



SÉRGIO HENRIQUE SILVA

**CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS DO
BIOSPECKLE LASER E ATIVIDADE DE
ÁGUA DE SOLUÇÕES EM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

**LAVRAS – MG
2017**

SÉRGIO HENRIQUE SILVA

**CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS DO BIOSPECKLE LASER E
ATIVIDADE DE ÁGUA DE SOLUÇÕES EM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciências dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Jaime Vilela de Resende
Orientador

Prof. Dr. Roberto Alves Braga Júnior
Coorientador

**LAVRAS - MG
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Sérgio Henrique.

Correlação entre medidas do *biospeckle laser* e atividade de
água de soluções em diferentes concentrações e temperaturas /
Sérgio Henrique Silva. - 2017.

65 p. : il.

Orientador(a): Jaime Vilela de Resende.

Coorientador(a): Roberto Alves Braga Júnior.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Métodos ópticos. 2. Solução salina. 3. Contraste. I. Resende,
Jaime Vilela de. II. Braga Júnior, Roberto Alves. III. Título.

SÉRGIO HENRIQUE SILVA

**CORRELAÇÃO ENTRE MEDIDAS DO BIOSPECKLE LASER E
ATIVIDADE DE ÁGUA DE SOLUÇÕES EM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

**CORRELATION BETWEEN BIOSPECKLE LASER MEASUREMENTS
AND WATER ACTIVITY OF SOLUTIONS AT DIFFERENT
CONCENTRATIONS AND TEMPERATURES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciências dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de abril de 2017.

Dr. Roberto Alves Braga Júnior

UFLA

Dr. Rogério Amaro Gonçalves

IFMG

Prof. Dr. Jaime Vilela de Resende
Orientador

**LAVRAS - MG
2017**

*A todos que me fortaleceram com um pingo ou
uma montanha de ideias e incentivos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus e todos os santos e anjos, minha família, pai Donato Miguel, mãe Maria do Carmo, irmãos e parentes.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) realização da Pós-Graduação. À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores Dr. Jaime Vilela de Resende, Dr. Roberto Alves Braga Junior pela orientação, ensinamento e apoio.

Em especial, meu grande amor Camila, minha tia Dalva, tia Delfina, tia Penha, às duplas infalíveis Cezinha e Junior, Nélia e Flávia.

Aos colegas de laboratório Amanda, Isabelle, Natália, Tales, Bárbara, Luciana, Lorena, Mariá, Amanda, Renata, Elídio, Maria Clara, Douglas, Abel, e Dr. Fernando Pujaco e aos amigos do DCA.

E a todos que me apoiaram de alguma forma.

Muito obrigado!

RESUMO

Diretamente ligada à estabilidade dos alimentos, a atividade de água (a_w) tem grande importância para a estimativa da vida útil de um produto. Um elevado valor de atividade de água implica que o produto estará mais susceptível a deterioração. A busca por novas tecnologias para aplicação nesta área torna-se importante visando tornar a análise de atividade de água mais rápida. O *biospeckle laser* é uma tecnologia que emprega um método óptico que processa através de gráficos ou numericamente, os padrões de interferência formados quando um material biológico é iluminado por uma luz coerente, como exemplo, o *laser*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de aplicação do *biospeckle laser* com a metodologia numérica de análise de contraste para testar novas abordagens para a melhoria da técnica de determinação de atividade de água. No presente trabalho foi demonstrado que a técnica do *biospeckle laser* por meio da análise do contraste foi estatisticamente significativa na distinção de diferentes concentrações e atividades de água das soluções de cloreto de lítio e soluções modelo nas temperaturas de 0, 5, 10, 15, 20 e 25°C. Através da calibração do *biospeckle laser* com as soluções de cloreto de lítio, foram testados nas mesmas temperaturas a predição do valor de atividade de água de diferentes alimentos, obtendo algumas correlações com valores de atividade de água menores que 20% em comparação com a a_w real. Sendo assim, a técnica do *biospeckle laser* pode se tornar uma ferramenta de leitura direta da variação de concentração de solutos e, conseqüentemente, de atividade de água em alimentos.

Palavras-chave: Métodos ópticos. Solução salina. Contraste.

ABSTRACT

Directly linked to food stability the water activity (a_w) has a great importance to estimate the useful life of a product. A high value of water activity implies that the product is more sensitive to deterioration. The search for new technologies for application in this area becomes important in order to make analysis of water activity faster. The biospeckle laser is a technology that employs an optical method that processes graphically or numerically the interference patterns formed when a biological material is illuminated by a coherent light, such as the laser. The objective of this work was to evaluate the potential of biospeckle laser application with the methodology of numerical contrast analysis to test new approaches to improve the technique of determination of water activity. In the present work it was demonstrated that the biospeckle laser technique through contrast analysis was statistically significant in distinguishing different concentrations and water activities from lithium chloride solutions and model solutions at temperatures of 0, 5, 10, 15, 20 and 25 °C. Through calibration of the biospeckle laser with the lithium chloride solutions the predicted values of the water activity of different foods were tested at the same temperatures, obtaining some correlations with water activity values lower than 20% in comparison to the real a_w . Thus, the biospeckle laser technique can become a tool for direct reading of the concentration of solutes and, consequently, of water activity in foods.

Keywords: Optical methods. Saline solution. Contrast.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Isoterma de sorção de umidade.....	20
Figura 2 –	Efeito da atividade de água nas alterações microbianas, enzimáticas e químicas nos alimentos.	23
Figura 3 –	(a) Esquema do Speckle Laser e (b) Semente de milho processada com o Biospeckle.	34
Figura 4 –	Aparato experimental.....	37
Figura 5 –	Distâncias das partes inferiores dos objetos até a superfície da amostra.....	40
Figura 6 –	Imagens do padrão speckle: coluna (a) (zoom 80x, 160x e 230x para LiCl (2mol/L) e coluna (b) (zoom 80x, 160x e 230x para LiCl (19 mol/L).....	41
Figura 7 –	A atividade de água em função da concentração para a solução de LiCl nas temperaturas de 0, 5, 10, 15, 20 e 25°C, sobreposta nas equações do contraste em função da atividade de água em todas as temperaturas.....	45
Figura 8 –	Gráficos das equações ajustadas da atividade de água em função do contraste.....	50
Figura 9 –	Comportamento dos valores de contraste em função da temperatura para a solução de LiCl 19 mol/L.....	51
Figura 10 –	Correlação entre o contraste, atividade de água em função da concentração de sacarose adicionada de pectina da solução modelo nas temperaturas de 0 °C à 25 °C	52
Figura 11 –	Alimentos analisados com biospeckle laser: (1) Açúcar. (2) Amido de milho. (3) Arroz cru. (4) Aveia. (5) Canjica grossa. (6) Farinha de trigo. (7) Fubá grosso. (8) Mel. (9) Óleo de milho. (10) Cloreto de sódio.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Interação da a_w , do pH e da temperatura em alguns alimentos.....	24
Tabela 2 –	Atividade de água da carne em temperaturas de congelamento.....	25
Tabela 3 –	Atividade de água da carne e dos produtos à base de carne a temperaturas de congelamento.	26
Tabela 4 –	Variação da atividade de água (a_w) em soluções salinas saturadas em função da temperatura.....	30
Tabela 5 –	Atividade água (a_w) de soluções salinas insaturadas a 25°C. ...	30
Tabela 6 –	Lista acumulada valores de a_w fornecidos por diferentes laboratórios a 25°C.	32
Tabela 7 –	Valores do contraste das soluções de NaCl, MgCl ₂ (g/100 g de solução) e LiCl (mol/L) em função da atividade de água, com zoom de 230x a 20°C.....	42
Tabela 8 –	Calibração do <i>biospeckle laser</i> com a solução de cloreto de lítio nas concentrações de 2 e 19 mol/L com ajuste do zoom em 80, 160, 230x a 25°C.	42
Tabela 9 –	Valores médios das atividades de água em função da concentração para as soluções de cloreto de lítio e soluções modelo.	44
Tabela 10 –	Valores médios dos contrastes das soluções de LiCl em dois casos: mesma concentração em função das diferentes temperaturas e diferentes concentrações em função da mesma temperatura.....	47
Tabela 11 –	Equações ajustadas das soluções de LiCl nas temperaturas analisadas.....	49
Tabela 12 –	Correlação entre as equações contraste x atividade de água e as equações concentração (mol/L) x atividade de água.....	49
Tabela 13 –	Equações ajustadas dos contrastes das soluções modelo de sacarose em função da concentração nas temperaturas aplicadas.	52

Tabela 14 –	Valores do contraste para as concentrações das soluções modelo em função das diferentes temperaturas e para as temperaturas em função das diferentes concentrações das soluções modelo.	54
Tabela 15 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 25 °C.....	56
Tabela 16 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 20°C.....	56
Tabela 17 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 15 °C.....	57
Tabela 18 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 10 °C.....	57
Tabela 19 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 5 °C.....	58
Tabela 20 –	Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 0 °C.....	58

LISTA DE SIGLAS

a_w	Atividade de água
AVD	Diferenças dos valores absolutos
BET	Do inglês <i>Brunauer-Emmett-Teller</i>
CCD	Do inglês <i>Charge Coupled Device</i>
CEDIA	Centro de Desenvolvimento de Instrumentação Aplicada à Agropecuária
DCA	Departamento de Ciência dos Alimentos
DEG	Departamento de Engenharia
ERH	Umidade relativa de equilíbrio do ar
LASCA	Do inglês <i>Laser Speckle Contrast Analysis</i>
LiCl	Cloreto de Lítio
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
NaCl	Cloreto de Sódio
NIR	Do inglês near infrared
PVR	Pressão de vapor relativa
SAS	Do inglês <i>Statistical Analysis System</i>
SD	Desvio padrão
U _{bs}	Umidade em base seca
UFLA	Universidade Federal de Lavras
TDL	Sensor Diodo Laser Sintonizável

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo Geral.....	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	Atividade de água.....	15
3.2	Isotermas.....	19
3.3	Atividade de água nos alimentos	21
3.4	Influência da temperatura na atividade de água	24
3.5	Metodologias para determinação de atividade de água	26
3.5.1	Higrômetros de rosca.....	27
3.5.2	Higrômetros elétricos	27
3.5.3	Higrômetro de ponto de orvalho	28
3.5.4	Sensor Diodo Laser Sintonizável (TDL)	28
3.6	Soluções salinas	29
3.6.1	Uso de soluções salinas	29
3.7	Biospeckle laser	33
3.7.1	Métodos de análise	34
3.7.1.1	Método do Contraste	34
4	MATERIAIS E METODOS	36
4.1	Calibração do biospeckle laser	36
4.2	Montagem do equipamento.....	36
4.3	Preparo das soluções.....	38
4.4	Aplicação da técnica	38
4.5	Análise estatística	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1	Calibração do aparelho	40
5.2	Atividade de água das soluções de LiCl e solução modelo ...	44
5.3	Soluções modelo de sacarose e pectina.....	51
5.4	Validação para medidas com alimentos.....	55
6	CONCLUSÕES	60
	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

A água é um dos principais componentes presentes nos alimentos e pode ser encontrada sob duas formas: água livre e água ligada. Em meados do século XX, cientistas iniciaram a descoberta sobre a existência de uma relação entre a água contida em um alimento e sua tendência relativa a deteriorar. Além de controlar a atividade microbiana, a água tem uma profunda influência nos processos físicos e químicos que influenciam a vida útil do alimento. O controle da atividade de água (a_w) é um aspecto fundamental da tecnologia de alimentos e tem sido objeto de numerosos trabalhos.

As tecnologias atuais empregadas para determinação da atividade de água nos alimentos na maioria das vezes utilizam a pressão relativa de vapor do produto para quantificar tal valor sob temperatura constante. Esse último fator limita o estudo da atividade de água dos alimentos, pois os equipamentos atuais não são capazes de determinar a a_w em temperaturas abaixo de 25 °C e em temperaturas negativas.

O *biospeckle laser* é uma tecnologia que emprega um método óptico que processa os padrões de interferência formados quando um material biológico é iluminado por uma luz coerente, como exemplo o *laser*. O *bispeckle laser* é uma técnica não invasiva, não destrutiva, de baixo custo e que vem sendo utilizada como um método de mapeamento e quantificação da atividade biológica em diversas áreas do conhecimento.

Portanto, é razoável lançar a hipótese de que esta técnica também possa ser uma ferramenta eficiente para monitoração dinâmica da atividade de água de alimentos sobre várias temperaturas, ao contrário dos equipamentos usuais. Considerando a tendência de novas pesquisas em desenvolverem métodos não destrutivos e de rápidas interpretações, este trabalho tem como proposta realizar um estudo para correlacionar a técnica de processamento de imagens com o *biospeckle laser* com a atividade de água usando soluções modelo, além de validar o uso da técnica em aplicações com alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Utilizar a técnica do *biospeckle laser* correlacionada à atividade de água em soluções modelo.

2.2 Objetivos específicos

- a) Calibração do equipamento com soluções salinas ajustando uma equação para cada temperatura estudada visando determinar a atividade de água em alimentos, por meio das leituras de contraste obtidas com o *biospeckle laser*;
- b) Usar a técnica do *biospeckle laser* para diferenciar a variação da atividade de água em soluções modelo com diferentes concentrações e temperaturas;
- c) Aplicar a técnica do *biospeckle laser* para a determinação da atividade de água de alimentos em diferentes temperaturas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Atividade de água

Desde a década de 50, quando o conceito atividade de água (a_w) foi introduzido originalmente a a_w transformou-se em uma metodologia assemelhada à estabilidade química e microbiológica do alimento. A água presente nos alimentos é considerada de grande importância, uma vez que é o fator de maior influência no controle da taxa de deterioração que ocorre ao longo do seu armazenamento. Tal deterioração acontece mais rapidamente quando originada por microrganismos, do que em comparação às alterações decorrentes de reações químicas e enzimáticas (FELLOWS, 2006). O modo com que a água se apresenta na estrutura do alimento interfere no seu tempo viável para consumo:

- a) água livre, também conhecida como umidade de superfície, geralmente está presente na superfície externa do alimento e entre os espaços e poros do material. Considerada fracamente ligada aos substratos e entre si, está disponível para o crescimento de microrganismos e é facilmente evaporada, além de ser congelável. Atua como agente dispersante para substâncias coloidais e como solvente em compostos cristalinos;
- b) água absorvida ou capilar, conhecida como umidade adsorvida, está localizada no interior do alimento, presente nas superfícies de macromoléculas, como amido, pectina, celulose e proteína. As moléculas são ligadas por forças de *Van der Waals* e pontes de hidrogênio e não combinam com outros elementos quimicamente.

Atua como solvente e pode influenciar no crescimento dos microrganismos;

- c) água de hidratação ou ligada, está fortemente ligada ao substrato e envolvida quimicamente com outras substâncias. Apresenta difícil remoção, não é congelável, não está disponível para o crescimento dos microrganismos e não atua como solvente em reações químicas e enzimáticas. Dificilmente é determinada por meio do emprego de métodos analítico de umidade.

Os métodos para determinação do teor de umidade em alimentos podem ser classificados em dois grupos: (I) método direto, onde a água é removida fisicamente por secagem, destilação e liofilização; e (II) método indireto, onde a água da amostra não é removida, contudo ocorre a medição da propriedade e dos parâmetros da água no interior da amostra a partir de técnicas como capacitância dielétrica, absorção micro-ondas, condutividade, dentre outras (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007).

A água exerce uma pressão de vapor sobre a superfície dos alimentos e é dependente de fatores como: quantidade de água disponível, temperatura, concentração dos solutos dissolvidos (particularmente sais e açúcares) e estrutura do alimento (FELLOWS, 2006). A atividade de água (a_w) pode ser definida como a razão da pressão de vapor da água no alimento e a pressão de vapor saturada da água na mesma temperatura, logo:

$$A_w = \left(\frac{p}{p_o} \right)_T \quad (1)$$

Onde P (Pa) é a pressão de vapor do alimento, P_o (Pa) é a pressão de vapor da água pura na mesma temperatura ($^{\circ}\text{C}$). A pressão de vapor relativa (PVR) também é utilizada para denominar $(P/P_o)_T$, no entanto a PVR, por ser

uma propriedade intrínseca, não é um fator forte de indicação de estabilidade e segurança dos alimentos, uma vez que produtos com a mesma PVR, mas com a composição química diferente, podem apresentar diferentes estabilidades. Dessa forma, o termo atividade de água é mais utilizado quando relacionado à conservação dos alimentos, enquanto a pressão de vapor da água, pela interação com componentes de um alimento, considerada um indicador da quantidade da água ligada (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Em temperatura constante, existe uma relação entre a a_w de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio do ar (ERH), expresso em porcentagem, em um ambiente fechado em que se encontra em equilíbrio e, portanto, é sempre cem vezes maior que o valor de a_w , logo:

$$PVR = \left(\frac{p}{p_o} \right)_T = \frac{\%ERH}{100} \quad (2)$$

Para determinar a PVR de uma pequena amostra, utiliza-se uma câmara fechada para o alcance do equilíbrio aparente (peso constante) da amostra, onde em seguida é mensurada a pressão e a umidade relativa no interior da câmara. Instrumentos, como o manômetro, são empregados para medir a pressão e aparelhos como higrômetros elétricos e de ponto de orvalho, podem ser usados para medir a umidade relativa (WROLSTAD et al., 2005). Durante o ajuste, para que a pressão parcial de vapor d'água do produto se iguale à pressão parcial de vapor d'água do ar que o envolve, pode ocorrer a perda ou o ganho de água no produto (TREYBAL, 1968; STOLARSKA; GARBALIŃSKA, 2016).

Para uma solução ideal, a relação entre a concentração molar do soluto e a pressão relativa de vapor (P/P_o) pode ser avaliada pela equação de *Raoult's*. Esta lei é estritamente válida para as soluções que fazem parte do grupo das soluções ideais, ou seja, o tipo de ligação entre as moléculas da solução tem que ser qualitativamente igual à ligação das moléculas das substâncias

individualmente. Em temperatura e pressão constantes, a atividade de água da substância é igual à fração molar de água na solução, e essa fração molar ($X_{\text{água}}$) pode ser determinada por $X_{\text{água}} = n_{\text{água}}/n_{\text{água}} + n_{\text{sóluto}}$, onde em termos coligativos $n_{\text{água}}$ é a fração molar da água e $n_{\text{sóluto}}$ é a fração molar do soluto (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007).

A umidade corresponde ao peso perdido do alimento após o seu aquecimento, onde a água é removida. Outras substâncias que volatilizam também são removidas em determinadas condições e o resíduo obtido do aquecimento direto é conhecido como resíduo seco. O teor de umidade nos alimentos pode ser expresso em base úmida ou seca (FELLOWS, 2006; IAL, 2008). O teor em base seca é mais utilizado para os cálculos de processamento, enquanto o teor em base úmida é relacionado em tabelas de composição nutricional:

$$\% \text{ Umidade base seca: } m = \frac{\text{massa de água}}{\text{massa de sólidos}} \times 100 \quad (3)$$

$$\% \text{ Umidade base úmida: } m = \frac{\text{massa de água}}{\text{massa de amostra}} \times 100 \quad (4)$$

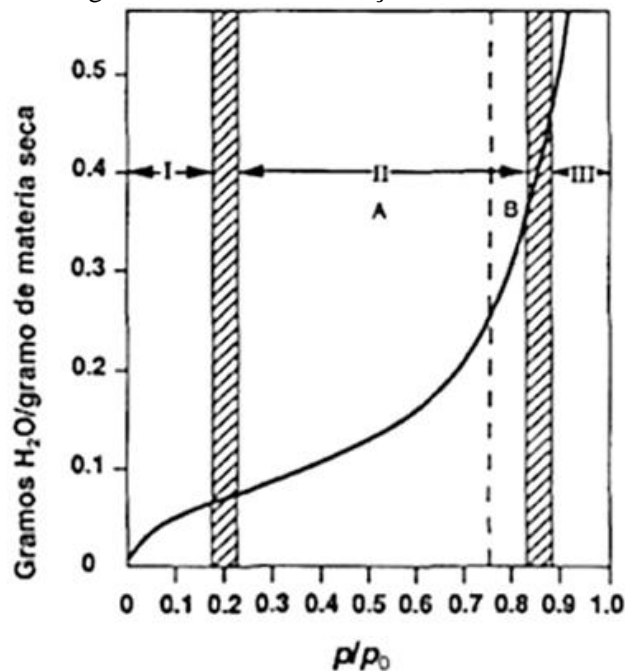
O estudo do ponto crítico do produto (atividade de água e umidade críticas) pode ser realizado por meio das isotermas de sorção ou dessorção de água. A determinação da umidade de equilíbrio é de grande importância para a seleção de embalagens e para o projeto de processos e equipamentos de secagem (FADINI et al., 2006).

3.2 Isotermas

A isoterma de sorção pressupõe ser o único método em alimentos que descreve o equilíbrio entre a atividade da água (a_w) e o teor de umidade expresso em base seca (U_{bs}), de um produto armazenado a uma determinada temperatura. Cada produto tem sua própria isoterma devido às diferentes interações (coligativa, capilaridade, e efeito de superfície) entre a água e os componentes sólidos com diferentes teores de umidade (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007; BELL; LABUZA, 2000). O método mais comum para determinar as isotermas de material alimentar é a técnica gravimétrica. Esta técnica envolve o uso de soluções de ácido sulfúrico, em diferentes concentrações, ou soluções salinas saturadas para manter um ambiente de umidade conhecida e controlada dentro de um recipiente lacrado, em uma condição de temperatura fixa (SPIESS; WOLF, 1983).

Para a melhor compreensão do comportamento de um produto alimentar em toda a gama de umidades relativas a que pode ser submetido ao longo do armazenamento, faz-se necessário estabelecer a isoterma de sorção do vapor de água. A forma da isoterma de sorção pode mudar dependendo do tipo de produto e sua afinidade pela água (MATHLOUTHI, 2001). A representação gráfica da isoterma (FIGURA 1), para os alimentos, são curvas sigmóides que começam em teor de água igual a zero (0,00) e elevam-se até um teor de água igual a 1,00 (SCOTT, 1957).

Figura 1 – Isoterma de sorção de umidade.



Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010).

Na Figura 1, a Zona I corresponde à água fortemente ligada ao substrato, chamada de camada de *BET* (*Brunauer-Emmett-Teller*) ou monocamada; a Zona II refere à água fracamente ligada ao substrato, onde pequenas alterações no teor de água implicam em grandes modificações de a_w ; e a Zona III representa a água absorvida ou capilar, retida em macromoléculas, onde grandes alterações no teor de água não alteram muito a a_w (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Abaixo da Zona I da isoterma, a água presente pode ser considerada fortemente ligada e permanece não congelada mesmo a uma temperatura de $-40\text{ }^\circ\text{C}$, onde se comporta como parte do sólido. No limite superior da Zona I (limite entre as Zonas I e II), o valor da monocamada BET é considerado como a quantidade de água necessária para formar uma monocamada sobre os sítios de

fácil acesso da amostra, que são os grupos altamente polares da matéria seca, ou seja, onde todos os pontos estão, estatisticamente, ocupados por água absorvida e representa o teor de umidade mais estável no alimento. A quantidade de água presente nas Zonas I e II representa menos de 5% da água presente em alimentos de alta umidade. O aumento do teor de água da Zona II para a Zona III promove a hidratação das macromoléculas individuais, como exemplo, as proteínas globulares. Para o crescimento microbiano e atividade enzimática somente a água livre está disponível como solvente, a qual pode também ser congelada (FELLOWS, 2006; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

3.3 Atividade de água nos alimentos

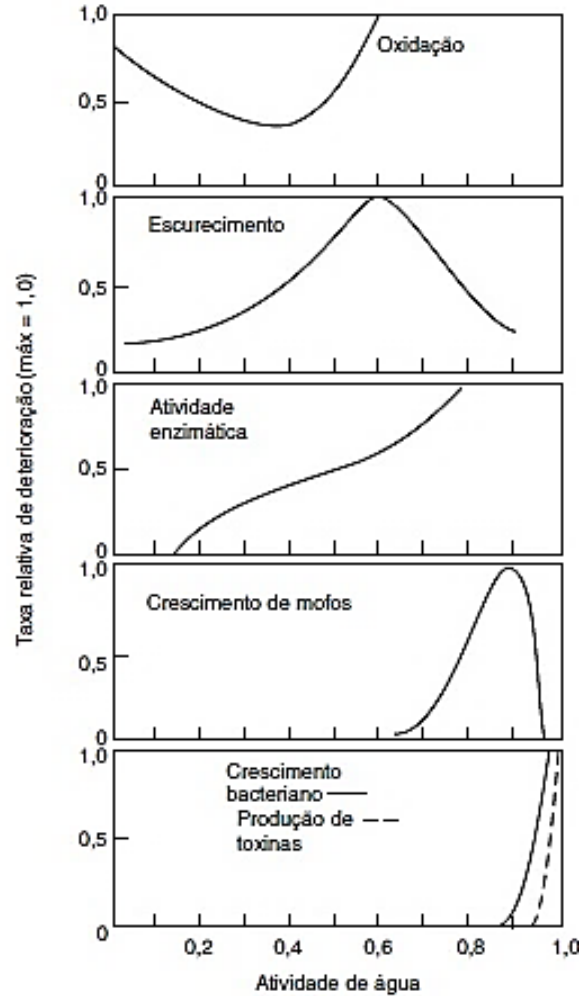
A determinação do teor de água, independentemente da precisão do método analítico, não é suficientemente informativa quanto à estabilidade do produto investigado. A atividade de água traz um complemento de informação, uma vez que representa a água disponível para as reações de degradação. O porquê de determinados produtos serem mais estáveis do que outros, a uma mesma a_w , relaciona-se com as interações (hidrofílicas e hidrofóbicas) existentes entre a água e os componentes do alimento e com o efeito das moléculas solúveis do alimento na ligação de hidrogénio em água solvente (MATHLOUTHI, 2001).

O valor máximo da atividade de água é igual a 1,00 na água pura. Alimentos com valores de atividade de água altos, acima de 0,90, apresentam grande chance de sofrer contaminação microbiológica, uma vez que as soluções diluídas dos alimentos servem de substrato para o crescimento de microrganismos. Para valores menores, entre 0,40-0,80, as reações químicas e enzimáticas são favorecidas, devido ao aumento da concentração dos reagentes. Quase toda atividade microbiana é inibida abaixo de 0,60, e a maioria dos

fungos, das leveduras e das bactérias apresenta inibição em valores de a_w abaixo de 0,7, de 0,8 e de 0,9, respectivamente. Quando a atividade de água alcança valores inferiores a 0,30 atinge-se a zona de adsorção primária, na qual não há dissolução dos componentes do alimento pela água, o que reduz a velocidade das reações. Com exceção da reação de oxidação lipídica, visto que esta pode ocorrer tanto em baixa a_w , por meio da ação dos radicais livres, quanto em elevadas a_w , onde a estrutura do alimento incha e, conseqüentemente, expõe pontos mais reativos (FELLOWS, 2006). Os efeitos da atividade de água em reações biológicas e microbiológicas são representados na Figura 2.

A concentração e o tipo de soluto presente no sistema alimentar têm importante influência no valor de a_w . Produtos com elevada concentração de açúcar apresentam maior vida útil, devido à capacidade da sacarose de reduzir a a_w para um nível em que o crescimento microbiano e as reações químicas indesejadas são retardados. Geralmente, de acordo com a Lei de *Raoult's* da fração molar, o aumento da quantidade de soluto em um sistema alimentar deve resultar, idealmente, em uma diminuição previsível de a_w . No entanto, muitos solutos, incluindo a sacarose, não seguem a Lei de *Raoult's*. Interações de várias propriedades alimentares podem explicar esse fenômeno, por exemplo, a adição de ácidos em um sistema contendo sacarose provoca a inversão do açúcar, e a sacarose invertida apresenta maior capacidade de reduzir a a_w nos alimentos do que a sacarose sozinha (FENNEMA, 1996; GABRIEL, 2008; JAY, 2000).

Figura 2 – Efeito da atividade de água nas alterações microbianas, enzimáticas e químicas nos alimentos.



Fonte: Karel (1975).

A interação da a_w com a temperatura, pH, oxigênio e dióxido de carbono ou conservantes químicos apresentam importante efeito na inibição do crescimento microbiano (TABELA 1). Quando qualquer uma das outras condições ambientais é subótima para um determinado microrganismo, o efeito da a_w reduzida aumenta a conservação. Isso permite a combinação de vários

mecanismos de controle mais suaves, que resultam na preservação do alimento sem perdas substanciais do valor nutricional ou características sensoriais (FELLOWS, 2006).

Tabela 1 – Interação da a_w , do pH e da temperatura em alguns alimentos.

Alimento	pH	a_w	Vida útil	Observações
Carne fresca	> 4,5	> 0,95	Dias	Conservada por refrigeração
Carne cozida	> 4,5	> 0,95	Semanas	Armazenagem ambiente embalada
Salsicha seca	> 4,5	< 0,90	Meses	Conservada por sal e a baixa a_w
Hortaliças frescas	> 4,5	> 0,95	Semanas	“Estável” enquanto respirar
Picles	< 4,5	> 0,90	Meses	Baixo pH mantido por embalagem
Pão	> 4,5	> 0,95	Dias	
Bolo de frutas	> 4,5	< 0,90	Semanas	Conservado por calor e baixa a_w
Bolo de frutas	> 4,5	< 0,90	Semanas	Conservado por calor e baixa a_w
Leite	> 4,5	> 0,95	Dias	Conservado por refrigeração
Leite Iogurte	< 4,5	< 0,95	Semanas	Refrigerado e baixo pH
Leite em pó	> 4,5	< 0,90	Meses	Conservado por baixo pH

Fonte: Fellows (2006).

3.4 Influência da temperatura na atividade de água

A diminuição da temperatura provoca redução na atividade de água dos alimentos (RÖDEL, 2001). Estudo realizado por Krispien e Rödel (1976), revelou que, se carnes e produtos à base de carne forem arrefecidos a partir de 25°C até a gama refrigerada e congelada, ocorre uma redução no nível de a_w . Em temperaturas acima do início do congelamento, a diminuição do nível de a_w é insignificante (~ 0,00015 por K), enquanto que abaixo deste ponto a diminuição é considerável (~ 0,008 por K) (TABELA 2).

Tabela 2 – Atividade de água da carne em temperaturas de congelamento.

Temperatura (°C)	a_w
-1	0.990
-2	0.981
-3	0.971
-4	0.962
-5	0.953
-6	0.943
-7	0.934
-8	0.925
-9	0.916
-10	0.907
-11	0.899
-12	0.889
-13	0.881
-14	0.873
-15	0.864
-16	0.856
-17	0.847
-18	0.839
-19	0.831
-20	0.823
-21	0.815
-22	0.807
-23	0.799
-24	0.792
-25	0.784
-26	0.776
-27	0.769
-28	0.761
-29	0.754
-30	0.746

Fonte: Rödel (2001).

Em temperatura acima do ponto de congelamento em que a a_w é medida não faz diferença, uma vez que o efeito da temperatura nas relações de pressão de vapor é muito pequeno. Assim, faz-se necessário apenas garantir que a calibração e a medição da amostra ocorram sob as mesmas temperaturas. A temperatura de medição de 25°C provou-se prática, já que há muita informação

na literatura sobre referências de calibração a essa temperatura (RÖDEL, 2001). A Tabela 3 ilustra os processos em temperaturas decrescentes para carne e produtos cárneos.

Tabela 3 – Atividade de água da carne e dos produtos à base de carne a temperaturas de congelamento.

a _w de derivados da carne				
Temperatura (°C)	Carne fresca	Salsicha bolonha	Salsicha de fígado	Salsicha fermentada
25	0.993	0.980	0.970	0.870
5	0.993	0.980	0.970	0.870
0	0.993	0.980	0.970	0.870
-1	0.993	0.980	0.970	0.870
-2	0.981	0.981	0.970	0.870
-3	0.971	0.971	0.970	0.870
-4	0.962	0.962	0.962	0.870
-5	0.953	0.953	0.953	0.870
-10	0.907	0.907	0.907	0.870
-15	0.864	0.864	0.864	0.864
-20	0.823	0.823	0.823	0.823

Fonte: Rödel e Krispien (1977).

3.5 Metodologias para determinação de atividade de água

Para a obtenção do valor de atividade de água com precisão, alguns parâmetros devem ser seguidos: técnicas de medição, calibração da técnica, estabilidade da temperatura durante o processo, vapor de equilíbrio e preparo da amostra. Independentemente da escolha do método para medir a a_w, instrumentos de calibração devem ser verificados antes da análise de cada amostra. Existem diversas técnicas de determinação da a_w, no entanto, todos os métodos empregados requerem fontes padrões de referência de pressão de vapor na faixa de interesse para a calibração do equipamento. Para tanto, são utilizadas soluções salinas com a_w na faixa de 0,10 até 1,00 e o método aplicado pode ser direto ou indireto (ROOS; MORAES; SALLE, 2004).

3.5.1 Higrômetros de rosca

O método é baseado na higroscopicidade da rosca de poliamida, que reage a um aumento da umidade causando seu alongamento visível. A alteração no comprimento da rosca, que se encontra dentro do acessório, é convertida para uma escala em um indicador a partir de um eixo. A amostra é acondicionada em um recipiente que é ligado ao sistema de medição por meio de um mecanismo de alavanca. O tempo necessário para medição com este instrumento é por volta de 3 a 4 horas e requer temperatura constante. A precisão do instrumento é de 0,01 a_w e a reprodutibilidade é também de 0,01 a_w a uma temperatura constante de 25°C, com um período de equilíbrio suficiente e utilizando um procedimento adsortivo. Os alimentos que contêm glicerina ou compostos orgânicos voláteis semelhantes não podem ser medidos por este equipamento (RÖDEL, 2001).

3.5.2 Higrômetros elétricos

Higrômetros elétricos subdividem-se em duas categorias: capacitância ou sensores de tipo resistência. Ambos trabalham com o mesmo princípio, no qual um material ou uma película de sal ou uma película de polímero de propriedade higroscópica altera sua resposta elétrica em função da umidade relativa. Esse tipo de sensor pode ser calibrado para converter a resistência ou capacitância em valores de unidade de atividade de água. Nesses instrumentos, a amostra permanece selada dentro de uma câmara com o sensor, além disso, a amostra, o ar e o sensor devem estar em equilíbrio térmico para medições precisas de a_w (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007).

3.5.3 Higrômetro de ponto de orvalho

O método de medição da temperatura do ponto de orvalho pode ser utilizado para determinar a atividade de água, tal equipamento é constituído de: uma câmara onde é medida a temperatura do ar; um dispositivo de circulação de ar posicionado dentro da câmara; um sensor para medir a temperatura da amostra; e um desviador para fazer com que o ar que circula dentro da câmara interfira diretamente no sensor de umidade relativa (CAMPBELL; LEWIS, 1988). A amostra é equilibrada com o espaço superior da câmara selada que contém um espelho e um sensor de detecção do ponto de orvalho. No equilíbrio, a umidade relativa do ar na câmara é a mesma da atividade da água da amostra. A temperatura do espelho é precisamente controlada por um refrigerador termoelétrico (*Peltier*). A detecção do ponto exato em que a condensação aparece pela primeira vez no espelho é observada com uma célula fotoelétrica. Um feixe de luz é direcionado para o espelho e refletido em uma célula fotodetectora. O detector fotográfico detecta a alteração na refletância quando ocorre condensação no espelho. Um termopar ligado ao espelho registra a temperatura onde ocorre a condensação e exibe a atividade de água final e a temperatura de análise (DECAGON DEVICES, 2017).

3.5.4 Sensor Diodo Laser Sintonizável (TDL)

O sensor do TDL mede a umidade relativa do ar na câmara de amostra emitindo um feixe de *laser* infravermelho finamente sintonizado, quando cruza o espaço vazio acima da amostra. Em razão do vapor de água ter uma forte absorção na banda do infravermelho próximo (NIR), o sensor pode medir precisamente a presença do vapor de água no espaço vazio.

3.6 Soluções salinas

3.6.1 Uso de soluções salinas

Dois tipos de soluções salinas (saturadas/insaturadas) podem ser utilizados para promover a calibração da metodologia de medição de atividade de água. As soluções saturadas podem ser preparadas sem o auxílio de uma balança, uma vez que se deve adicionar o sal em um volume fixo de água destilada e agitar até que todo sal se dissolva, em seguida, adiciona-se mais sal até a formação de uma pasta no fundo do recipiente. Cuidados devem ser tomados para que a amostra não absorva umidade, portanto, é necessário mantê-la tampada. A maioria das soluções salinas apresenta decréscimo no valor de a_w com o aumento da temperatura, devido ao aumento da solubilidade em altas temperaturas (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007). De acordo com Labuza, Kaanane e Chen (1985), a atividade de água de soluções salinas saturadas pode ser calculada a partir da equação:

$$A_w = \exp\left(\frac{k_1}{T - k_2}\right) \quad (5)$$

Onde T (K) é a temperatura e k_1 e k_2 ($W.m^{-1}.K^{-1}$) são os coeficientes empíricos específicos para cada sal. A Tabela 4, demonstra os valores de a_w em função da temperatura.

Tabela 4 – Variação da atividade de água (a_w) em soluções salinas saturadas em função da temperatura.

Temperatura (°C)	Cloreto de Lítio	Cloreto de magnésio	Acetato de potássio
10	0,113 ± 0,004	0,335 ± 0,002	0,234 ± 0,005
15	0,113 ± 0,004	0,333 ± 0,002	0,234 ± 0,003
20	0,113 ± 0,003	0,331 ± 0,002	0,231 ± 0,003
25	0,113 ± 0,003	0,328 ± 0,002	0,225 ± 0,003
30	0,113 ± 0,002	0,324 ± 0,001	0,216 ± 0,005
35	0,113 ± 0,002	0,321 ± 0,001	-----
40	0,112 ± 0,002	0,316 ± 0,001	-----

Fonte: Greenspan (1977).

Soluções insaturadas são utilizadas para padrões de calibração, em razão de serem preparadas em uma gama de valores de atividade de água e as amostras medidas a uma determinada a_w podem ser empregadas como padrões de sal para verificar a precisão da medição nesse intervalo. Os dados da Tabela 5 mostram os valores de a_w de soluções insaturadas a 25°C.

Tabela 5 – Atividade água (a_w) de soluções salinas insaturadas a 25°C.

Concentração molar (mol/L)	Cloreto de Lítio	Hidróxido de Potássio	Hidróxido de sódio
2	0,921	0,922	0,930
4	0,812	0,866	0,842
6	0,679	0,699	0,734
8	0,539	0,569	0,612
10	0,412	0,450	0,488
12	0,307	0,376	0,376

Fonte: Barbosa-Canovas et al. (2007).

Modelos para correlacionar e prever a atividade de água em soluções aquosas de solutos únicos e múltiplos, incluindo eletrólitos, importantes para o processamento osmótico de alimentos possuem elevada relevância. As previsões da atividade de água, em soluções aquosas, podem ser feitas com desvios relativos médios inferiores a 2%, onde este valor é da mesma ordem ou em

alguns casos menor que o erro típico da instrumentação atual disponível para medir a atividade de água (SERENO et al., 2001).

Conforme descrito por Greenspan (1977), o controle adequado da umidade num espaço de trabalho se faz necessário para calibrar um ensaio e o condicionamento do material. Comumente são utilizados métodos com precisão, como um gerador de umidade ou o equilíbrio de um espaço fechado contendo um sistema químico que produz a pressão de vapor de equilíbrio desejada. Os geradores de umidade tendem a ser caros e complexos, enquanto que o equilíbrio com os sistemas químicos que fornecem pontos fixos é um método relativamente barato e simples de controle de umidade.

Resnik et al. (1984), realizaram um levantamento de dados a partir de uma pesquisa mundial sobre soluções de sais saturados a 25°C utilizadas como padrões na faixa de a_w de 0,57 a 0,97, por apresentar maior interesse para o crescimento microbiano. Os resultados encontrados confirmaram as discrepâncias entre os laboratórios quanto à a_w correta relativa a cada sal (TABELA 6). O levantamento foi limitado a 25°C, temperatura na qual são realizados os experimentos, contudo era esperado que as discrepâncias fossem ainda maiores se outras temperaturas tivessem sido consideradas. Valores de a_w atribuídos aos mesmos sais à temperatura de 20°C foram solicitados aos investigadores, no entanto, o número de respostas para 20°C foi muito menor do que para 25°C e, portanto, não foram considerados na pesquisa.

Tabela 6 – Lista acumulada valores de a_w fornecidos por diferentes laboratórios a 25°C.

NaBr	NaCl	(NH ₄) ₂ SO ₄	KCl	BaCl ₂ · 2H ₂ O	KNO ₃	K ₂ SO ₄
0.58	0.75	0.80	0.85	0.90	0.92	0.965
0.57	0.76	0.79	0.86	0.903	0.93	0.9730
0.5757	0.75	0.7997	0.85	0.9026	0.9358	0.969
0.5770	0.7529	0.8099	0.8034	0.903	0.920	0.969
0.577	0.7521	0.8099	0.8434	0.903	0.920	0.969
0.5757	0.753	0.810	0.843	0.902	0.9358	0.97
0.5757	0.7529	0.802	0.8434	0.902	0.925	0.970
0.577	0.753	0.8099	0.8434	0.9019	0.936	0.970
0.577	0.750	0.800	0.843	0.902	0.9248	0.969
0.5757	0.753	0.802	0.843	0.902	0.925	0.97
0.577	0.753	0.7997	0.8426	0.9026	0.936	0.9760
0.577	0.7528	0.810	0.8434	0.903	0.9248	0.97
0.5770	0.753	0.802	0.843	0.9019	0.9248	0.973
0.5770	0.753	0.80	0.843	0.904	0.925	0.9750
0.576	0.753	0.7997	0.8426	0.90	0.936	0.97
0.57	0.751	0.810	0.8434	0.9017	0.93	0.977
0.577	0.7528	0.79	0.843	0.902	0.9248	0.970
0.577	0.753	0.803	0.843	0.90	0.936	0.973
0.5773	0.75	0.800	0.843	0.9019	0.93	0.9730
0.58	0.7528	0.7997	0.842	0.903	0.9248	0.969
0.567	0.7528	0.79	0.8426	0.9019	0.93	0.973
0.57	0.75	0.80	0.845	0.90	0.9258	0.9730
0.57	0.753	0.8099	0.8426	0.90	0.926	0.9730
0.57	0.7528	0.802	0.843	0.902	0.925	0.969
0.575	0.75	0.82	0.86	0.903	0.92	0.9730
0.56	0.75	0.800	0.8426	0.91	0.93	0.969
	0.753	0.80	0.84	0.90	0.93	0.97
	0.7528	0.79	0.84	0.902	0.925	0.97
	0.75	0.800	0.845			0.964
	0.75	0.801	0.8424			
	0.752	0.806	0.843			
	0.7529		0.843			
	0.752		0.84			
	0.7529		0.86			
	0.752		0.845			
	0.78		0.846			
	0.7532					

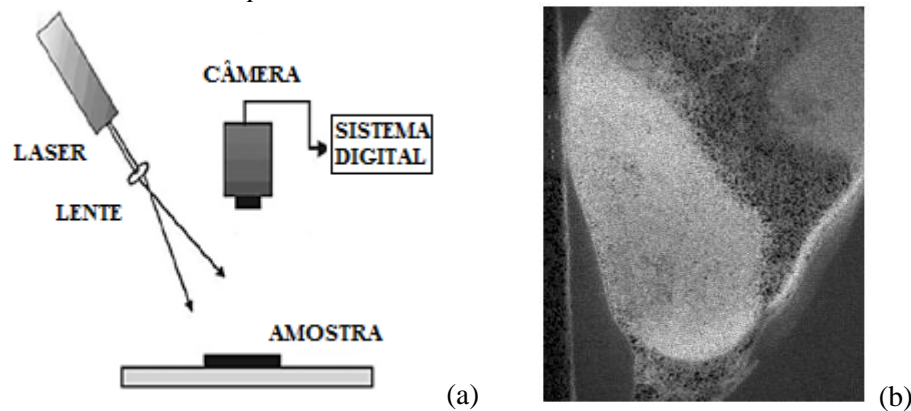
Fonte: Resnik et al. (1984).

3.7 *Biospeckle laser*

O *speckle laser* é um fenômeno óptico que ocorre quando a luz coerente do *laser* interage com um meio de dispersão aleatório, onde um fotodetector recebe a luz que se dispersa a partir de variadas posições dentro do meio, fazendo com que a superfície fique coberta por uma estrutura granular fina. Quando esta luz dispersa é fotografada na câmera, é possível notar que a interferência varia aleatoriamente no espaço, produzindo um padrão de intensidade aleatoriamente variável (BOAS; DUNN, 2010; RABAL; BRAGA, 2008). Esta imagem granulada evolui com o tempo, quando há alguma atividade física, química ou biológica na superfície iluminada. A dinâmica do fenômeno observado é denominada "ebulição" devido à sua aparência, onde os grãos desaparecem e reaparecem sem qualquer deslocamento significativo e esta atividade é denominada *speckle* dinâmico (TODOROVICH et al., 2013). Baseado no monitoramento de mudanças nos padrões de interferência da iluminação pelo *laser* em uma superfície, o movimento de dispersões da luz pode estar dentro das células ou externas a elas. Na maioria dos casos o nível de atividade está relacionado com o grau de umidade ou com a atividade de água (CARDOSO et al., 2011).

O termo "atividade biológica", expresso no contexto do *speckle*, não apresenta uma definição precisa e é entendido como o resultado de fenômenos como o efeito *Doppler*, movimento browniano, variações do índice de refração, movimentos estruturais e moleculares que ocorrem no material analisado (RIBEIRO et al., 2014). A técnica do *biospeckle laser* (FIGURA 3) por ser não destrutiva, pode ser empregada para analisar biomateriais. Baseado no fenômeno óptico que ocorre durante a iluminação da amostra por uma luz coerente, os raios dispersos interferem uns com os outros e formam padrões aleatórios granulares que consistem em pontos escuros e brilhantes (SZYMANSKA-CHARGOT; ADAMIAK; ZDUNEK, 2012; BRAGA et al., 2009).

Figura 3 – (a) Esquema do *Speckle Laser* e (b) Semente de milho processada com o *Biospeckle*.



Fonte: (a) Todorovich et al. (2013), (b) Braga Júnior et al. (2001).

3.7.1 Métodos de análise

A quantificação do fenômeno do *biospeckle* é realizada por técnicas de processamento de imagem e tratamento estatístico, uma vez que a observação visual direta não permite tal feito. A análise pode ser dividida em duas partes: análise gráfica, que resulta em mapas de variabilidade espacial do nível de atividade destacando os métodos de Fujii (FUJII et al., 1987) e Diferenças Generalizadas (DG) (ARIZAGA; TRIVI; RABAL, 1999), e a análise numérica, que resulta em números relacionados com a atividade de ebulição por meio de técnicas como o Momento de Inércia, o Método do Contraste e a Autocorrelação (RABAL; BRAGA, 2008).

3.7.1.1 Método do Contraste

Proposto por Briers e Webster (1996), o contraste é uma metodologia de análise do padrão de *speckle*, também conhecida como LASCA (*Laser Speckle Contrast Analysis*), que proporciona um resultado *on-line* (em tempo real)

utilizando apenas uma imagem para indicar o nível de atividade do material iluminado. Na amostra iluminada pelo *laser*, o padrão de *speckle* em uma região com alguma atividade será borrado, em virtude do tempo de exposição da fotografia promover a integração da luz que atinge a câmera, fornecendo menor valor de contraste. Em uma área com ausência de atividade o padrão de *speckle* fornecerá grãos bem definidos e, portanto, com alto valor de contraste (GODINHO, 2012).

A quantificação do contraste é realizada pela razão entre o desvio padrão e a média das intensidades (filtro passa-baixas) registradas para cada *pixel* da janela deslizante (GONZALEZ; WOODS, 2008). Na mesma sequência do deslizamento da janela o valor desse contraste é atribuído a um *pixel* de uma nova imagem, repetindo o processo para cada passo do deslizamento. Essa imagem é um mapa de cores falsas do contraste do *speckle* e, portanto, um mapeamento da atividade da amostra que está sendo analisada. O tempo de exposição pode ser muito curto na prática, geralmente 0,02 segundos, e o tempo de processamento é inferior a um (1,00) segundo para todo o quadro (BRIERS, 2007). O contraste do *speckle* é dado por:

$$K = \left(1 - \frac{\sigma_s}{\langle I \rangle}\right) \quad (6)$$

Onde K é o contraste resultante, σ_s é o desvio padrão e $\langle I \rangle$ a média da intensidade da janela deslizante. Os valores para o contraste teoricamente estão entre 0 e 1, desde que o padrão do *speckle* esteja totalmente desenvolvido. Um contraste de salpico espacial de 1,00 indica que não há desfocagem do padrão do *speckle* e, portanto, nenhum movimento. No entanto, um contraste do *speckle* de zero (0,00) significa que os espalhadores estão se movendo rápido o suficiente para desfocar todos os *speckles* (BRIERS, 2007).

4 MATERIAIS E METODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Refrigeração de Alimentos no Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), em parceria com o Centro de Desenvolvimento de Instrumentação Aplicada à Agropecuária (CEDIA) do Departamento de Engenharia (DEG), ambos situados na Universidade Federal de Lavras (UFLA), para aplicação da técnica do *biospeckle laser* e seus métodos de processamento de imagens.

4.1 Calibração do *biospeckle laser*

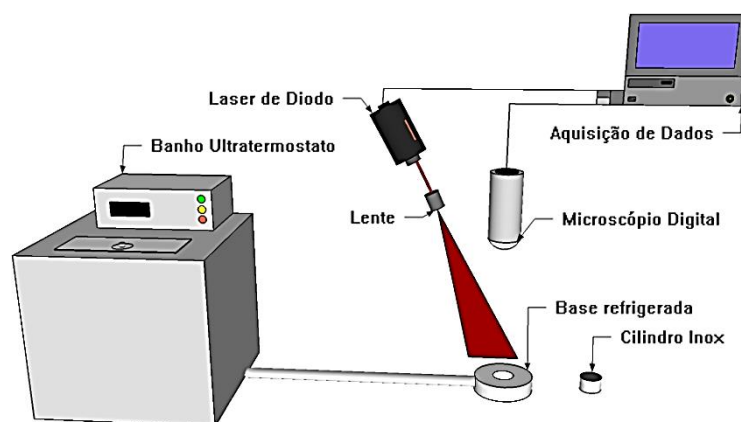
Para obtenção das imagens registradas com o *biospeckle laser* foram realizados ensaios, no intuito de conseguir um padrão *speckle* capaz de diferenciar as soluções salinas com melhor discrepância. Soluções salinas são empregadas em diversas metodologias de análise de atividade água para calibrar equipamentos (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007), e também neste trabalho foram estudadas na tentativa de calibrar o aparato.

4.2 Montagem do equipamento

O aparato experimental, representado pela Figura 4, é integrado por: (I) *laser* de diodo (Coherent, modelo M202210138, Wilsonville, USA) com comprimento de onda 635 nm e potência de 5 mW, que projeta a luz coerente através de uma lente promovendo a ampliação da área de cobertura da luz; (II) microscópio digital (*Dino-lite*, modelo AM7515MZT, Roanoke, USA) sem filtro polarizador utilizado para o registro das imagens por meio do software *Speckle Tool* v 1.2 (UFLA, Lavras, Brasil, 2012) no sistema de aquisição de dados; e (III) banho ultratermostato (Nova Ética, modelo 521/3DE, Vargem Grande

Paulista, Brasil), para a estabilização da temperatura. A estabilização foi feita pela passagem do fluido refrigerante no interior de uma peça construída de aço inoxidável, no formato de toroide. As amostras foram colocadas em uma célula cilíndrica pintada de branco e acoplada no centro da peça.

Figura 4 – Aparato experimental.



Fonte: Do autor (2017).

As imagens foram registradas em uma sala com temperatura controlada de 20°C, sem interferência de luz externa. Para cada amostra foram registradas 128 imagens com o software *Speckle Tool* v 1.2 (UFLA, Lavras, Brasil, 2012) sendo que as imagens eram analisadas no programa GNU *Octave* 4.0.0 (EATON et al., 2015) eram iniciadas a partir da 21ª imagem, em razão das imagens iniciais serem usadas para a adaptação à luminosidade de sistema.

O programa *Octave* fornece por meio das imagens, de cada amostra iluminada pelo *laser*, os valores de: AVD (diferenças dos valores absolutos), Média (*mean*), Desvio padrão (SD) e Contraste. Nos pré-testes, realizados dentre os parâmetros fornecidos pelo programa, o contraste apresentou melhores valores em relação à variação da concentração das soluções salinas e, portanto, foi adotado como método padrão de análise.

4.3 Preparo das soluções

As soluções utilizadas no experimento foram soluções de cloreto de lítio, cloreto de sódio, cloreto de magnésio e uma solução modelo de água, sacarose e pectina simulando uma polpa de fruta concentrada. As soluções de cloreto de lítio foram preparadas com água destilada nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 19 mol/L fornecendo uma faixa ampla entre os valores de atividade de água. As soluções de cloreto de magnésio e cloreto de sódio foram preparadas nas porcentagens (g/100 g de solução %) nos valores de 4%, 8%, 12%, 16%, 20% e 24%, com a mesma proposta de fornecer maior discrepância dos valores de atividade água. A solução modelo foi preparada com 1% de pectina em todas as formulações e sacarose nas concentrações de 10%, 20%, 30%, 40%, 50% e 60% (g/100 g de solução %). Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro âmbar refrigeradas à temperatura de 8°C. Os frascos contendo as soluções após a retirada das amostras eram imediatamente fechados para evitar alterações nos valores das atividades de água.

4.4 Aplicação da técnica

As amostras foram registradas dentro da célula, utilizando 2,5 ml de volume de cada solução, enquanto o fluido refrigerante mantinha a temperatura do sistema em equilíbrio na base de transferência de calor. Os frascos contendo as amostras foram armazenados imersos no fluido refrigerante dentro do banho, permitindo que as análises fossem realizadas na mesma temperatura da base de análise pelo *biospeckle laser*.

As amostras das soluções foram preparadas em triplicata e suas atividades de água foram mensuradas em um higrômetro de ponto de orvalho (Aqualab Decagon Devices, modelo 3TE, Washington, USA). Para comparação entre os valores de atividade de água das soluções obtidas pelo higrômetro de

ponto de orvalho e os valores obtidos pelas equações teóricas, foi utilizada uma tabela de valores da atividade de água de acordo com Rouweler (2016).

Robinson e Stokes (1965), para calcular a atividade de água de soluções insaturadas usaram a equação de *Pitzer*:

$$a_w = (v\phi cM_w) \quad (7)$$

Onde v é o número de íons no sal, ϕ é o coeficiente osmótico, c é a concentração molar do sal (mol.L^{-1}), e M é a massa molar da água (g.mol^{-1}). Para determinação dos valores de atividade de água das soluções modelo foi usada a equação de *Norrish*:

$$a_w = X_w 10^{[-k(1-X_w)^2]} \quad (8)$$

Onde k é constante, dependendo do tipo de componente dissolvido e x_w é a fração molar na solução.

Os alimentos utilizados no estudo foram: açúcar, amido de milho, arroz cru, aveia, canjica grossa, farinha de trigo, fubá grosso, mel, óleo de milho e cloreto de sódio tiveram a atividade de água determinada pelo higrômetro de ponto de orvalho, para posterior comparação com o valor ajustado.

4.5 Análise estatística

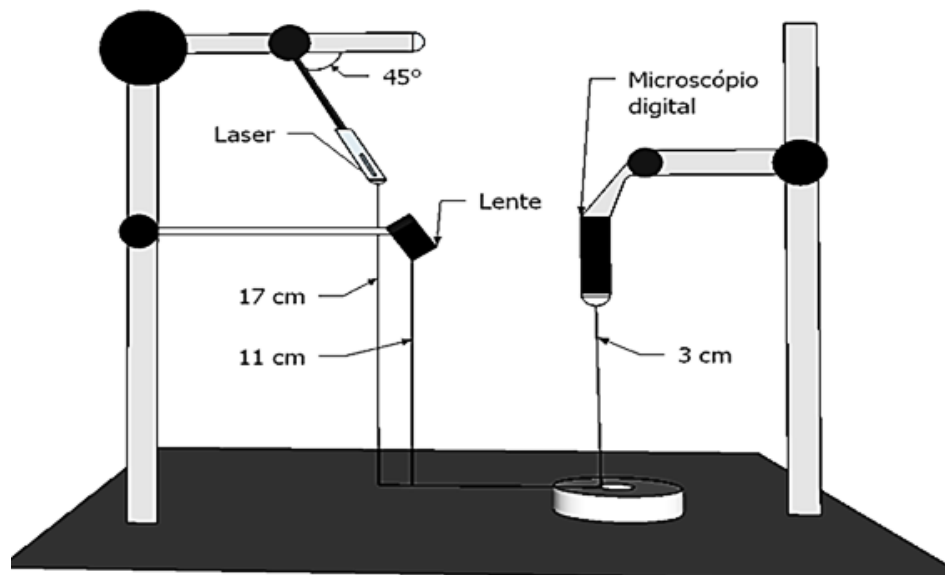
Os resultados dos valores do contraste em função da atividade de água e da concentração em função da atividade de água foram analisados usando o *software* Origin 8.0 (Origin Lab Inc., Northampton, MA) que utiliza métodos de regressão para ajustes dos dados. Os resultados obtidos para as soluções de LiCl e solução modelo foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de média (*Scott-Knott*, $p < 0,05$) por meio do pacote estatístico *Statistical Analysis System* 9.1.2 (SAS Institute Inc., Cary, USA., 2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Calibração do aparelho

As variáveis ajustadas para registros das imagens foram: a distância do *laser*, a distância da lente e a distância do microscópio digital, consideradas a partir da parte inferior de cada item até a superfície da amostra (FIGURA 5).

Figura 5 – Distâncias das partes inferiores dos objetos até a superfície da amostra.

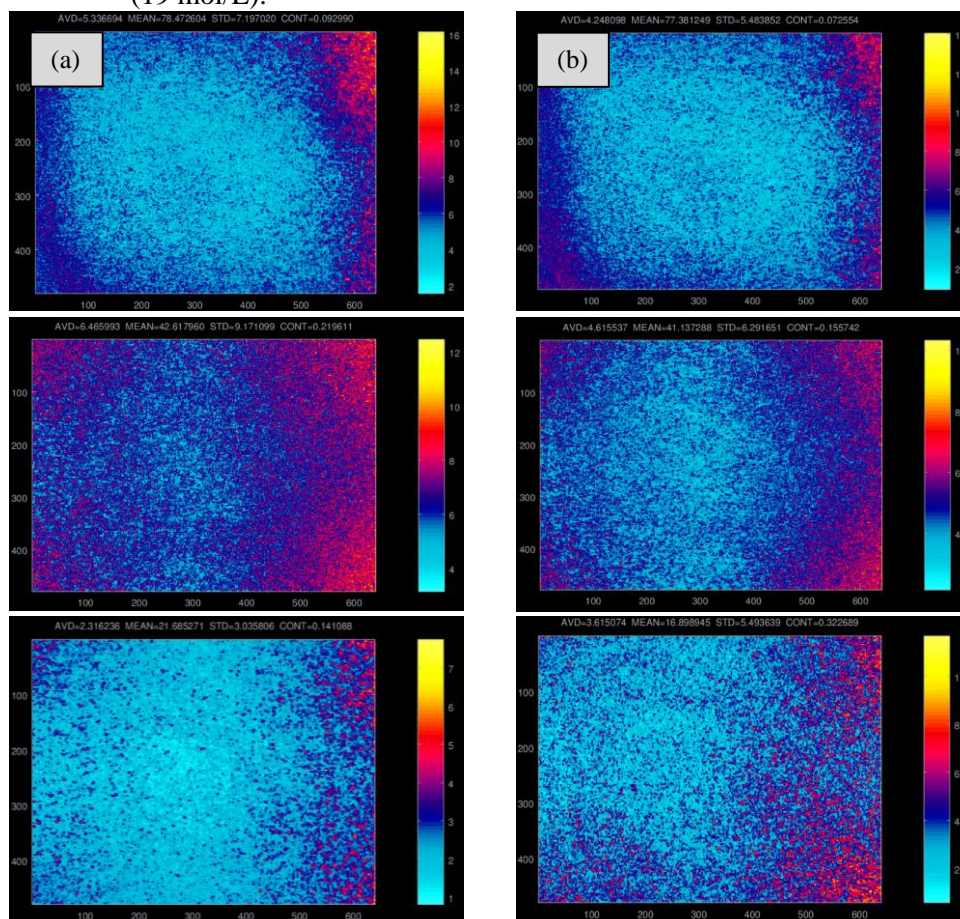


Fonte: Do autor (2017).

As soluções de cloreto de lítio, por apresentar a maior faixa de valores de atividade de água em função da concentração, foi a escolhida para verificar o *zoom* mais aplicável, a fim de diferenciar com maior discrepância os contrastes analisados das soluções de 2 mol/L e 19 mol/L a uma temperatura de 25°C com os respectivos valores de a_w de 0,931 e 0,124 (TABELA 7). A intenção de obter

maior discrepância entre essas duas soluções é fornecer uma maior faixa de valores de contrastes possíveis para correlação com os produtos analisados no experimento pela mesma técnica. As diferenças apresentadas nos respectivos *zooms* aplicados (80x, 160x e 230x) estão demonstradas na Figura 6.

Figura 6 – Imagens do padrão *speckle*: coluna (a) (*zoom* 80x, 160x e 230x para LiCl (2mol/L) e coluna (b) (*zoom* 80x, 160x e 230x para LiCl (19 mol/L).



Fonte: Do autor (2017).

Tabela 7 – Calibração do *biospeckle laser* com a solução de cloreto de lítio nas concentrações de 2 e 19 mol/L com ajuste do *zoom* em 80, 160, 230x a 25°C.

Concentração (mol/L)	a_w	Contraste		
		Zoom 80x (\pm SD)	Zoom 160x (\pm SD)	Zoom 230x (\pm SD)
2	0,931	0,916887 ($\pm 0,009$)	0,791897 ($\pm 0,015$)	0,849773 ($\pm 0,012$)
19	0,124	0,929017 ($\pm 0,003$)	0,825343 ($\pm 0,016$)	0,67232 ($\pm 0,007$)

Fonte: Do autor (2017).

De acordo com os valores dos contrastes das soluções de 2 mol/L e 19 mol/L o *zoom* de 230x foi o que diferenciou com maior discrepância as duas soluções, sendo assim foi escolhido para aplicação no experimento.

Após a calibração do aparato, as soluções de cloreto de sódio, cloreto de magnésio e cloreto de lítio foram analisadas para determinar qual dentre elas seria a escolhida para aplicação no trabalho. Na Tabela 8, estão representados os valores do contraste das soluções salinas, os quais foram utilizados para a determinação da melhor solução que seria empregada no experimento.

Tabela 8 – Valores do contraste das soluções de NaCl, MgCl₂ (g/100 g de solução) e LiCl (mol/L) em função da atividade de água, com zoom de 230x a 20°C.

NaCl			
Concentração	a_w ¹	Contraste	SD
4	0,9765	0,883904	0,007
8	0,9501	0,892719	0,027
12	0,9193	0,854117	0,014
16	0,8832	0,800767	0,031
20	0,8404	0,814503	0,010
24	0,7898	0,859875	0,004
MgCl ₂			
Concentração	a_w ¹	Contraste	SD
4	0,9783	0,840167	0,011
8	0,9484	0,885650	0,006
12	0,9065	0,860773	0,003
16	0,8497	0,883849	0,003
20	0,7758	0,868530	0,002
24	0,6845	0,899116	0,013
LiCl			
Concentração	a_w ¹	Contraste	SD
2	0,931	0,839308	0,012
4	0,804	0,811058	0,013
6	0,640	0,822568	0,004
8	0,455	0,803474	0,026
10	0,302	0,791671	0,005
19	0,124	0,641164	0,010

Fonte: Do autor (2017) e ¹Rouweler (2016).

Com os resultados dos valores do contraste em função da atividade de água as soluções de cloreto de lítio foram definidas para serem aplicadas no presente estudo como padrão, por apresentarem os melhores resultados na diferenciação dentre as soluções na temperatura de 20 °C, a fim de correlacionar a técnica do *biospeckle laser* por meio do método de análise de contraste com a atividade de água de alimentos.

5.2 Atividade de água das soluções de LiCl e solução modelo

A Tabela 9 apresenta os valores de atividade de água das soluções de cloreto de lítio e das soluções modelo mensuradas pelo higrômetro de ponto de orvalho comparados com os modelos de *Pitzer* para o cloreto de lítio e de *Norrish* para solução modelo (ROUWELER, 2016).

Tabela 9 – Valores médios das atividades de água em função da concentração para as soluções de cloreto de lítio e soluções modelo.

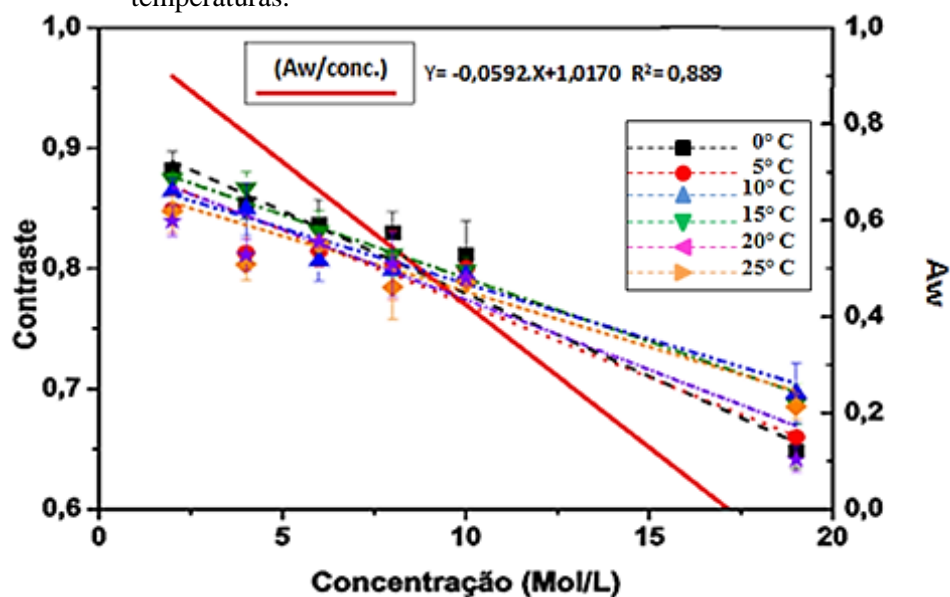
Solução de cloreto de lítio			
Concentração (mol/L)	a _w média (± SD)	a _w (<i>Pitzer</i>) ¹	erro
2	0,931 (±0,001)	0,921	0,010
4	0,805 (±0,004)	0,814	0,010
6	0,640 (±0,005)	0,684	0,044
8	0,455 (±0,003)	0,544	0,089
10	0,302 (±0,001)	0,407	0,105
19	0,124 (±0,002)	0,147	0,023
Solução modelo			
Concentração (g/100 g de solução)	a _w média (± SD)	a _w (<i>Norrish</i>) ¹	erro
10	0,993 (±0,001)	0,994	0,001
20	0,988 (±0,002)	0,987	0,001
30	0,984 (±0,002)	0,977	0,007
40	0,966 (±0,002)	0,966	0,000
50	0,953 (±0,011)	0,955	0,002
60	0,908 (±0,014)	0,926	0,018

Fonte: Do autor (2017) e ¹Rouweler (2016).

Na Figura 7, é demonstrado o comportamento linear da concentração em função da atividade de água das soluções de cloreto de lítio onde, nas temperaturas de 0, 5, 10, 15, 20 e 25°C os comportamentos foram iguais pelo fato de que os valores de atividade de água dessas soluções serem constantes nas temperaturas estudadas fornecendo uma equação. Na figura, estão também representados em todas as temperaturas os comportamentos lineares dos

contrastes em função das concentrações, sendo que, para cada representação gráfica é gerado uma equação em cada temperatura estudada.

Figura 7 – A atividade de água em função da concentração para a solução de LiCl nas temperaturas de 0, 5, 10, 15, 20 e 25°C, sobreposta nas equações do contraste em função da atividade de água em todas as temperaturas.



Fonte: Do autor (2017).

Nos alimentos, à medida que se aumenta a concentração dos solutos a atividade de água é reduzida, devido a menor disponibilidade de água livre no meio (BARBOSA-CANOVAS et al., 2007). Para diferentes concentrações sobre mesma temperatura o valor do contraste deve se diferenciar devido ao aumento ou redução do valor da atividade de água. Tal comportamento foi observado em todos os gráficos sendo que, quanto menor o valor do contraste menor foi o valor da atividade de água, pelo fato do meio apresentar menos água livre para interferência do padrão *speckle*. A análise dos contrastes possibilitou verificar que, com a variação do valor da concentração molar das soluções de cloreto de

lítio em cada intervalo de temperatura, o comportamento do padrão *speckle* se assemelhava ao comportamento da atividade de água nos alimentos, ou seja, com o aumento da concentração de solutos a a_w foi reduzida. No entanto, em alguns valores de atividade de água em relação ao contraste, o mesmo comportamento não foi observado devido à sensibilidade da ferramenta óptica e/ou interferentes como variação da energia ou vibrações externas.

Kurenda, Adamiak e Zdunek (2012), revelaram uma diminuição na atividade *biospeckle* quando a amostra biológica é arrefecida dentro de uma gama de temperatura típica pós-colheita. No entanto, na prática podem ocorrer situações em que o padrão *speckle* para temperaturas inferiores a 10°C seja o resultado do movimento *Browniano* e não a atividade biológica dos frutos testados.

A Tabela 10 mostra os valores médios do contraste correlacionado com as temperaturas e concentrações.

Tabela 10 – Valores médios dos contrastes das soluções de LiCl em dois casos: mesma concentração em função das diferentes temperaturas e diferentes concentrações em função da mesma temperatura.

Conc. (mol/L)	T (°C)	Contraste	T (°C)	Conc. (mol/L)	Contraste
2	0	0.882165 ^b	0	2	0.882165 ^d
	5	0.848722 ^a		4	0.853597 ^c
	10	0.874400 ^b		6	0.836312 ^b
	15	0.863734 ^b		8	0.829298 ^b
	20	0.847597 ^a		10	0.811159 ^b
	25	0.839308 ^a		19	0.648143 ^a
4	0	0.853597 ^b	5	2	0.848722 ^c
	5	0.813149 ^a		4	0.814616 ^b
	10	0.866871 ^b		6	0.813149 ^b
	15	0.849275 ^b		8	0.802378 ^b
	20	0.803541 ^a		10	0.800283 ^b
	25	0.811058 ^a		19	0.659964 ^a
6	0	0.836312 ^a	10	2	0.874400 ^c
	5	0.814616 ^a		4	0.866871 ^c
	10	0.830724 ^a		6	0.830724 ^b
	15	0.806164 ^a		8	0.811619 ^b
	20	0.820866 ^a		10	0.798787 ^b
	25	0.822568 ^a		19	0.687676 ^a
8	0	0.829298 ^a	15	2	0.863734 ^c
	5	0.802378 ^a		4	0.849275 ^c
	10	0.811619 ^a		6	0.806164 ^b
	15	0.798244 ^a		8	0.798244 ^b
	20	0.784443 ^a		10	0.793971 ^b
	25	0.803474 ^a		19	0.696370 ^a
10	0	0.811159 ^a	20	2	0.847597 ^d
	5	0.800283 ^a		4	0.803541 ^b
	10	0.798787 ^a		6	0.820866 ^c
	15	0.793971 ^a		8	0.784443 ^b
	20	0.788805 ^a		10	0.788805 ^b
	25	0.791671 ^a		19	0.685424 ^a
19	0	0.648143 ^a	25	2	0.839308 ^c
	5	0.659964 ^a		4	0.811058 ^b
	10	0.687676 ^b		6	0.822568 ^c
	15	0.696370 ^b		8	0.803474 ^b
	20	0.685424 ^b		10	0.791671 ^b
	25	0.641164 ^a		19	0.641164 ^a

*Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna para cada concentração ou temperatura não diferem entre si pelo teste *Scott-Knott* ($p > 0,05$). Fonte: Do autor (2017).

Em relação à Tabela 10, os tratamentos das concentrações de 6, 8 e 10 mol/L de cloreto de lítio demonstraram que os valores do contraste não apresentam variação significativa ($p > 0,05$) em função das temperaturas aplicadas (0 a 25°C). Comportamento semelhante ao da atividade de água em alimentos na mesma faixa de temperatura. Em geral, nas demais concentrações (2, 4 e 19 mol/L) foi observado a diferenciação de até dois valores com a variação da temperatura, sendo que o esperado seria o mesmo comportamento das concentrações anteriores de 6, 8 e 10 mol/L.

Em todos os tratamentos da Tabela 10, que representam a variação do contraste para as diferentes concentrações sobre a mesma temperatura, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras. Nota-se que, nas temperaturas de 0 °C, 5 °C, 10 °C e 15°C os valores médios do contraste diminuiu com o aumento da concentração de LiCl. E nas demais temperaturas de 20°C e 25°C, foi observado mesmo comportamento, com exceção para as concentrações de 4 e 6 mol/L, onde os valores médios de contraste foram maiores para a concentração de 6 mol/L.

O comportamento da atividade de água das soluções de cloreto de lítio em função da concentração, como são considerados iguais sobre todas as temperaturas, apresenta apenas uma equação, demonstrada na Figura 17 sobre uma mesma reta. Em seguida, na Tabela 11 estão apresentadas as equações ajustadas dos contrastes em função da concentração em cada temperatura aplicada.

Tabela 11 – Equações ajustadas das soluções de LiCl nas temperaturas analisadas.

T (°C)	Equação: $y = ax+b$		
	a	b	R ²
0	-0,01373	0,91641	0,973
5	-0,01221	0,89256	0,962
10	-0,01054	0,89730	0,986
15	-0,00922	0,87953	0,945
20	-0,00900	0,87300	0,913
25	-0,01100	0,89060	0,864

Fonte: Do autor (2017).

Após a determinação das equações dos contrastes em função da atividade de água em cada temperatura (Tabela 11), foi realizada para cada uma dessas equações a correlação com a equação geral ($y = -0,0592x + 1,0170$) que representa a concentração (mol/L) em função da atividade de água, demonstradas na Tabela 12, a fim de determinar a atividade de água de um alimento em função do contraste analisado nas temperaturas estudadas.

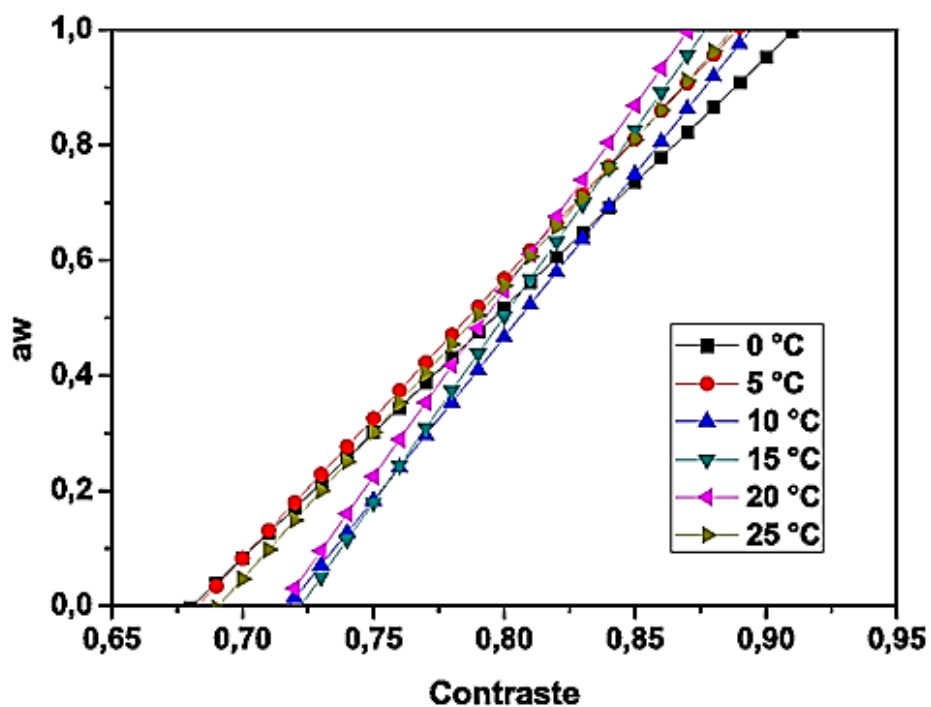
Tabela 12 – Correlação entre as equações contraste x atividade de água e as equações concentração (mol/L) x atividade de água.

T (°C)	Equações
0	$a_w = -2,956230 + (4,342316 \cdot \text{contraste})$
5	$a_w = -3,314871 + (4,853980 \cdot \text{contraste})$
10	$a_w = -4,058549 + (5,656546 \cdot \text{contraste})$
15	$a_w = -4,670302 + (6,466377 \cdot \text{contraste})$
20	$a_w = -4,606446 + (6,441304 \cdot \text{contraste})$
25	$a_w = -3,513496 + (5,086695 \cdot \text{contraste})$

Fonte: Do autor (2017).

A Figura 8 representa as equações ajustadas da atividade de água em função do contraste, representando em cada temperatura a faixa de contraste analisada.

Figura 8 – Gráficos das equações ajustadas da atividade de água em função do contraste.

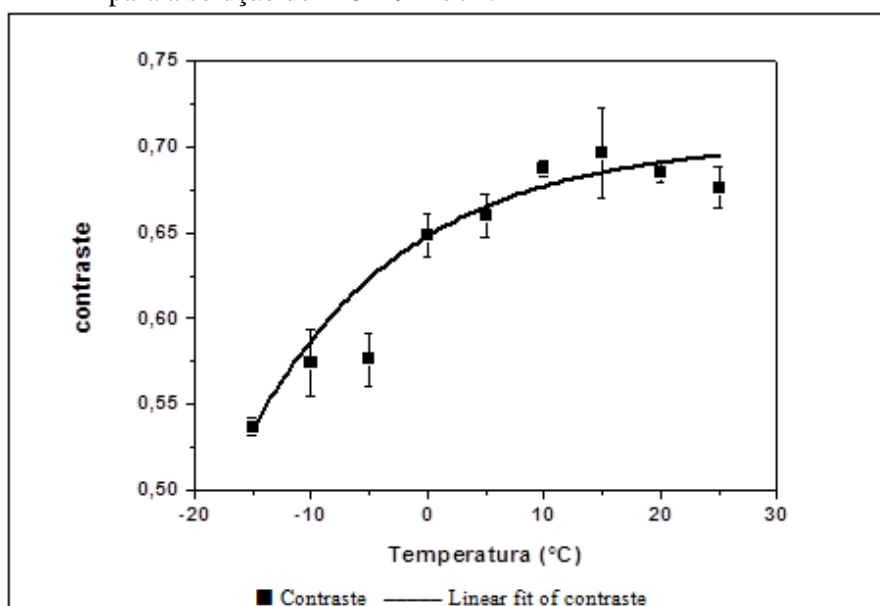


Fonte: Do autor (2017).

Para a solução de cloreto de lítio na concentração de 19 mol/L foi realizado um teste para analisar o comportamento gráfico do valor do contraste nas temperaturas de -15°C até 25°C, com intervalos de 5°C, para possíveis correlações com a a_w em temperaturas negativas. Tal teste foi realizado somente com a solução mais concentrada de cloreto de lítio por esta se manter não congelada sob temperaturas negativas e sem formar gelo na superfície, o que

provocaria interferência nos resultados do contraste. A Figura 9, mostra o comportamento do contraste da solução de LiCl em função da temperatura com ajuste exponencial.

Figura 9 – Comportamento dos valores de contraste em função da temperatura para a solução de LiCl 19 mol/L.

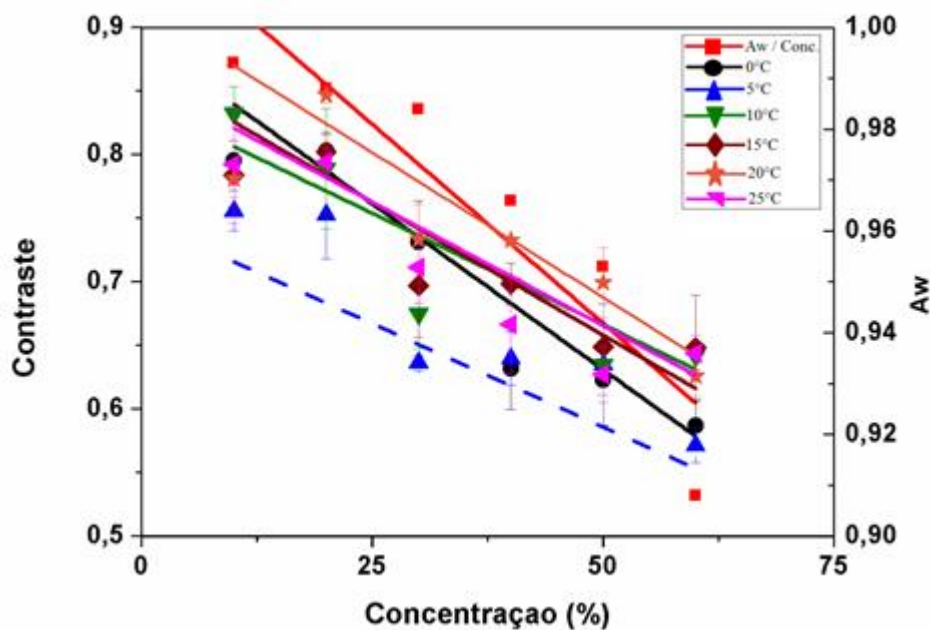


Fonte: Do autor (2017).

5.3 Soluções modelo de sacarose e pectina

As soluções modelo de sacarose e pectina tiveram os valores de contraste registrados nas temperaturas de 0°C, 5°C, 10°C, 15°C, 20°C e 25°C. Para todas as temperaturas, o valor do contraste apresentou redução a medida que se reduzia a atividade de água, já o ajuste da atividade de água em função da concentração foi o mesmo para todas as temperaturas analisadas, considerando que de 0 a 25°C o valor da a_w mantém-se constante. de acordo com o Figura 10, com seus respectivos ajustes (TABELA 13).

Figura 10 – Correlação entre o contraste, atividade de água em função da concentração de sacarose adicionada de pectina da solução modelo nas temperaturas de 0 °C à 25 °C.



Fonte: Do autor (2017).

Tabela 13 – Equações ajustadas dos contrastes das soluções modelo de sacarose em função da concentração nas temperaturas aplicadas.

$y = ax + b$			
Temperatura °C	a	b	R ²
0	-0,00521	0,89144	0,931
5	-0,00325	0,74823	0,720
10	-0,0035	0,84131	0,841
15	-0,00419	0,86735	0,876
20	-0,00455	0,91522	0,810
25	-0,00389	0,85970	0,884
Aw/conc.	-0,00157	1,02013	0,808

Fonte: Do autor (2017).

A Tabela 14 apresenta os valores médios do contraste das soluções modelo correlacionados com as temperaturas e concentrações aplicadas. Somente para a solução modelo, com concentração de 10% de sacarose, os valores do contraste não apresentaram variação significativa ($p > 0,05$) em função da temperatura, comportamento semelhante ao da atividade de água dos alimentos nas mesmas condições. As demais concentrações apresentaram até dois valores com a variação da temperatura. Para análise de variação da concentração sob mesma temperatura, em todas as amostras, houve diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que, em geral, foi possível observar que os valores médios do contraste diminuíram com o aumento da concentração. Tal comportamento foi semelhante ao apresentado pelas soluções de cloreto de lítio. Diante de tal fato, a técnica do *biospeckle laser* associada com a análise numérica do contraste, apresenta-se passível de ser aplicada em processos para análise direta, onde ocorram variações nas concentrações e diretamente nas atividades de água de produtos alimentícios.

Tabela 14 – Valores médios dos contrastes das soluções modelo em dois casos: mesma concentração em função das diferentes temperaturas e diferentes concentrações em função da mesma temperatura.

Conc. (%)	T (°C)	Contraste	T (°C)	Conc. (%)	Contraste
10	0	0.795107 ^a	0	10	0.795107 ^c
	5	0.755581 ^a		20	0.802674 ^c
	10	0.832332 ^a		30	0.731145 ^b
	15	0.783745 ^a		40	0.631733 ^a
	20	0.780730 ^a		50	0.622771 ^a
	25	0.792095 ^a		60	0.586936 ^a
20	0	0.802674 ^a	5	10	0.755581 ^c
	5	0.752476 ^a		20	0.752476 ^c
	10	0.788757 ^a		30	0.636215 ^b
	15	0.801887 ^a		40	0.639589 ^b
	20	0.846785 ^b		50	0.634631 ^b
	25	0.793815 ^a		60	0.571315 ^a
30	0	0.731145 ^b	10	10	0.832332 ^c
	5	0.636215 ^a		20	0.788757 ^c
	10	0.674849 ^a		30	0.674849 ^b
	15	0.697042 ^b		40	0.698226 ^b
	20	0.733075 ^b		50	0.634747 ^a
	25	0.711235 ^b		60	0.641674 ^a
40	0	0.631733 ^a	15	10	0.783745 ^c
	5	0.639589 ^a		20	0.801887 ^c
	10	0.698226 ^b		30	0.697042 ^b
	15	0.698226 ^b		40	0.698226 ^b
	20	0.732560 ^b		50	0.648936 ^a
	25	0.666394 ^a		60	0.648311 ^a
50	0	0.622771 ^a	20	10	0.780730 ^c
	5	0.634631 ^a		20	0.846785 ^d
	10	0.634747 ^a		30	0.733075 ^b
	15	0.648936 ^a		40	0.732560 ^b
	20	0.699249 ^b		50	0.699249 ^b
	25	0.627164 ^a		60	0.625768 ^a
60	0	0.586936 ^a	25	10	0.792095 ^c
	5	0.571315 ^a		20	0.793815 ^c
	10	0.641674 ^b		30	0.711235 ^b
	15	0.648311 ^b		40	0.666394 ^a
	20	0.625768 ^b		50	0.627164 ^a
	25	0.643467 ^b		60	0.643467 ^a

*Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna para cada concentração ou temperatura não diferem entre si pelo teste *Scott-Knott* ($p>0,05$). Fonte: Do autor (2017).

5.4 Validação para medidas com alimentos

Para cada temperatura aplicada no experimento foi feita uma correlação entre o valor do contraste analisado e o valor de atividade de água das soluções de cloreto de lítio. A partir das equações da Tabela 12, em cada temperatura, dez tipos de alimentos (FIGURA 11) tiveram os valores de atividade de água fornecidos em função do valor de contraste, como demonstrados nas Tabelas 15 a 20, respectivamente.

Figura 11 – Alimentos analisados com *biospeckle laser*: (1) Açúcar. (2) Amido de milho. (3) Arroz cru. (4) Aveia. (5) Canjica grossa. (6) Farinha de trigo. (7) Fubá grosso. (8) Mel. (9) Óleo de milho. (10) Cloreto de sódio.



Fonte: Do autor (2017).

Tabela 15 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 25 °C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,839404	0,0184	0,756	0,634	16,170
2. Amido de Milho	0,793619	0,0241	0,523	0,605	15,590
3. Arroz cru	0,832081	0,0204	0,719	0,554	22,953
4. Aveia	0,809737	0,0244	0,605	0,613	1,2560
5. Canjica Grossa	0,799370	0,0037	0,552	0,650	17,613
6. Farinha de Trigo	0,797226	0,0119	0,541	0,651	20,166
7. Fubá Grosso	0,734234	0,0101	0,221	0,590	166,57
8. Mel	0,763229	0,0309	0,368	0,581	57,529
9. Óleo de milho	0,857242	0,0092	0,847	0,662	21,844
10. Cloreto de sódio	0,792110	0,0046	0,515	0,648	25,647

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 16 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 20°C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,758640	0,0133	0,280	0,634	55,806
2. Amido de Milho	0,808841	0,0065	0,603	0,605	0,2400
3. Arroz cru	0,787089	0,0129	0,463	0,554	16,348
4. Aveia	0,803085	0,0032	0,566	0,613	7,5910
5. Canjica Grossa	0,793614	0,0145	0,505	0,650	22,236
6. Farinha de Trigo	0,834414	0,0108	0,768	0,651	18,013
7. Fubá Grosso	0,753139	0,0101	0,244	0,590	58,516
8. Mel	0,709316	0,0033	-0,037	0,581	106,45
9. Óleo de milho	0,670960	0,0192	-0,284	0,662	142,98
10. Cloreto de sódio	0,797282	0,0051	0,529	0,648	18,350

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 17 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 15 °C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,810453	0,0051	0,570	0,634	10,030
2. Amido de Milho	0,840839	0,0060	0,767	0,605	26,757
3. Arroz cru	0,826557	0,0080	0,675	0,554	21,755
4. Aveia	0,743670	0,0084	0,139	0,613	77,398
5. Canjica Grossa	0,811790	0,0020	0,579	0,650	10,917
6. Farinha de Trigo	0,776278	0,0147	0,349	0,651	46,328
7. Fubá Grosso	0,610131	0,0142	-0,725	0,590	222,87
8. Mel	0,725193	0,0098	0,019	0,581	96,718
9. Óleo de milho	0,678084	0,0230	-0,286	0,662	143,13
10. Cloreto de sódio	0,803205	0,0141	0,524	0,648	19,208

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 18 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 10 °C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,831370	0,0108	0,644	0,634	1,598
2. Amido de Milho	0,839868	0,0073	0,692	0,605	14,414
3. Arroz cru	0,757517	0,0036	0,226	0,554	59,137
4. Aveia	0,821715	0,0051	0,590	0,613	3,830
5. Canjica Grossa	0,759787	0,0090	0,239	0,650	63,196
6. Farinha de Trigo	0,743853	0,0140	0,149	0,651	77,098
7. Fubá Grosso	0,754172	0,0391	0,207	0,590	64,84
8. Mel	0,742673	0,0126	0,142	0,581	75,488
9. Óleo de milho	0,691260	0,0078	-0,148	0,662	122,418
10. Cloreto de sódio	0,784273	0,0344	0,378	0,648	41,708

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 19 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 5 °C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,676468	0,0156	-0,018	0,634	102,83
2. Amido de Milho	0,794738	0,0034	0,494	0,605	18,347
3. Arroz cru	0,777491	0,0120	0,419	0,554	24,368
4. Aveia	0,807220	0,0255	0,548	0,613	10,604
5. Canjica Grossa	0,802097	0,0072	0,526	0,650	19,077
6. Farinha de Trigo	0,803013	0,0148	0,53	0,651	18,587
7. Fubá Grosso	0,752246	0,0171	0,31	0,590	47,458
8. Mel	0,830552	0,0026	0,65	0,581	11,876
9. Óleo de milho	0,633984	0,0082	-0,203	0,662	130,66
10. Cloreto de sódio	0,681108	0,0056	0,001	0,648	99,846

Fonte: Do autor (2017).

Tabela 20 – Correlação entre as a_w de alimentos ajustada pelo contraste x a_w real a 0 °C.

Alimento	Contraste	SD	A_w Ajustada	A_w Real	Erro (%)
1. Açúcar	0,564855	0,0038	-0,503	0,634	179,409
2. Amido de Milho	0,773951	0,0171	0,405	0,605	33,139
3. Arroz cru	0,719702	0,0113	0,169	0,554	69,505
4. Aveia	0,715383	0,0075	0,150	0,613	75,499
5. Canjica Grossa	0,652387	0,0304	-0,123	0,650	118,978
6. Farinha de Trigo	0,712001	0,0104	0,136	0,651	79,185
7. Fubá Grosso	0,760795	0,0310	0,347	0,590	41,122
8. Mel	0,590922	0,0108	-0,390	0,581	167,170
9. Óleo de milho	0,659708	0,0144	-0,092	0,662	113,832
10. Cloreto de sódio	0,812675	0,0186	0,573	0,648	11,6263

Fonte: Do autor (2017).

Os resultados obtidos com os ajustes determinados no aparato, demonstram que o *biospeckle laser* associado à análise quantitativa do contraste foi capaz de correlacionar as atividades de água para alguns alimentos, com erro menor que 20% entre os valores reais e os ajustados. Os alimentos foram: 1, 2, 4 e 5 na temperatura de 25 °C (TABELA 15); 2, 3, 4, 6 e 10 na temperatura de

20°C (TABELA 16); 1, 5 e 10 na temperatura de 15°C (TABELA 17); 1, 2 e 4 na temperatura de 10°C (TABELA 18); 2, 4, 5, 6 e 8 na temperatura de 5°C (TABELA 19); e 10 na temperatura de 0°C (TABELA 20).

Os alimentos que mantiveram correlação dentro das faixas de contraste analisadas, entretanto, com erro maior que 20% entre os valores ajustados e reais foram: 3, 6, 8, 9 e 10 na temperatura de 25°C (TABELA 15); 1, 5 e 7 na temperatura de 20°C (TABELA 16); 2, 3, 4, 6 e 8 na temperatura de 15°C (TABELA 17); 3, 6, 7, 8 e 10 na temperatura de 10°C (TABELA 18); 3, 7 e 10 na temperatura de 5°C (TABELA 19); e 2, 3, 4, 6 e 7 na temperatura de 0°C (TABELA 20).

Os demais produtos apresentaram valores ajustados de atividade de água fora da faixa de 0 a 1, o que pode ser atribuído a uma necessidade de calibração mais precisa ampliando a faixa do valor de contraste. Esses produtos foram: 7 na temperatura de 25 °C (TABELA 15); 8 e 9 na temperatura de 20°C (TABELA 16); 7 e 9 na temperatura de 15°C (TABELA 17); 5 e 9 na temperatura de 10°C (TABELA 18); 1 e 9 na temperatura de 5°C (TABELA 19); e 1, 5, 8 e 9 na temperatura de 0°C (TABELA 20).

Alguns alimentos apresentaram variação no valor do contraste em função da temperatura, interferindo nos valores de atividade de água obtidos através do ajuste das equações. Fatores como o tamanho, o formato, a viscosidade e a cor, podem ter interferido nos resultados fazendo-se necessário uma padronização do material a ser analisado ou ajuste do aparato aplicado no experimento. Oulamara, Tribillon e Duvernoy (1989), destacam que a movimentação dos *speckles* ocorre em função da temperatura, da intensidade da luz, da iluminação, do comprimento de onda e do campo elétrico existente.

6 CONCLUSÕES

Analisando-se os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- a) foi possível através da calibração do *biospeckle laser* obter correlações significativas da variação do contraste para diferentes concentrações de uma mesma solução, tanto em baixas quanto em temperaturas medianas;
- b) a técnica do biospeckle laser associada à técnica de análise do contraste mostrou ser uma ferramenta capaz de diferenciar a atividade de água das soluções aplicadas no experimento;
- c) a análise do contraste possibilitou, por meio do ajuste de equações, estimar o valor da atividade de água em diferentes temperaturas, em determinados alimentos, com erros menores que 20%;
- d) a técnica do biospeckle laser, com ajustes em trabalhos futuros, pode se tornar uma ferramenta de leitura direta da variação de concentração e consequentemente, de atividade de água em alimentos.

REFERÊNCIAS

ARIZAGA, R; TRIVI, M.; RABAL, H. Speckle time evolution characterization by the occurrence matrix analysis. **Optics and Laser Technology**, Surrey, v. 31, n. 2, p. 163-169, 1999.

BARBOSA-CANOVAS, G. V.; FONTANA, A. J.; SCHMIDT, S. J.; LABUZA, T. P. **Water activity in foods: fundamentals and applications**. Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2007. 440 p.

BELL, L. N.; LABUZA, T. P. **Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use**. 2nd ed. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 2000. 122 p.

BOAS, D. A.; DUNN, A. K. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. **Journal of Biomedical Optics**, Bellingham, v. 15, n. 1, p. 011109, 2010.

BRAGA, R. A.; DUPUY, L.; PASQUAL, M.; CARDOSO, R. R. Live biospeckle laser imaging of root tissues. **European Biophysics Journal**, London, v. 38, n. 5, p. 679-686, 2009.

BRAGA JÚNIOR, R. A.; SOUZA, A.; VIEIRA, M. G. G. C.; VON PINHO, E. V. R.; RABAL, H. J.; DAL FABRO, I. M. Potencial do bio-speckle laser para avaliação da viabilidade de sementes. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 645-649, 2001.

BRIERS, J. D. Laser speckle contrast imaging for measuring blood flow. **Optica Applicata**, Wroclaw, v. 37, n. 1, p. 328-332, 2007.

BRIERS, J. D.; WEBSTER, S. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a non-scanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow. **Journal of Biomedical Optics**, Bellingham, v. 1, n. 2, p. 174-179, 1996.

CAMPBELL, G. S; LEWIS, D. P. **Water activity and dew point temperature measuring apparatus and method**. US n. 5816704 A, 4 jun. 1996, 6 oct. 1988.

CARDOSO, R. R.; COSTA, A. G.; NOBRE, C. M. B.; JR. BRAGA, R. A. Frequency signature of water activity by biospeckle laser. **Optics Communications**, Amsterdam, v. 284, n. 8, p. 2131-2136, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2010. 900 p.

DECAGON DEVICES. **Analisador de atividade de água com sensor de constante dielétrica**. 2017. Disponível em: <<http://aqualab.decagon.com.br/produtos/analísadores-de-atividade-de-água/aqualab-pre-cap/>>. Acesso em: 23 jan. 2017.

EATON, J. W.; BATEMAN, D.; HAUBERG, S.; WEHBRING, R. **GNU Octave version 4.0.0 manual: a high-level interactive language for numerical computations**. 2015. Disponível em: <<http://www.gnu.org/software/octave/>>. Acesso em: 23 dez. 2016.

FADINI, A. L.; SILVA, P. M. P.; JARDIM, D. C. P.; VISSOTO, F. Z.; QUEIROZ, M. B.; BATISTA, G. Isotermas de Sorção de Umidade e Estudo de Estabilidade de Macadâmias Drageadas. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 83-88, 2006.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2 ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2006. 602 p.

FENNEMA, O. R. **Food chemistry**. 3rd ed. New York, USA: Marcel Dekker, 1996. 1067 p.

FUJII, H.; NOHIRA, K.; YAMAMOTO, Y.; IKAWA, H.; OHURA, T. Evaluation of blood flow by laser speckle image sensing. **Applied Optics**, New York, v. 26, n. 24, p. 5321-5325, 1987.

GABRIEL, A. A. Estimation of water activity from pH and °Brix values of some food products. **Food Chemistry**, Oxon, v. 108, n. 3, p. 1106-1113, 2008.

GODINHO, R. P. **Alternativas para a implementação da análise do speckle laser em tempo real**. 2012. 61 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Sistemas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice Hall, 2008. 954 p.

GREENSPAN, L. Humidity fixed points binary saturated solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standards: A Physics and Chemistry**, Washington, v. 81A, n. 1, p. 89-96, 1977.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, SP: IAL, 2008. 1020 p.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6th ed. Singapore, SG: APAC, 2000. 720 p.

KAREL, M. Stability of low and intermediate moisture foods. In: GOLDLITH, S. A.; REY, L.; ROTHMAYR, W. W (Ed.). **Freeze-Drying and Advanced Food Technology**. London, UK: Academic Press, 1975. p. 177-202.

KRISPIEN, K.; RÖDEL, W. 'Bedeutung der Temperatur für den aw-Wert von Fleisch and Fleischerzeugnissen'. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt Main, v. 56, p. 709-714, 1976.

KURENDA, A.; ADAMIAK, A.; ZDUNEK, A. Temperature effect on apple biospeckle activity evaluated with different indices. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 67, p. 118-123, 2012.

LABUZA, T. P.; KAAANANE, A.; CHEN, J. Y. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 50, n. 2, p. 385-392, 1985.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. **Food Control**, Oxon, v. 12, n. 7, p. 409-417, 2001.

OULAMARA, A.; TRIBILLON, G.; DUVERNOY, J. Biological activity measurement on botanical specimen surfaces using a temporal decorrelation effect of laser Speckle. **Journal of Modern Optics**, London, v. 36, n. 2, p.165-179, 1989.

RABAL, H. J.; BRAGA, R. A. **Dynamic laser speckle and applications**. Boca Raton, USA: CRC Press, 2008. 282 p.

RESNIK, S. L.; FAVETTO, G.; CHIRIFE, J.; FONTAN, C. F. A world survey of water activity of selected saturated salt solutions used as standards at 25°C. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 49, n. 2, p. 510-513, 1984.

RIBEIRO, K. M.; BARRETO, B.; PASQUAL, M.; WHITE, P. J.; BRAGA, R. A.; DUPUY, L. X. Continuous, high-resolution biospeckle imaging reveals a discrete zone of activity at the root apex that responds to contact with obstacles. **Annals of Botany**, Oxford, v. 113, n. 3, p. 555-563, 2014.

ROBINSON, R. A.; STOKES, R. H. **Electrolyte Solutions**. 2 ed. London: Butterworths, 1965. 571 p.

RÖDEL, W. Water activity and its measurement in food. In: KRESS-ROGERS, E.; BRIMELow, C. J. B (Ed.). **Instrumentation and sensors of the food industry**. 2 ed. Boca Raton, NY: CRC Press, 2001. p. 453-474.

RÖDEL, W.; KRISPIEN, K. 'Der Einfluß von Kühl- und Gefriertemperaturen auf die Wasseraktivität (aw-Wert) von Fleisch and Fleischerzeugnissen'. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt Main, v. 57, p. 1863-1867, 1977.

ROOS, F. L.; MORAES, H. L. S.; SALLE, C. T. P. Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas avícolas. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 16., 2004, Porto Alegre. **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: UFRGS, 2004, p. 209. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/54247/000441464.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

ROUWELER, J. Water activity aw calculations (2.1) of aqueous solutions and of solids mixtures.xlsx - Raoult-Norrish-Ross, Samapunto-Favetto-Pitzer, and Labuza-Chirife-Baeza. **HAS University of Applied Sciences**. 2016. doi: 10.13140/RG.2.1.1049.9608.

SCOTT, W. J. Water relation of food spoilage microorganisms. **Advances in Food Research**, San Diego, v. 7, p. 83-127, 1957.

SERENO, A. M.; HUBINGER, M. D.; COMESAÑA, J. F.; CORREA, A. Prediction of water activity of osmotic solutions. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 103-114, 2001.

SPIESS, W. E. L.; WOLF, W. F. The results of the COST 90 project on water activity. In: JOWITT, R. (Ed.). **Physical Properties of Foods**. London, UK: Applied Science Publishers, 1983. p. 65-91.

STOLARSKA, A.; GARBALIŃSKA, H. Assessment of suitability of some chosen functions for describing of sorption isotherms in building materials. **Heat and Mass Transfer**, New York, v. 53, n. 5, p. 1603-1617, 2016.

SZYMANSKA-CHARGOT, M.; ADAMIAK, A.; ZDUNEK, A. Pre-harvest monitoring of apple fruits development with the use of biospeckle method. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 145, p. 23-28, 2012.

TODOROVICH, E.; PRA, A. L. D.; PASSONI, L. I.; VÁZQUEZ, M.; COZZOLINO, E.; FERRARA, F.; BIOUL, G. Real-time speckle image processing. **Journal of Real-Time Image Processing**, Heidelberg, v. 11, n. 3, p. 535-545, 2013.

TREYBAL, R. E. Drying Mass Transfer Operations. In: _____. **Mass-Transfer Operations**. New York, USA: McGraw-Hill, 1968. p. 569-575.

WROLSTAD, R. E.; ACREE, T. E.; DECKER, E. A.; PENNER, M. H.; REID, D. S.; SCHWARTZ, S. J.; SHOEMAKER, C. F.; SMITH, D.; SPORNS, P. **Handbook of Food Analytical Chemistry: Vapor Pressure Measurements of Water**. Hoboken, USA: John Wiley & Sons, 2005. 784 p.