açúcar) e os prótons ligados aos grupos $CH_2$ exocíclicos (2 para a glicose e quatro para a frutose). A distância a que os prótons estão do anel da molécula, são um indicativo de sua mobilidade [8]. Prótons diretamente ligados ao anel seriam mais rígidos e, aqueles ligados às hidroxilas dos grupos $–CH_2OH$ teriam maior mobilidade.

Em soluções de frutose, cujos valores de transição vítrea mostraram-se similares aos observados pelas soluções de mel aqui estudadas, a relação entre o número de moléculas de água e açúcar varia de 4 (solução com 10% de $H_2O$) para 23 (solução com 50% de $H_2O$) moléculas de água por molécula de açúcar. Cada molécula de frutose possui em média, 12 prótons disponíveis para formar tais ligações, além do próprio oxigênio do anel. A molécula de glicose contribuiria também com 12 prótons.

Dada a similaridade entre mel e a solução de frutose, e considerando na amostra de mel contendo 8% $H_2O$, a existência apenas de material não sujeito à devitrificação/cristalização, o surgimento de mais de um grupo (população) de tempos de relaxação, em temperaturas acima de +40$^oC$ pode ser atribuído aos prótons de moléculas mais fracamente ligadas aos açúcares ($H_2O$). Possivelmente, pode estar associado também aos prótons dos açúcares, mais afastados de seus anéis. Comportamento similar foi observado em soluções maltose em água (<10% $H_2O$).

A maior disponibilidade de água nas amostras com 19 e 30% $H_2O$, aumenta significativamente a mobilidade do material, devido ao maior número de ligações de hidrogênio que se estabelecem entre o solvente e os açúcares. Para essas amostras, as baixas temperaturas permitiram a existência de uma única população de tempos de relaxação, devido possivelmente, ao favorecimento das ligações de hidrogênio mais fortes entre água e açúcares. Nas temperaturas mais altas, o surgimento de mais de uma população, deve estar ligado à maior mobilidade de uma fração da água contida no material, que aparentemente teria mobilidade favorecida por ligações mais fracas com as moléculas de açúcar. Disso resultaria a existência de grupos distintos de mobilidade.

Nas soluções com 8 e 19% de $H_2O$, o grupo único de relaxação foi observado em uma ampla faixa de temperaturas, que variou entre −70 e +20 para amostra com 19% de umidade e −15 a +60 para amostra contendo 8% de umidade. Para a amostra com 30% o intervalo foi menor, de –70 a –60$^oC$ e acima desta temperatura, mais de um grupo é observado.

As amostras com 8, 19 e 30% de água não foram sujeitas a concentração da solução por congelamento (*freeze concentration*). Desse modo, nas curvas térmicas apresentadas para estes materiais, foi observada somente transição de segunda ordem (transição vítrea), no intervalo de temperaturas estudado para as mesmas.

Com base no diagrama de estado, a solução de mel, formada após congelamento da água (A=$T_g$= −56$^oC$), apresenta concentração correspondente a 22 % de $H_2O$ e, nessa concentração não haveria possibilidade de formação de cristais de gelo, dentro da escala

de tempo experimental de DSC ou RMN. Nas condições experimentais investigadas, a devitrificação não foi observada, nem mesmo, para amostra contendo 30% de mel, quando resfriada a 5$^{o}$C/min (DSC). Devitrificação em mel foi observada em DSC para amostra contendo no mínimo, 37% de $H_2O$ (5$^{o}$C/min). A inexistência de alterações bruscas nos valores $T_2$ das amostras com 8 a 30% de $H_2O$ indica não ter ocorrido processo cristalização nas amostras, durante experimentos RMN.

Experimentos DSC em soluções de frutose e mel, apresentados na seção 6.2, indicaram que o intervalo em que o surgimento da fase cristalina é observado, ocorre entre 35 e 37% de $H_2O$, durante aquecimento das amostras. Acima de 45% ocorre formação de fase cristalina, já no resfriamento do material, com a observação dos eventos térmicos duplos, A e B. Tal seqüência de eventos térmicos complexos não pôde ser associada aos resultados obtidos nos experimentos RMN.

O fato de ter sido observada apenas uma população nas temperaturas próximas à $T_g$, nas curvas de distribuição de $T_2$, indica que a mobilidade dos diferentes grupamentos se iguala à das componentes mais rígidas presentes no material. Em soluções de maltose em água [8], estas componentes protônicas mais rígidas foram atribuídas aos prótons diretamente ligados aos anéis deste açúcar. Dada a similaridade entre a maltose e os açúcares presentes no mel, pode-se sugerir que os prótons ligados diretamente ao anel devem ser os mais rígidos nos açúcares que compõem o mel, ou seja, na $T_g$ de todos os grupos associados aos açúcares apresentariam valores $T_2$ muito próximos.

Nos experimentos CPMG, melhores valores de relaxação $T_2$ são observados acima de ~100μs e, desse modo, em temperaturas próximas à $T_g$ deve existir grupo de menor mobilidade, conforme indicam alguns trabalhos [8], [95]. Ruan [136], investigou a mobilidade de polímeros de carboidratos na região da $T_g$, utilizando pulso único de 90$^{o}$, e observou esse fenômeno em uma faixa de tempos de relaxação entre 6 e 70 μs.

Isso indica que na faixa da $T_g$, a mobilidade dos diferentes prótons possui valores médios muito próximos, tornando-se, provavelmente, monopopulacional e sendo satisfatoriamente representada por um valor único de tempo de relaxação.

A amostra com 50% $H_2O$, estudada por RMN, foi susceptível à nucleação e crescimento de cristais de gelo, durante o resfriamento, sem contudo, indicar a existência de domínios vítreos/viscosos distintos, observados pelos valores de $T_2$ e pelas populações de tempos de relaxação.

A explicação para tal fato, deve estar associada ao resfriamento mais lento da amostra nos experimentos RMN, que possivelmente permitiu maior homogeneização da solução de mel. Nos experimentos DSC, as taxas de resfriamento mais altas devem favorecer a distribuição desigual das concentrações de açúcares nas soluções, determinando valores distintos de transição vítrea.

A comparação entre os valores de DSC e os valores médios dos tempos de relaxação $T_2$ reforça o fato de que a queda acentuada nos valores de $T_2$, observados para amostra com 50% de $H_2O$, entre $-30$ e $-40^oC$ , esteja relacionada à formação de gelo na amostra. Com o processo de formação de cristais, há também o início do processo de concentração de açúcares no material, o que tornaria a amostra mais viscosa, reduzindo seu $T_2$. Além da formação de solução superconcentrada, outros processos físicos poderiam contribuir para a redução nos valores de $T_2$.

A formação de canais que confinam a solução remanescente, durante o resfriamento da amostra, é um desses processos. Estudos de ressonância magnética por imagem [137] e de microscopia [138] ótica indicam a formação de canais, remanescentes após o crescimento de cristais em soluções de açúcares simples e polissacarídeos. Nesse caso, a diminuição da mobilidade é atribuída em parte ao aumento da tensão superficial do soluto presos na rede de canais formada. [139, 140]. Tal argumentação tem sido mais aceita para justificar a dificuldade de se desidratar soluções ricas em carboidratos, em oposição à idéia de água ligada (*bound water*), atualmente rejeitada por muitos autores [50], [147].

Ainda com relação a amostra com 50% de $H_2O$, devido ao fato de que o processo de nucleação e crescimento de cristais de gelo requer mobilidade suficiente para sua consolidação, o grupo de relaxações mais representativo (+20 e $-30^oC$) está provavelmente relacionado aos prótons da $H_2O$ mais fracamente ligada às moléculas de

açúcar. A −30°C o grupo de maior mobilidade (22611 μs) possui $T_2$ comparável ao mel com 19% de $H_2O$ a $T$= +60°C. Os dois grupos de menor mobilidade (5598 e 343 μs) apresentam $T_2$ próximos aos observados em mel com 19% $H_2O$ a temperaturas de +25° e 0°C.

A existência de apenas um grupo a temperaturas entre −35 e −50°C indica que parte considerável da água não pode ser observada, por se tratar de fase sólida (cristais de gelo). A mobilidade do grupo remanescente a −35°C corresponde a 834 μs, valor próximo do observado a 5°C para a amostra de mel original (19% $H_2O$).

Isso indica que a solução formada tem concentração inferior à maximamente concentrada por cristalização, e estaria ainda sujeita a continuidade desse processo, à medida que a temperatura fosse reduzida. De fato, tal situação pode ser observada na FIG. 60, onde os valores $T_2$ de todas as amostras estudadas por RMN são apresentados. A amostra com 50% de $H_2O$ apresentou, a temperaturas abaixo de −30°C, mobilidade intermediária entre a observada para as amostras com 19 e 30% $H_2O$.

Pela FIG. 61, observa-se que, à exceção da amostra de mel com 50% $H_2O$, o tempo de relaxação transversal $T_2$ das demais amostras, em temperaturas próximas da transição vítrea, aumenta, na $T_g$, com o aumento da concentração de água. Esse mesmo resultado foi observado em soluções maltose-água por Dries e colaboradores [8], também na $T_g$ e indica que a concentração de $H_2O$ afeta a mobilidade do material, mesmo na faixa de temperatura de transição vítrea.

Algumas considerações devem ser feitas com relação a fenômenos químicos que poderiam afetar a medição dos tempos de relaxação nos materiais estudados. São eles a difusão de spins e as trocas químicas entre os prótons de componentes do formador de vidro.

Com relação à ocorrência de efeitos de difusão de spins, dados de literatura [141] indicam que tal fenômeno somente ocorre em períodos de $T_2$ superiores a 150000 μs. Neste trabalho, utilizaram-se tempos mais curtos para evitar que fossem coletados

FID afetados por este fenômeno. Ressalta-se que o experimento CPMG é indicado para diminuir a influência desses efeitos [95].

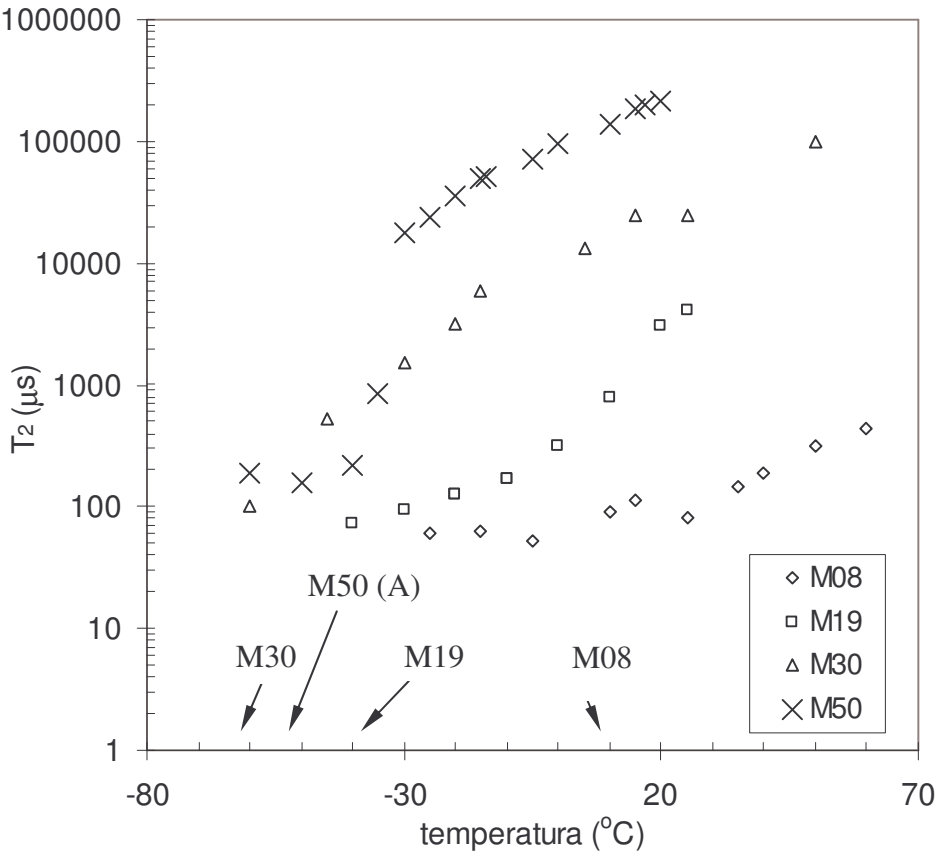



Figura 61. Tempos de relaxação para amostras de mel contendo 8(M08), 19 (M19), 30 (M30) e 50% (M50) de água. Os valores de mais baixa mobilidade sugerem que à $T_g$, o tempo de relaxação será inferior a 100 µs.

A troca química, que corresponde à troca de prótons da água e dos açúcares, pela qual a magnetização é alterada, foi investigada para soluções de glicose em água (60%), à temperatura ambiente, onde se identificou que é da ordem de $10^{-2}$ s [142]. Os valores obtidos para a componente rígida, na faixa de transição vítrea, utilizando pulso único de 90°, são da ordem de $10^{-5}$ s, indicando serem muito rápidos para serem afetados por efeitos de trocas químicas. Isso valida os resultados obtidos em experimentos de pulso único para as amostras contendo 8 e 19% de $H_2O$, cujos valores $T_2$ foram obtidos abaixo dos 100 µs.

Não foi possível identificar pontos de inflexão na forma de "L" invertido, a exemplo de alguns trabalhos. Os resultados obtidos concordam com os de Ablett e colaboradores [143,144] que, ao estudarem soluções de malto-oligômeros também não identificaram "quebras" que pudessem estar associadas à $T_g$.

Do ponto de vista da viscosidade, a transição vítrea ocorre a um valor estimado em $\eta = 10^{12}$ Pa.s sendo precedida de um incremento de 4-6 ordens de magnitude, em um intervalo relativamente curto de temperatura (10-20$^o$C). Esse comportamento não foi observado quanto aos valores de relaxação transversal que exibiram diferença de $10^2$-$10^3$ μs, entre a amostra à temperatura ambiente e a $T$ próxima à $T_g$, indicando um desacoplamento entre viscosidade e relaxação $T_2$.

Com relação à distribuição de populações de $T_2$ em função da temperatura, tais amostras exibiram, nos experimentos CPMG, em temperaturas acima e nas vizinhanças da $T_g$, um, dois e menos freqüentemente, três grupos com relaxações diferentes no material. A constatação é a de que a temperaturas próximas à $T_g$, as relaxações terão perfil dominado pelas interações dos açúcares (soluto) e, a temperaturas mais altas, o solvente terá maior influência sobre a relaxação transversal nesses materiais.

## *6.4 – Mobilidade molecular estudada por ressonância paramagnética eletrônica*

A inserção da sonda de spin nitróxido utilizada neste trabalho, o TEMPO (2,2,6,6 tetrametil-1-piperidina-1-oxil), foi realizada pela adição direta de quantidade apropriada do composto às soluções, seguida de vigorosa agitação até completa dissolução da substância.

A sonda TEMPO é bastante estável pelo fato de que o elétron desemparelhado deste radical é protegido por quatro grupos $-CH_3$ que agem com efeito protetor, impedindo sua reação com outras substâncias. A inexistência de hidroxilas neste radical o torna menos susceptível à formação de ligações de hidrogênio [145] e, dessa forma, a mobilidade dessa molécula está mais sujeita a existência de espaços intermoleculares para que seu movimento rotacional e translacional ocorra.

A quantidade de TEMPO adicionada a cada amostra, necessária à obtenção de sinal adequado à detecção pelo equipamento, foi determinada por uma série de experimentos preliminares visando obter sinal da sonda spin, compatível com dados de literatura. Para a amostra de corante caramelo, não foi possível obter o espectro característico de três linhas da sonda TEMPO. O espectro para a amostra de corante caramelo, com 1 mM é apresentado à FIG. 62a, apresenta um espectro de largo de pico único, distinto do observado para o spin nitróxido.

As concentrações foram variadas, aumentando e diminuindo a concentração da sonda sem, entretanto, obter o espectro característico de três linhas. Obteve-se então espectro em amostra de corante caramelo sem a adição de sonda de spin TEMPO, apresentado à FIG. 62b, no qual se observa o mesmo padrão de linha espectral.

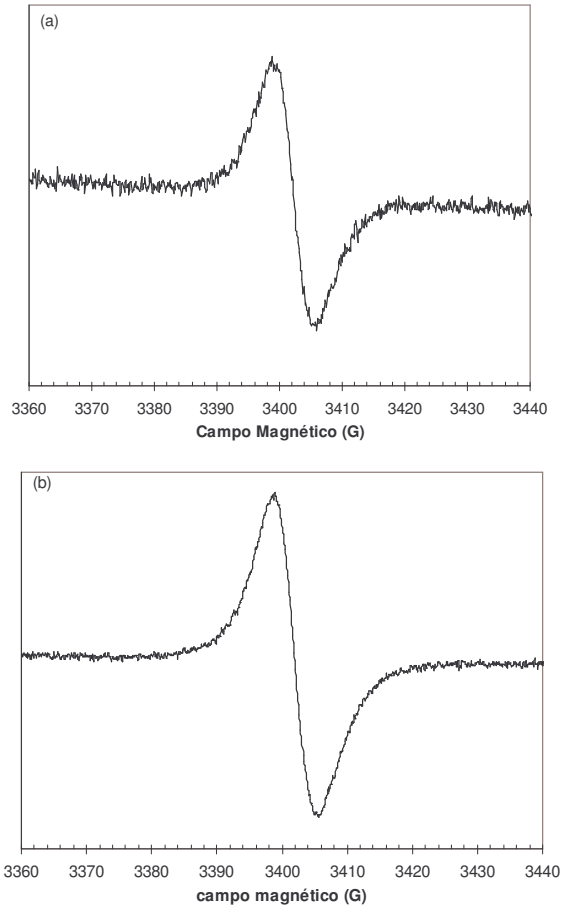



Figura 62. Espectro RPE para corante caramelo com (a) 1 mM e (b) sem sonda spin. O aspecto observado nos dois espectros é resultado de alta concentração de sondas de spin já presentes no material.

A explicação para a forma espectral observada, é a existência de substâncias presentes no próprio material, que absorvam a freqüência de microondas. O padrão é observado quando a concentração sondas de spin (incluindo excesso de $O_2$ dissolvido) no material é muito alta, permitindo a troca de magnetização ente os elétrons das mesmas. Este excesso de trocas faz com que as linhas extremas do espectro normal de nitróxido, tornem-se cada vez mais estreitas até que coalescem, formando o padrão acima observado. Por essa razão, o estudo da transição vítrea por RPE não foi realizada neste material [146].

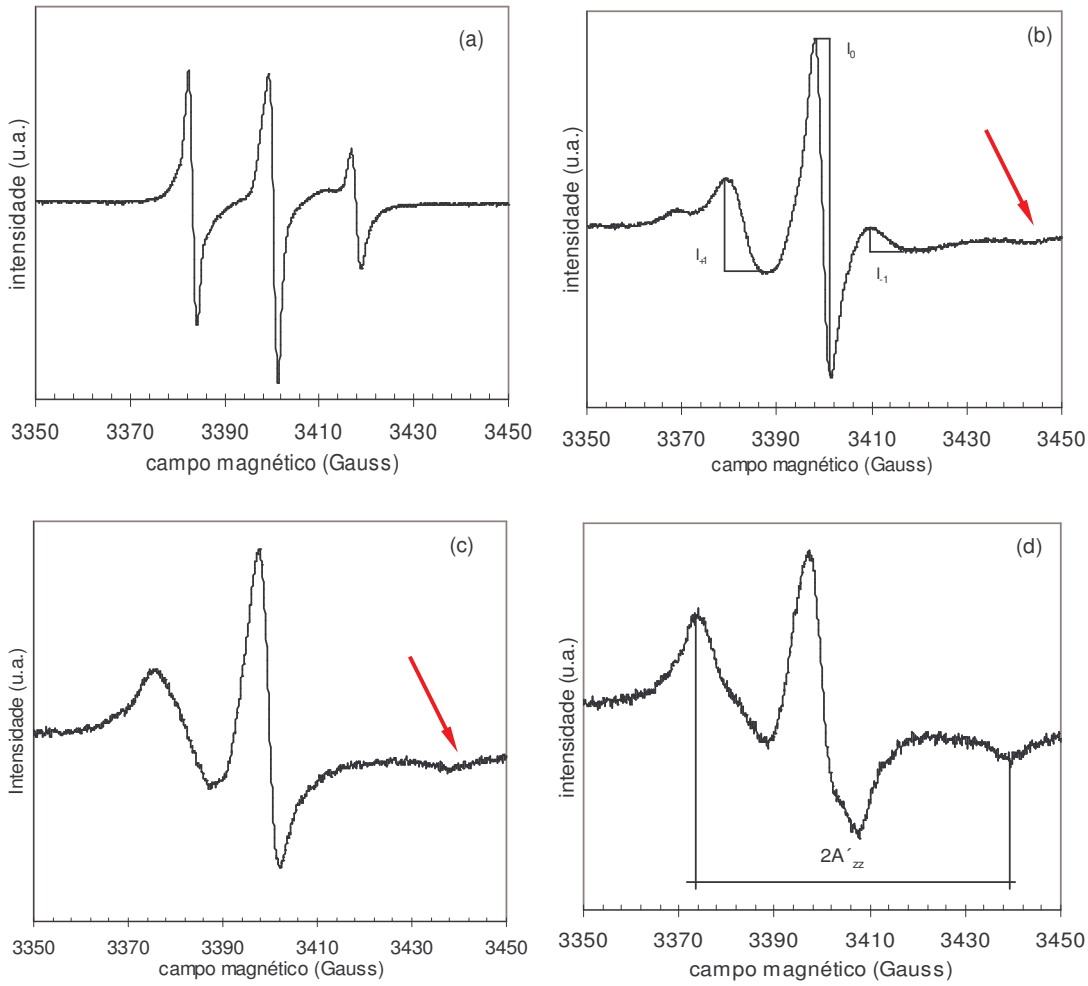
O procedimento de testes foi adotado para as amostras de mel e frutose, nos quais a concentração de TEMPO, adequada à obtenção do espectro característico de três linhas de nitróxidos, foi de 1 mM. Nas FIG. 63a-d são apresentados espectros RPE para amostra de frutose com 48% de $H_2O$, a $-11^oC$ (a), $-38^oC$ (b); $-78^oC$ (c); $-103^oC$ (d) que indicam as alterações sofridas pelo espectro em função do decréscimo da temperatura.

O espectro de três linhas é resultado das interações hiperfinas do elétron desemparelhado do radical, com o núcleo de nitrogênio (I=1). A forma da linha, função da freqüência de movimento da sonda de spin dentro da matriz, é susceptível a alterações de magnitude em função da temperatura. Para muitos sistemas, tem-se observado alterações bruscas da constante de acoplamento hiperfina $A'_{ZZ}$, que estaria associada à temperatura de transição vítrea. O efeito foi observado em polímeros sintéticos [147], materiais alimentícios [148] e outros materiais.

Na FIG. 63, a linha espectral de TEMPO, inserida em uma solução de frutose com 48% $H_2O$ exibe, a $-11^oC$, as três linhas características dessa sonda em ambiente isotrópico, indicando o movimento livre da mesma. O espectro da sonda de spin TEMPO, para frutose é compatível ao observado na literatura, por exemplo, para a água [149] e soluções de amido em água [148].

A redução nos valores de temperatura ($-38^oC$), para a amostra com 48% de $H_2O$, causa formação de domínios rígidos no material em coexistência com domínios de maior mobilidade. Tal quadro pode ser observado na FIG. 63b em que as três linhas características do espectro de sondas em maior mobilidade aparece também associado à

depressão no espectro (indicada pela seta nas FIG. 63 (b) e (c)) relativa à extensão máxima de medida do alargamento do sinal, causada por interações anisotrópicas.




Figuras 63. Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 48% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento da amostra. (a) $-11^oC$; (b) $-38^oC$; (c) $-78^oC$; (d) $-103^oC$.

A componente de campo alto do espectro a $-11^oC$ (~3420 Gauss) é mais sensível às alterações na mobilidade da sonda de spin, e por essa razão sofre redução mais acentuada que as demais. As razões das alturas de linha espectral, utilizadas com o parâmetro de investigação da mobilidade das amostras em domínios isotrópicos, são obtidas com as componentes $I_{+1}$,$I_0$,$I_{-1}$, também apresentadas à FIG. 63b.

Observa-se para a amostra a $-38^oC$ o inicio de um alargamento do espectro, indicado por uma depressão do espectro a ~3442 Gauss. A esta temperatura, a co-

existência de domínios rígidos e domínios flexíveis no material, pode estar relacionada ao início da formação de solução concentrada por congelamento e de cristais de gelo.

A –78$^{o}$C a linha espectral adquire a forma característica do espectro de pó *(powder espectra)* indicando a restrição da mobilidade no material, típica da formação de estrutura rígida. A –103$^{o}$C, a linha espectral mantém o padrão de pó, devido à intensificação das interações anisotrópicas, característico da baixa mobilidade da sonda no material, ocorrendo um aumento do alargamento da constante de acoplamento hiperfina.

Um ou mais desses padrões de linha de espectro de TEMPO, são observados no resfriamento de amostras de frutose com 20, 43 e 48% de $H_2O$, apresentados entre as FIG. 64, 65 e 66.

A sensibilidade da linha espectral e das distâncias entre os picos, com relação à temperatura, surge do efeito da taxa e da natureza do movimento da sonda de spin na matriz, em interações tensoriais. Quando o vidro é formado durante o resfriamento, a viscosidade da matriz alcança $10^{12}$ Pa.s. A alteração na forma da linha espectral estaria então, associada ao modo como a sonda é influenciada pela estrutura do material, à medida que domínios rígidos seriam formados.

A alteração no padrão da linha espectral, seja na altura das linhas (mais sensíveis no regime isotrópico), seja no alargamento espectral (sensível a alterações anisotrópicas) é um indicador de como a amostra é afetada pela estrutura. A variação dos tempos de correlação rotacional, observável em experimentos RPE de banda X, situa-se entre $\tau_c$ $10^{-9}$ a $10^{-12}$s. Em temperaturas próximas e abaixo da transição vítrea (ou em ambiente rígido), as sondas de nitroxil exibem o padrão de pó que é resultado da completa anisotropia das interações hiperfinas (‘A’) e de Zeeman (´g´).

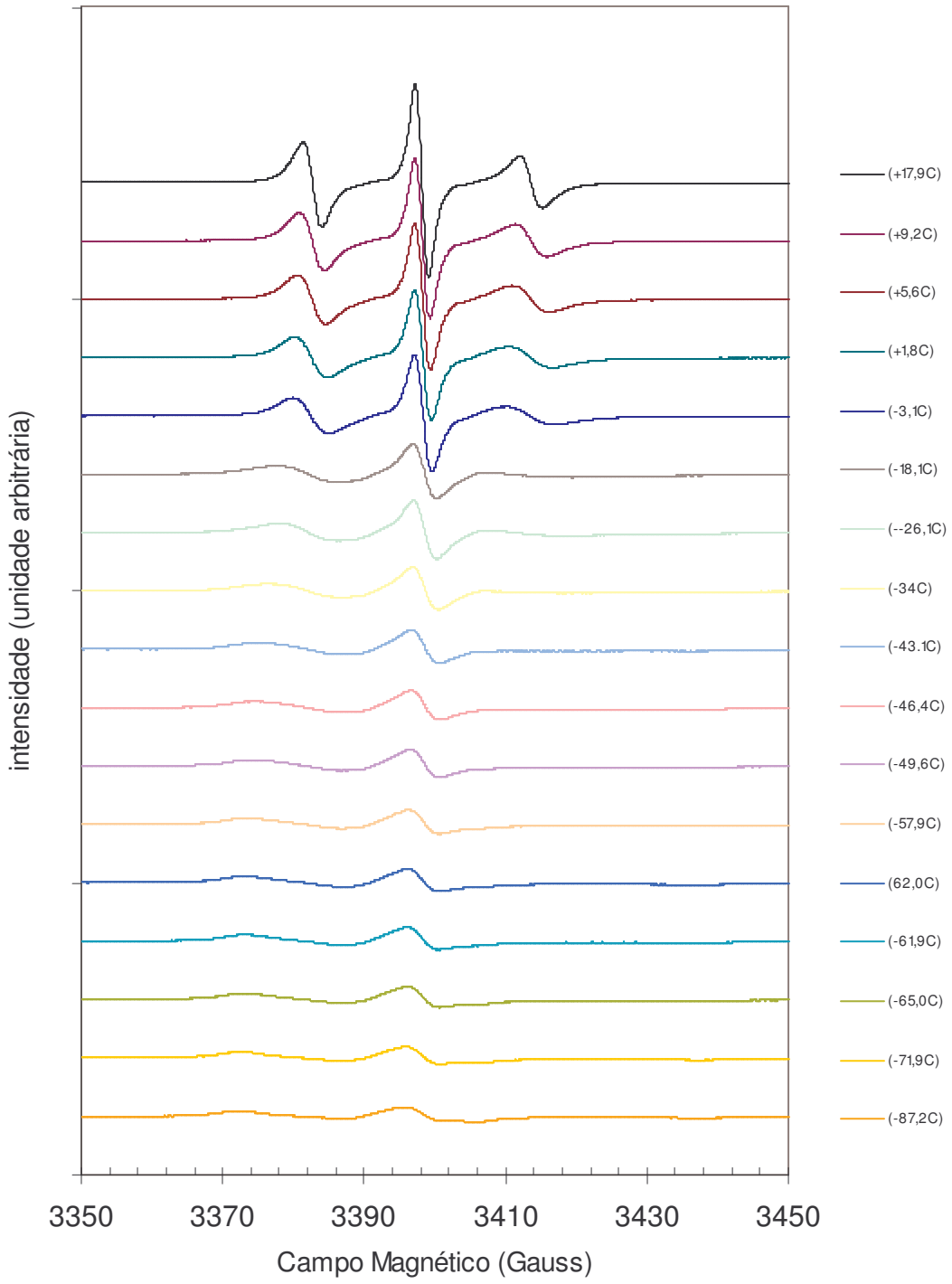



Figura 64. Espectros de TEMPO em amostra de frutose-água com 20% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento. A viscosidade relativamente alta do material (~$10^4$Pa.s, a 18$^o$C) não permite a rotação completa da sonda caracterizada pelo alargamento das linhas.

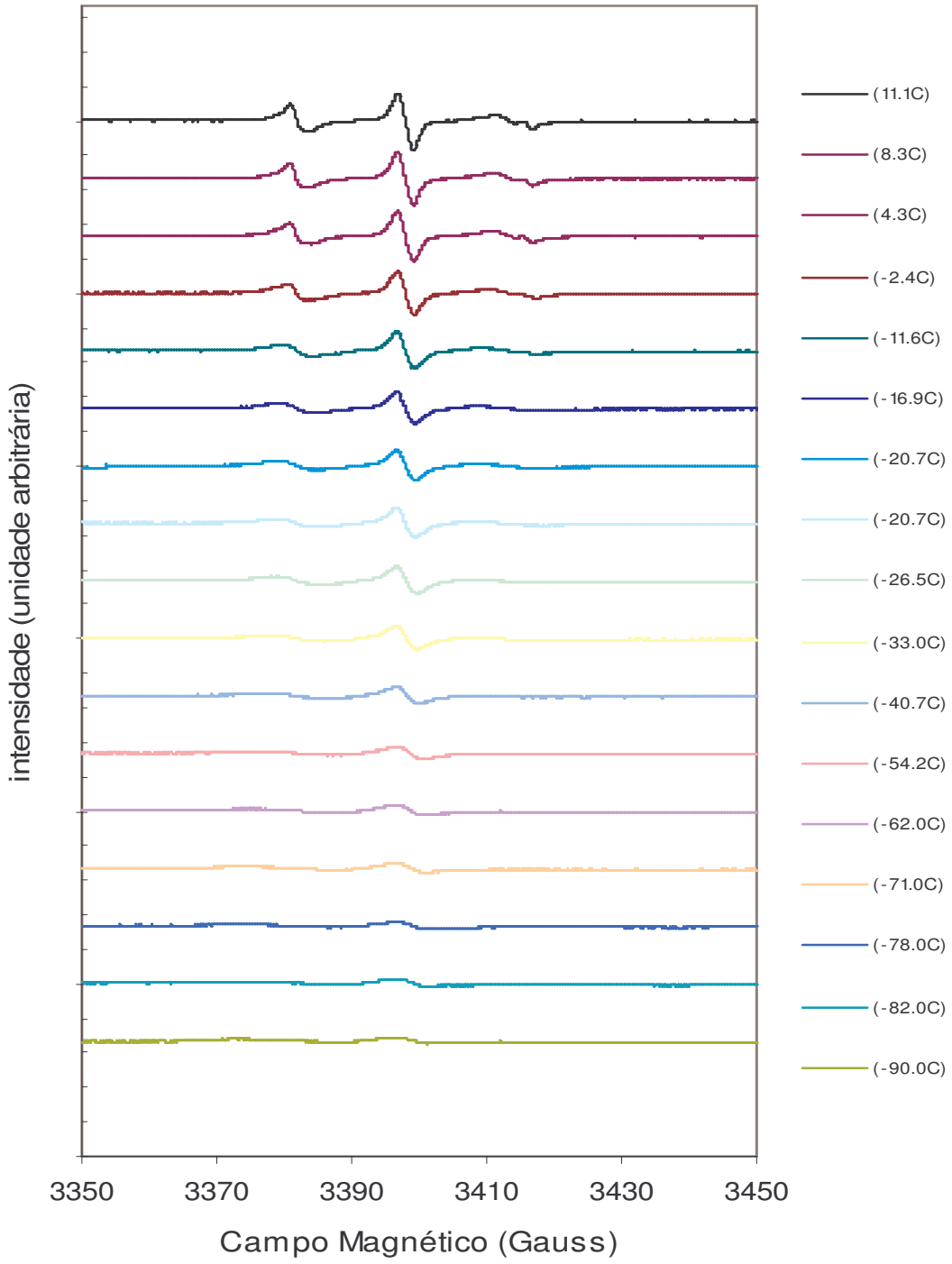



Figura 65. Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 43% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento da amostra entre −11 e −90°C.

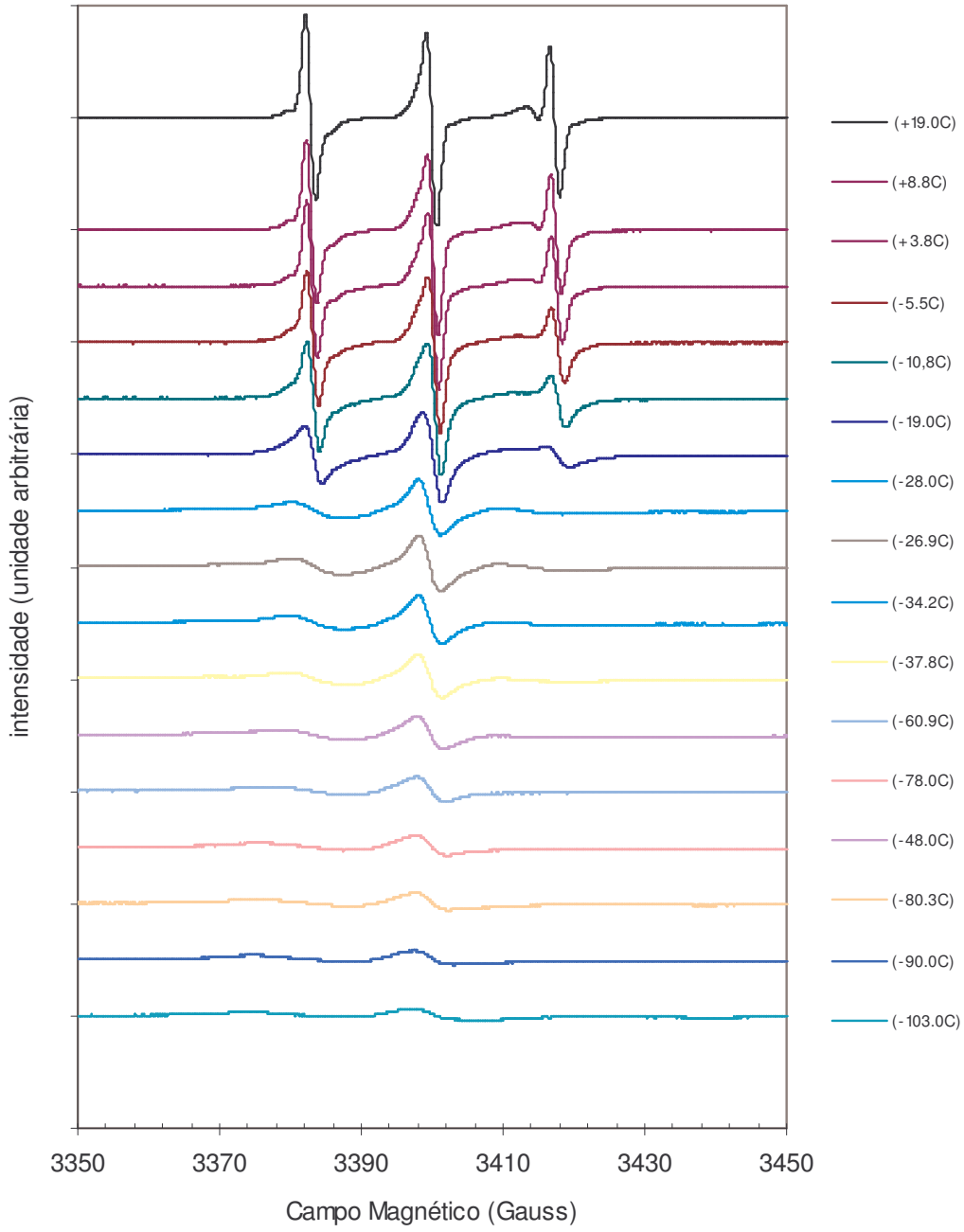



Figura 66. Espectros de TEMPO em amostras de frutose-água com 48% de $H_2O$, obtidos durante o resfriamento entre +19 e −100°C. A menor viscosidade da amostra permite, a +19°C, maior mobilidade da sonda TEMPO, caracterizada pelo espectro característico de spin nitróxido.

Para todas as amostras apresentadas, nas temperaturas mais altas é observado o espectro de três linhas, mais largo na amostra mais viscosa (20% $H_2O$) e mais estreito nas demais (43 e 48% $H_2O$) com altura variável em função da viscosidade das amostras, indicando que a sonda tem maior ou menor liberdade rotacional, característica de ambiente químico isotrópico. Essa forma espectral é característica de material de baixa viscosidade (0,1-1 Pa.s) e pode ser observado entre +19 e −19 (48%), –11 e −16 (43%), +17 e –3,1 $^oC$ (20%).

No caso da amostra com 20% $H_2O$, o espectro característico de três linhas sofre alargamento contínuo, durante o resfriamento, com decréscimo constante da componente espectral de campo alto. Entre −30 e −40$^oC$ o espectro de três linhas, converte-se ao espectro de pó, em uma faixa de temperatura muito próxima à que se observa a formação de vidro para concentração similar, em experimentos DSC apresentados na seção 6 e na literatura) [17].

A ocorrência de domínios isotrópicos e anisotrópicos em uma mesma amostra à temperatura constante, foi observada nos espetros RPE de amostras contendo 43, 48 e 40,45 % $H_2O$ (estas duas últimas não apresentadas). Para as amostras com 43% $H_2O$, estes dois domínios são observados, entre −20 e −50$^oC$ e, para amostra com 48% $H_2O$, entre −20 e −45$^oC$. Pelo fato de tais amostras apresentarem devitrificação, a atribuição desses domínios será discutida nos tópicos seguintes, após a apresentação dos demais dados.

A mobilidade da sonda spin (TEMPO) nas amostras, na faixa de temperatura em que comportamento isotrópico é observado, pode ser descrita pelas razões das alturas dos picos $I_{+1}/I_0$ e $I_{-1}/I_0$ e são apresentadas, para amostras com 20, 40 e 70% nas FIG. 67a-c. A análise desses gráficos revela, dependendo da composição da amostra, valores das razões de alturas de linha foram obtidos a temperaturas mínimas distintas, que coincidem com o processo de formação de domínios rígidos, ou seja, o início da formação de vidro ou processo de concentração por cristalização de água na amostra.

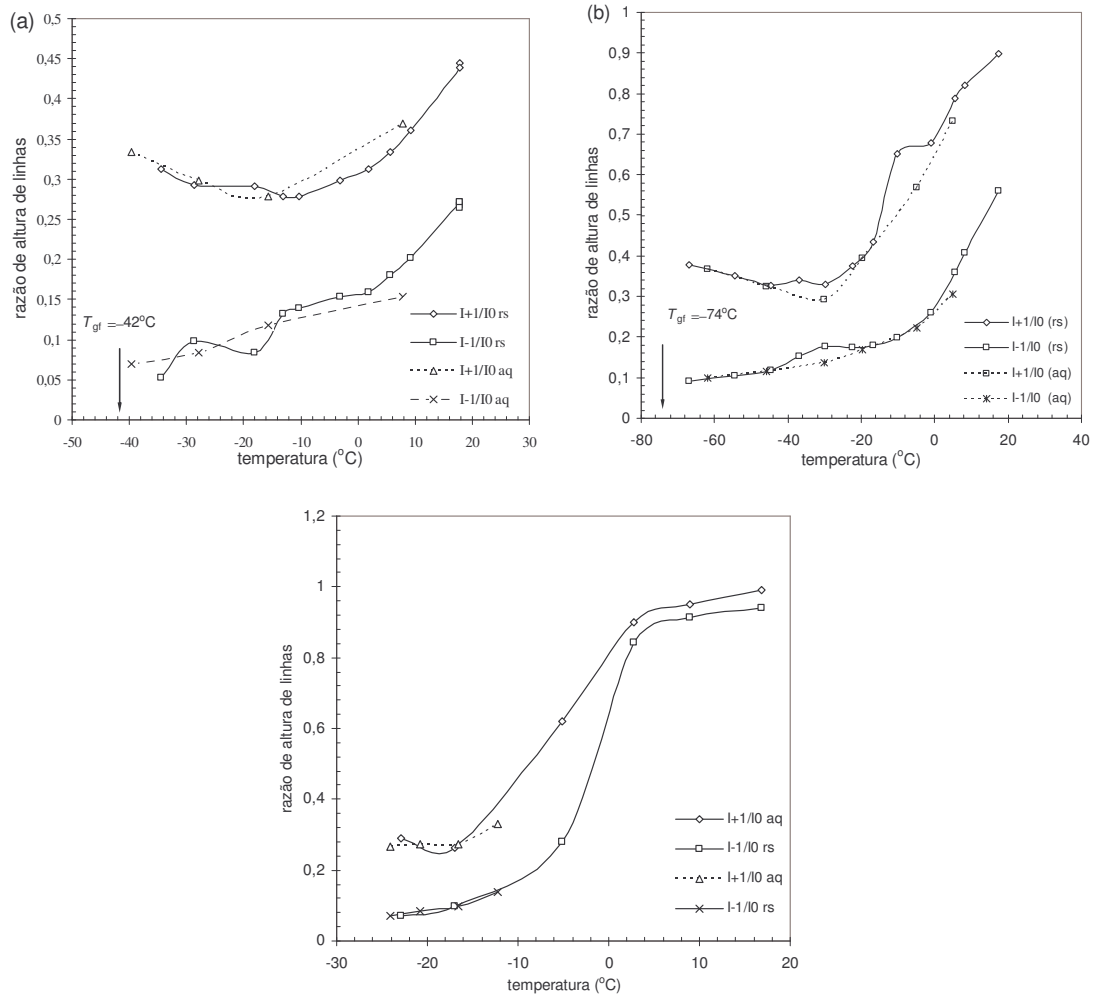



Figura 67. Razão de altura de linhas para soluções de frutose com (a) 20 (b) 40 e (c) 70% de $H_2O$. Esse parâmetro está associado à mobilidade isotrópica das amostras.

As curvas apresentadas na FIG. 67a, sinalizam a perda de mobilidade rotacional da sonda em decorrência de aumento de interações anisotrópicas no material para solução de frutose com 20% de $H_2O$. Esse comportamento é mais nítido para a componente de campo alto (curvas inferiores). O limite mínimo de temperatura em que a componente de campo alto foi observada, (~–40°C), é próximo ao valor de $T_g$ obtido por DSC, na literatura [79].

O valor também é próximo ao obtido para a solução de frutose com 19% $H_2O$, exibe transição vítrea, entre ~–37 e –45°C, e reforça a hipótese de que o valor mínimo das razões das larguras de linha, em amostras mais concentradas, estão associados à formação de vidro. Ressalta-se que soluções de frutose, nessas concentrações, não estão sujeitas à cristalização de água, devido à alta concentração de açúcar em água.

Para a amostra com 40% de $H_2O$, foram obtidos valores de razões de alturas de linha até ~−70°C, valor próximo daquele observado para transição vítrea nesta solução (−70 a −80 °C) em experimento DSC. Nessa faixa de temperatura, especialmente abaixo de −50°C, a componente rígida foi também observada. Mais uma vez cabe o questionamento sobre qual a origem desses dois domínios nesses materiais.

A amostra com 70% de $H_2O$, exibiu razão de altura das linhas espectrais até −25°C, não tendo sido observados os padrões mistos de domínios rígidos e flexíveis nos espectros. Abaixo de −25 °C somente o espectro de pó foi observado, com o aumento gradual da separação dos extremos de linha, em função do decréscimo da temperatura. A mudança na forma espectral a −25°C está possivelmente relacionada à formação de cristais de gelo na amostra, uma vez que em experimentos DSC esta foi observada iniciando nessa faixa de temperatura (−25 a −35°C) próxima à consolidação da formação de cristais de gelo no material.

As curvas correspondentes ao aquecimento das amostras são apresentadas nos mesmos gráficos e os pontos disponíveis indicam que as razões das alturas de linha são similares às observadas durante o resfriamento. Esse comportamento indica que as amostras encontram-se em equilíbrio, para a faixa de temperaturas observada (acima da $T_g$). É importante ressaltar que, para cada experimento, um intervalo mínimo de 10 minutos foi adotado para estabilização da amostra. Não foi possível a obtenção das curvas completas de aquecimento, devido à condensação de água na superfície da célula, que causou perda de sinal de microondas, durante o experimento.

À medida que a temperatura é reduzida, o padrão da forma de linha se altera nos três casos: a amostra com 20% exibe a −40°C, o padrão característico de pó, oriundo das interações anisotrópicas entre a sonda e a matriz do material. O mesmo ocorre a ~−70°C para amostra contendo 40% de $H_2O$ e a ~−25°C para a amostra contendo 70% $H_2O$.

Esse comportamento indica que as amostras encontram-se em equilíbrio, para a faixa de temperaturas observada (acima da $T_g$). É importante ressaltar que, para cada

experimento, um intervalo mínimo de 10 minutos foi adotado para estabilização da amostra.

Tal comportamento foi observado para as amostras que, em experimentos DSC exibiram devitrificação no aquecimento e ou cristalização de gelo no resfriamento, observado em amostras com 40 a 50% de $H_2O$. Esse comportamento é similar ao observado em outros sistemas, a exemplo de soluções de polímeros de açúcares e soluções de proteínas animais [103].

Durante o resfriamento das amostras, as componentes hiperfinas sofrem alterações em função da perda de graus de mobilidade das sondas de spin e a mobilidade da amostra passa a ser mais bem descrita pela variação da constante de acoplamento hiperfina $A'_{ZZ}$, definida como a metade das distâncias dos extremos da linha espectral, conforme apresentado no capítulo de Materiais e Métodos.

Na FIG. 68 é apresentada a relação das constantes de acoplamento hiperfino $A'_{ZZ}$ em função da temperatura, para amostra de frutose (20 e 70%) e mel (19%), para o aquecimento e resfriamento das amostras. As amostras mais concentradas foram investigadas no intervalo compreendido entre ~–20 e –90 $^oC$, faixa em que as transições de segunda ordem nesses materiais foram observadas nos experimentos DSC.

Espectros dos formadores de vidro mais concentrados (frutose com 20 e mel com 19% $H_2O$) apresentaram alargamento contínuo da constante hiperfina $A'_{zz}$, não tendo sido observadas alterações consideradas bruscas nos valores dessas constantes, e que pudessem estar associadas à formação de vidro ou a transição vítrea nesses materiais. Tal observação indica que haveria um desacoplamento entre a mobilidade molecular da sonda de spin e a viscosidade da amostra, a exemplo do que foi observado anteriormente, por RMN, em amostras de mel.

Os valores das constantes de acoplamento hiperfino ($A'_{zz}$) para todas as amostras investigadas, situaram-se entre 33,5 e 29,5 Gauss, valores próximos aos obtidos por outros autores [103], para a sonda TEMPO.

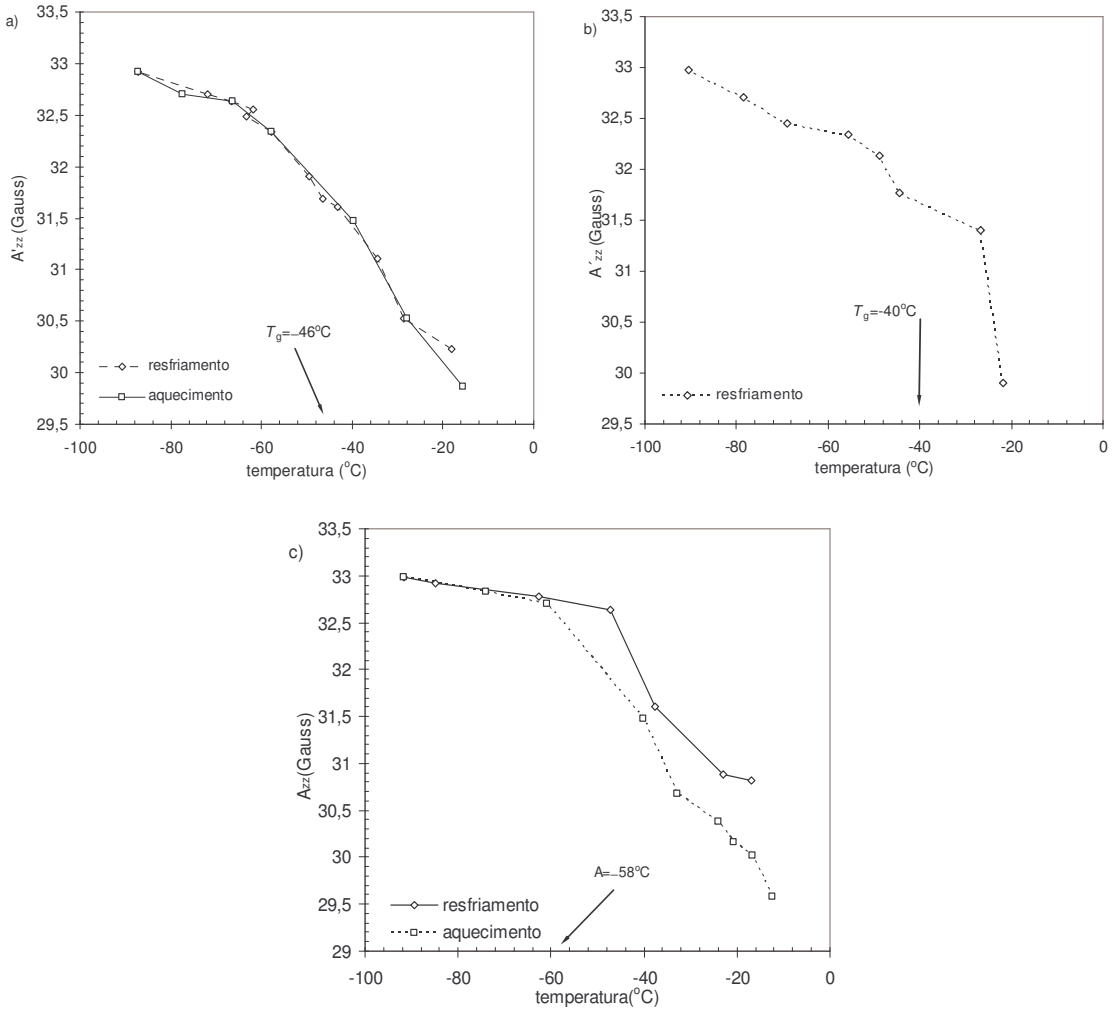



Figura 68. Valores da constante de acoplamento hiperfino ($A´_{zz}$), obtidos no aquecimento e resfriamento de: (a) amostra de frutose com 20% $H_2O$, com dado da $T_g$ de literatura [79] (b) amostra de mel com 19% $H_2O$ e (c) de frutose com 70% $H_2O$.

O fato de que a constante de acoplamento hiperfina, tanto no resfriamento, quanto no aquecimento da amostra de frutose com 20% de $H_2O$ apresentou praticamente os mesmos valores (FIG. 65a), indica que, a exemplo do observado para o movimento isotrópico, em cada temperatura a amostra alcançou equilíbrio térmico dentro da escala experimental utilizada. A aquisição do espectro foi precedida por um período mínimo de 10 minutos. Por sua similaridade, esse mesmo comportamento é esperado para a amostra de mel com 19% de $H_2O$.

A variação dos valores da constante de acoplamento hiperfina, em função da temperatura para amostra com 70% de $H_2O$ apresentou comportamento distinto do observado para as amostras mais concentradas em açucares (19 e 20% de $H_2O$). Tanto

no resfriamento, quanto no aquecimento da amostra, observa-se que houve variação brusca nos valores da constante hiperfina, entre ~–20 e ~–40$^{o}$C.

Conforme observado anteriormente nos experimentos DSC, para a amostra com 70% $H_2O$, nesse grau de hidratação, a amostra está sujeita à cristalização de solvente no resfriamento, causando o aumento gradativo da concentração de frutose da solução remanescente. Tal processo ocorre, novamente, dentro desse intervalo de temperaturas, com a formação de solução concentrada por congelamento.

Observa-se nas curvas de resfriamento, a –40$^{o}$C, que os valores de $A'_{zz}$ para as três amostras, são similares (~31,5 Gauss), confirmando que, de fato, haveria um processo de concentração por congelamento da amostra mais hidratada, em curso no resfriamento. O resultado concorda com o observado para a relaxação de prótons em solução de mel com 50%, também sujeita à cristalização.

Devido ao fato de ter-se detectado a formação de devitrificação, cujo pico exibia grande dependência com relação à concentração de $H_2O$, julgou-se necessário investigar a mobilidade da sonda spin nesse material e sua relação com variações na temperatura. Foram investigadas soluções formadoras de vidros contendo 40, 43, 45 e 50% de $H_2O$, com o objetivo de observar o efeito da ocorrência de devitrificação sobre o padrão de mobilidade da sonda TEMPO, nesses materiais.

As constantes de acoplamento hiperfino $A'_{zz,}$ observadas para solução de TEMPO (1 mM), em função da temperatura, para amostras de frutose em água.com 40, 43, 45, 50 % de $H_2O$, são apresentadas às FIG. 69(a)-(d). O comportamento da constante $A'_{zz}$ para as amostras com 40 e 43 % de $H_2O$ (FIG. 68(a)-(b)), apresentou valores muito próximos, tanto no resfriamento quanto no aquecimento, indicando a reversibilidade na ocorrência de eventos térmicos no material.

Nas quatro curvas, observa-se que o padrão exibido da variação das constantes de acoplamento $A'_{zz}$, é intermediário àquele observado para amostras com 20 e 70% de açúcares. No aquecimento, a variação de $A'_{zz}$ de todas as curvas foi pequena nos primeiros ~25$^{o}$C, observando-se decréscimo mais acentuado para temperaturas mais altas.

As temperaturas em que tal alteração é observada ocorrem a ~–75°C (40%), ~–66 (43%), ~–60 (48%), ~–68 (50%) e são próximas dos valores de transição vítrea dessas amostras. Não foram observadas alterações nas curvas das constantes de acoplamento $A'_{zz}$, que pudessem ser atribuídas à formação de gelo. Os valores de transição vítrea (ponto médio) e de devitrificação (máximo do pico) são indicados nas figuras.

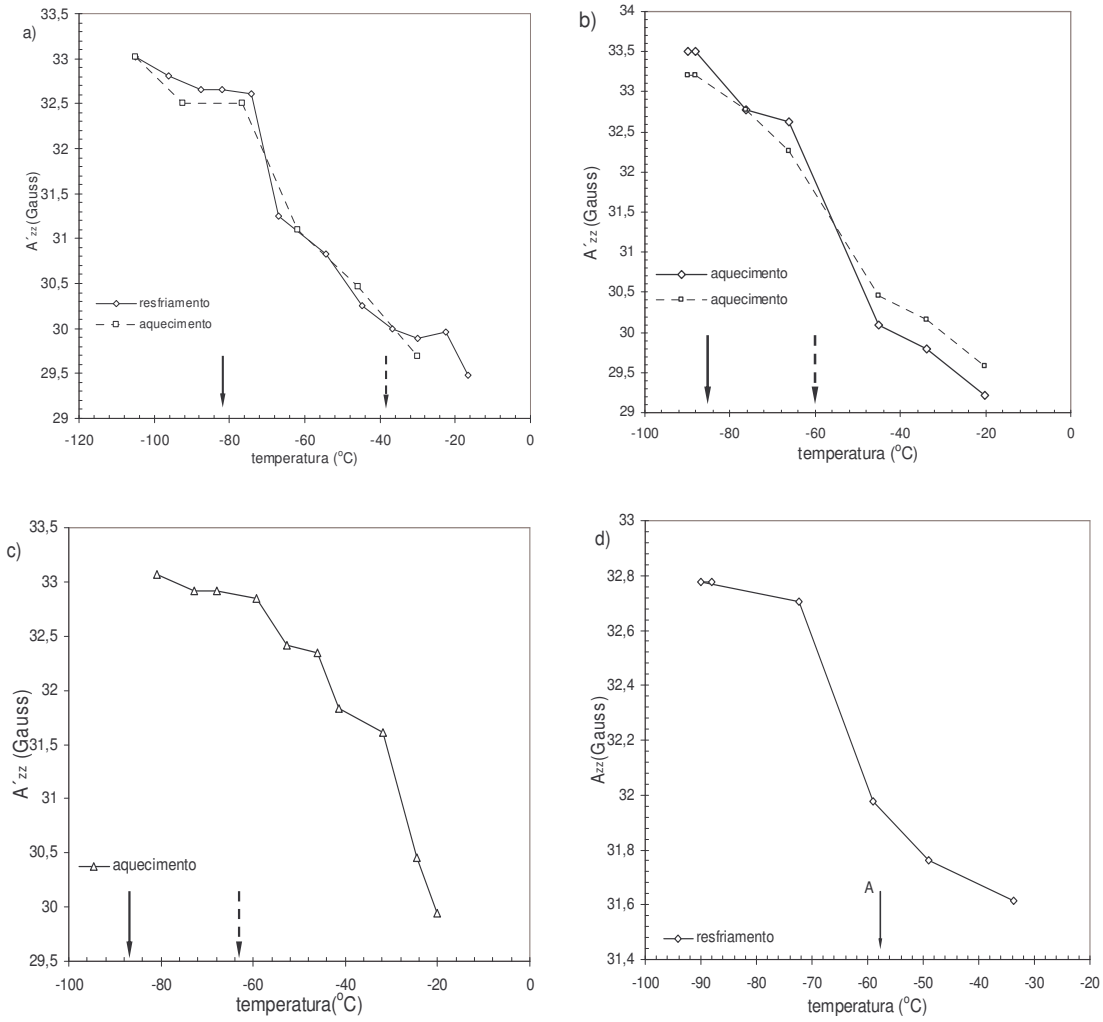



Figura 69. Constantes de acoplamento hiperfino $A'_{zz}$, observadas para solução de TEMPO (1 mM), em função da temperatura para amostras de frutose em água. (a)40, (b)43, (c)45, (d)50 % de $H_2O$. Seta contínua indica $T_g$ e seta tracejada indica $T_d$.

Conforme abordado no capítulo referente ao estudo calorimétrico e de recozimento das amostras, o valor da temperatura de transição vítrea, bem como a ocorrência de devitrificação são afetados pelas variações das taxas de aquecimento e

resfriamento, bem como pelo tempo de recozimento ao qual a amostra é submetida. Desse modo, o procedimento experimental adotado afeta a formação de transições de estado nestes formadores de vidro.

Isso explica a ausência de perturbações nos pontos, referentes à cristalização, como aquela observada para amostra com 70% de $H_2O$. O fato de que, tais amostras possuem um valor de viscosidade mais alto, combinado com o lento processo de resfriamento, possibilita um processo de cristalização menos abrupto que aquele observado para a amostra mais hidratada. (70% por exemplo).

Importante notar que, nos experimentos de DSC convencional obtido à taxa de $5^oC$/min, as amostras com 40, 43 e 45% de $H_2O$ não exibiram cristalização da água durante resfriamento, ocorrendo o mesmo com a amostra com 50% de $H_2O$, quando resfriada a taxas de $20^oC$/min. O padrão esperado para o resfriamento deveria ser então, similar àquele verificado para as amostras com 20% de açúcares.

Entretanto, o resfriamento no experimento RPE foi realizado em um período maior e de forma gradual. A cada temperatura em que espectro foi obtido, houve intervalo mínimo de 10 minutos para que a amostra alcançasse equilíbrio térmico. A explicação para a mudança brusca de inclinação das curvas dos pontos das constantes de acoplamento hiperfino, portanto, estaria relacionada à formação tardia de cristais de gelo nas amostras, que ocorreria entre ~–40 a ~– $60^oC$ e que causaria ainda, a formação de solução concentrada.

Desse modo, a mobilidade de sondas spin TEMPO inseridas nesses formadores de vidros, sofre distúrbios em seu movimento, causados pela formação de domínios de mobilidade distinta, e o vidro se formaria a partir de solução de alta viscosidade. Em baixas temperaturas, correspondentes à formação de domínios rígidos, o alargamento característico da constante de acoplamento hiperfino torna-se bastante restrito, indicando que o movimento da sonda TEMPO torna-se lento demais para ser estudado por essa técnica.

### *6.4.1 – RPE e transições de segunda ordem em vidros orgânicos*

Em todos os experimentos, em especial nas amostras não susceptíveis a cristalização, a mobilidade das sondas TEMPO foi sensível à redução da temperatura. Considerando que a molécula de TEMPO é menos sujeita as interações com $H_2O$ e açúcares, pode-se sugerir que a redução na mobilidade da sonda esteja associada à redução dos espaços intermoleculares disponíveis na solução. Essa observação indica que pode haver relação com a teoria do volume livre para a transição vítrea, e deve ser investigada posteriormente.

Os espectros de RPE da sonda molecular TEMPO em amostras de frutose e mel, com concentrações de $H_2O$ que variaram de 10 a 70% indicaram a dependência da forma de linha espectral, com relação à temperatura da amostra. A análise dos espectros, com base nos parâmetros da razão de altura de linha ($I_0/I_{-1}$) e ($I_0/I_{+1}$), para o regime isotrópico e constante de acoplamento hiperfina ($A'_{zz}$), para o regime anisotrópico, indicou haver relação entre as alterações desses parâmetros, com as temperaturas em que domínios rígidos foram detectados em DSC.

O limite inferior de temperatura em que as razões de altura de linha foram obtidas coincidiu com o processo de formação de domínio rígido durante o resfriamento, seja ele vítreo ou cristalino. No caso da formação de gelo, durante resfriamento, a mobilidade da sonda deve estar associada à mobilidade da solução remanescente, uma vez que espectros mistos (com forma de pó) não foram observados para amostras mais hidratadas.

Do mesmo modo, espectros de pó (*powder spectra*) somente foram observados em temperaturas próximas e abaixo das temperaturas em que vidro ou cristal de gelo são formados, que haviam sido identificadas em experimentos DSC. No caso de amostras em que ocorre a cristalização de gelo durante o resfriamento, as sondas devem concentrar-se na solução viscosa que é formada, uma vez que os processos de cristalização são considerados também, excelentes processos de purificação [164]. A possibilidade das sondas TEMPO estarem imobilizadas na matriz cristalina não seria então favorecida.

Esse entendimento permite avaliar que tipo de interações favoreceria a obtenção de espectros que indicam a existência de domínios rígidos e flexíveis. Este comportamento foi observado em amostras contendo 40, 43, 45 e 48% $H_2O$. Na seção referente aos experimentos de DSC, identificou-se que todas essas amostras são susceptíveis à devitrificação, em experimentos calorimétricos, sob taxa de 5ºC/min.

Nos experimentos RPE aqui desenvolvidos, o processo de resfriamento e o próprio procedimento de coleta de espectros, não permite uma reprodução do esquema térmico adotado em DSC. Entretanto, como o experimento RPE é realizado em uma escala de tempo bem superior ao da análise térmica, espera-se que a amostra, durante o resfriamento, seja mais susceptível à nucleação e crescimento de gelo que no experimento DSC a taxa de $5^oC$/min.

A observação simultânea dos dois domínios, no material, indicada pelo espectro de TEMPO sugere que haveria regiões de mobilidade distintas no material. Mas, se é considerado o fato de que as sondas spin não estão na matriz de cristais de gelo, chega-se à conclusão, de que possam existir no material, soluções de viscosidade distinta, que originariam mais de um vidro no material.

Os experimentos de recozimento em DSC indicaram ser possível a formação de mais de um vidro em soluções que apresentam devitrificação. O processo a que foram submetidas as amostras nos experimentos RPE, é bastante similar a um processo de recozimento, uma vez que as amostras foram submetidas a um período mínimo de 10 minutos, para que houvesse equilíbrio térmico, antes de cada experimento.

Dessa forma, esses resultados indicam a possibilidade de formação de mais de um vidro, em soluções de frutose. Tendo sido observados também em amostras de mel (mistura de carboidratos), pode-se sugerir que esse fenômeno ocorra também em outras soluções de açúcares, especialmente na faixa de concentração em que a devitrificação é observada.

# *7 – CONCLUSÕES*

A análise de calorimetria exploratória diferencial das amostras de mel e caramelo, a taxas de 5, 10 e 20$^{o}$C/min indicou que, a despeito da diferença na composição química desses materiais, ambos são afetados de modo equivalente tanto pelo teor de $H_2O$, quanto pela variação da temperatura durante aquecimento e resfriamento. A diferença básica entre os dois materiais está no fato de que o corante caramelo exibe devitrificação em concentrações mais baixas que as amostras de mel.

Nesse estudo, a devitrificação foi observada, na amostra de caramelo com 30% de $H_2O$ e, em mel, tal situação foi observada, a 37%. A observação indica a existência de interações mais fortes entre as moléculas que compõem o mel (açúcares e $H_2O$), em comparação com o observado entre para corante caramelo.

Identificou-se, nas amostras de mel, a ocorrência de picos de devitrificação em amostras contendo 37 a 45% de $H_2O$, cuja temperatura máxima de pico estava aparentemente, relacionada à concentração de $H_2O$. Dentro desse intervalo, o máximo do pico de devitrificação ocorreu à temperatura menor, com o aumento da quantidade de $H_2O$ na amostra.

Os eventos térmicos duplos foram observados nos dois materiais, em condições de maior hidratação, tendo sido verificados em solução com no mínimo 39% $H_2O$ para corante caramelo e, no mínimo, 50% para mel. Devido a grande influência da concentração de água na formação dos eventos térmicos, que adquirem característica bem distinta, para variação estreita na concentração de $H_2O$ (entre 40 e 50% $H_2O$), utilizaram-se soluções de frutose para se estudar a origem desses eventos térmicos. Um resumo dos eventos observados para essa faixa de concentração é apresentado na FIG. 70.

O estudo das transições de primeira e segunda ordem utilizando um sistema modelo, as soluções de frutose, confirmou os resultados observados em mel e corantes

caramelo. Demonstraram ainda, o papel preponderante da água, no comportamento térmico desses materiais.

O extensivo trabalho de investigação dos eventos térmicos em solução de frutose, confirmaram o comportamento do pico de devitrificação observado nas amostras de mel. Na faixa de concentração de $H_2O$ de 40 a 50% tais materiais estão sujeitos a alterações bruscas nos eventos térmicos observados: a temperatura do pico de devitrificação é bastante influenciada pela quantidade de água no material, e $T_d$ é reduzida, com maior concentração de $H_2O$.

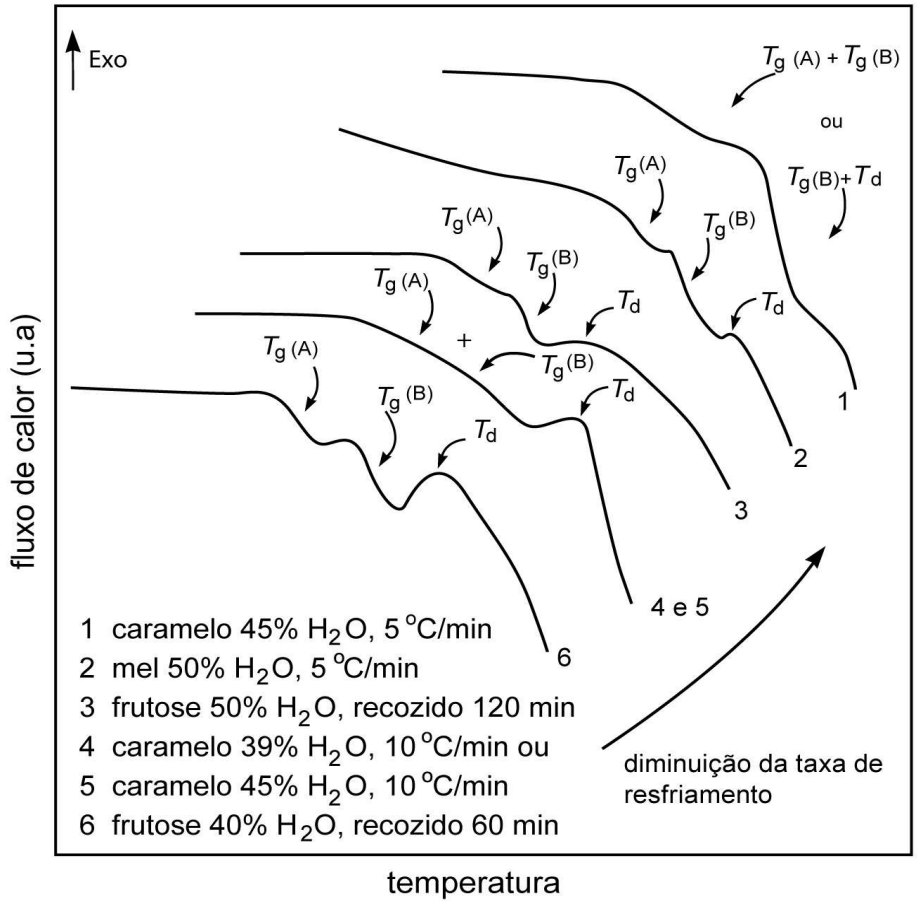



Figura 70. Compilação de algumas das formas dos eventos térmicos A e B, observadas em soluções de vidros orgânicos com % $H_2O$ ≥39% (corante caramelo) e ≥45% (mel, frutose) e origens propostas.

Em concentração de $H_2O$ de 46%, o pico de devitrificação ocorre à temperatura adjacente à transição vítrea e, com 48% de umidade, a curva DSC indicou um aparente coalescimento desses eventos térmicos. Com 50% de $H_2O$, o padrão observado para a

curva DSC é o do evento térmico duplo. Esses experimentos e ainda o fato de que, em amostras que sofrem processo de concentração por congelamento, o evento térmico duplo é invariavelmente observado, sugerem que deve ocorrer devitrificação de água residual contida nesses materiais mais hidratados. Isso justificaria a observação de evento térmico duplo.

A formação de dupla transição vítrea foi observada após o recozimento de amostras sujeitas à devitrificação, tanto em amostras de mel, quanto em amostras de frutose e, pode ser explicado pela alta viscosidade desses materiais nas temperaturas de recozimento (–40 a –50$^{o}$C), que não permitiria a homogeneização da concentração do material viscoso formado. No limite, o recozimento dos picos de devitrificação formou, invariavelmente, curvas DSC com o aspecto típico de eventos térmicos duplos.

Com base nesses resultados experimentais, sugere-se que a seqüência de eventos térmicos A e B que precedem à fusão de gelo em soluções de frutose e água (≥50% $H_2O$) corresponda respectivamente, à temperatura de transição vítrea da solução formada no processo de concentração por congelamento da amostra (A) e, à devitrificação oriunda de $H_2O$ residual da solução concentrada por congelamento (B).

A mobilidade molecular de mostras de mel contendo 8, 19, 30 e 50% de $H_2O$ foi investigada por relaxometria RMN, tendo em vista a obtenção de tempos de relaxação transversal $T_2$ nessas amostras e, em especial a possibilidade de observação de populações distintas de tempos de relaxação em amostra passível de cristalização de gelo. Os valores de tempos de relaxação obtidos para as amostras investigadas, na faixa da $T_g$, concordaram com dados de literatura, para outros materiais vítreos.

Nos experimentos de relaxometria RMN, valores dos tempos de relaxação $T_2$ foram obtidos por CPMG e revelaram a existência de uma, duas ou três componentes de mobilidade conforme a temperatura. Em temperaturas próximas à $T_g$, apenas um grupo de relaxação foi observado.

Com o aumento da temperatura, o surgimento de componentes de relaxação mais longas está associado aos prótons das moléculas de água, mais fracamente ligadas aos açúcares. A temperaturas mais altas, tal observação se estende aos prótons

exocíclicos dos açúcares e, no limite, aos prótons ligados aos próprios anéis dos açúcares.

Os tempos de relaxação transversal $T_{2,}$ nas vizinhanças da $T_g$ são afetados pela concentração de $H_2O$ sugerindo que a mobilidade, mesmo nesses materiais no estado vítreo, aumenta com o nível de hidratação do material. Não foi possível associar alterações de inclinação das curvas $T_2$ x $T$ com a ocorrência de transição vítrea nos materiais investigados.

A relaxação transversal das amostras com 8 e 19% de $H_2O$, não indicou a ocorrência de mudanças bruscas de inclinação nas curvas formadas pelos pontos de $T_2$ em função da temperatura, obtida e investigada utilizando-se seqüência de pulsos CPMG e pulso único. Tal fato sugere, portanto, não haver um acoplamento de $T_2$ com relação à viscosidade para esses materiais.

Embora não tenha sido possível a identificação de populações distintas de $T_2$ para a amostra de mel com 50% de $H_2O$, em temperaturas próximas à $T_g$, o valor do tempo de relaxação transversal, foi intermediário entre os valores obtidos para os vidros com 19 e 30% de $H_2O$, indicando a possibilidade de haver continuidade do processo de cristalização por congelamento de água residual na amostra.

Nos experimentos de RPE, as alterações físicas relativas à formação de domínios rígidos e cristalinos foram investigadas com base na estudo de parâmetros de análise espectral das amostras. Com base nessa análise, foram identificadas, em amostras sujeitas à ocorrência de devitrificação, a existência de domínios rígidos e flexíveis, durante o processo de resfriamento desses materiais.

Com base no fato de que a sonda TEMPO não estaria associada ao cristal de gelo, há uma evidência de que a mobilidade desses domínios está relacionada a soluções de diferentes viscosidades no material, nas quais a sonda estaria imersa. Com o resfriamento da amostra, haveria então a formação de mais de um vidro no material.

Tal observação reforça a conclusão a que se chegou, em experimentos DSC, de que há formação de mais de um vidro nesses materiais sujeitos à devitrificação. Reforça também, a conclusão de que o evento térmico que precede a fusão de gelo nesses

materiais está relacionado à devitrificação de água residual na solução remanescente de processos de concentração por congelamento.

## *8.0 – SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS*

Embora tenha sido realizado expressivo número de experimentos nas três técnicas principais utilizadas nesse trabalho, estudos utilizando técnicas complementares poderão ser úteis para prosseguir a discussão sobre algumas das conclusões obtidas nesse estudo. Dentre as técnicas experimentais recomenda-se, para trabalhos futuros, a investigação dos vidros orgânicos susceptíveis à devitrificação, utilizando-se técnica de ressonância paramagnética eletrônica com transferência de saturação RPE-TS, que permite avaliar a alterações espectrais e de mobilidade em temperaturas abaixo da transição vítrea.

Sugerem-se estudos dedicados a amostras sujeitas a devitrificação, por exemplo, soluções de frutose entre 37 e 50% $H_2O$, por técnicas como calorimetria exploratória diferencial modulada e ressonância magnética de baixo campo, para a obtenção de relaxogramas para estas amostras, que podem permitir a associação de vidros formados com valores distintos de $T_2$.

Finalmente, a investigação do fluxo de $H_2O$, durante processo de recozimento nesse tipo de material, bem como análises de raios-X, microscopia de eletrônica de baixa temperatura (Esem) e ressonância magnética por imagem, traria informações que poderiam representar novas contribuições ante àquelas, apresentadas neste trabalho, referentes à existência de mais de um vidro, bem como a ocorrência de devitrificação em soluções mais hidratadas.

## *9.0 – PUBLICAÇÕES RESULTANTES DOS TRABALHOS DESENVOLVIDOS*

CARDOSO, A.V.; ABREU, W.M. Water and the glass transition of organic (caramel) glasses. *Jounal of Non-Crystalline Solids*, v. 348, p. 51-58, 2004

DE ABREU,W.M.; CARDOSO,A.V.; Transição vítrea em misturas á água-caramelo. Anais e Apresentação oral no XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Engenharia dos Materiais, Porto Alegre, Dez. 2005.

DE ABREU, W.M.; CARDOSO, A.V.; Study of the Glass Transition Temperature ($T_g$) of Honey Using DSC and NMR. Apresentação oral no Simpósio Internacional de Vidros, Maringá, PR, Nov. 2005.

SILVA, S.A., CARDOSO, A.V., ABREU, W.M. Caracterização Reológica e Estudo do Processo de Cristalização de Méis de *Apis Mellifera* Produzidos no Estado de Minas Gerais. Relatório Final de Iniciação Científica, CETEC/FAPEMIG, Julho de 2006

SILVA, S.A.; ABREU, W.M.; CARDOSO, A.V.; Reologia e Cristalização em Méis do Estado de Minas Gerais. Ouro Preto – MG; XIX ENCONTRO REGIONAL DA SBQ/MG, 2005:.

ABREU, W.M.; CARDOSO, A.V.; ORLIEN,V.; ANDERSEN, M.L.; SKIBSTED, L.H., Glass transition, antemelting and devitrification in organic glass forming solutions: a contribution to clarify the hipothesis of double $T_g$. manuscrito a ser submetido ao Journal of Food Engineering ou Journal of Thermal Analysis.

## *10.0 - BIBLIOGRAFIA*

1. JORNAL HOJE, Rede Globo de Televisão, 14 de Junho de 2005.

2. KALMAN, M. *Seed of extinct date palm sprouts after 2,000 years* , Disponível em: < http://www.sfgate.com/cgi-bin/article.cgi?file=/c/a/2005/06/12/MNGJND7G5T1.DTL&type=printable>, publicado em 12 Junho de 2005, acesso em 19 de abril de 2008.

3. HAARETZ DAILY, Disponível em: <http://www.haaretzdaily.com/hasen/spages/587655.html>, acesso em 14/06/2005.

4. BUITINK, J.; LEPRINCE, O.;HEMMINGA, M. A.;HOEKSTRA, F. A.; Molecular mobility in the cytoplasm: an approach to describe and predict lifespan of dry germplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.97, n.5, 2385-2390.

5.BUITINK, J. *Biological Glasses:* Nature's way to preserve the life.2002, (Tese de Doutorado) Universidade de Wageningen, Wageningen, Holanda.

6 S.R. ELLIOT, *Physics of Amorphous Materials*, Longman, London, 2ª ed., 1990, 504p.

7. LEVINE, H. e SLADE, L., Principle of cryostabilization and technology from structure/property relationships of carbohydrate/water systems C: a review. *Cryo-Letters*., v. 9, p. 21-63 1988.

8. DRIES, I. V. D., *Molecular Mobility in Sugar Glasses*. 2003, 106p. (Tese de Doutorado) - Universidade de Wageningen, Wageningen Holanda.

9. DADARLAT, D.; BICANIC, D.; GIBKES, J.; KLOECK, W.; DRIES, I.V.D.; GERKEMA, E.; Study of melting process in fatty acids and oils mixtures. A comparison of photopyroeletric (PPE) and differential scanning calorimetry (DSC). *Chemistry and Physics of Lipids*, v.82, 15-23, 1996.

10. INOUE, C., ISHIKAWA, M. The contribution of water to the specific heat change at the glass-to-rubber transition of the ternary system BSA-water-NaCl. *Journal of Food Science*, v.65, n.7, p. 1187-1193, 2000.

11. ORLIEN, P.V. Glassy State and chemical stability in frozen systems. In: _____.*The glass transition hypothesis:* Significance on chemical stability in food systems. 2003. 163p.(Tese de Doutorado em Química de Alimentos)- Universidade Real de Veterinária e Agricultura, Frederiksberg, Dinamarca.

12. ORLIEN, P.V. State Diagrams and molecular mobility. In: _____. *The glass transition hypothesis:* Significance on chemical stability in food systems. 2003. 163p.(Tese de Doutorado em Química de Alimentos)- Universidade Real de Veterinária e Agricultura, Frederiksberg, Dinamarca..

13. GOFF, H.D.; SAHAGIAN, M.E. Glass transition in aqueous carbohydrate solutions and their relevance to frozen food stability. *Thermochimica Acta* 280/281, 1996, 449-464

14. AUBUCHON, S.R., THOMAS, L.C., THEUERL,W., RENNER, H. Investigations of the sub-ambient transitions in frozen sucrose by modulated differential scanning calorimetry (MDSC*)., Journal of Thermal Analysis*, v. 52 ,p.53-64, 1998.

15. CHANG, L.; MILTON, N.; RIGSBEE, D.; MISHRA, D.S. TANG, X.; THOMAS, L.C.; PIKAL, M. Using modulated DSC to investigate the origin of multiple thermal

transitions in frozen 10% sucrose solutions. *Thermochimica Acta*, v. 444, p.141-147, 2006.

16. MAZURIN, O.V.; PORAI, E.A.; *Phase Separation in Glass*. North Holland, 1984. 369p.

17. ROOS, Y. Melting and glass transitions of low molecular weight carbohydrates. *Carbohydrate Research*, 238 (1993) 39-48.

18. LIM M. H., REID D. S., Studies of reaction kinetics in relation to the $T_g$' of polymers in frozen model systems. In: LEVINE, H.; SLADE, L. (eds.) *Water relationships in foods*. Nova York: Plenum Press, 1991.

19. D. SIMATOS; M. FAURE; E. BONJOUR; M. COUACH, Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry in the study of water in foods. In: DUCKWORTH, R.B. (Ed.), *Water Relations of Foods*, Acad. Press London, 1974, p.193.

20. ANDERSEN A.B.; HANSEN E.; JØRGENSEN U.; SKIBSTED L.H., Glass transition in frozen fresh cheese *Milchwissenschaft*, v.56, n. 8, p. 441, 2001.

21. JENSEN, K.N.; B.M. JORGENSEN; NIELSEN J. Low-temperature transitions in cod and tuna determined by DSC. *Lebensm.-Wiss. U. Technol*, v.36, p. 369, 2003.

22. HANSEN E; ANDERSEN, M.L.; SKIBSTED, L.H. Mobility of solutes in frozen pork studied by electron spin resonance spectroscopy: evidence for two phase transition temperatures. *Meat Science*, v. 63, p. 63-67, 2003.

23. DELGADO, AE.; SUN, D.W. Desorption Isotherms and glass transition temperature for chicken meat. *Journal of Food Engineering*, v. 55, p. 1-8, 2000.

24. KAWAI, K.; SUZUKI, T; OGUNIZ, M. Low-Temperature Glass Transitions of Quenched and Annealed Bovine Serum Albumin Aqueous Solutions. *Biophysical Journal,* v. 90, p.3732–3738, 2006.

25. DE ABREU, W.M. Influência da temperatura na viscosidade e cor de corantes caramelo. Dissertação de Mestrado, REDEMAT, Ouro Preto, 2002, 130p.

26. SOPADE, P.A.; HALLEY, P.; BHANDARI, B.; D'ARCY, B.; DOEBLER, C.; CAFFIN, N. Application of the Williams-Landel-Ferry model to the viscosity-temperature relationship of Australian honeys, *Journal of Food Engineering*, v. 56, p. 67-75,2002.

27. KASAPIS, S.; MITCHELL, J.; ABEYSEKERA, R.; MACNAUGHTAN, W.; Rubber-to-glass transition in high sugar/biopolymer mixtures. *Trends in Food Science and Technology*, v.15, p. 298-304, 2004.

28. ZACHARIASEN, W.H., The atomic arrangement in glass, 5 out. 1932. *Journal of the American Chemical Society*, v.54, p.3841-3851, 1932.

29. MOYNIHAM, C.T., Correlation between the width of the glass-transition region and the temperature-dependence of the viscosity of high $T_g$ glasses. *C. Am. Ceram. Soc*., v.76, p.1081, 1993. *apud*: ANGELL, C.A., *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, v. 1, p. 578-585, 1996.

30. YAMAKI, S.B., PEDROSO, A.G. E ATVARS, T.D.Z. O estado vítreo dentro da perspectiva do curso de graduação em química (Físico-química), *Química nova*, v. 25, n.2, p.330-334, 2002.

31. BROWN, M.E., Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC). In:_____ *Introduction to Thermal Analysis:* Techniques and Applications. Londres: Chapman and Hall, 1988, p. 23-49.

32.LAZARIDOU, A., BILIADERIS, C. G., BACANDRITSOS, N., SABATINI, A. G., Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering*, v.64, p. 9-21, 2004.

33. MOTHÉ, C. G., AZEVEDO, A. D., *Análise Térmica de Materiais*. São Paulo: I Editora, 2002.301p.

34. KAUZMANN, W., The nature of the glassy state and the behaviour of liquids at low temperatures, *Chemical Review,* v. 43, p. 219-256, 1948.

35. GIBBS, J.H. E DIMARZIO, E.A., Nature of the glass transition and the glassy state. *Journal of Chemical Physics*, v.28, n. 3, p. 373-383, 1958.

36. FLORY, P.J.; *Principles of Polymer Chemistry*. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1953 *apud*: YAMAKI, S.B., PEDROSO, A.G. E ATVARS, T.D.Z. O estado vítreo dentro da perspectiva do curso de graduação em química (Físico-química), *Química nova*, v. 25, n.2, 330-334, 2002.

37. COHEN, M.C. E TURNBULL, D. On the Free-volume model of the liquid-glass transition, *Journal of Chemical. Physics*, v. 52, n.6, p. 3038-3041, 1970.

38. CHAMPION, D., LE MESTE, M.; SIMATOS, M.; Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range. *Food Science and Technology*. v.11, p. 41-55, 2000.

39. REY, L.R. '*Etude physiologiqque et physico-chimique de l'action des basses temperatures sur les tissues animaux vivants*' Tese doutorado, Paris, 122p, 1958.

40. ALLEN, S.G. A History of the glassy state. In: BLANSHARD, J.M.V.; LILLFORD, P.J. (Eds) *The glassy in foods*. Nottingham: Nottingham University Press, 1993, p. 1-12.

41. LOURDIN, D.;COLLONA, P.; BROWNSEY,G.J.;NOEL, T.R.;RING,S.G. Structural relaxations and physical ageing of starchy materials. *Carbohydrate Research*, v. 337, p. 827-833, 2002.

42. ANDERSEN, A. B., FOG-PETERSEN, M.S. E SKIBSTED, L.H. Storage stability of freeze dried starter cultures (Streptococcus thermophilus) as related to physical state of freezing matrix. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*.,v.32, p. 540-547 ,1999.

43. KHALLOUFI, S., EL-MASLOUHI, Y. E RATTI, C., Mathematical model for prediction of glass transition temperature of fruit powders, *Journal. of Food Science*, v. 65, n.5, 2000.

44. AGUILERA, J. M., CUADROS, T. R., DEL VALLE, J. M. Differential scanning calorimetry of low moisture apple products. *Carbohydrate Polymers*, v. 37, p. 79-86, 1998.

45.ANDERSEN, A.B.; RISBO, J.;ANDERSEN, M.L.;SKIBSTED, L.H. Oxygen permeation through an oil encapsulated food matrix studied by ESR line broadening using a nitroxyl spin probe. *Food Chemistry*, v.70, p. 499-508, 2000.

46.ORLIEN, V., RISBO, J., RANTANEN, H., SKIBSTED, L.H., Temperature dependence of rate of oxidation of rapeseed oil encapsulated in a glassy food matrix. *Food Chemistry*, v. 94, n.1, p. 37-46, 2005.

47. ABLETT, S., DARKE, A.H.,IZZARD, M.J. E LILLFORD, P.J. Studies of the glass transition in malto-oligomers. In: *The glassy in foods*; J.M.V. Blanshard e P.J. Lillford, Eds; Nottingham University Press: Nottingham, 189-206, 1993.

48. ORLIEN, V., RISBO, J., ANDERSEN, M.L., SKIBSTED, L.H. The question of high- or low-temperature glass transition in frozen fish. Construction of supplemented state diagram for tuna muscle by differential scanning calorimetry. *J. Agric. Food Chem*. v. 51, p. 211-217, 2003

49. CHAMPION, D., LE MESTE, M.; SIMATOS, M.; towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range. *Food Science and Technology*. v.11, p. 41-55, 2000.

50 FRANKS, F., Unfrozen water: yes; unfreezable water: hardly; bound water: certainly not. *Cryo-Letters*, v. 7, p. 207, 1986.

51 ROOS, Y.; Characterization of food polymers using state diagrams. *Journal of Food Engineering*, v. 24, 339-360, 1995.

52. CARDOSO, A.V., (Tese de Doutorado em Engenharia de Materiais), Sheffield, Universidade de Sheffield, 1992, p.62-63.

53. SAAD, M.; POULAIN, M. Glass-forming ability criterion, *Mater. Sci. Forum* 19–20, p. 11–18, 1987.

54 SIMATOS, D.; BLOND, G.; Some aspects of the glass transition in frozen systems. In: *The Glassy State in Foods*; BLANSHARD J.M.V.; LILLFORD, P.J. Eds; Nottingham University Press: Nottingham, 1993, p. 395-415.

55. ABLETT, S.; IZZARD, M.J.; LILLFORD, P.J. Differential scanning calorimetry study of frozen sucrose and glycerol solutions. J*ournal of the Chemical Society – Faraday Transactions*, v. 88, p. 789-794, 1992.

56 FRANKS, F. Scientific and Technological Aspects of Aqueous Glasses. *Biophysical Chemistry*, v. 105, p. 251-261, 2003.

57. ROOS, Y.H., KAREL, M. AND KOKINI, J.L. Glass transitions in low moisture and frozen foods: effects on shelf life and quality. *Food Technology*, November: 95-108, 1996.

58. BLOND, G., SIMATOS, D., Glass transition of the amorphous phase in frozen aqueous systems. *Thermochim. Acta*, v.175, p. 239-247, 1991**.**

59. CHAMPION, D.; LE MESTE, M.; SIMATOS, D. Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range. Trends in Food Science & Technology, v. 11, p. 41-55, 2000.

60. E.C.A. VAN WINDEN, H. TALSMA AND D.J.A. CROMMELIN, *PhD. Thesis, Chapter 5, Freeze-Drying of Liposomes. Preservation of Liposomes During the Freeze Frying Process and Their Stability in the Freeze-Dried State,* 1996 In: AUBUCHON, S.R., THOMAS, L.C., THEUERL,W., RENNER, H. Investigations of the sub-ambient transitions in frozen sucrose by modulated differential scanning calorimetry (MDSC*)., Journal of Thermal Analysis*, v. 52 p. 53-64, 1998.

61. IZZARD, M.; ABLETT, S., P.J. LILLFORD; V.L. HILL GROVES, I.F., A Modulated differential scanning calorimetric study of glass transitions occurring in sucrose solutions, J. *Thermal Analysis* , v. 47, n. 5 , p. 1407-1418, 1996.

62. ABLETT, S.; IZZARD, M.J.; LILLFORD, P.J. Differential Scanning Calorimetric Study of Frozen Sucrose and Glycerol Solutions, *J. Chem. Soc. Faraday Trans*., v. 88, n. 6, p. 789-794, 1992.

63. KNOPP, S.A., CHONGPRASERT, S., NAIL, S.L.; The relationship between the TMDSC curve of frozen sucrose solutions and collapse during freeze-drying. *Journal of Thermal Analysis*. v. 54, p. 659-672, 1998.

64. ANDERSEN, A.B. ; SKIBSTED, L.H. Glass transition of freeze-concentrated aqueous solution of ascorbic acid as studied by alternating differential scanning calorimetry. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*., v. 31, p. 69-73, 1998.

65. CHANG, L.; MILTON, N.; RIGSBEE, D.; MISHRA, D.S. Tang, X.; Thomas, L.C.; Pikal, M. Using modulated DSC to investigate the origin of multiple thermal transitions in frozen 10% sucrose solutions. *Thermochimica Acta*, v. 444, p.141-147, 2006.

66. PYNE, A.; SURANA, R.; SURYANARAYANAN,R. Enthalpic relaxations in frozen aqueous trehalose solutions, *Thermochimica Acta,* v. 405, p. 225-234, 2003.

67. MAZURIN, O.V., PORAI, E.A., KOSHIT, S. *Phase Separation in Glass*, North Holland, 1984, 369p.

68. TREDWAY, W.K., RISBUD, S.H., NERGERON, C.G. Characterization of metastable phases preceding crystallization of a $PbO\text{-}SiO_2\text{-}TiO_2\text{-}Al_2O_3$ glass. In: SIMMONS, J.H.; UHLMANN, D.R.; BEALL, G.H. *Nucleation and Crystallization in Glasses*. Columbus, Ohio: The American Ceramic Society, Inc. Proceedings of a Symposium held at the Sheraton Washington Hotel, Washington D.C., 1981.

69. ROOS, Y.; KAREL, M. Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. *Journal of Food Science*, v. 56, p. 1676-1681. In: TRUONG, V.; BHANDARI, B.R.; HOWES, T.; ADHIKARI, B.; Glass transition behaviour of fructose. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 39, p. 569-578, 2004.

70. ANGELL, C.A. Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions. *Chemical Review*, v. 102, p. 2627-2650, 2002.

71. ROOS, Y. Characterization of food polymers using state diagrams. *Journal of Food Engineering*, v. 24, p. 330-360, 1995.

72. SLADE, L.; LEVINE, H. The glassy state phenomenon in food molecules. In: *The glassy in foods*; J.M.V. Blanshard e P.J. Lillford, Eds; Nottingham University Press: Nottingham, 1993, p. 35-101

73. SHERER, G.W. Editorial comments on a paper by Gordon S. Fulcher, *J. Am. Cer. Soc.*, 75, n. 5, 1060-62, 1992.

74. FULCHER, G. S., Analysis of recent measurements of the viscosity of glasses. *J. Am. Cer. Soc*., v. 8, n.12, 1925.

75. SLADE, L., LEVINE, H. The glassy state phenomenon in food molecules In: J.M.V. Blanshard e P.J. Lillford, (Ed) *The glassy in foods*. Nottingham: Nottingham University Press, 1993, p. 39.

76. CORDELLA, C.;FAUCON,J.P.;CABROL-BASS, D.; SBIRRAZZUOLI,N.; Application of DSC as a tool for honey floral species characterization and adulteration detection. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.71, 279-290, 2003.

77. SOPADE, P.A.; HALLEY, P.; BHANDARI, B.; D´ARCY, B.; DOEBLER,C.CAFFIN,N. Application of the Williams-Landel-Ferry model to the viscosity-temeprature relationship of Australian honeys. *Journal of Food Engineering*, 56, 67-75, 2002.

78. RUBIN, C.A.; WASYLYK, J.M.; BAUST, J.G. Investigation of vitrification by nuclear magnetic resonance and differential scanning calorimetry in honey: a model carbohydrate system. *J. Agric. Food Chem*., v. 38, p. 1824-1827, 1990.

79. ABLETT, S.; IZZARD, M.J.; LILLFORD, P.J.; ARVANITOYANNIS, I; BLANSHARD, J.M.V. Calorimetric study of the glass transition occurring in fructose solutions, *Carbohydrate Research,* v. 246, 13-22, 1993.

80. REID. D.S., HSU, J. E KERR, W. Calorimetry, In: J.M.V. BLANSHARD E P.J. LILLFORD, (Eds) *The glassy in foods*; Nottingham: Nottingham University Press: 1993; p. 35-102.

81. HEMMINGA, M.A., Introduction to NMR, *Trends in Food Science and Technology*, v. 3, p 179-187, 1992.

82. OTTENHOFF, M.A., MACNAUGHTAM, W., FARHAT, I.A. FTIR study of state and phase transitions of low moisture and lactose, *Carbohydrate Research*, v. 338, p. 2195-2202 , 2003.

83. BUITINK, J. DRIES, I.J.V., HOEKSTRA, F.A., ALBERDA, M. E HEMMINGA, M.A. High critical temperature above $T_g$ may contribute to the stability of biological systems. *Biophysical Journal*, v. 79, p. 1119-1126, 2000.

84. SCHRAMM, G. *Introduction to practical viscometry*, Haake Viscometers GmbH, Karlsurhe, 1981, 77p.

85. CÁNOVAS, G.V.B.; KOKINI, J.L.; MA, L.; IBARZS, A. The rheology of semiliquid foods. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 39, p.1-69, 1996.

86.VAN VLACK, L.H. Introdução aos materiais: características selecionadas. In: _____ *Princípios de Ciência e Tecnologia dos Materiais*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Campus, 1984, p. 23-50.

87. MACKOSKO, C.W. *Rheology*: principles, measurements and applications. Nova York: Wiley-VCH, 1994, 550 p.

88. MOYNIHAM, C.T. Correlation between the width of the glass transition region and the temperature dependence of the viscosity of high $T_g$ glasses. *C. Am. Ceram. Soc*, 1993, 76, 1081. *apud* ANGELL, C.A. Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions. *Chem. Rev*., 102, 2627-2650, 2002.

89.CAMPBELL D., WHITE J.R. *Polymer Characterization Physical Techniques*, Chapman and Hall, London, p. 304, 1994.

90. CLARIDGE, T.M.D. High Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, 1999, Oxford: Elsevier Science Ltd., 1999, 382p.

91. RUAN, R.; LONG, Z.; CHEN, P.L.; HUANG, V.; ALMAER, S.; TAUB, I.; Pulse NMR study of glass transition in maltodextrin. *Journal of Food Science*, v.64, p.1, 1999.

92. CHUNG, M.S.; RUAN, R.R.; CHEN, P.L.; WANG, X.; Physical and chemical properties caramel systems. *Lebensm.-Wiss. u-Technol*., v.32, p. 162-168, 1999.

93.CAMPBELL D., WHITE, J.R. *Polymer characterization physical techniques*, Chapman and Hall, Londres, p.85-118.

94. SOLOMONS, T.W. Ressonância nuclear magnética, In: _____ *Química Orgânica*, v. 2, 1ª. ed., Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora, 1983.

95. MEIBOOM, S.; GILL, D. Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *The Review of Scientific Instruments*, v.29, n.8. 1958.

96. RUAN, R.R., LONG, ZHENZHONG, SONG, A., CHEN, P.L., Determination of the glass transition temperature of food polymers using low field NMR. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*., v.31, 516-521, 1998.

97. ABLETT, S., DARKE, A.H., IZZARD, M.J. E LILLFORD, P.J. Studies of the glass transition in malto-oligomers. In: J.M.V. BLANSHARD; P.J. LILLFORD, (Eds). *The glassy in foods*; Nottingham University Press: Nottingham, 189-206, 1993.

98. HAMADA, K.; IJIMA, T.; E MCGREGOR, R., Effects of water ion mobility of non-ionic spin probes in nylon 6 film. *Polymer Journal*, v.17, 1245-1251, 1985. *apud:* HEMINGA, M.A.; WALSTRA,P., ROOZEN, M.J.G.W, Molecular motions in the glassy state In: *The glassy in foods*; BLANSHARD, J.M.V. ; LILLFORD, P.J., (Eds), Nottingham: Nottingham University Press, 1993, p. 157-171.

99. HAMADA, K., IJIMA, T., MCGREGOR,R.; Mobility of spin probes in nylon 6 film. *Polymer Journal*, 17, 1245-1251. APUD HEMINGA, M.A.; WALSTRA,P., ROOZEN, M.J.G.W, Molecular motions in the glassy state In: BLANSHARD, J.M.V.; LILLFORD, P.J. (Eds). *The glassy in foods*. Nottingham: Nottingham University Press,1993, p. 157-171.

100. HEMMINGA, M.A.; WALSTRA,P., ROOZEN, M.J.G.W, Molecular motions in the glassy state In: BLANSHARD, J.M.V.; LILLFORD, P.J. (Eds).*The glassy in foods*;; Nottingham: Nottingham University Press, 1993, p. 157-171.

101. WEIL, J.A.; BOLTON, J.R. Relaxation Times, linewidths and kinetic phenomena in: _____ Electron Paramagnetic Resonance, Elementary Theory and Practical Applications. Nova York: John Wiley & Sons, 2007, 287-341

102 BUITINK, J., CLAESSENS, M.M.A.E., HEMMINGA, M.A, HOEKSTRA, F.A. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seeds and pollen. *Plant Physiol*. 118, p. 531-541, 1998.

103. ORLIEN, V.; MOGENS, L.A.; JOUHTIMÄKI, S.;RISBO,J.; SKIBSTED,L.H. Effect of temperature and glassy states on the molecular mobility of solutes in frozen tuna muscle as studied by electron spin resonance spectroscopy with spin probe detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 52, n. 8, p. 2269-2276, 2004.

104. HANSEN, E. *Chemical and physical changes in pork during freezing and frozen storage*. (Tese de Doutorado: Química de Alimentos) Universidade Real de Veterinária e Agricultura, Frederiksberg, Dinamarca, 83p.

105. DEFAYE, J.; FERNANDEZ, J.M.G. Protonic and thermal activation of sucrose and the oligosaccharide composition of caramel. Preliminary communication. *Carbohydrate Research*, 256, p. C1-C4, 1994.

106. GÉLIS, M. A. Action de la chaleur sur les substances neutres organiques: etude du caramel et des Produits Torréfiés. *Ann. de Chim. et Phys*., 3a Serie, t. LII, Mar. 1858.

107. WHITE, J.; MUNNS, D.J. Caramel, the neglected colloid. *American Brewer*, p. 29-57, Dez. 1950.

108.TSCHIERSKY, H.; BALTES, W. Untersuchungen an caramel: curiepunkt von caramelzuckersirupen und andere strukturpezifishe untersuchungen. *Z Lebensm Unters Forsch,* 189, p. 132-137, 1989.

109. DEFAYE, J.; FERNÁNDEZ, J.M.G. The oligosaccharide components of caramel. *Zuckerind*, v. 120, n. 8, p. 700-704, 1995.

110. TOMASIK, P.; PALASINSKI, M.; WIEJAK, S. The thermal decomposition of carbohydrates Part I: The decomposition of mono- di and oligosaccharides. *Adv. Carbohyd. Chem. Biochem*., v. 47, p. 203-70, 1989.

111. KROH, L.W. Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry*, 51, p. 373-379, 1994.

112. LICHT, B.H., ORR. J., MYERS, D.V. Characterization of caramel colours I, II and III, Food *and Chemical Toxicology*, v.30, n. 5, p. 375-382, 1992.

113. LICHT, B.H.; ORR, J.; MYERS, D.V., Characterization of caramel colour IV. *Food and Chemical Toxicology*, v.30, n. 5, p. 365-373, 1992.

114. WHITE JR, J.W.; Composition of honey, in CRANE, E.; *Honey, a comprehensive survey.* Bee Research Association, Heinemann Ltd. Londres, p. 207-239, 1975.

115. SILVA S.A.; CARDOSO, A.V.;ABREU, W.M., Caracterização Reológica de Méis do Estado de Minas Gerais, Relatório de Iniciação Científica.FAPEMIG. 2006, 35p.

116. WHITE JR, J.W.; Physical characteristics of honey. In: CRANE, E.; *Honey, a comprehensive survey*. Bee Research Association, Heinemann Ltd. Londres, 1975, pp. 157-206.

117. LESHKOV, Y.R.; BARRETT, C. J.; LIU, Z.Y.; DUMESIC, J. A. Production of dimethylfuran for liquid fuels from biomass-derived carbohydrates, *Nature*, v. 447, p. 982-985, 2007.

118. ANDERSON, P.W. Through the Glass Lightly, Science, v. 267, p.1615, 1995.

119. ANGELL, C.A. , The glass transition, *Current opinion in solid state and Materials Science*, v. 1, 578-585, 1996

120. YUE, Y. ; ANGELL, C.A Clarifying the glass-transition behaviour of water by comparison with hyperquenched inorganic glasses, *Nature*, v. 427, p. 717-720, 2004.

121. REBOCHO, D.D.E; LARA, A.B.W.H.; NAZÁRIO, G.; ALMEIDA, M.E.W.; PREGNOLATTO, W; *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, v.1, 2a ed., São Paulo, 1976, p.371.

122 SOESANTO, T., WILLIAMS, M.C. Volumetric interpretations of viscosity for concentrated and dilute sugar solutions. *J. Phys. Chem.*, v. 85, p. 333-3341, 1981.

123. Programa WinDXP, versão 1.5.0.0., Resonance Instruments, Inglaterra 2002

124. BRASIL.Legislação de Mel e derivados, Resolução CNNPA, nº12, Diário Oficial da União, 24/07/1978. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_mel.htm.

125. JUNZHENG, P.; CHANGYING, J.; General rheological model for natural honeys in China. *Journal of Food Engineering*, v.36, p. 165-168, 1998.

126. JUSZCZAK, L.; FORTUNA, T.; Rheology of selected Polish honeys. *Journal of Food Engineering*, v 75, n 1, p. 43-49, 2006.

127. MOSSEL, B.; BHANDARI, B.; D´ARCY, B.; CAFFIN, N. Use of an Arrhenius model to predict rheological behaviour in some Australian honeys. *Lebensm.-Wiss. U-Technol*., v. 33, p. 545-552, 2000.

128. JDAYIL, B.A.; GHZAWI, A.A; AL-MALAH, K.I.M. Heta effect on rheology of light and dark-coloured honey. *Journal of Food Engineering*, 51, p. 33-38, 2002.

129. GORDON, M., TAYLOR, J.S. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem*. v. 2, p. 493-500, 1952.

130. KANTOR, Z.;PITSI, G.;THOEN,J. Glass transition temperature of honey as a function of water content as determined by differential scanning calorimetry. *J.Agric. Food Chem*., v. 47, p. 2327-2330, 1999.

131.RAWSON, H. *Properties and applications of glass*, Glass Science and Technology, Elsevier Scientific Company, 1980.

132 GOFF, H.D.; VERESPJEJ, E.; JERMANN, D. Glass transitions in frozen sucrose solutions are influenced by solute inclusions within ice crystals. *Thermochimica Acta*, 399, p. 43-45, 2003

133. IQBAL, T. SHAHRIARI, M.R., SIGEL JR, G.H. extended abstracts, 6Th International Symposium on Halide Glasses, Technical University of Clausthal-Zellerfield, F.R. Of Germany, October 1-5, 1989.

134. VENÂNCIO, T., ENGELSBERG, M., AZEREDO, R.B.V., ALEM, N.E.R., COLNAGO, L.A. Fast and simultaneous measurement of longitudinal and transverse NMR relaxation times in a single continuous wave free precession experiment. *Journal of Magnetic Resonance*, v. 173, p. 34-39, 2005.

135. DRIES, I.V.D., DUSSCHOTEN, D. V., HEMMINGA, M. Mobility in maltose-water glasses studied with $^{1}H$ NMR, *Journal of Physical Chemistry (B)*, v. 102, p. 10483 - 10489, 1998.

136 RUAN, R.R., CHEN, P.L., *Water in Foods and Biological Materials*. St. Paul, Minnesota: Technomic Publishing Co., 1992, 277p.

137. MAHDJOUB, R. CHOUVENC, P., SEURIN, M.J., ANDRIEU, J., BRIGUET, A. Sucrose solution freezing studied by magnetic resonance imaging. *Carbohydrate Research*, 34, 2006, 492-498

138. ARVANITOYANNIS, I., BLANSHARD, J.M.V., ABLETT, S., IZZARD, M.J., LILLFORD, P.J. Calorimetric study of the glass transition occurring in aqueous glucose: fructose solutions. *J. Sci. Food Agric*. V. 63, p. 177-188, 1993.

139. JOE WOLFE, GARY BRYANT AND KAREN L. KOSTER, What is 'unfreezable water', how unfreezable is it and how much is there? *CryoLetters*, 23, 157-166, 2002.

140. BELTON, P. NMR and the mobility of water in polysaccharide gels, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 21, p. 81-88, 1997.

141. BARROS, C.N., AREAS, E.P.G., FIGUEIREDO, E.N., AREAS, J.A.G. Low-resolution $^{1}H$ spin-spin relaxation of n-decane/water emulsions stabilized by B-casein. *Colloids and Surfaces B:* Biointerfaces, v.48, p.119-127, 2006.

142. HILLS, B.P., *Molecular Physics,* 1991, 72, 1099-1121. In DRIES, I.V.D., *Molecular Mobility in Sugar Glasses*. 2003, 106p. (Tese de Doutorado) - Universidade de Wageningen, Wageningen Holanda.

143. ABLETT, S.; DARKE A.H., IZZARD, M.J. E LILLFORD, P.J. Studies of the glass transition in malto-oligomers, in: *The glassy state in foods*, eds: Blanshrad, J.M.V.; Lillford, P.J. Nottingham University Press, Sutton Bonington Campus, 1993.

144. BLANSHARD, J.M.V., DERBYSHYRE, W., MACNAUGHTAN, W. ABLETT, S., MARTIN, D., IZZARD, M.J. 1H Relaxation of Hydrated Carbohydrate Systems. In:

Belton, P.S.; HILLS, B.P.AND WEBB, G.A Advances *in Magnetic Resonance in Food Science* eds. The Royal Society of Chemistry, 1999.

145. SHRIVALLI N. BHAT, AJAY SHARMA, AND S. V. BHAT Vitrification and Glass Transition of Water: Insights from Spin Probe ESR. *Phys. Rev. Lett.,* v. 95, 235702, 2005.

146.WEIL, J.A.; BOLTON, J.R. Electron Paramagnetic Resonance, Elementary Theory and Practical Applications. Nova York: John Wiley & Sons, 2007, 664p.

147. GRABCZYK, A.W., BEDNARSKI, W., JANKOWSKI, A., WALPLAK, S. Temperature dependence of molecular motions in the polyurethane based membranes studied with paramagnetic spin probe. *Polymer*, v. 46, p. 2461-2471, 2005.

148. JOHNSON, J.M., DAVIS, E.A., GORDON, J., Interactions of starch and sugar water measured by electron spin resonance and differential scanning calorimetry. *Cereal Chem*., v.67, n.3, p.286-291, 1990.

149. SHRIVALLI N. BHAT, AJAY SHARMA AND S.V. BHAT. Vitrification and Glass Transition of Water: insights in to the "No Man's Land". Documento disponível no sítio: < arxiv.org/abs/cond-mat/0409440> acesso em 05/05/2008.

150. TAMMANN,G.; HESSE, W., Die Abhängigkeit der Viscosität von der temperatur bei unterkühlten flüssigkeiten. *Z. anorg. Allg. Chemie,* v. 156, 245-257, 1926.

151. VOGEL H. Temperaturabhängigkeitsgesetz der Viskosität von Flüssigkeiten. *Physikalische Zeitschrift,* v. 22, 645-646,1921.