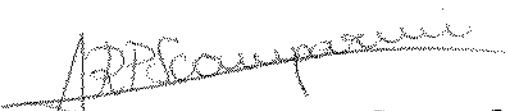


EFEITO DE DIFERENTES AÇÚCARES,  
PECTINAS E LIGAÇÕES DE ÁGUA NA  
FORMAÇÃO DE GÉIS PÉCTICOS

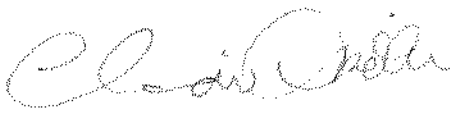
24/92


BANCA EXAMINADORA

  
Prof. Dr. Paulo Anna Bobbio  
Orientador

  
Profa. Dra. Adilma Regina Pippa Scamparini  
Membro

  
Prof. Dr. Dietrich G. Quast  
Membro

  
Prof. Dr. Claudio Airoidi  
Membro

  
Prof. Dr. Theo Günter Kieckbusch  
Membro

Campinas, 02 de Junho de 1992.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

EFEITO DE DIFERENTES AÇÚCARES, PECTINAS E LIGAÇÕES

Paucas  
DE ÁGUA NA FORMAÇÃO DE GÉIS PÉCTICOS

*Este exemplar corresponde a relação final da  
Tese defendida por Carlos Ferreira Grosso e apro-  
vada pela Comissão Julgadora em 02.07.92*



Carlos Ferreira Grosso  
Engenheiro de Alimentos

Prof. Dr. Paulo Anna Bobbio

Orientador

Tese Apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas para Obtenção do Título de  
Doutor em Ciência de Alimentos.

1992

A Flávia e a Júlia  
com carinho

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Anna Bobbio, pela orientação e dedicação para a conclusão desse trabalho.

Ao Laboratório de Termoanálise e a Cássia R. Rigoletto pela realização das análises calorimétricas.

Ao Prof. Dr. Ronaldo A. Pilli e ao A.C. Siani pelo suporte na realização e discussão dos resultados de espectrometria de ressonância magnética.

A ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos) pelo fornecimento das cópias.

Ao Marcos Antonio de Castro pelo suporte na elaboração física da tese.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

# ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Características gerais das pectinas.....	3
2.2. Determinações analíticas para caracterização das pectinas.....	6
2.2.1. Técnicas calorimétricas para quantificação.....	6
2.2.2. Estimativa da massa molecular.....	7
2.2.3. Cromatografia de troca iônica.....	9

2.3. Géis de pectina.....	10
2.3.1. Características gerais de formação de géis.....	10
2.3.2. Géis de pectina de alto teor de metoxilação.....	11
2.3.2.1. Mecanismo de formação.....	11
2.3.2.2. Função do açúcar na formação do gel ATM.....	14
2.3.3. Géis de pectina de baixo teor de metoxilação.....	15
2.3.3.1. Mecanismo de formação.....	15
2.3.3.1.1. Possível papel da pectina amidada no mecanismo de formação do gel.....	23
2.3.3.1.2. Outros fatores de influência no mecanismo de formação.....	24
2.4. Comportamento de pectinas e seus géis frente a água.....	27
2.4.1. Tipos de interação.....	27
2.4.2. Formas de quantificação de água ligada.....	29
2.4.3. Curvas de absorção.....	30
2.5. Comportamento de açúcares frente a água.....	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1. Materiais.....	36
3.1.1. Pectinas.....	36

3.1.1.1. Pectina de alto teor de metoxilação.....	36
3.1.1.2. Pectina de baixo teor de metoxilação amidada...	36
3.1.2. Ácido galacturônico e poligalacturônico.....	36
3.1.3. Pectinas quimicamente modificadas.....	37
3.1.4. Azul de dextrana, dextranas de diferentes massas moleculares e material cromatográfico.....	37
3.1.5 Sorbitol e manitol.....	37
3.1.6. Reagentes para ressonância magnética nuclear....	37
3.1.7. Outros reagentes.....	38
3.2. Métodos.....	38
3.2.1. Determinação de umidade e cinzas.....	38
3.2.2. Determinação de nitrogênio total.....	38
3.2.3. Preparo das pectinas.....	38
3.2.4. Determinação de grupos metoxila na pectina.....	39
3.2.5. Determinação de ácido galacturônico nas pectinas.....	39
3.2.6. Esterificação de pectina de alto teor de metoxila- ção e de ácido poligalacturônico.....	39
3.2.6.1. Produção de nitrosometiluréa e diazometano.....	40
3.2.6.2. Esterificação com diazometano.....	40



3.2.7. Determinação de açúcares livres e ligados as pectinas.....	40
3.2.7.1. Cromatografia em papel e placa dos açúcares....	40
3.2.7.2. Hidrólise das pectinas.....	41
3.2.8. Cromatografia de troca iônica.....	41
3.2.9. Estimativa do peso molecular das pectinas.....	42
3.2.9.1. Cromatografia de exclusão molecular.....	42
3.2.9.1.1. Cromatografia sobre sephadex G-200.....	42
3.2.9.1.2. Cromatografia sobre sepharose 2B/4B.....	44
3.2.9.2. Estimativa do peso molecular pela viscosidade intrínseca.....	44
3.2.10. Preparo dos géis.....	44
3.2.10.1. Géis de pectina de alto teor de metoxilação...	44
3.2.10.2. Géis de pectina amidada de baixo teor de metoxilação.....	45
3.2.10.3. Géis contendo pectina quimicamente modificada.....	45
3.2.10.4. Géis de ácido poligalacturônico quimicamente modificado.....	46
3.2.11. Absorção de água.....	46
3.2.11.1. Preparo dos géis para curvas de absorção e determinação de água ligada.....	46
3.2.11.2. Curvas de absorção.....	46
3.2.11.3. Determinação de água ligada.....	47
3.2.12. Ressonância magnética nuclear de prótons.....	49
3.2.12.1. Produção de cloreto de lantânio.....	49
3.2.12.2. Espectros de ressonância magnética nuclear de prótons.....	49

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1. Caracterização das pectinas e preparação dos géis de pectinas ATM e BTM.....	50
4.2. Curvas de absorção de água e valor de monocamada (BET) dos constituintes dos géis.....	54
4.2.1. Pectinas.....	56
4.2.2. Açúcares.....	63
4.3. Géis de pectina.....	64
5. CONCLUSÕES.....	101
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	104
7. ANEXO.....	1

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Atividades de água dos géis preparados com diversos açúcares na concentração mínima para a formação do gel.....	16
TABELA 2 - Formulação para géis de pectina de alto teor de metoxilação e baixo teor de metoxilação amidada.....	43
TABELA 3 - Sais utilizados e correspondentes unidades relativas de equilíbrio utilizadas na construção de isotermas de absorção a 20,0°C....	48
TABELA 4 - Caracterização físico-química das pectinas utilizadas.....	51
TABELA 5 - Valores de água de monocamada calculados por BET para pectinas, açúcares e géis ATM e BTM.....	57
TABELA 6 - Caracterização dos géis de pectina com relação a pH, sólidos solúveis e medida de textura a temperatura ambiente.....	65
TABELA 7 - Água de monocamada e água total (90% URE) presentes nos géis a partir da contribuição dos constituintes individuais comparados a valores obtidos para os géis ensaiados diretamente.....	71
TABELA 8 - Resultados obtidos por DSC para gel ATM em diversas situações de equilíbrio.....	73
TABELA 9 - Resultados obtidos por DSC para géis ATM e BTM a 90% de URE.....	81
TABELA 10 - Absorção de água para gel ATM equilibrado a 90,0% de URE, expressos em base molar.....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Fórmulas espaciais envolvidas na formação de géis de pectina. Resíduos encontrados em sequências de pectinas.....	12
FIGURA 2 - Ligação quelato em pectato de cálcio: I. Ligação intermolecular, II. Ligação intramolecular.....	18
FIGURA 3 - Curva de eluição da pectina ATM em coluna de troca iônica (DEAE-CELULOSE).....	55
FIGURA 4 - Curva de eluição da pectina BTM amidada em coluna de troca iônica (DEAE-CELULOSE).....	55
FIGURA 5 - Curvas de absorção para pectina ATM e BTM amidada comerciais.....	58
FIGURA 6 - Curvas de absorção para pectina ATM e BTM amidada lavadas.....	58
FIGURA 7 - Curvas de absorção para açúcares puros.....	59
FIGURA 8 - Curvas de absorção para pectina ATM e pectina ATM remetilada.....	61
FIGURA 9 - Curvas de absorção para ácido poligalacturônico e ácido poligalacturônico metilado....	61
FIGURA 10 - Curvas de absorção para géis de pectina ATM contendo glucose, sorbitol e sacarose....	68
FIGURA 11 - Curva de absorção do gel de pectina BTM sem açúcar.....	69
FIGURA 12 - Curvas de absorção para gel de pectina BTM contendo frutose, sacarose, glucose e sorbitol.....	69
FIGURA 13 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 81,0% de URE.....	74
FIGURA 14 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 86,0% de URE.....	74
FIGURA 15 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 90,0% de URE.....	75
FIGURA 16 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 95,0% de URE.....	75

FIGURA 17 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 81,0% de URE.....	76
FIGURA 18 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 86,0% de URE.....	76
FIGURA 19 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 90,0% de URE.....	77
FIGURA 20 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 95,0 de URE.....	77
FIGURA 21 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 81,0% de URE.....	78
FIGURA 22 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 86,0% de URE.....	78
FIGURA 23 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 90,0% de URE.....	79
FIGURA 24 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 95,0% de URE.....	79
FIGURA 25 - Curva DSC para gel BTM sem açúcar equilibrado a 90,0% de URE.....	82
FIGURA 26 - Curva DSC para gel BTM contendo glucose equilibrado a 90,0% de URE.....	83
FIGURA 27 - Curva DSC para gel BTM contendo sacarose equilibrado a 90,0% de URE.....	83
FIGURA 28 - Curva DSC para gel BTM contendo frutose equilibrado a 90,0% de URE.....	84
FIGURA 29 - Curva DSC para gel BTM contendo sorbitol equilibrado a 90,0% de URE.....	84
FIGURA 30 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo sacarose.....	85
FIGURA 31 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo glucose.....	85
FIGURA 32 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo sorbitol.....	86
FIGURA 33 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5M de sorbitol em água deuterada.....	92

FIGURA 34 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução de sorbitol e cloreto de lantânio em D <sub>2</sub> O.....	93
FIGURA 35 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução de sorbitol e cloreto de cálcio em D <sub>2</sub> O.....	94
FIGURA 36 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5 M de glucose em D <sub>2</sub> O.....	95
FIGURA 37 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de uma solução de glucose contendo cloreto de lantânio em D <sub>2</sub> O.....	96
FIGURA 38 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5M de frutose em D <sub>2</sub> O.....	97
FIGURA 39 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de uma solução de frutose contendo cloreto de lantânio em D <sub>2</sub> O.....	98

## RESUMO

Géis de pectina de alto teor de metoxilação(ATM) e de baixo teor de metoxilação amidada (BTM) contendo em sua formulação sacarose, glucose, frutose e sorbitol foram estudados quanto ao comportamento frente à absorção de água, aos diversos tipos de água presentes nos géis, e como estes fatores influenciam características físicas dos géis e seus mecanismos de formação. Foram também ensaiados géis com pectina ATM remetilada, ácido poligalacturônico e ácido poli galacturônico remetilado.

Os géis contendo pectina ATM ou BTM apresentaram curvas de absorção semelhantes às curvas obtidas para os açúcares utilizados nas formulações dos géis, porém a absorção foi diferente quando os açúcares puros eram ensaiados. As pectinas purificadas mostraram comportamento idêntico, frente a absorção de água.

Considerando a quantidade de água total ou valores de água de monocamada (BET) para os componentes do gel, observou-se que os valores obtidos foram menores que aqueles correspondentes aos géis liofilizados ensaiados diretamente, indicando uma maior área exposta à associação com a água na matriz que constitui o gel.

Os resultados obtidos por calorimetria por varredura diferencial (DSC) indicaram deslocamentos na temperatura de fusão do gelo quando diferentes açúcares foram utilizados na formulação do gel ATM, o que também foi observado quando o gel

contendo o mesmo açúcar foi equilibrado em diferentes unidades relativas.

A quantidade de água total, valores de BET ou teor de água ligada mostraram correlação com a dureza dos géis obtidos com pectina ATM, o que não ocorreu para o gel BTM. Esses valores expressos em base molar mostraram perda de correlação em qualquer dos géis, indicando que somente a capacidade de absorver água dos açúcares não é suficiente para explicar a dureza dos produtos, e que na formação da matriz deve ocorrer também interação pectina-açúcar.

Os resultados obtidos para os géis BTM mostraram que, o mecanismo de formação do gel não dependia da capacidade de absorção de água dos açúcares. A presença de açúcares e sua forte influência na textura dos géis BTM, parece estar associada a capacidade de competição dos açúcares por ions cálcio com a pectina na formação da matriz. Os resultados dos espectros de ressonância magnética nuclear obtidos neste trabalho evidenciaram a formação de complexos açúcar-ion metálico.



## SUMMARY

Pectin gels were made with HMP and LMP using sucrose glucose fructose and sorbitol as sweetening agents. The absorption of water at controlled  $a_w$ , the different water association forms and the values for SAG in each gel were measured and correlated with gel formation mechanisms.

Polygalacturonic acid and partially methylated derivative as well as the exhaustively methylated HMP were studied too.

The absorptions of water by LMP and HMP, and the sugars used in preparing gels follow the same pattern.

Water absorption for the purified pectins, free of added sugars, had the same values as for water curves absorption but among the sugars absorption values were different.

The amount of total water absorbed by the lyophilized gels or the monolayer water was in all cases greater than the sum of water absorbed for each component individually indicating that the gel matrix has a larger area of exposure to which water molecules can associate.

Results from DSC revealed different amount of decrease for the melting points of the ice when different sugars were used. Equilibration of a gel to different levels of humidity produced ice that melted at a lower temperature than pure water.

In LMP gels, BET values, combined water and total water have no correlation with SAG values while for HMP good correlation was observed. When the above values were calculated on a mol/mol basis, correlation ceased, indicating the water holding capacity of the sugars is not the only cause of rigidity for the gel and pectin-sugar interaction must be a determining factor.

The results for LMP demonstrated the non correlation between water absorption of the sugars and gel rigidity. The effects of the different sugars are associated with the competition between each sugar and the pectin for the calcium ions. This explanation was supported by the results of the NMR for the sugar showing the formation of sugar-metallic ion complex.

## 1. INTRODUÇÃO

Pectinas são polissacarídeos presentes naturalmente em tecidos vegetais, conhecidos por sua capacidade de funcionar como agentes geleificantes na fabricação de geléias e doces. Além disto, as pectinas por suas características químicas e físicas estão sendo utilizadas amplamente na área farmacêutica.

As principais fontes de obtenção de pectina são a polpa de maçã e o albedo de laranja, sendo esse largamente utilizado nas condições brasileiras. As pectinas encontradas na natureza são as de alto conteúdo de grupos metoxilas, requerendo-se um tratamento químico ou enzimático para diminuição dos grupos esterificados e obtenção da pectina BTM, ou de baixo teor de metoxilação.

Tradicionalmente as geléias são formuladas com alto teor de sólidos solúveis através da adição de grandes quantidades de açúcar e da utilização de pectina de alto teor de metoxilação (ATM). Outra formulação industrialmente muito utilizada está baseada no uso de pectina de baixo teor de metoxilação (BTM), e a formação desse gel não requer a presença de açúcares e sim de um íon metálico.

Modificações químicas relacionadas ao grau de esterificação e ao tamanho das moléculas parecem determinar as características físicas do produto final, e entre elas a textura é o item de maior interesse. O uso de formulações de baixo teor de sólidos solúveis permitindo a obtenção de

produtos de baixo conteúdo calórico também está sendo bastante estudado.

Poucas informações estão disponíveis sobre as formas de interação entre a pectina e os demais constituintes na formação da matriz que produz o gel, dos mecanismos de formação dos diferentes géis e do papel que cada constituinte individualmente desempenha na formação do gel.

A capacidade de absorção de água dos géis é determinante nas características funcionais dos mesmos. Os géis são produtos de alto teor de água e ao mesmo tempo apresentam atividade de água intermediária, e assim parece importante conhecer como esta água está presente nos géis de pectina A1M e BTM. é também importante saber se a água está presente no gel em diferentes tipos de associação, se essa associação varia com a variação dos constituintes, e principalmente através dessas informações, avaliar as hipóteses existentes sobre os mecanismos de formação dos géis, possibilitando assim uma utilização tecnológica melhorada da pectina.

No presente trabalho procurou-se estudar como diferentes pectinas, açúcares e formas de associação da água influenciavam na formação e nas características físicas de géis de alto e baixo teor de metoxilação, e se possível avaliar as hipóteses existentes a nível molecular para a formação dos diferentes tipos de géis.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Características gerais das pectinas

Pectinas constituem um grupo de polímeros, formado por unidades de ácido galacturônico, como parte de uma grande classe de substâncias denominadas pécticas, encontradas na parede celular da maioria das plantas (MAY, 1990). Ela é um tradicional agente gelificante para geléias e compotas, mas sua aplicação se estende para produtos de frutas, de leite, sobremesas, refrigerantes e produtos farmacêuticos (FISHMAN et alii, 1986).

De acordo com REES (1969) a maioria das substâncias pécticas formadoras de gel parece conter de 70 - 80% de resíduos de ácido D-galacturônico.

A molécula de pectina consiste de uma cadeia principal de ácidos galacturônicos ligados por ligações  $\alpha$ -1-->4, interrompidas a intervalos por unidades de ramnose, onde ocorrem dobras na cadeia (ASPINALL, 1970; REES e WIGHT, 1971), com perda de linearidade da molécula de pectina.

Doutros açúcares conforme TALMADGE et alii (1973) podem estar presentes em cadeias laterais, como arabinanas, galactanas e/ou arabino-galactanas ligadas ao C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub> de um resíduo de ácido galacturônico ou ao C<sub>4</sub> da ramnose.

Na molécula da pectina uma proporção significativa de resíduos de ácido galacturônico são encontrados na forma de éster metílicos no carbono 6 (SANDERSON, 1981).

Para propósitos práticos, pectinas são usualmente classificadas de acordo com o seu grau de metoxilação no carbono 6, em pectinas de baixo teor de metilação, com menos de 50% dos seus grupos carboxílicos disponíveis esterificados e capazes de formar géis com baixo teor de sólidos, e pectinas de alto teor de metoxilação, com mais de 50% de grupos carboxílicos esterificados, que formam géis na presença de ácido e açúcares (SANDERSON, 1981).

Pectinas de baixo conteúdo de éster metílico são preparadas por desesterificação controlada de pectinas de alto teor de metilação, com álcali, enzima ou amônia (JOSEPH et alii, 1949; RACAPE et alii, 1989).

Pectinas amidadas obtidas por desesterificação com amônia são atualmente muito utilizadas na indústria de alimentos, como alternativa a pectinas de baixo teor de metilação por serem termorreversíveis e mais fáceis de controlar em aplicações mais críticas, especialmente aquelas contendo menor quantidade de açúcar (MAY, 1990; REITSMA et alii, 1986; BLACK & SMIT, 1972).

A composição em açúcares neutros parece não ser afetada durante a amidação, e as cadeias laterais não são degradadas. Adicionalmente a massa molecular dos produtos, estimado através de viscosidade intrínseca e cromatografia de permeação em gel, não parece sofrer alteração sensível, embora

amostras com maior teor de amidação em solução aquosa apresentem profunda variação de solubilidade, mesmo após neutralização de grupos carboxílicos livres (REITSMA et alii, 1986).

Embora a solubilidade, capacidade formadora de gel e degradação enzimática, dependam do grau de esterificação (SMIT & BRYANT, 1967; DONGOWSKI et alii, 1983), a influência desse parâmetro sobre a conformação de pectinas em soluções aquosas ainda não tem sido satisfatoriamente estabelecida. Estudos relacionados com o grau de esterificação e força do gel desenvolvidos por PANCHEV et alii (1988), indicaram valores ótimos para geleificação quando o grau de esterificação estava entre 57 - 58%, confirmando a hipótese de que nesta faixa, as macromoléculas de pectina possuem máxima flexibilidade conformacional, efeito anteriormente observado por PLASHINA et alii (1985) para a faixa de 52 - 61% de esterificação, sendo esta também a faixa de máxima estabilidade para géis de alto teor de açúcar. FISHMAN et alii (1984) observaram que a mudança na porcentagem de esterificação em pH e força iônica constante alterava o balanço entre repulsão carga-carga, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, e que na faixa de 57% de esterificação poderia ocorrer predomínio das interações intercadeias por pontes de hidrogênio, em lugar de interações hidrofóbicas.

SMIT & BRYANT (1968) verificaram que um decréscimo da porcentagem de esterificação acarretava aumento do tempo de geleificação, que atingia valores máximos quando a porcentagem

de esterificação chegava a 50%, observando também maior valor para o grau da pectina nesta faixa de esterificação. Valores do tempo de geleificação semelhantes foram encontrados por DOESBURG & GREVES (1960).

KOHN (1975) estudando a relação entre grau de esterificação e interação com íons observou que pectina totalmente desesterificada era altamente seletiva para  $Ca^{2+}$  em relação ao  $K^+$ , enquanto pectina com alto grau de esterificação não era mais seletiva na reação de troca  $Ca^{2+}$  por  $K^+$ . O coeficiente de atividade do cálcio ( $Ca^{2+}$ ), decrescia suavemente com o decréscimo no grau de esterificação, com um conseqüente aumento da densidade de carga.

Em outro trabalho, KOHN & FURDA (1968a) acetilaram grupos hidroxilas na molécula de pectina, e concluíram que mesmo a um baixo grau de substituição, ocorreram perdas na capacidade formadora do gel, devido ao impedimento estérico à aproximação de moléculas de pectina. PIPPEN et alii (1950) e REES (1969), chegaram a conclusões semelhantes sobre o efeito do impedimento estérico em relação as "zonas de junção", na formação do gel de pectina.

## 2.2. Determinações analíticas para caracterização da pectina

### 2.2.1. Técnicas colorimétricas para quantificação

Muitos métodos têm sido propostos para a determinação quantitativa de pectinas, a maioria incluindo uma etapa prévia



de extração e purificação, podendo a determinação final utilizar técnicas gravimétricas, volumétricas, colorimétricas, cromatográficas ou eletroforéticas. Segundo KINTNER & van BUREN (1982) as colorimétricas são mais seletivas que as gravimétricas e volumétricas, e mais sensíveis que as cromatográficas e eletroforéticas. As técnicas colorimétricas, de acordo com MACCREADDY (1970), se baseiam na reação dos ácidos urônicos com o ácido sulfúrico concentrado, para formar o ácido 5-formil-2 furan-carboxílico (SFF).

### 2.2.2. Estimativa da massa molecular

A determinação do peso molecular de pectinas pode ser feita por diversos métodos, entre os quais, a cromatografia de exclusão molecular. A interpretação dos resultados mostrou considerável descrédito, por apresentar valores menores em relação a outras técnicas, segundo FISHMAN (1986). Por outro lado, JOSLYN & DEUEL (1963); KNEE (1978) e DEKERS et alii (1986) conseguiram utilizar a técnica de permeação em gel com sucesso em experimentos efetuados, para distinguir pectinas com diferentes comportamentos funcionais.

Estudos efetuados por BERTH (1988), utilizando Sepharose como agente de separação na cromatografia de exclusão, mostraram que ocorria considerável decréscimo na massa molecular média, nos procedimentos usualmente empregados para purificação das pectinas, sendo que esse efeito em relação a viscosidade intrínseca foi muito pequeno.

ANGER & BERTH ( 1986) utilizaram a técnica de exclusão molecular para determinação da massa molecular de pectinas e observaram que para frações com massa molecular maior que 100.000 o valor da viscosidade intrínseca permanecia praticamente constante.

BRIGAND et alii (1990) fazendo uso da técnica de permeação encontraram valores da massa molecular média variando de 150.000 a 280.000 para pectinas comerciais.

De acordo com DEKERS et alii (1986) a calibração das colunas de exclusão molecular, utilizando padrões monodispersos diferentes do polímero analisado, é controversa. A situação ideal requer padrões monodispersos bem caracterizados do mesmo polímero a ser analisado. Em experimento de calibração para polímeros, os autores observaram que polímeros de alta massa molecular poderiam apresentar diferentes volumes hidrodinâmicos, devido à conformação, e assim diferentes volumes de eluição. No caso de pectinas, observaram que as de baixo teor de esterificação apresentavam volume hidrodinâmico menor que as pectinas de alto grau de esterificação.

O método de determinação da massa molecular de pectinas através da medida da viscosidade intrínseca, foi aperfeiçoado por CHRISTENSEN (1954) e ainda hoje está em utilização. Diversos valores para a constante utilizada na fórmula que relaciona viscosidade intrínseca e massa molecular foram sugeridas por OWENS et alii (1946) e ANGER & BERTH (1986), incluindo o valor determinado no estudo de ANGER & DONGOWSKI (1988) para pectinas amidadas, onde os autores

concluíram que a relação era independente do grau de esterificação e da fonte da pectina.

### 2.2.3. Cromatografia de troca iônica

SMIT & BRYANT (1967) trabalharam com Dietil-amino-etil (DEAE)-celulose para separação de frações de pectina, tendo por base os diferentes conteúdos de grupos metoxilas, concluíram que diferentes padrões de eluição poderiam explicar diferenças nos produtos obtidos por diferentes métodos de desmetoxilação. A medida de viscosidade por outro lado não indicou uma mudança regular na massa molecular de uma fração para outra. Entre as frações analisadas nenhuma apresentou viscosidade tão alta quanto a pectina original.

BAIG et alii (1982), em experimentos envolvendo cromatografia de troca iônica de pectina cítrica eluída com tampão fosfato de sódio pH 6,0 de 0,025M a 0,500M, mostraram que ocorria um progressivo decréscimo no conteúdo de metoxilas das frações eluídas, com o aumento da concentração salina, sugerindo que a cromatografia de troca iônica da pectina resultava na resolução de polissacarídeos pécnicos, de acordo com diferenças nas características de carga.

## 2.3. Géis de pectina

### 2.3.1. Características gerais de formação de géis

Os tipos de ligação envolvidas na formação do gel de pectina foram classificados por vários autores (REES, 1969; REES, 1972(b); THIBAUT & PETIT, 1979) em três tipos dependendo do modo de interação intermolecular que pudesse ocorrer: pontes de hidrogênio, ligações iônicas e ligações coordenadas. Cada mecanismo poderia ser afetado pelos grupos funcionais do ácido galacturônico, massa molecular da pectina, e pelas interações dos monômeros na formação da matriz do gel. (SAWAYAMA et alii, 1988).

Segundo REES (1977) as unidades de ramnose afetavam a formação de ligações cruzadas, influenciando no comportamento gelificante da pectina, pois ficava limitado ao tamanho das zonas de junção, importante na formação de géis de pectina.

De acordo com FLORY (1953) o fator chave na geleificação era a formação de ligações cruzadas entre as moléculas do polímero que estabelecia a matriz do gel. DAKENFULL (1984) sugeriu que as unidades de macrômeros interagiam cooperativamente e formavam "zonas de junção", cuja estrutura e estabilidade dependiam da composição química e da geometria molecular do polímero formador do gel.

Segundo REES (1972a) dois tipos de estrutura poderiam ocorrer em polissacarídeos formadores de gel: hélices ou fitas corrugadas. Na hélice, uma molécula de monossacarídeo repetida introduzia uma torção através da molécula, a

flexibilidade da cadeia era bastante restringida. As zonas de junção nos géis consistiam de cadeias de polissacarídeos enroladas juntas, em uma hélice estabilizada por pontes de hidrogênio. Nas fitas corrugadas, apresentada pelas pectinas, a estrutura empacotada apresentava interstícios ou cavidades que correspondiam ao raio iônico de  $\text{Ca}^{2+}$  podendo ser estabilizadas pelo mesmo. OAKENFULL (1984) acrescentou que outros monossacarídeos no polímero quebravam a estrutura ordenada, promovendo a formação de uma matriz do gel, mais que a completa agregação e precipitação do polímero.

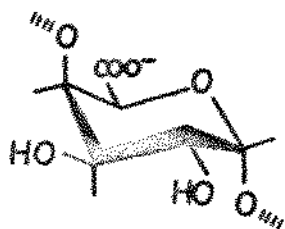
### 2.3.2. Géis de pectina de alto teor de metoxilação

#### 2.3.2.1. Mecanismos de formação

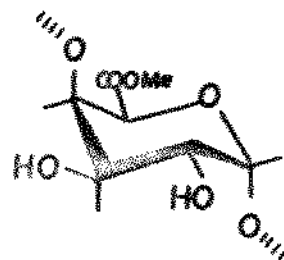
De acordo com JARVIS (1984) géis poderiam ser obtidos com pectina de alto teor de metoxilação, em condições de baixo pH e quando uma grande quantidade de um agente desidratante fosse adicionada.

Neste tipo de gel, conforme REES (1972), os segmentos da cadeia que se associavam, eram compostos predominantemente de tipo II (Fig. 1) com resíduos ocasionais do tipo III (Fig. 1). A incorporação de ácidos urônicos junto com resíduos de éster urônico, parecia possível porque o grupo carboxila ( $-\text{COOH}$ ) não requeria mais espaço na rede que o éster ( $-\text{COOCH}_3$ ), e era também eletrostaticamente neutro.

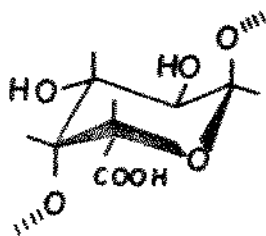
Pectinas de alto teor de esterificação formavam géis quando ligações cruzadas eram promovidas por uma drástica diminuição da atividade de água, favorecendo a interação



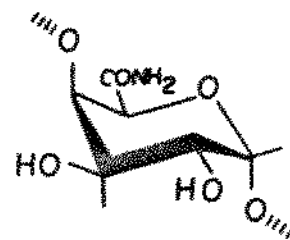
(I) Anión do ácido D-galac-  
turônico



(II) Metiléster do ácido D-galac-  
turônico



(III) Inversão em C<sub>2</sub> idêntica  
a I não ionizado



(IV) Forma amidada do ácido

FIGURA 1 - Fórmulas espaciais envolvidas na formação de géis de pectina. Resíduos encontrados em seqüências de pectinas.

polímero-polímero, mais que a interação polímero solvente (REES, 1977). A água presente tornava-se menos livre para solvatar a cadeia do polissacarídeo, e qualquer tendência do polímero de se separar da solução para formar zonas de junção era aumentada (REES, 1969). Esses géis em geral eram opacos e sinerése não ocorria. A variação de suas propriedades com o pH era refletida a partir dos efeitos sobre o equilíbrio entre resíduos tipo I (Fig. 1) que inibiam associação e resíduos tipo III (Fig. 1) que poderiam contribuir para associação (REES, 1972a).

REES (1969) sugeriu a possibilidade de zonas de junção estáveis, constituídas de duas ou mais cadeias cooperativamente ordenadas, estarem ligadas para formar uma rede tridimensional. WALKINSHAW & ARNOTT (1981) estudando géis de ácido pectínico propuseram um arranjo de três a dez cadeias para um empacotamento energeticamente favorável no gel de ácido pectínico. A formação do gel se iniciaria com uma solução onde cada éster metílico estivesse rodeado por um conjunto de moléculas de água, a adição de co-solutos romperia o conjunto e forçaria os grupos metoxilas a se associarem pelas regiões hidrofóbicas.

Estudos de dicroísmo circular efetuados por MORRIS et alii (1980) e por RAVANAT & RINAUDO (1980), indicaram que as zonas de junção no gel de pectina eram muito diferentes em estrutura, podendo ser representadas por pequenos agregados de cadeias mantidos juntos por pontes de hidrogênio e ligações hidrofóbicas entre os grupos metoxilas resultantes da

esterificação de grupos carbonílicos. WAKENSHAW & ARNOTT (1981) concluíram que o tamanho das zonas de junção poderia ser limitado por fatores estéricos e entrópicos, e que resíduos de ramnose na sequência do polímero interrompiam as zonas de junção. TOWLE & CHRISTENSEN (1973) observaram que o aumento do grau de esterificação acarretava uma formação mais rápida do gel.

DAKENFULL & FENWICK (1977) estudaram a termodinâmica envolvida na estabilização do gel e concluíram que, a contribuição das interações hidrofóbicas à energia livre de formação das zonas de junção era metade do total envolvido com pontes de hidrogênio, mesmo assim sendo tais ligações essenciais para a formação do gel, desde que pontes de hidrogênio eram insuficientes, para vencer a barreira entrópica configuracional das cadeias para a geleificação.

#### 2.3.2.2. Função do açúcar na formação do gel ATM

TAIT et alii (1972) observaram que os açúcares e polióis estabilizavam interações hidrofílicas na estrutura proposta para a água, e que a magnitude do efeito dependia da estereoquímica do açúcar ou poliol e particularmente do espaçamento e orientação dos grupos hidroxilas do açúcar, em relação aos grupos hidroxilas existentes na estrutura da água.

LABUZA (1977) observou que sacarose parecia provocar uma orientação dos dipolos da água, os quais atraíam-se mutuamente provocando o endurecimento do gel, do qual faziam parte. Aparentemente sacarose formava pontes de hidrogênio com



moléculas de pectina, auxiliando na formação do gel pela substituição de moléculas de água da superfície da pectina.

Alguns pesquisadores encontraram também efeitos específicos dos açúcares sobre a associação de moléculas de pectina, mas em soluções muito diluídas para a geleificação. Assim, CHEN & JOSLYN (1967) observaram que sacarose, glucose ou maltose aumentavam a viscosidade destas soluções, enquanto dextrina abaixava, tendo glucose e sacarose provocado efeitos maiores que a maltose. OAKENFULL & FENWICK (1977) divergiram com relação a visão tradicional de que açúcares atuavam especificamente por desidratação parcial de moléculas de pectinas. Segundo estes autores se esta teoria fosse correta, soluções de açúcares ou polióis a uma concentração mínima requerida para geleificação deveriam ter igual atividade de água. Os resultados obtidos pelos autores estão na Tabela 1.

OAKENFULL & SCOTT (1986) verificaram que a adição de açúcares ou polióis à pectina aumentava a associação intermolecular, favorecendo a formação de zonas de junção menores, termodinamicamente mais estáveis, e também uma rede mais extensa e mais rígida.

### 2.3.3. Géis de pectina de baixo teor de metoxilação:

#### 2.3.3.1. Mecanismos de formação

HAUG & SMIDSRØD (1970) estudaram interações de polímeros com cátions observando que, três fatores importantes deveriam ser considerados para entender a associação de poliuronatos por íons cálcio: 1) a geometria do ligante

Tabela 1 - Atividades de água de géis preparados com diversos açúcares na concentração mínima para formação do gel<sup>(1)</sup>.

Tipo de Açúcar	Concentração mínima g/kg de produto	Atividade de água
Sorbitol	390	0,934
Glucose	400	0,932
Frutose	460	0,912
Sacarose	470	0,944

<sup>(1)</sup> OAKENFUL & FENWICK (1977)

(estereoquímica molecular); 2) distribuição de cargas (efeito polieletrólítico) e 3) associação de cadeias como parte do processo de ligação (empacotamento).

SCHWEIGER (1962) sugeriu que a ligação de cátions divalentes a poliuronatos se dava por um mecanismo de ligação primeiramente, de quelação com grupos hidroxilas vicinais das unidades de ácidos urônicos, diretamente envolvidos conforme representado em II (Figura 2). De acordo com KOHN e FURDA (1968a) na formação do gel, para que o modelo fosse verdadeiro, o cálcio deveria estar ligado por valências primárias a dois grupos carboxílicos adjacentes e a dois grupos hidroxilas vicinais pertencentes a uma unidade de ácido urônico como pré-requisito para uma ligação quelato. KOHN e FURDA (1968b) observaram também que a ligação quelato requeria a rotação de unidades de ácido galacturônico ao redor da ligação glicosídica, além de uma distância mínima entre os grupos carboxilas dissociados. Devido ao fato da ligação glicosídica ser trans-diaxial, a molécula de pectina poderia ser considerada como uma cadeia linear relativamente rígida com flexibilidade restrita, além do que a distância entre os grupos carboxilas era muito grande inviabilizando a ligação quelato e conseqüentemente, o mecanismo de ligação proposto por SCHWEIGER (1962).

Em outro trabalho envolvendo a determinação da constante de estabilidade de sais de cálcio de alguns ácidos carboxílicos, seus  $\alpha$  e  $\beta$  hidroxil derivados e dos ácidos glucônico, glucurônico e galacturônico, BUDDECKE & DRZENIEK

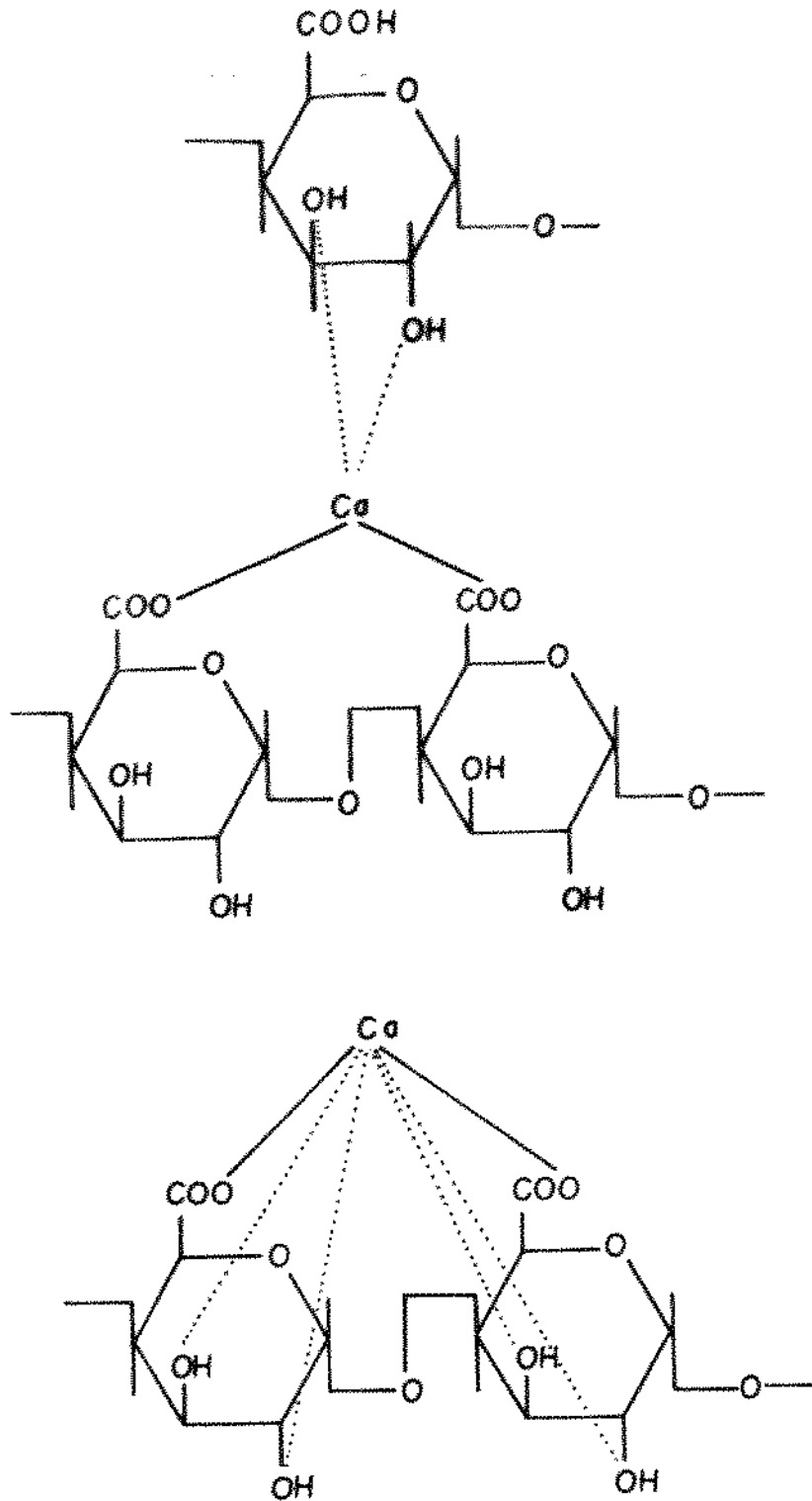


FIGURA 2 - Ligação quelato em pectato de cálcio: I. Ligação intermolecular, II. Ligação intramolecular.

(1962) observaram que a presença de grupos hidroxilas aumentava a estabilidade dos sais de cálcio destes ácidos somente quando os mesmos estavam presentes na posição  $\alpha$  com relação ao grupo carboxílico, tornando a ligação quelato intramolecular de cálcio improvável.

SMIDSRÖD et alii (1972) demonstraram que um íon de cálcio poderia se ligar simultaneamente ao grupo carboxila em uma unidade de ácido galacturônico da molécula de pectina e a dois grupos hidroxilas na unidade do ácido galacturônico precedente. No entanto, a neutralização da outra carga do íon cálcio através do contato direto com o grupo carboxila vizinho era impossível, porque este grupo carboxila estava situado no outro lado do anel.

Uma outra hipótese sobre a formação do gel foi proposta por GRANT et alii (1973) utilizando cálculos sobre possíveis conformações de macromoléculas e estudos de dicroísmo circular de transição sol  $\rightarrow$  gel para poliuronatos de cálcio. Os autores explicaram a seletividade de poliguluronato e pectato em reações de troca iônica, por um mecanismo cooperativo envolvendo duas ou mais cadeias em termos de um modelo denominado por eles de "caixa de ovo". A seletividade de ligações cooperativas seria determinada pela facilidade com a qual os cátions ("os ovos"), de um tamanho particular, poderiam estar empacotados na "caixa" ou seja, nas cavidades determinadas pela conformação macromolecular do polímero.

De acordo com REES (1972a) no gel de pectina BTM, blocos de tipo I (Fig. 1) empilham-se com  $\text{Ca}^{2+}$ , sendo que uma

menor proporção da forma ácida tipo III (Fig. 1), da amida tipo IV (Fig. 1) e menos provável do ester tipo II (Fig. 1) poderiam talvez estar incluídos nesta estrutura. O gel poderia se formar quando os blocos de cadeia fossem grandes o suficiente, para permitir que as forças fracas de atração se acumulassem para produzir ligações cruzadas estáveis, sendo que as formas ácida tipo III (Fig. 1) e amida tipo IV (Fig. 1) pareciam auxiliar a associação.

THIBAUT & RINAUDO (1985) realizaram experimentos envolvendo a medida do coeficiente de atividade de cálcio e observaram que os íons cálcio estavam fortemente ligados ao polímero, indicando a formação de um agregado multicadeias. Pectato de cálcio no mesmo experimento comportou-se como um polieletrólito, com densidade de carga dobrada, com ligação de íons  $Ca^{2+}$  a grupos carboxilas de duas macromoléculas levando à formação de dímeros, mesmo em soluções muito diluídas.

THOM et alii (1982) efetuaram estudos estequiométricos de equilíbrio e diálise de cátions em associação com pectinas, demonstrando que o mecanismo primário de associação intercadeia de  $Ca^{2+}$  a alginato e a pectina ocorria por dimerização de cadeias de sequências homopoliméricas de poli-L-guluronato e poli-D-galacturonato, respectivamente. REES & WELSH (1977) observaram que a extensão na qual uma conformação ordenada em solução poderia ocorrer era limitada pelo número e comprimento da sequência de resíduos galacturônicos.

GIDLEY et alii (1979) e REES (1981), realizaram experimentos envolvendo espectro de dicroísmo circular e observaram que, ao contrário dos géis de alginato de cálcio, filmes de pectato de cálcio mostravam uma completa reversão de sinal, indicando uma grande mudança na organização molecular. A partir desta evidência, os autores concluíram que como no caso do alginato, o evento primário na geleificação da pectina com cálcio, era a formação de dímeros aos pares, os quais na ausência de cátions divalentes adicionais poderiam persistir na secagem do gel. A níveis mais altos de  $Ca^{2+}$  esta forma era estável somente quando hidratada, sendo convertida durante a secagem para uma forma alternativa, na qual as cadeias estavam empacotadas com simetria tripla.

MORRIS et alii (1982) estudando a associação pectina-cálcio concluíram que o tamanho dos agregados que formavam as zonas de junção, dependiam de quanto cálcio estivesse disponível. A baixos níveis de cálcio, cada zona de junção compreendia uma unidade primária de possivelmente duas cadeias, ligadas por íons cálcio, enquanto com excesso de cálcio, estas unidades primárias se ligariam para formar possíveis agregados do tipo folha, estando o cálcio adicional mais fracamente ligado.

De acordo com REES & WELSH, (1977) e KAWABATA et alii, (1981) a presença de grande número de grupos carboxílicos esterificados limitavam a extensão da associação intercadeias induzidas por cátions e contribuíam para formação de uma rede

hidratada tridimensional, mais que a formação de um precipitado insolúvel.

REES, (1969b) observou que a acetilação parcial da pectina e alginato, impedia a formação de gel com cálcio. O autor considerou que a não formação do gel poderia ser atribuída à dificuldade em formar zonas de junção entre as cadeias, devido a presença de substituintes volumosos.

KAWABATA & SAWAYAMA (1975) estudando a formação de géis de pectina de baixo teor de grupos metoxilas, com íons cálcio e magnésio, verificaram que géis de íons cálcio eram mais firmes, e que para obter géis de dureza comparável àqueles obtidos com cálcio era necessário empregar quantidades três vezes maiores de íons magnésio.

KOHN (1975) obteve um valor relativamente alto do coeficiente de atividade de cálcio para polimanuronato de cálcio (0,281), e mais baixas para poliguluronato e pectato de cálcio (0,083 e 0,063, respectivamente) indicando para estes maior associação polímero-íon.

Amostras de pectina BTM desesterificadas por enzimas são caracterizadas por baixos coeficientes de atividade de cálcio, muito próximo às de pectato de cálcio, devido à existência nestas moléculas de pectina de um arranjo agrupado de grupos carboxílicos, na faixa de 15 unidades sequenciais (THIBAUT & RINAUDO, 1985).

Estudando as características de géis de pectina BTM, OWENS et alii (1949) observaram que a firmeza do gel era maior a pH, em que a ionização da pectina poderia ser considerada



total, a quantidade de íons cálcio requerida para formar o gel dependia do teor de grupos metoxila na pectina, e a solubilidade em água dos sais de cálcio da pectina aumentava com o aumento dos grupos metoxilas na mesma.

RISPOLI & GIACOMO (1961) estudaram a influência de íons cálcio, sólidos solúveis, grupos metoxilas e pH na formação de géis de baixo teor de metilação e concluíram que o efeito do pH era pequeno pois foi possível preparar o gel entre pH 2,5 a 6,0. Quanto aos íons cálcio, os autores verificaram que quanto mais baixo era o teor de grupos metoxila maior era a influência deste cátion, e que a quantidade destes íons para a geleificação, aumentava com a diminuição do teor de sólidos solúveis.

#### 2.3.3.1.1. Possível papel da pectina amidada no mecanismo de formação do gel

RACAPE et alii (1989) estudando géis de cálcio de pectinas desmetoxiladas por ácido e amônia observaram coeficiente de atividade de cálcio, próximos nos dois casos, quando a densidade de carga era semelhante para ambos. Sugeriram que o aumento no número de grupos amida acarretava maior associação por pontes de hidrogênio entre grupos aniônicos, diminuindo assim, a densidade de carga do polieletrólito, atuando tais grupos como unidades espaçadoras.

JOSEPH et alii (1949) estudaram géis de pectina desesterificada por hidróxido de amônio em meio alcoólico e verificaram que os íons cálcio reagiam com os grupos

carboxílicos livres e com alguns grupos carboxilas neutralizados por hidróxido de amônio, mas não com grupos amídicos.

BLACK & SMIT (1972) estudaram a formação de géis de pectina deesterificadas por ácido, hidróxido de sódio ou hidróxido de amônia, avaliando a importância da massa molecular e do conteúdo de grupos carboxilas livres. Com pectinas amidadas constataram que a dureza do gel era maior, apesar da menor massa molecular, indicando o envolvimento do grupo amida nas ligações de hidrogênio na formação do gel, hipótese também levantada por SAWAYAMA et alii (1988).

2.3.2.1.2. Outros fatores de influência no mecanismo de formação do gel.

REES (1972b) observou que o processamento de pectinas de baixo teor de éster de metila, deveria ser cuidadosamente controlado para que, a distribuição de resíduos saponificados apresentasse sítios suficientes para ligações cruzadas, uma vez que o excesso acarretaria um produto instável e opaco.

HYVONEN & TORMA (1983) estudando a substituição de sacarose por outros adoçantes em geléias dietéticas conseguiram preparar geléias aceitáveis, usando quantidades baixas de sacarose e de adoçantes. Os autores observaram que a textura do gel com xilitol e sorbitol era inferior aos géis obtidos com sacarose, frutose e lactose.

KAWABATA et alii (1976) verificaram que a força da geléia obtida com sorbitol e xilitol não aumentava com o aumento da concentração dos açúcares-alcoóis.

Em solução, açúcares podem apresentar no equilíbrio até seis compostos conformacionalmente diferentes sendo duas formas piranoses, duas furanoses, uma forma aldeído ou ceto e o hidrato correspondente de acordo com ANGYAL & PICKLES (1972). Espectroscopia de ressonância magnética nuclear tem sido bastante usada para estudos conformacionais de carboidratos em solução. (LEMIEUX et alii 1958; LENZ & HEESCHEN, 1961 e HALL, 1964). Entre os resultados significantes em solução de D<sub>2</sub>O, a correlação do deslocamento químico e da constante de acoplamento do proton ligado ao C1 foi estabelecida para a configuração (  $\alpha$  ) do centro anomérico (van den VEEN, 1963; RAO & FOSTER, 1963).

Carboidratos podem formar complexos com íons metálicos em soluções aquosas e no estado sólido, inclusive com o íon cálcio. (DHEU-ANDRIES & PEREZ, 1983). Duas hipóteses foram sugeridas para a formação do complexo. Uma propondo que as interações são não específicas, ou são governadas por simples forças de coulomb dos cations cálcio aos grupos carboxílicos aniônicos, de acordo com GILBERT & MYERS (1961). A segunda hipótese evidencia que a interação com cálcio requer considerável estereoespecificidade, sugerindo que polissacarídeos ligam-se ao cálcio através da coordenação de vários ligantes, que atuam conjuntamente (GRANT et alii, 1973). Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) tem-se

mostrado útil como um método para estabelecer estruturas dos complexos metal-açúcar em solução, e também para medir constantes de equilíbrio na sua formação (MILLS, 1961 e HALL, 1964).

Para que ocorra a complexação entre a molécula do açúcar e o íon metálico, a primeira deve conter em sua estrutura um arranjo determinado entre os diversos grupos hidroxílicos. Assim o arranjo sequencial de três hidroxilas axial-equatorial-axial, para as moléculas de açúcar na forma cíclica, favorece a formação de complexos de acordo com ANGYAL (1972). Para os açúcares ou polióis na forma acíclica, a seqüência adequada de três hidroxilas consecutivas, devem obedecer a configuração treo-treo preferencialmente, para a formação do complexo (ANGYAL, 1974).

No estudo de formação de complexos entre cátions metálicos e carboidratos, ANGYAL, (1972) utilizou um grande número de cátions, sugerindo que o íon lantânio deveria ser utilizado quando RMN fosse empregada neste tipo de estudo. Segundo o autor, em base molar, o cálcio convertia maior proporção de açúcares em complexos, porém o lantânio provocava maior deslocamento de prótons no espectro.

## 2.4. Comportamento de pectinas e seus géis frente à água

### 2.4.1. Tipos de Interação

Segundo Van den BERG & BRUIN (1981) os tipos de interações físicas que poderiam ocorrer entre a água e alimentos sólidos seriam: a) forças de Coulomb (grupos dissociados, íons); b) ligações de hidrogênio (grupos polares); c) forças de van der Waals; d) efeitos estéricos; e) efeitos de solução; f) mudanças de mobilidade dos segmentos do polímero (plastificação da estrutura macromolecular) e g) condensação capilar (efeito da curvatura hidrodinâmica do líquido na superfície do material adsorvente). O efeito agregado resultante destas interações foi convenientemente expresso pela função energia livre de Gibbs.

LABUZA & BUSK (1979), por outro lado consideraram os seguintes tipos de interação soluto-água: a) água fortemente ligada; b) água adsorvida sobre sítios hidrofílicos da molécula por ponte de hidrogênio; c) água atraída por sítios iônicos através do dipólo molecular da água; d) água ligada por forças capilares entre superfícies de uma matriz insolúvel; e) água englobada por uma rede amorfa, devido à supersaturação das moléculas dissolvidas; e f) água mantida em solução por forças de longo alcance, sendo a natureza de cada força atrativa, de difícil isolamento, devido à múltiplas interações possíveis.

CARRILLO et alii (1988) observaram que a água ligava-se a sítios ativos de ingredientes alimentícios, mudando as estruturas individuais originais, afetando as forças

coesivas e adesivas, e assim as propriedades físicas dos alimentos processados.

O termo sorção conforme Van den BERG & BRUIN (1981) indicava todos os processos onde sólidos/alimentos, reversivelmente se combinavam com moléculas de água. Estes processos abrangiam absorção física verdadeira e condensação capilar em superfícies, bem como a formação de soluções de líquidos e sólidos. Os mesmos autores observaram que modelos envolvendo sorção de polímeros, utilizavam conceitos de absorção sobre superfície e teoria de solução combinados. Algumas considerações têm sido feitas entre os dois tipos de água ligada: um tipo fortemente ligado a sítios polares do polímero e um tipo fracamente ligado contido em "vazios" do polímero. A capacidade absorptiva de diferentes grupos polares são aditivas, conforme mostrado por WATT & LEADER, (1968) que obtiveram boa aproximação na predição de isotermas de sorção para proteínas, para baixos valores de atividade de água..

FERRY (1948) sugeriu que durante a formação de um gel, uma certa quantidade de água era adsorvida pelo sistema, e uma solução aquosa diluída seria transformada em uma substância elástica, com uma estrutura de matriz interligada. É conhecido, de acordo com LABUZA, (1975), que macromoléculas além de formarem estruturas capilares, as quais poderiam conter água, induziam um efeito estruturante abrangente sobre a água. Isto segundo o mesmo autor poderia contribuir para uma maior ligação de água, encontrada em alguns sistemas de alto conteúdo de umidade.

#### 2.4.2. Formas de quantificação da água ligada

A quantificação da água ligada em um sistema varia grandemente de um para outro pesquisador, dependendo de qual forma de mensuração seja utilizada (LABUZA & BUSK, 1979). Por causa disto, bem como por causa das complexidades e interações das forças de ligação envolvidas, nenhuma definição universal de água ligada tem sido adotada (FENNEMA, 1985).

As propriedades da água livre e da água ligada tem sido medidas pelos seguintes métodos: quantidade de água não congelável avaliada por análise térmica diferencial (DUCKWORTH, 1971); atividade de água (Van den BERG et alii, 1975); ressonância magnética nuclear (CHILD & PRYCE, 1972); efeito do abaixamento da pressão de vapor (LABUZA, 1968); potencial de sucção (LEWICKI et alii, 1978) e predições baseadas sobre teorias desenvolvidas por FLORY, (1942) e HUGGINS, (1942). De acordo com SOEKARTO & STEINBERG, (1981), a grande quantidade de energia envolvida na água ligada pode ser medida pela aplicação de princípios termodinâmicos, como a perda ou ganho de energia devido ao aquecimento ou resfriamento. Água livre e ligada podem assim ser determinadas a partir de isotermas usando análise térmica diferencial através de calorimetria diferencial por varredura (DSC).

ROSS (1978) observou que a quantidade de água ligada era dependente da natureza dos componentes e que a correlação entre água ligada e atividade de água correspondia a sistemas específicos. Em cada caso estudado pelo autor, a água ligada

como g água/g sólido decrescia com o decréscimo da atividade ao longo do que poderia ser chamada uma isoterma de água ligada, indicando que a medida desta água deveria referir-se a um valor especificado de atividade.

De acordo com SIMATOS et alii (1975) para o cálculo da água não congelável era necessário, a priori, aceitar que a entropia de fusão do gelo presente no alimento fosse o mesmo que para o gelo puro. WATT (1983), entretanto, trabalhando com o congelamento de biopolímeros afirmou que o valor do calor latente é significativamente mais baixo que para a água líquida. Para evitar o problema SIMATOS et alii (1975) sugeriu que as medidas sobre o material a ser analisado fossem feitas, para níveis decrescentes de água ligada.

Estudos com sistemas modelo e medida da quantidade de água ligada por calorimetria diferencial por varredura efetuados por WALLINGFORD & LABUZA (1983) mostraram que para atividades de água menores que 0,7, toda a água presente estava na forma de água ligada para os sistemas estudados. De acordo com os autores, a partir daquele valor até a atividade próxima de 0,9 a quantidade de água ligada permaneceu praticamente constante, aumentando sensivelmente acima deste valor. Comportamento semelhante foi anteriormente observado para outros produtos alimentícios por BECHETEL et alii (1971).

#### 2.4.3. Curvas de absorção de materiais pécticos.

PALMER et alii (1948) construíram curvas de absorção para ácido péctico e pectínico com níveis de esterificação



entre 0,2 e 10,9%. Verificaram que o conteúdo de umidade nas situações de equilíbrio era essencialmente independente do grau de esterificação, com exceção dos resultados obtidos a altas umidades relativas de equilíbrio. Os mesmos autores afirmaram que os grupos hidroxílicos eram responsáveis pela alta sorção de água dos ácidos pectínicos, uma vez que o conteúdo de água no equilíbrio era bastante reduzido quando grupos hidrofílicos foram esterificados com ácido propiônico, em contraste aos efeitos desprezíveis, quando grupos carboxílicos eram esterificados. Uma segunda alternativa pela qual, grupos polares de cadeias polissacarídeas mostraram uma afinidade baixa não esperada pela água, poderia ser devido à formação de uma ligação intercadeia com outro grupo, de suficiente força, para resistir ao efeito dissociante da água.

Isotermas de sorção para amostras de pectina de baixo teor de metilação apresentaram um padrão sigmóide, atingindo o equilíbrio em 10-15 dias. WATT (1983) sugeriu que, um mecanismo multifase de adsorção era necessário, para dar a forma sigmoidal da isoterma, para muitos substratos macromoleculares.

BETTLHEIM et alii (1956) estudaram curvas de sorção para pectinas, e concluíram que a distância entre cadeias de polímeros vizinhos era função do conteúdo de água absorvida sendo que a altas pressões relativas de vapor de água o aumento nas distâncias entre cadeias de polímeros vizinhos não era proporcional ao aumento do conteúdo de água, ocorrendo provavelmente condensação capilar para estes altos valores de pressão relativa. Por outro lado, o aumento do espaçamento

equatorial, medido por Raio-X em todas as amostras, indicou que não ocorria uma separação clara entre adsorção por multicamadas, condensação capilar ou solução, e que ambas ocorriam simultaneamente, afirmação válida também para a relação monocamada-multicamada.

ROCHESTER & WESTERMAN (1976) construíram isotermas de sorção para sódio poliglutamato e para ácido poliglutâmico esterificado com metanol e mostraram que a retenção da água para grupos COOH foi muito maior que para os COOMe em toda a faixa de atividade considerada

BETTLHEIM & VOLMAN (1957 a) em estudos com substâncias pécticas, as quais incham pela adsorção de água, concluíram que esta adsorção produzia grandes mudanças de entropia. Medidas de difração de raio-X indicaram que a cristalinidade do polímero aumentava conforme a água era absorvida. Esses autores também observaram que uma característica distinta evidenciada a partir das funções de entropia e calor diferencial de adsorção de água sobre a pectina, era que, embora a água adsorvida causasse um inchamento do polímero, ela não expunha novos grupos polares pela adsorção localizada, em contraste com o comportamento de outras cadeias poligalacturonídeas. Provavelmente, segundo os autores, grupos metoxila protegiam ou bloqueavam o oxigênio carboxílico para ligações de hidrogênio com a água.

RICE & HARRIS (1954) observaram que polissacarídeos aniônicos ligavam mais água que polissacarídeos neutros, particularmente a baixas concentrações dos mesmos podendo o

efeito ser devido à presença de carga que propiciava uma configuração mais estendida ao polímero, e ainda que unidades monoméricas do polímero eram mais acessíveis ao solvente.

De acordo com LABUZA & BUSK, (1979), a despeito de muitos estudos conduzidos sobre as propriedades de ligação de água de macromoléculas gelificantes, a exata natureza das forças pelas quais a água se encontra contida em géis é ainda pouco conhecida. Em trabalho anterior LABUZA (1977) considerou que a água presente no gel era muito semelhante à água livre sendo fracamente associada à matriz do gel, embora diferenças mensuráveis existissem entre a água livre e aquela associada ao gel. Outros pesquisadores (DRANSFELD et alii, 1962; RESING et alii, 1964; LABUZA, 1975) consideraram a possibilidade da água ligada no gel estar contida em canais e poros formados por uma rede tridimensional do gel.

## 2.5. Comportamento de açúcares frente a água

De acordo com OGUNMOYELA & BIRCH (1984) a capacidade umectante de um açúcar poderia ser estimada, não somente pelo ganho ou perda de umidade quando submetido a diferentes umidades relativas, mas também pela avaliação de sua isoterma de sorção. Estes autores observaram em coberturas de chocolate que, a ordem decrescente de higroscopicidade de adoçantes era sorbitol, maltose, e sacarose.

Evidências derivadas de observações espectroscópicas e termodinâmicas mostraram que açúcares e polióis interagem com água em uma extensão que dependia de sua estrutura molecular. Assim glucose comportava-se diferentemente de sacarose, bem como manitol de sorbitol (TAIT et alii, 1972). As moléculas de açúcar poderiam induzir estruturação nas moléculas de água ao seu redor se a orientação dos grupos OH do mesmo fosse tal que, o espaçamento entre dois grupos OH do açúcar correspondessem a distância encontrada entre dois oxigênios de duas moléculas associadas de água, na estrutura ordenada da mesma (4,86A) (BACK et alii, 1979).

NISHINARI et alii (1990) observaram que muitos açúcares poderiam interferir na formação de pontes de hidrogênio e na formação de zonas de junção, sendo que sacarose e glucose podiam imobilizar água livre, assim mudando a estrutura da mesma. De acordo com os autores a utilização de calorimetria diferencial por varredura em géis de K-carragena contendo sacarose ou glucose para determinação de água ligada mostrou que a imobilização da água dependia do tipo de açúcar.

Resultados de experimentos efetuados por LABUZA, (1977) com géis de amido mostraram que ocorria uma queda de 0,98 para 0,96 na atividade de água quando açúcar era adicionado, ocorrendo também aumento da temperatura de geleificação e do tempo necessário para gelatinização de amido. Isto, segundo os autores, poderia significar uma competição direta entre o amido e o açúcar pela água, acarretando menor gelatinização.

RADOSTA & SCHIERBAUM (1990) observaram que todas as transições que caracterizavam diferentes estados e quantidades de água ligada a maltodextrina eram independentes do estado físico desse carboidrato que se mostrou efetivo em associar água tanto no estado sólido, como em soluções, ou nas transições sol-gel e também no estado gel. Os autores observaram também que a quantidade de água não congelável aumentava continuamente com o aumento da concentração de maltodextrinas, ocorrendo pouca diferença na interação polímero-água, entre polímeros com estruturas lineares ou ramificadas.

ROOS & KAREL (1991) observaram que muitos alimentos incluindo açúcares poderiam se apresentar em estado amorfo, sendo sensíveis à mudanças de temperatura e conteúdo de umidade. Esta matriz amorfa pode existir como um produto vítreo muito viscoso ou como um produto de aspecto elástico contendo estrutura amorfa. Ainda de acordo com os autores as mudanças de um estado para outro são determinadas pela temperatura de transição vítrea, que é específica para cada material, podendo entretanto, ser alterada por agentes plastificantes como a água.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Materiais

##### 3.1.1. Pectinas cítricas

As pectinas utilizadas no experimento foram cedidas pela BRASPECTINA S.A., apresentando as seguintes características definidas pelo fabricante:

3.1.1.1. Pectina de alto teor de metoxilação (8105) - Rapid Set; Grau (USA-SAG)  $150 \pm 10$ ; Temperatura de Geleificação 80-95°C; Esterificação 68-72%; Pectina de alto teor de metoxila

3.1.1.2. Pectina de baixo teor de metoxilação amidada (8002) - Amidada; Grau não especificado; Teor de metoxilação 26-30%; Grau de Amidação 15-21%; Pectina de baixo teor de metoxilação.

Todas as pectinas utilizadas nos ensaios foram embaladas em frascos rosqueados e estocadas a -20°C para utilização posterior.

##### 3.1.2. Ácido galacturônico e Ácido poligalacturônico

Foi utilizado ácido poligalacturônico, J.T. Baker - Chemical Co., Practical Grade, lote Nº 18766. O ácido galacturônico foi monohidratado de marca Sigma.

### 3.1.3. Pectinas quimicamente modificadas

Ácido poligalacturônico e pectina ATM purificados foram esterificados e utilizados posteriormente.

### 3.1.4. Azul de dextrana, dextransas de diferentes massas moleculares e material cromatográfico.

Azul de Dextrana Sigma Nº D-5751 lote 17C-0064; MM =  $2.10^6$  e Padrões de Dextrana com as seguintes características foram utilizados: MM = 9.600, Sigma lote 14F 0023 D-9260; MM = 70.000, lote HA-2315 e MM = 500.000 lote GI-26917.

DEAE-Celulose, poder de troca iônica 0,92 meq/g, Sigma D-8257, lote Nº 38C/0186; Sephadex G-200, Pharmacia, Lote Nº TO-5212, e Sepharose 2B/4B, Pharmacia, lote Nº MD-01.940, código 17-0130-01 foram utilizadas nas cromatografias de troca iônica e de exclusão molecular, respectivamente.

### 3.1.5. Sorbitol e Manitol

Sorbitol e manitol sólidos foram fornecidos pela GETEC - Guanabara Química, ambos apresentando grau P.A. contendo um mínimo de 98.5% do poliálcool.

### 3.1.6. Reagentes para ressonância magnética nuclear

Cloreto de Cálcio monohidratado - Merck; óxido de lantânio - Merck e água deuterada - Sigma foram utilizados na preparação de amostras submetidas a ressonância magnética nuclear de prótons.

### 3.1.7. Outros reagentes

Todos os reagentes orgânicos e inorgânicos utilizados apresentavam grau P.A., exceto o álcool etílico anidro contendo 99,3% INPM como teor alcoólico mínimo.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Determinação de umidade e cinzas

Determinação de umidade foi feita por secagem em estufa a vácuo, a 720mm de Hg e a 60°C por 36 horas, sempre em duplicata, enquanto a determinação de cinzas foi feita por calcinação em mufla a 500°C até peso constante (AOAC, 1984).

### 3.2.2. Determinação de nitrogênio total

A determinação de nitrogênio total nas pectinas purificadas de alto e baixo teor de metoxilação foi feita após secagem das amostras em estufa a vácuo, 60°C por 36 horas pelo método de Kjeldhal (AOAC 1984).

### 3.2.3. Preparo das pectinas

Pectinas a serem purificadas foram solubilizadas em água destilada, precipitadas com etanol 95% e separadas por centrifugação (3000 rpm). O procedimento foi repetido por tres vezes, após o que as pectinas foram solubilizadas em água destilada e dialisadas por 24 horas contra água destilada. A ausência de açúcares livres, determinados na solução externa



foi utilizada como indicação para o fim do processo de purificação (DUBOIS et. alii, 1956), sendo então precipitados com etanol 95%. Os precipitados obtidos foram então secos em estufa com circulação forçada de ar a 45°C, até o desaparecimento do odor residual alcoólico. Procedimento idêntico foi adotado para ácido poligalacturônico. Todos os materiais pécticos purificados incluindo aqueles quimicamente modificados foram peneirados em peneira de abertura 0,59 mm (TYLER 28; ABNT 30) antes de serem embalados, excetuados os quimicamente modificados que foram ensaiados após peneiragem.

#### 3.2.4. Determinação de grupos metoxilas na pectina

A determinação do conteúdo de grupos carboxílicos esterificados com metanol nas pectinas foi feita de acordo com o método descrito por SCHULTZ (1965).

#### 3.2.5. Determinação de ácido galacturônico nas pectinas

O teor de ácido galacturônico dos produtos pécticos foi determinado através de reação com carbazol, conforme descrito por GALAMBOS (1967).

#### 3.2.6. Esterificação de pectina de alto teor de metoxilação e de ácido poligalacturônico

##### 3.2.6.1. Esterificação com diazometano:

A suspensões de pectina BTM e ácido poligalacturônico purificados (200 mg) em éter seco (20 mL), mantidos em banho de gelo e cloreto de sódio, foram adicionados 20 mL de uma solução

récem preparada de diazometano em éter, por tempo suficiente para ocorrer a decomposição do excesso de diazometano.. A reação mantida sob agitação foi repetida por uma segunda adição de diazometano. Após a reação, o produto foi filtrado a vácuo e lavado com éter seco gelado e posteriormente seco em estufa a vácuo 45°C e 720 mmHg. Os produtos secos foram mantidos em dessecadores até uso posterior (GEE, 1959; PFEFFER, 1981).

### 3.2.6.2. Produção de diazometano e de nitrosometilurea:

Diazometano foi produzido a partir de N-nitrosometilurea, que por sua vez foi produzida a partir de cloridrato de metilamina de acordo com ARNDT (1943a e 1943b).

### 3.2.7. Determinação de açúcares livres e ligados às pectinas

#### 3.2.7.1. Cromatografia em papel e em placa dos açúcares

A separação e identificação dos açúcares livres e ligados à pectina foi feita por cromatografia descendente em papel usando como solvente acetato de etila:piridina:água (8:2:1) conforme WILLIAMS & BEVENUE, (1953). Após o desenvolvimento do cromatograma, o mesmo foi revelado com nitrato de prata (LEWIS & SMITH, 1969). )

Cromatografia em camada delgada em celulose, foi feita usando como solvente piridina:acetato de etila:ácido acético:água (36:36:7:21) de acordo com LEWIS & SMITH (1969), empregando-se como revelador solução de paranisidina-ácido ftálico (ZWEIG & SHERMA, 1986).

### 3.2.7.2. Hidrólise das pectinas

Os açúcares ligados à pectina foram determinados após hidrólise das pectinas com ácido trifluoracético em ampolas de vidro seladas por 1 e 3 horas a 121° C. Em seguida o ácido foi evaporado e o resíduo solubilizado em água e aplicado às placas de acordo com ALBERSHEIM et alii (1967)

### 3.2.8. Cromatografia de troca iônica

Soluções de pectina de baixo e alto teor de metilação purificadas, foram cromatografadas (2,5 mL, 250 mg/100 mL tampão fosfato 0,025M) sobre a coluna de (1,5 cm diâmetro interno, 21 cm) DEAE-celulose e eluídas por gravidade com tampões fosfato, de concentrações variando de 0,025 a 1,000M, pH 6,0 a um fluxo de 80 mL/h (BAIG et alii, 1982). Frações de 3 mL foram coletadas em coletor de frações automático, sendo 30 tubos por tampão.

Amostras de cada tubo foram transferidas e determinado o conteúdo de ácido galacturônico (GALAMBOS, 1967). Ativação e lavagem da resina anteriores ao empacotamento foram feitos, com soluções de ácido clorídrico 0,5 N e hidróxido de sódio 0,5 N por quatro vezes consecutivas (NEUKON & KUENDIG, 1965).

### 3.2.9. Estimativa da massa molecular das pectinas

#### 3.2.9.1. Cromatografia de exclusão molecular

Cromatografia de exclusão molecular em diversos tipos de resinas foram efetuadas para estimativa da massa molecular das pectinas purificadas (BRUN & ABO, 1977; BARBIER & THIBAUT, 1982; MICHEL et alii 1985).

##### 3.2.9.1.1. Cromatografia sobre Sephadex G-200

Foi utilizada uma coluna (ref. Pharmacia - Gel filtration Theory and Practice) de 75 cm de comprimento de resina e 3 cm de diâmetro interno após condicionamento. Em seguida foi feita lavagem exaustiva com tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0 até a estabilização da altura da coluna, e aplicadas amostras solubilizadas no mesmo tampão sobre a superfície da coluna (4,5 mL; 0,2%), de acordo com trabalhos desenvolvidos por O'BEIRNE & van BUREN, (1983) e BERTH, (1988).

Um fluxo de 0,5 mL/min. foi obtido utilizando frasco de Mariot sobre a coluna. O volume vazio da coluna ( $V_0$ ) foi determinado pela passagem de Azul de Dextrana (4,5 mL; 0,2%), cuja eluição foi monitorada por leitura da absorbância das frações em espectrofotômetro a 625 nm, e as frações coletadas automaticamente. As frações de pectina eluídas foram analisadas quanto ao seu conteúdo de ácido galacturônico. Foram utilizados padrões de dextrana descritos em 3.1.4., sendo sua determinação feita por método colorimétrico, utilizando antrona de acordo com HOOD & MERCIER, (1978).

Tabela 2 - Formulação para géis de pectina de alto teor de metoxilação e baixo teor de metoxilação amidada<sup>(1)</sup>.

Componentes	Pectina de alto teor de metoxilação	Pectina de baixo teor de metoxilação
Pectina 8105 purificada Grade teórico: 150	4,3 g	-----
Pectina 8002 purificada	-----	6,0 g
Açúcar	646 g	180 g
Água	410 mL	425 mL
Ácido Tártarico (43,8%)	2 mL/copo padrão <sup>(3)</sup>	-----
Ácido Cítrico (54,3%)	-----	5 mL
Citrato de Sódio (6%)	-----	10 mL
Cloreto de Cálcio (2,2%)	-----	25 mL
Peso final da receita <sup>(2)</sup>	1015 g	600 g

<sup>(1)</sup> Para dois tipos de gel foram utilizados: sorbitol, sacarose, glucose e frutose na formulação.

<sup>(2)</sup> Na formulação do gel de pectina com baixo teor de metoxilação sem adição de açúcar a indicação para o ponto final do preparo foi a dissolução dos constituintes.

<sup>(3)</sup> O ácido tartárico foi adicionado no copo antes da adição da mistura.

### 3.2.9.1.2. Cromatografia sobre Sepharose 2B/4B

Sepharose 2B/4B pré-condicionada foi empacotada em coluna de vidro (92 cm, 2,55 cm de diâmetro). O fluxo foi mantido ascendente, por meio de uma bomba peristáltica durante a cromatografia a 10-12 gotas/minutos (1 ml = 34 gotas; fluxo por gravidade 15 gotas/minutos). Os padrões utilizados foram os mesmos que para Sephadex G-200. Os volumes das frações foram de 4 mL e concentração de 0,5% para dextranas e amostras de pectina e de 1% para Azul de Dextrana, utilizando-se como eluente e solvente tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0. A análise das frações eluídas foi igual à descrita em 2.9.1.1.

### 3.2.9.2. Estimativa da massa molecular pela viscosidade intrínseca

A viscosidade intrínseca das pectinas e seus derivados foi determinada usando viscosímetro capilar Cannon-Fenske Nº 100-V727, mantido em banho termostático a 20,0°C de acordo com CHRISTENSEN (1954). A massa molecular das amostras foi calculada a partir dos valores de viscosidade intrínseca a diluição infinita. (SWENSON, 1963; GREENWOOD, 1964).

### 3.2.10. Preparo dos géis

#### 3.2.10.1. Géis de pectinas de alto teor de metoxilação

Géis contendo pectina de alto teor de metoxilação foram preparados com os seguintes açúcares: glucose, frutose, sorbitol, manitol e sacarose, de acordo com formulação dada na Tabela 2, e segundo método padronizado pelo IFT, (1959). Após

18-24 horas a firmeza do gel foi determinada em Ridglímetro tipo Cox-Higby munido de copos Hazel-Atlas 85 e os valores expressos em porcentagem de "SAG". Foi medido o pH e determinados os sólidos solúveis totais por refratometria.

### 3.2.10.2. Géis de pectina amidada de baixo teor de metoxilação

Géis de pectina de baixo teor de metoxilação foram preparados de acordo com formulação dada na tabela 2, variando o tipo de açúcar (glucose, frutose, sorbitol, manitol e sacarose), incluindo uma formulação totalmente isenta de açúcar, conforme padrão do FOOD CHEMICAL CODEX (1972). Medidas físicas de firmeza expressa em % SAG, pH e °Brix foram feitas entre 18 e 24 horas após o preparo dos géis.

### 3.2.10.3. Géis contendo pectina ATM quimicamente modificada

Pectina ATM metoxilada (conforme 3.2.6.1) foi utilizada na preparação de géis de pectina com sacarose, de acordo com a formulação dada na Tabela 2 para preparo de géis de pectina de alto teor de metoxilação. Medidas físicas de firmeza expressa em porcentagem SAG, pH e graus Brix foram feitas entre 18-24 horas após o preparo dos géis. Após este período o produto foi aquecido e adicionado de solução de  $\text{CaCl}_2$  (2,2%), avaliando-se a firmeza do novo produto após 24 horas. Nova preparação foi obtida adicionando-se uma quantidade duas vezes maior de solução de cloreto de cálcio e o produto avaliado após igual período de tempo.

3.2.10.4. Géis de ácido poligalacturônico quimicamente modificado

Ácido poligalacturônico metoxilado (conforme 3.2.6.1.) foi utilizado na preparação de géis de pectina, contendo sacarose como fonte de açúcar conforme formulação da tabela 2. O produto obtido foi submetido à medidas físicas de firmeza expressas em porcentagem de SAG, pH e graus Brix entre 18-24 horas após sua preparação.

3.2.11. Absorção de Água

3.2.11.1. Preparo dos géis para curvas de absorção e determinação de água ligada

Géis de pectina preparados nos itens 3.2.10.1. e 3.2.10.2. após medidas físicas, foram congelados em  $N_2$  líquido e em seguida liofilizados. O material liofilizado foi colocado em dessecadores sob vácuo e transferido para outros dessecadores contendo pentóxido de fósforo, 48 horas antes dos ensaios de absorção.

3.2.11.2. Curvas de absorção

Curvas de absorção foram construídas a partir de amostras secas a 60°C em estufa à vácuo ou em dessecador contendo pentóxido de fósforo para os géis liofilizados, utilizando-se soluções saturadas de sais a temperatura constante (20°C) conforme Tabela 3, até que as amostras atingissem peso constante (20-30 dias) (MULTON, 1984; LABUZA, 1984).



Foram ensaiadas as pectinas comerciais de alto e baixo teor de metoxilação, as pectinas purificadas, o ácido poligalacturônico, o ácido poligalacturônico e pectina de alto teor de metoxila remetilados com diazometano, glucose, frutose, sacarose e sorbitol, géis de pectina de alto e baixo teor de metoxilação conforme descritos em 3.2.10.1. e 3.2.10.2. Os açúcares e as pectinas 8105 e 8002 purificadas foram também ensaiados após suas soluções serem liofilizadas.

### 3.2.11.3. Determinação de água ligada

Géis de pectina de alto e baixo teor de metoxilação contendo glucose, frutose, sacarose e sorbitol liofilizados e após completa secagem sobre pentóxido de fósforo (ROOS & KAREL, 1991) foram equilibrados em diversas umidades relativas constantes. Os géis de alto teor foram equilibrados em dessecadores contendo NaBr ( $a_{H_2O}=0,57$ );  $CuCl_2$  ( $a_{H_2O}=0,68$ ); KBr ( $a_{H_2O} = 0,87$ );  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  ( $a_{H_2O} = 0,91$ ) e  $Na_2HPO_4$  ( $a_{H_2O} = 0,95$ ). As amostras foram pesadas em microbalança antes e após equilíbrio, sendo utilizadas posteriormente para análise por calorimetria diferencial por varredura.

Géis de pectina de baixo teor foram tratados da mesma forma, mas mantidos somente em uma solução saturada contendo  $BaCl_2 \cdot H_2O$ , ( $a_{H_2O} = 0,91$ ) e após equilíbrio, analisados por análise térmica diferencial.

Para a análise por calorimetria diferencial por varredura amostras após atingir o equilíbrio foram lacradas e esfriadas a  $-80^\circ C$  com nitrogênio líquido de acordo com

Tabela 3 - Sais utilizados e correspondentes umidades relativas de equilíbrio utilizadas na construção de isotermas de adsorção a 20,0°C<sup>(1)</sup>.

SAL (Solução saturada)	URE Umidade Realtiva de Equilíbrio (%)
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	33,03
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> · 2H <sub>2</sub> O	44,00
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	54,47
NaBr	57,00
CuCl <sub>2</sub>	68,80
NaNO <sub>3</sub>	73,36
NaCl	75,47
KBr	87,00
BaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	90,00
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	95,00

<sup>(1)</sup> STOKES et alii (1949); GREENSPAN (1977).

DUCKWORTH, (1971). Amostras de 5-10 mg iniciais foram colocadas em cápsula de alumínio. As medidas foram feitas em termoanalisador Du Pont, modelo 990 a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, até atingirem 40 C. Determinações de entalpia foram feitas pela medida da área do pico de fusão com um planímetro, usando-se o Índio como referência para cálculo do valor de E ("coeficiente de calibração da cela") (ROSS, 1978).

### 3.2.12. Ressonância magnética nuclear de prótons

#### 3.2.12.1 Produção de cloreto de lantânio

Foi obtido a partir de óxido de lantânio e ácido clorídrico concentrado através de gotejamento do ácido sobre o óxido em capsula de porcelana e posterior secagem a 100 C de acordo com TAYLOR & CARTER, (1962).

#### 3.2.12.2 Espectros de ressonância magnética nuclear de próton

Ressonância Magnética Nuclear de Prótons foi feita em amostras contendo entre 0,3 - 0,7 M de açúcar e 0,57 M de cloreto de cálcio ou de lantânio em D<sub>2</sub>O de acordo com ANGYAL (1972). Análises foram efetuadas em aparelho Varian Gemini 300 sempre a 300 MHz (7,05 TESLA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização das pectinas e preparação dos géis de pectinas ATM e BTM

As pectinas são normalmente caracterizadas pelo seu grau de metoxilação, grau de amidação, massa molecular, capacidade de formar gel e teor de impurezas, tais como açúcares livres e cinzas.

Para todas as pectinas usadas neste trabalho foram feitas determinações visando a verificação dos valores acima mencionados, usando técnicas usuais e amplamente descritas na literatura (BAIG et alii 1980; BARBIER & THIBAUT, 1982). Quando necessário foram introduzidas as adaptações requeridas nos métodos, e nesse caso a metodologia está descrita no capítulo Materiais e Métodos. Os resultados experimentais da caracterização estão apresentados na Tabela 4. A fim de atenuar ao máximo os efeitos secundários nos resultados, durante o desenrolar do trabalho, foi usado sempre o mesmo lote de pectina.

Examinando os dados da Tabela 4 verifica-se que os valores obtidos na determinação de cinzas, nitrogênio e umidade são mais altos para a pectina amidada. A diferença no teor de cinzas é atribuível à metodologia usada para a preparação da pectina amidada, e a presença de grupos amida em substituição a grupos metoxilas é responsável pelo alto teor de nitrogênio.

Tabela 4 - Caracterização físico-química das pectinas utilizadas.

MATERIAL	% Metoxilação MEO (%)	Massa Molecular Média	Cinzas (%)	Umidade (%)	Nitrogênio (%)	Ácido Galacturônico (%) <sup>(B)</sup>
Pectina ATM Purificada (8105)	53,1 8,5	90.430 101.084 <sup>(A)</sup>	0,75	2,43	1,37	91,7
Pectina BTM purificada (8002)	22,4 2,7	117.700 153.220 <sup>(A)</sup>	1,49	3,47	2,92	75,5
Ácido poligalacturônico purificado	5,0 0,0	25.000 -----	----	----	----	106,0
Ácido poligalacturônico purificado remetoxilado	44,9 7,2	21.270 -----	----	----	----	104,0
Pectina ATM purificada remetoxilada	87,9 14,1	32.340 36.013	----	----	----	89,8

<sup>(A)</sup> Valor corrigido para 100% de ácido galacturônico.

<sup>(B)</sup> Expresso em base seca.

Através de cromatografia em papel das pectinas comerciais foram identificados os seguintes açúcares livres: sacarose, glucose, galactose e manose (M.M. 3.2.7.2). A presença destes açúcares tornou necessária a purificação das pectinas por lavagem exaustiva com água (M.M. 3.2.3) a fim de evitar a interferência dos mesmos nos resultados dos experimentos de geleificação, sorção de água, quantidade de água ligada, determinação de água de monocamada, etc.

Os açúcares ligados às pectinas foram determinados por cromatografia em papel e em placa (M.M. 3.2.7.2) dos hidrolisados das pectinas ATM e BTM (M.M. 3.2.7.1). Foram assim identificados além do ácido galacturônico, galactose, manose e arabinose, possivelmente ligados aos carbonos 2 e 3 (ASPINALL, 1970) de um resíduo do ácido galacturônico ou fazendo parte da cadeia dos ácidos poligalacturônicos, detectando-se também a ramnose. A presença de açúcares ligados à cadeia das pectinas foi também observada por TALMADGE et alii (1973) sendo atribuído a ramnose a quebra da regularidade do arranjo espacial em espiral da cadeia de pectina.

A determinação da massa molecular de moléculas extremamente volumosas como é o caso da pectina está sujeita a dificuldades relacionadas tanto com a estrutura, como com o próprio tamanho das moléculas (ANGER & BERTH, 1986).

A massa molecular das pectinas ATM e BTM foi determinada pela medida da viscosidade intrínseca de soluções das pectinas (M.M. 3.2.9.2) e pela permeação através de colunas de exclusão molecular (M.M. 3.2.9.1.1 e 3.2.9.1.2) e posterior

comparação com padrões de massa molecular conhecidas (SWENSON, 1963; GREENWOOD, 1964; DEKERS et alii, 1986). A principal limitação do primeiro método está relacionada com a possibilidade de agregação de moléculas de alta massa molecular, o que resulta em um valor menor para a medida da viscosidade intrínseca (FISHMAN et alii 1984), e conseqüentemente ocorre perda de correlação entre a massa molecular e a viscosidade para componentes de massa molecular alto conforme observado por ANGER & BERTH (1986). Os resultados utilizados na determinação da viscosidade intrínseca estão apresentados no anexo I.

Os valores médios obtidos no presente trabalho situados entre 100000 e 150000 estão em concordância com os valores obtidos para pectinas cítricas por SMITH & BRYANT (1967) e inferiores aos valores médios determinados por BRIGAND et alii (1990), ambos utilizando a mesma técnica de medida.

A determinação da massa molecular por permeação em coluna de exclusão molecular (M. M. 3.2.9.1 e 3.2.9.2) não permitiu a obtenção de resultados satisfatórios, devido à baixa resolução na permeação das dextranas padrão. Os resultados tornaram<sup>os</sup> o método inviável para as pectinas ATM e BTM. Segundo BERTH (1988) o método apresentou resultados imprecisos quando usado com pectinas cítricas contendo frações de diferentes massas moleculares, eluindo em um mesmo volume de saída. Também neste caso as dificuldades do método foram atribuídas por HANKE & NORTHCOOTE (1975) à provável agregação de moléculas de

pectina, o que acarreta segundo os autores, a determinação de valores inferiores às massas moleculares verdadeiras.

A heterogeneidade das pectinas ATM e BTM usadas neste trabalho é possível causadora das dificuldades na obtenção de massas moleculares pelo método de permeação em gel, foi demonstrada pelo perfil de eluição das pectinas em colunas de troca iônica de acordo com Figura 3 e Figura 4 (M.M. 3.2.8). Para a pectina ATM pelo menos duas frações são bem separadas, indicando que as mesmas são distintas. Esta diferença pode ser devida à diferença no número de grupos COOH presentes nessas frações ou a diferentes massas moleculares. Na pectina BTM a diferença de grupos COOH livres entre as duas frações é pequena acarretando uma superposição dos picos. Resultados semelhantes foram obtidos por BAIG et alii (1982), e segundo esses autores as diferenças no perfil de separação decorrem das diferenças de carga de cada fração, observando também um decréscimo no conteúdo de grupos metoxilas na fração eluída, com aumento da concentração do tampão.

4.2. Curvas de absorção de água e valor de monocamada (BET) dos constituintes dos géis.

Para que os géis de pectina ATM e BTM contendo em sua formulação diversos tipos de açúcares, pudessem ser estudados quanto ao seu comportamento frente à capacidade de absorção de água e ao efeito desses componentes nos mecanismos de formação



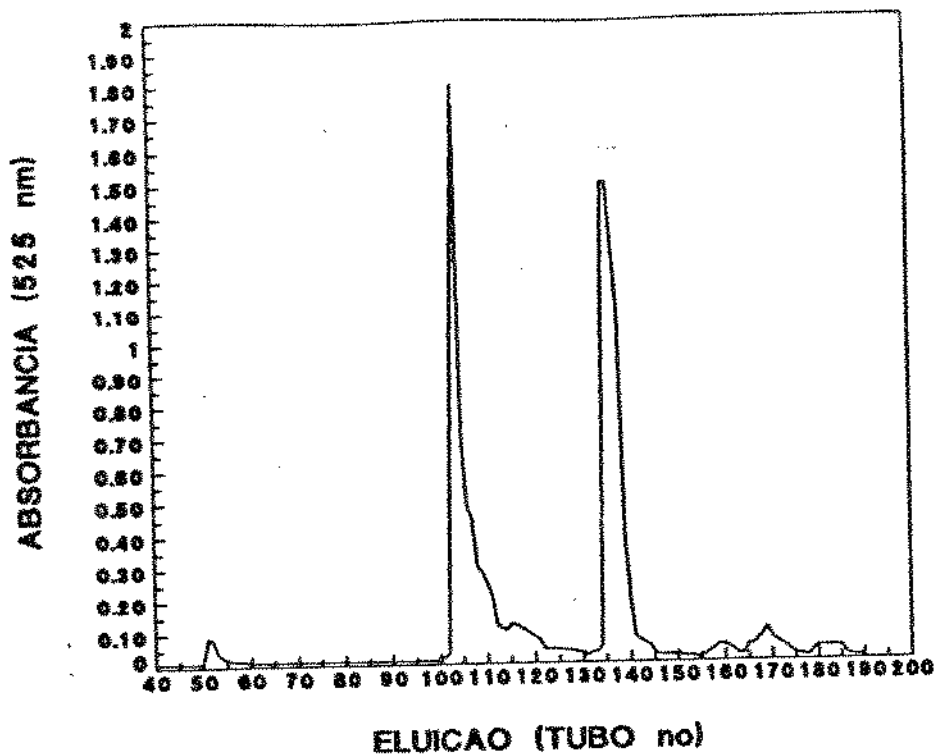


FIGURA 3 - Curva de eluição da pectina ATM em coluna de troca iônica (DEAE-CELULOSE).

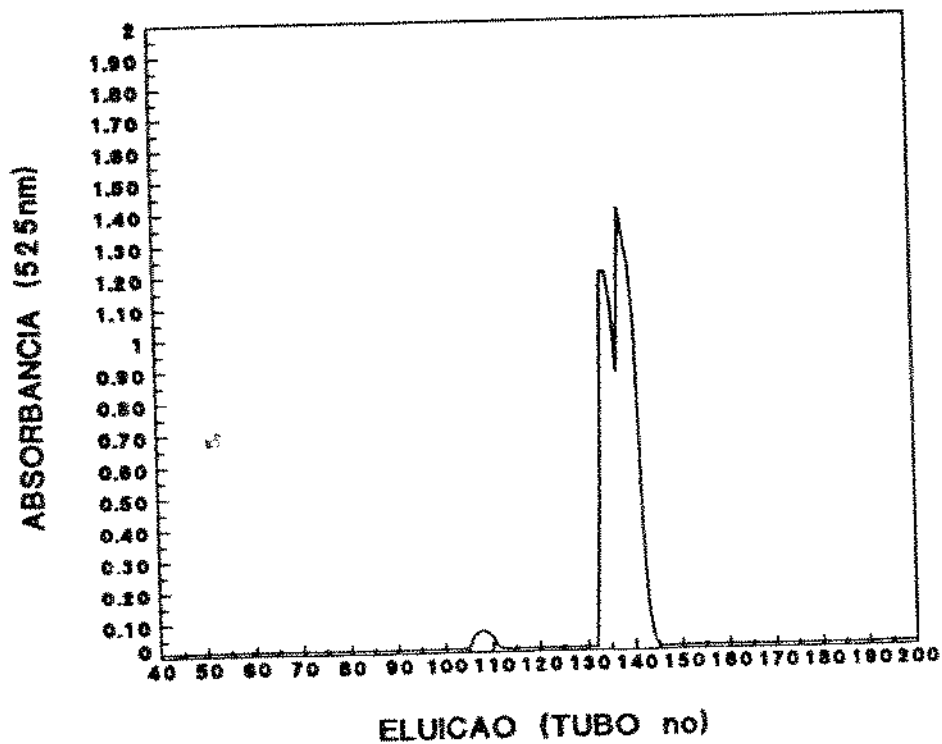


FIGURA 4 - Curva de eluição da pectina BTM amidada em coluna de troca iônica (DEAE-CELULOSE).

dos géis, procurou-se inicialmente, estudar o comportamento dos constituintes individuais para então avaliar cada tipo de gel.

Assim para cada constituinte utilizado na preparação dos géis foram obtidas as respectivas curvas de absorção de água (M.M. 3.2.11.2) e calculados os valores da água de monocamada de acordo com BRUNAUER et alii (1938) (BET), em diferentes níveis de umidade relativa de equilíbrio (URE) como pode ser visto nas Figura 5 a Figura 7 e Tabela 5.

Considerando que a absorção de água para os géis deve ser feita a partir do material contendo o menor nível de água possível, e que este estado pode ser obtido por liofilização, procurou-se verificar o efeito desse tratamento sobre a posterior absorção de água pelos açúcares e pectinas. Os resultados obtidos indicam que para os componentes dos géis não há diferenças significativas na absorção de água a altos níveis de URE entre o material liofilizado e aquele apenas seco em condições não destrutivas (secagem a vácuo).

#### 4.2.1. Pectinas

Após lavagem exaustiva das pectinas comerciais observou-se que suas curvas de absorção (Figura 6) são praticamente superponíveis. Estes resultados mostram que os grupos amidas presentes na pectina de baixo teor de metoxilação não alteram a capacidade de absorção de água da pectina, indicando que o comportamento de absorção está associado aos grupos carboxílicos livres e possivelmente ao grau de

TABELA 5 - Valores da água de monocamada calculados por BET, para pectinas, açúcares e géis ATM e BTM

Produto	Coef. Correlação	Água de Monocamada (g H <sub>2</sub> O/100 g matéria seca)
Pectina ATM comercial	0.98	4.34
Pectina BTM comercial	0.99	4.33
Pectina ATM purificada	0.99	5.92
Pectina BTM purificada	0.99	6.02
Ácido Poligalacturônico	0.99	3.45
Ácido Polig. metilado	0.99	5.26
Pectina ATM remetilada	0.99	5.13
Sacarose	0.90	0.055
Glucose	0.97	0.201
Frutose	0.92	0.183
Sorbitol	-0.81	3.330
Gel ATM glucose	0.99	0.87
Gel ATM sorbitol	-0.99	15.20
Gel ATM sacarose	-0.78	13.70
Gel BTM frutose	-0.93	20.12
Gel BTM sacarose	0.99	3.92
Gel BTM glucose	-0.94	2.60
Gel BTM sorbitol	-0.40	9.26

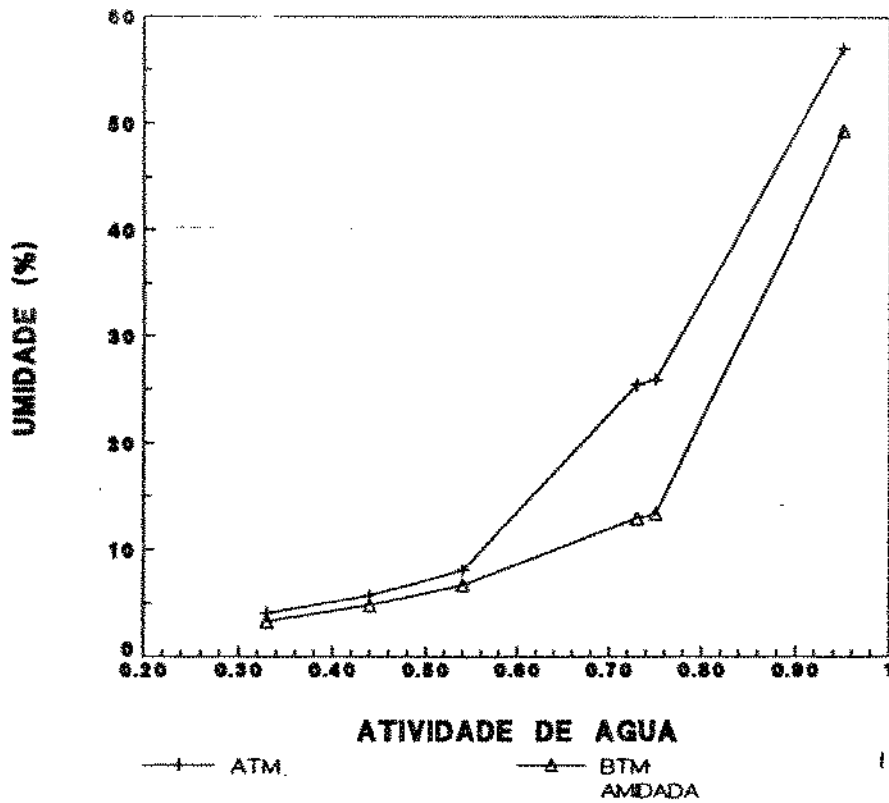


FIGURA 5 - Curvas de absorção para pectina ATM e BTM amidada comerciais.

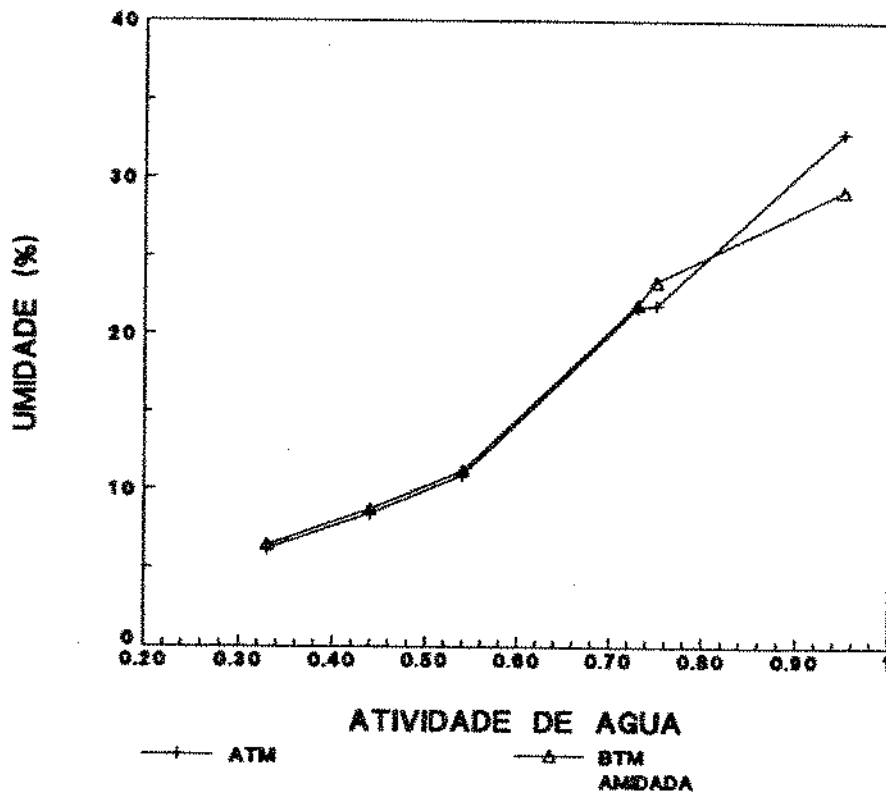


FIGURA 6 - Curvas de absorção para pectina ATM e BTM amidada lavadas.

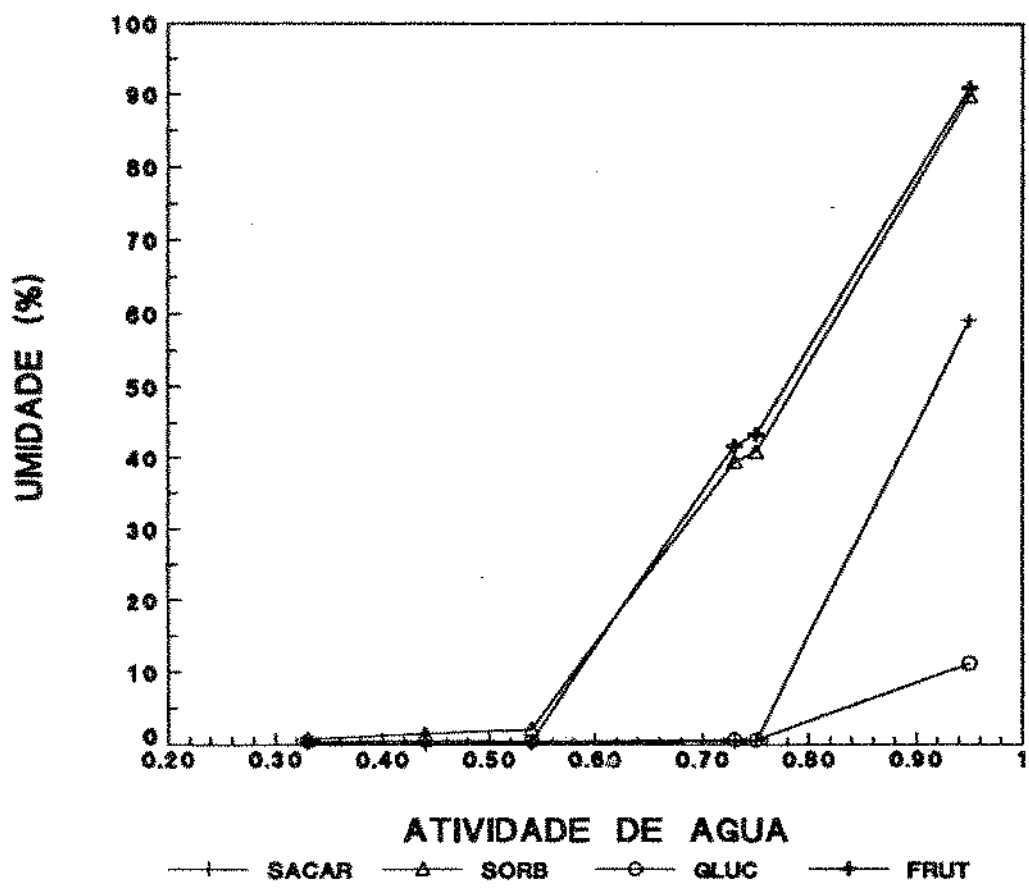


FIGURA 7 - Curvas de absorção para açúcares puros.

estruturaco provocado pelos grupos metoxilas. Os valores de gua de monocamada (Tabela 5) calculados a partir das curvas de absorco refletem também esta concordncia uma vez que a quantidade de gua de monocamada das pectinas ATM e BTM purificadas  praticamente igual e maior que os valores obtidos para as pectinas no lavadas. Os valores numéricos de BET para as pectinas esto em concordncia com aqueles determinados por BETTLHEIM & VOLMAN (1957).

As curvas de absorco para pectina ATM e cido poligalacturnico remetoxilados (Figura 8 e Figura 9) (M.M. 3.2.6.1) apresentam comportamentos diferentes. No caso do cido poligalacturnico purificado e de seu derivado metoxilado, as curvas so muito prximas, enquanto que a pectina ATM remetoxilada apresenta menor absorco de gua que a pectina ATM purificada em toda a faixa de URE estudada.

Com relao ao cido poligacturnico metoxilado, observa-se um acréscimo no valor de BET em relao ao material de origem, enquanto que para a pectina remetoxilada ocorre uma pequena diminuico do valor da gua de monocamada.

Entre os fatores que podem ter contribuido para o comportamento da pectina remetoxilada descrito acima, dois merecem maior discusso.

O primeiro se refere a observao de BISWAS et alii (1975) com respeito a perda da capacidade de hidratao de biopolímeros por diminuico de sua massa molecular, diminuico essa que aparentemente ocorre (Tabela 4) quando a pectina ATM  remetilada com  $CH_3N_2$  (M.M. 3.2.6.1).

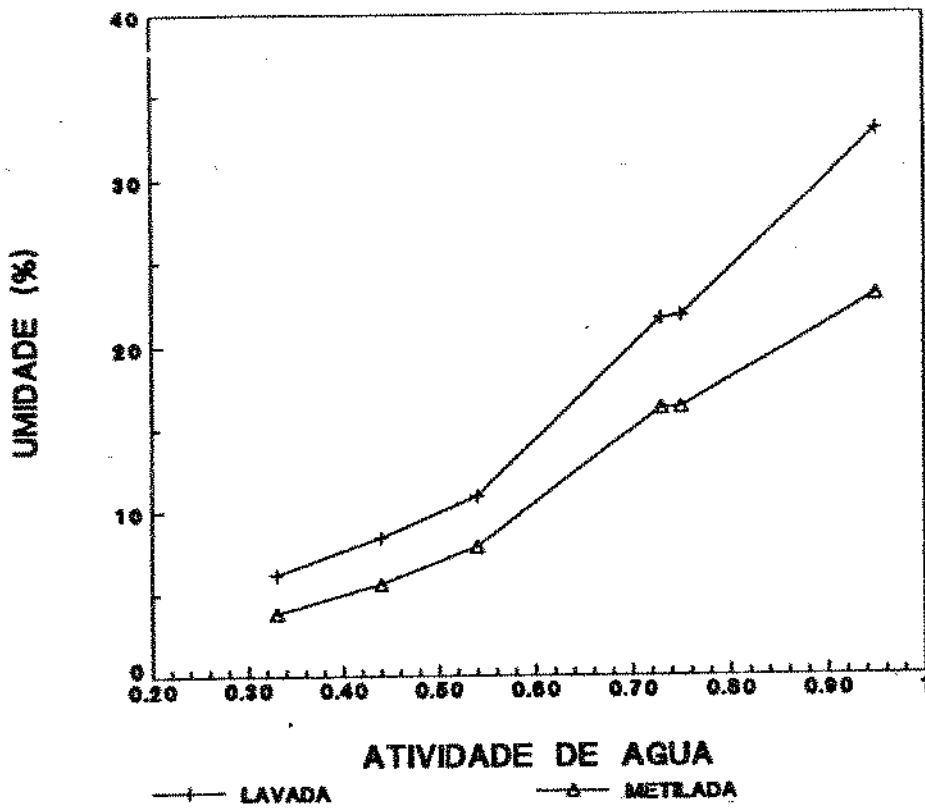


FIGURA 8 - Curvas de absorção para pectina ATM e pectina ATM remetilada.

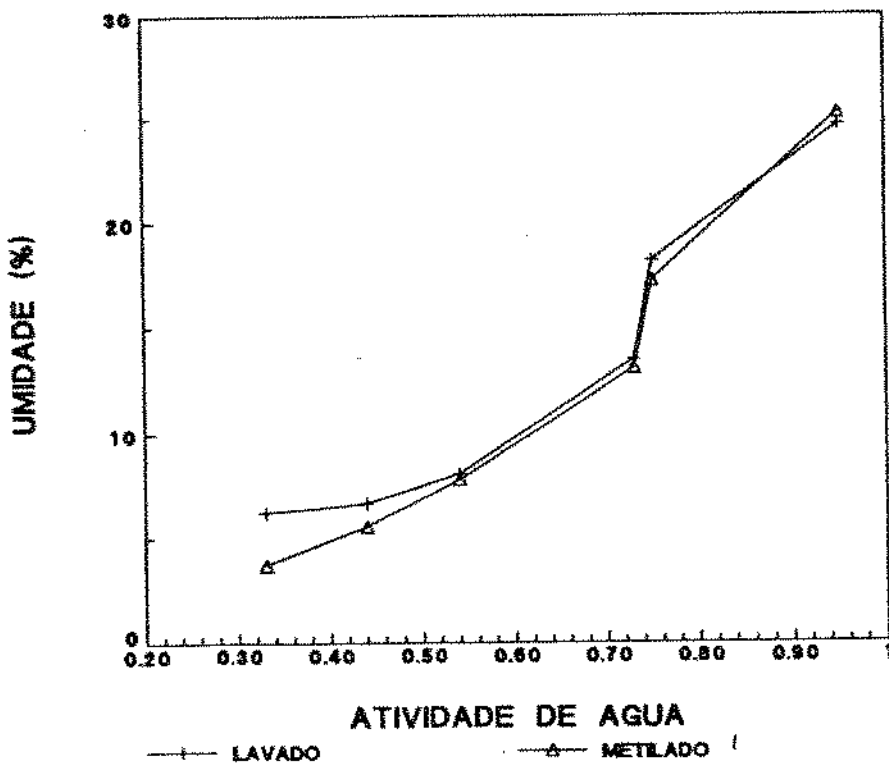


FIGURA 9 - Curvas de absorção para ácido poligalacturônico e ácido poligalacturônico metilado.

Entretanto para explicar a perda da massa molecular ou, em última análise, a diminuição na viscosidade intrínseca da pectina, deve-se admitir a hipótese de ruptura na molécula de pectina pela ação do diazometano, provavelmente por um mecanismo de eliminação, a partir do hidrogênio no carbono 5 nos ácidos galacturônicos metoxilados por ação de uma base de Lewis, ou pela existência de condições de reação suficientemente enérgicas, para promover a hidrólise das ligações glucosídicas.

No caso deste trabalho, na reação de metoxilação ou remetoxilação são usadas condições que não justificam a hidrólise deste tipo de ligação. Por outro lado, apenas um trabalho foi encontrado (VOLMERT 1950) onde, sem provas experimentais diretas, admite-se a quebra da cadeia quando a reação é conduzida acima de  $-50^{\circ}\text{C}$ .

Como segundo fator a ser discutido é baseado na observação de BETTHLEIN & VOLMAN (1957) de que grupos metoxila podem impedir os grupos carboxílicos da pectina de se ligarem a água, a pectina remetilada terá menor capacidade de hidratação do que a pectina ATM lavada.

Desde que pela metilação do ácido poligalacturônico que resultou em um produto com apenas 50% dos grupos disponíveis efetivamente metoxilados não houve diminuição sensível de sua massa molecular, parece mais provável que para a pectina ATM lavada após remetilação com 80% dos seus grupos carboxílicos metoxilados, a diminuição da hidratação possa ser causada pelo elevado número de grupos carboxílicos substituídos



e a aparente perda da massa molecular decorrente da perda de viscosidade intrínseca causada pela maior agregação das moléculas metoxiladas em alto grau.

#### 4.2.2. Açúcares

O comportamento dos açúcares utilizados na formulação dos géis frente a água foi observado através de curvas de absorção específicas para os mesmos (Figura 7). As curvas obtidas para os açúcares, mostram valores muito baixos de absorção de água para os níveis de umidade relativa de equilíbrio menores que aqueles correspondentes à faixa de umidade de solubilização, incorporando grandes quantidades de água a partir desta faixa. Quando os diversos açúcares são comparados, observa-se uma grande diferença na capacidade de absorção dos mesmos. Assim, frutose e sorbitol absorvem a valores de umidade relativa mais baixos e apresentam maior capacidade de absorção que os outros açúcares, fato também observado por OGUNMOYELA & BIRCH (1984). A Figura 7 referente a sacarose mostra que a mesma apresenta um comportamento que se situa entre o da frutose e o do sorbitol, enquanto glucose (Figura 7) tem menor capacidade de absorção em qualquer dos níveis de URE ensaiados.

A grande absorção de água observada após o início da solubilização sugere que o processo ocorre somente quando se dispõe de uma quantidade de água suficiente para saturar primariamente, todos os grupos possíveis na molécula do açúcar, e a energia de formação das pontes de hidrogênio entre as

moléculas do açúcar e da água deverá ser maior que a energia das ligações que mantêm unidas as moléculas desse açúcar, de modo que, o processo de saturação é termodinamicamente controlado, pelo menos no seu início. A barreira energética envolvida na associação de moléculas de frutose e sorbitol deve ser menor, enquanto que, para a glucose, a energia envolvida na associação entre as moléculas deste açúcar é possivelmente alta e maior que para os demais açúcares.

Para todos os açúcares as curvas de absorção apresentam porcentagens de umidade muito baixa na faixa de cálculo de BET, apresentando também valores de água de monocamada baixos. O maior valor de BET entre os açúcares cabe ao sorbitol.

As diferenças de absorção entre os açúcares é significativa, conforme pode ser observado pelas curvas de absorção (Figura 7), e estas diferenças podem ser atribuídas as diferenças de estrutura e ao número de grupos polares disponíveis para se associarem com a água.

#### 4.3. Géis de pectina

Após o preparo dos géis (M.M. 2.10), cada um foi avaliado quanto ao seu pH, SAG e porcentagem de sólidos solúveis (°BRIX) estando os resultados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Caracterização dos géis de pectina com relação a pH, sólidos solúveis e medida de textura a temperatura ambiente<sup>(\*)</sup>.

Açúcar	Géis com Pectina de alto teor de metoxilação (8105)			Géis com Pectina de baixo teor de metoxilação amidada (8002)		
	pH	°Brix <sup>(e)</sup>	SAG (%)	pH	°Brix <sup>(e)</sup>	SAG (%)
S/ Açúcar	-----	-----	-----	3,10±0,05	2,7±0,3	20,0±0,3
Sacarose	2,33±0,05	65,2±0,2	13,5±0,3	3,10±0,05	64,1±0,4	15,0±0,3
Glucose	2,68±0,05	63,6±0,3	15,2±0,2	3,10±0,05	62,7±0,4	18,0±0,4
Frutose	2,35±0,05	63,6±0,2	15,0±0,3	3,20±0,05	63,2±0,3	126,0
Sorbitol	2,31±0,05	61,5±0,2	12,2±0,2	3,30±0,05	62,5±0,3	1126,0

<sup>(\*)</sup> Medidas efetuadas em triplicata.

<sup>(e)</sup> Valores corrigidos para temperatura ambiente.

Além dos géis das pectinas ATM e BTM purificados foram feitos géis com ácido poligalacturônico metoxilado e pectina ATM remetoxilada. Manitol também foi utilizado na formulação do gel ATM (M.M 3.2.10.1).

Com exceção do manitol cujo gel é extremamente duro, os demais se mantem no estado de sol viscoso, e portanto esses produtos foram descartados por não apresentarem características de gel.

Nos estudos dos géis pecticos preparados em condições padronizadas, de acordo com a metodologia preconizada pelo IFT para géis de alto teor de metoxilação e pelo FOOD CHEMICAL CODEX para os géis de pectina de baixo teor de metoxilação foram empregados além da usual sacarose, glucose, frutose e sorbitol. Os dois primeiros por serem carboidratos de bom poder adoçante e economicamente viáveis, e o terceiro por ser usado frequentemente nos géis chamados dietéticos.

Todos os géis foram liofilizados e secos (M.M. 3.2.11.1) com exceção do gel ATM contendo frutose, para o qual a secagem por liofilização forneceu sempre um produto gomoso e pegajoso, que não permitiu seu uso em experimentos posteriores. Esta ocorrência pode ser devido à perda de estrutura ou colapso durante o processo de liofilização, conforme anteriormente observado por TSOURUFLIS et alii (1976). Segundo os autores o produto resultante apresenta pobre reidratação, além de não secar, como ocorreu neste trabalho.

Conforme se observa pelos dados da Tabela 6 todos os géis apresentam valores de °Brix próximos, com exceção do gel

BTM, sem açúcar estando os valores de pH dentro das faixas previstas para os géis ATM e BTM.

A dureza dos géis ATM medida pelo valor de SAG é decrescente na ordem sorbitol, sacarose e glucose igual a frutose. Para os géis contendo pectina BTM a ordem é sacarose, glucose, gel sem açúcar, frutose e sorbitol. Os géis BTM contendo frutose ou sorbitol apresentaram perda de estrutura, indicando uma alteração na constituição do gel. Os valores de SAG para esses dois últimos produtos não puderam ser medidos, por se comportarem como fluidos e não como géis. A perda de estrutura do gel nesses casos é confirmada por HYVONEN & TDRMA (1983) que ao utilizarem frutose, sorbitol e xilitol observaram amolecimento e espalhamento do gel, e por KAWABATA et alii (1978), os quais utilizando poliálcoois na formulação de gel BTM observaram que, a força das geléias preparadas não aumentava com o aumento da concentração desses poliálcoois.

O comportamento das curvas de absorção dos géis liofilizados (Figura 10 a Figura 12) e dos açúcares presentes nos mesmos indica que, a absorção de água no gel é especialmente dependente da capacidade de absorção de água do açúcar em todos os géis ATM estudados. Para os géis BTM as diferenças de SAG observadas parecem indicar que o açúcar não é o fator determinante na dureza do gel, ocorrendo outro tipo de interação a qual determina as características de formação do gel e a dureza do mesmo.

Alguns fatores como a água de monocamada podem estar contribuindo para uma maior e mais fácil absorção de água no

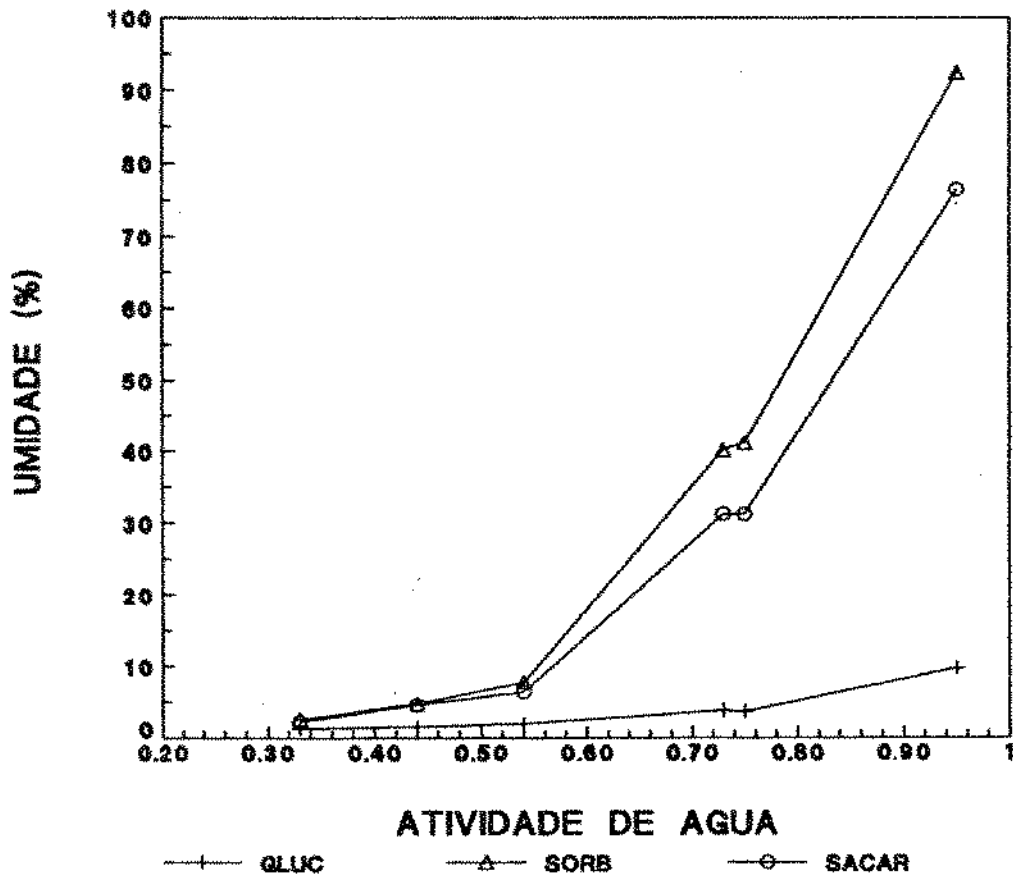


FIGURA 10 - Curvas de absorção para geis de pectina ATM contendo glucose, sorbitol e sacarose.

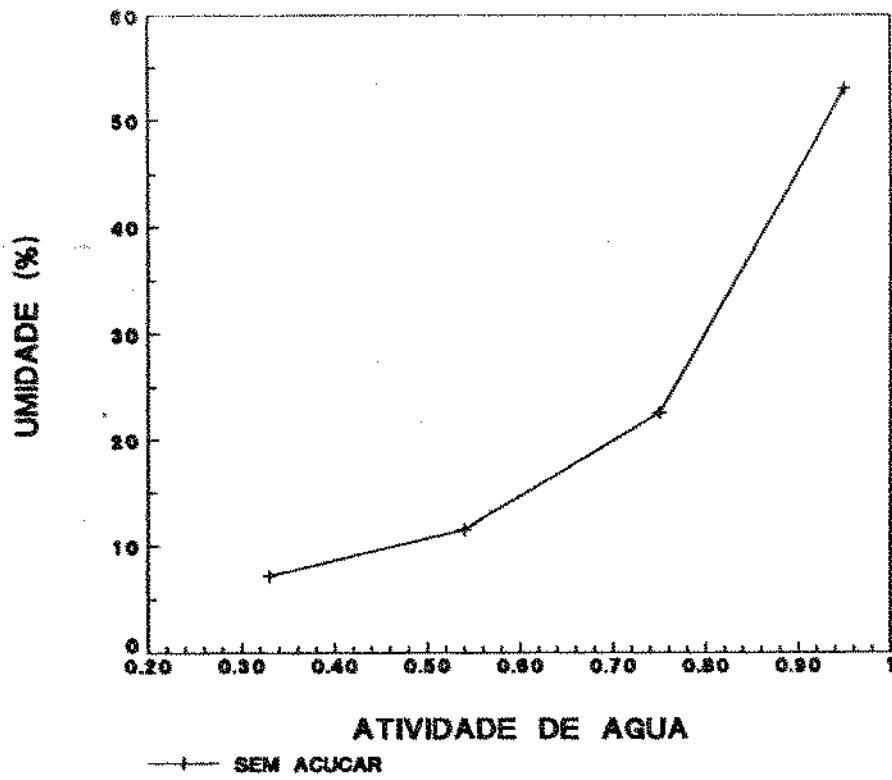


FIGURA 11 - Curva de absorção do gel de pectina BTM sem açúcar.

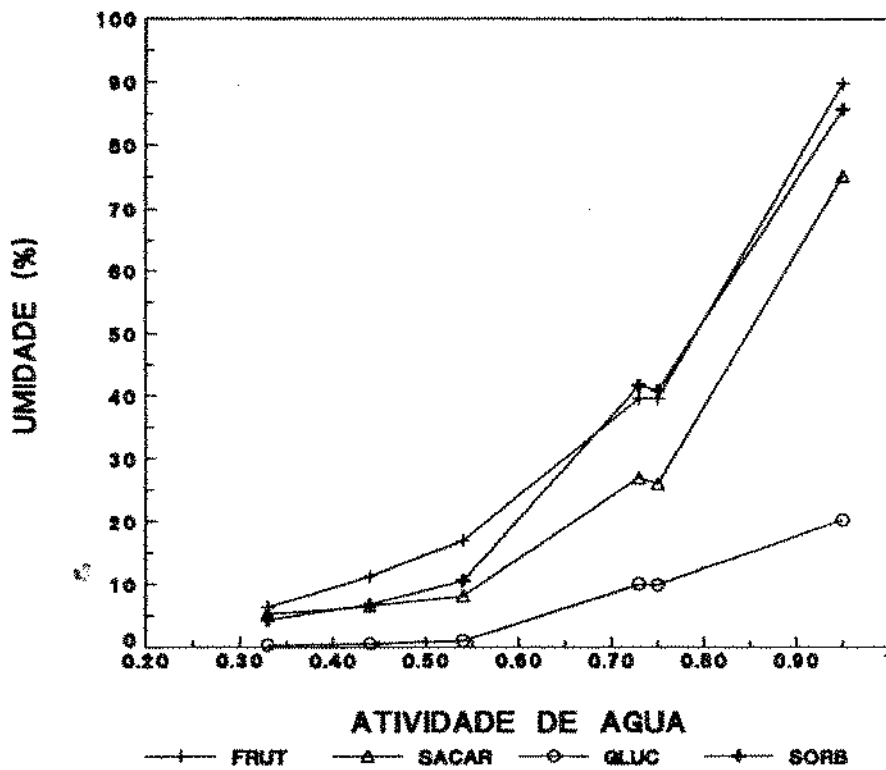


FIGURA 12 - Curvas de absorção para gel de pectina BTM contendo frutose, sacarose, glucose e sorbitol.

caso do gel em relação a capacidade de absorção dos seus constituintes. Diferenças na absorção entre constituintes individuais e misturas, para outros sistemas geleificados, já haviam sido observadas por LANG & STEINBERG (1983), trabalhando com misturas amido-sacarose, onde o comportamento da mistura em relação a sua capacidade de absorver água era maior que a apresentada pelos constituintes individuais.

A partir dos valores de água de monocamada (BET) ou da água total dados pela Tabela 7, e da participação dos constituintes individuais nas formulações dos géis, foram calculadas as quantidades esperadas de água de monocamada e de água total na formulação final, e comparadas aos valores obtidos diretamente para os géis. Em todos os casos os valores calculados foram menores que os obtidos para os géis ensaiados diretamente, pressupondo-se que ocorra uma maior abertura de sítios de ligação causados pela interação dos constituintes na mistura. Os resultados obtidos indicam também que não ocorre uma adição simples das contribuições dos constituintes individuais conforme foi observado para sistemas protéicos por BERLIN et alii (1973), em estudos de absorção para proteínas do leite.

Considerando que, a determinação de valores termodinâmicos como a entalpia da água livre em cada gel pode colaborar no esclarecimento da estrutura desses géis, bem como esclarecer aspectos do mecanismo de sua formação, os géis após liofilização e equilíbrio em condições controladas de umidade relativa foram submetidos a medidas de calorimetria diferencial



TABELA 7 - Água de monocamada e água total (90% de URE) presentes nos géis a partir da contribuição dos constituintes individuais comparados a valores obtidos para os géis ensaiados diretamente.

Gel Componentes	Peso do Componente (g/100 g gel)	ÁGUA DE MONOCAMADA (g H <sub>2</sub> O/100 g gel)		Gel Ensaiado Diretamente	ÁGUA TOTAL (g H <sub>2</sub> O/100 g gel)		
		Água Ligada Calculada por Constituinte	Somatória dos Constituintes para o Gel		Água Ligada Calculada por Constituinte	Somatória dos Constituintes para o Gel	Gel Ensaiado Diretamente
Pectina ATH	0.4	25,2 x 10 <sup>-3</sup>	-	-	0,13	-	-
Gel ATH Sacarose	63.6	34,9 x 10 <sup>-3</sup>	60,1 x 10 <sup>-3</sup>	13,70	28,60	28,70	65,00
Gel ATH Glucose	63.6	127,8 x 10 <sup>-3</sup>	153,2 x 10 <sup>-3</sup>	0,87	6,11	6,12	8,20
Gel ATH Sorbitol	63.6	2,2	2,16	15,20	49,30	49,30	80,00
Pectina BTH	1.0	60,2 x 10 <sup>-3</sup>	-	-	0,27	-	-
Gel BTH Sacarose	30.0	16,6 x 10 <sup>-3</sup>	76,7 x 10 <sup>-3</sup>	3,92	13,50	13,80	62,50
Gel BTH Frutose	30.0	54,9 x 10 <sup>-3</sup>	115,1 x 10 <sup>-3</sup>	20,12	23,70	24,00	77,00
Gel BTH Glucose	30.0	60,3 x 10 <sup>-3</sup>	120,5 x 10 <sup>-3</sup>	2,60	2,88	3,18	17,40
Gel BTH Sorbitol	30.0	99,9 x 10 <sup>-3</sup>	1058 x 10 <sup>-3</sup>	9,26	23,20	23,50	74,50

por varredura (DSC) (M.M. 3.2.11.3). O método tem sido usado para o estudo de propriedades termodinâmicas em alimentos (RAEMY & LAMBERT 1991).

Após ensaios preliminares pelos quais verificou-se que os géis ATM submetidos a valores baixos de URE (até 75%) não permitiam medidas pelo DSC, situações de equilíbrio a URE mais altas foram utilizadas, estando os resultados apresentados na Tabela.8 e Figura. 13 a 24. Considerando que a dureza dos géis BTM não parece depender diretamente da capacidade de absorção de água dos açúcares presentes, foram feitas medidas de DSC para o gel BTM apenas no valor intermediário de 90% de umidade relativa de equilíbrio (Tabela 9 e Figura 25 a Figura 29) suficiente para a obtenção de dados comparativos para os dois tipos de gel. As quantidades de água ligada foram determinadas considerando a entalpia referente ao pico endotermico de fusão do gelo no material e a entalpia de fusão da água pura. A quantidade de água ligada ao gel ATM foi crescente para o gel contendo cada um dos açúcares, conforme a umidade relativa de equilíbrio era aumentada. As Figuras.30, 31 e 32 representam as isotermas obtidas para a água ligada variando-se o tipo de açúcar. Observa-se que abaixo de 0,80 de atividade de água, toda a água presente no produto estava na forma de água ligada. Este efeito foi observado para outros tipos de formulações alimentícias por ROSS (1978) e para soluções concentradas de açúcares puros por LEVINE & SLADE (1988), quando a entalpia e calor específico do gelo foram utilizados em seus cálculos.

TABELA B - Resultados obtidos por DSC para gel ATM em diversas situações de equilíbrio

AÇÚCAR	GLUCOSE			SACAROSE			SORBITOL		
	Ganho H <sub>2</sub> O (g/g amostra)	ΔH (cal/g amostra)	Água Ligada (g/g amostra)	Ganho H <sub>2</sub> O (g/g amostra)	ΔH (cal/g amostra)	Água Ligada (g/g amostra)	Ganho H <sub>2</sub> O (g/g amostra)	ΔH (cal/g amostra)	Água Ligada (g/g amostra)
URE (X)									
81,0	0,005	-	-	0,007	-	-	0,007	-	-
86,0	0,88	21,50	0,61	0,60	20,02	0,53	0,93	20,47	0,65
90,0	1,49	22,24	0,71	1,26	31,92	0,86	1,48	32,42	1,07
95,0	2,61	47,00	2,02	2,29	44,26	1,77	2,64	37,86	2,17

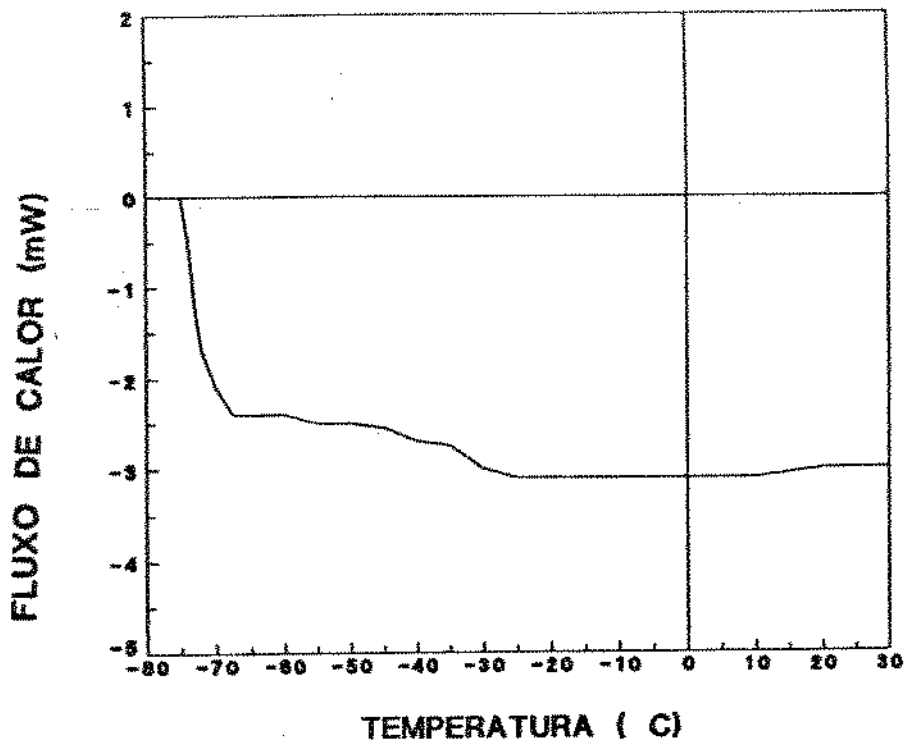


FIGURA 13 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 81,0% de URE.

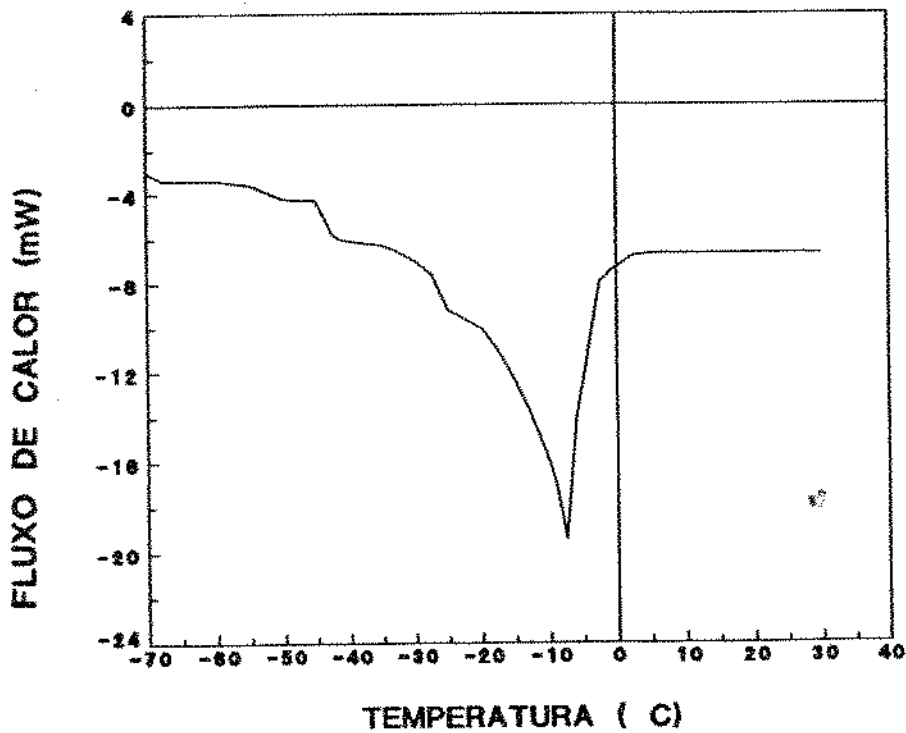


FIGURA 14 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 86,0% de URE.

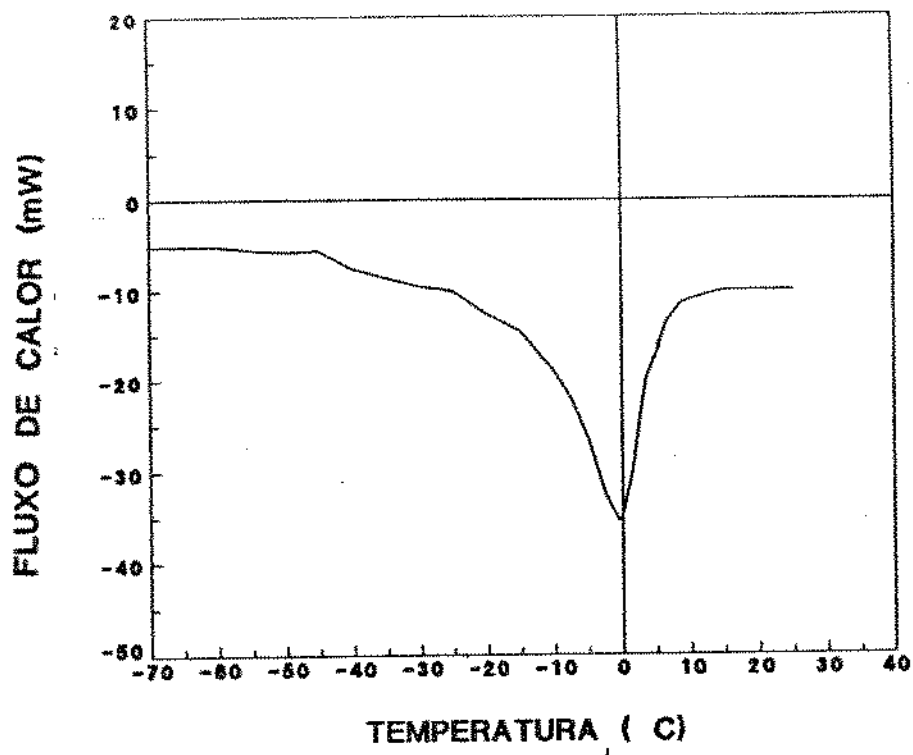


FIGURA 15 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 90,0% de URE.

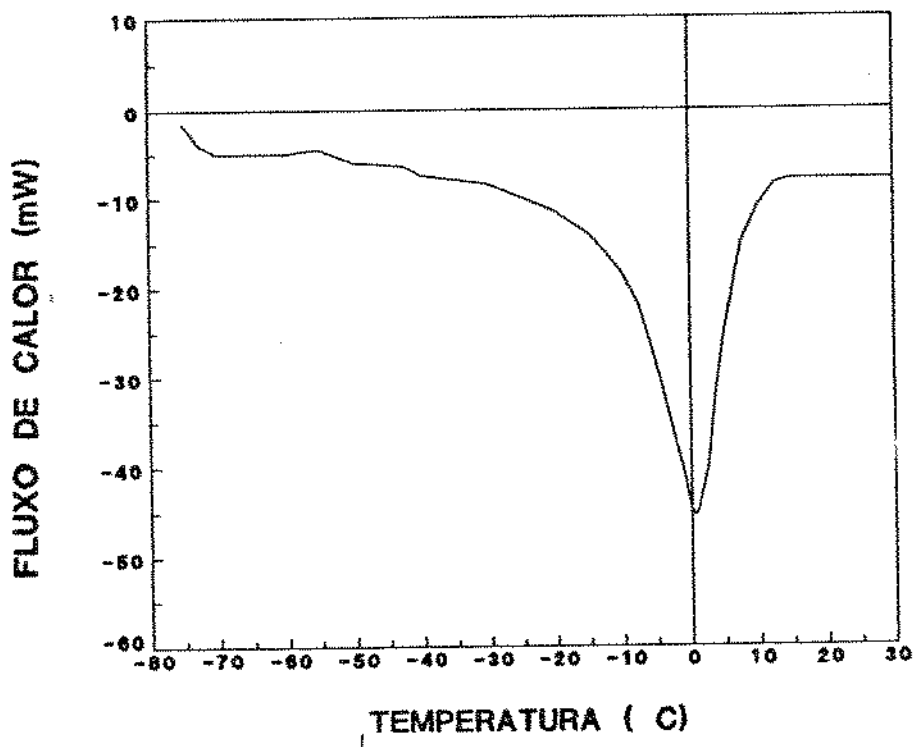


FIGURA 16 - Curva DSC para gel ATM contendo glucose equilibrado a 95,0% de URE.

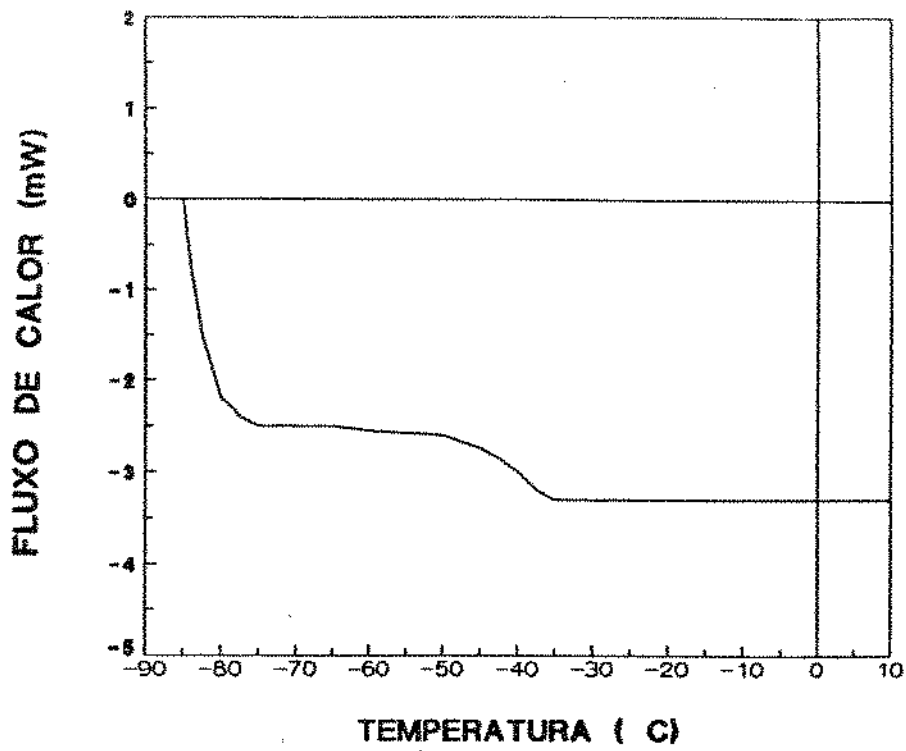


FIGURA 17 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 81,0% de URE.

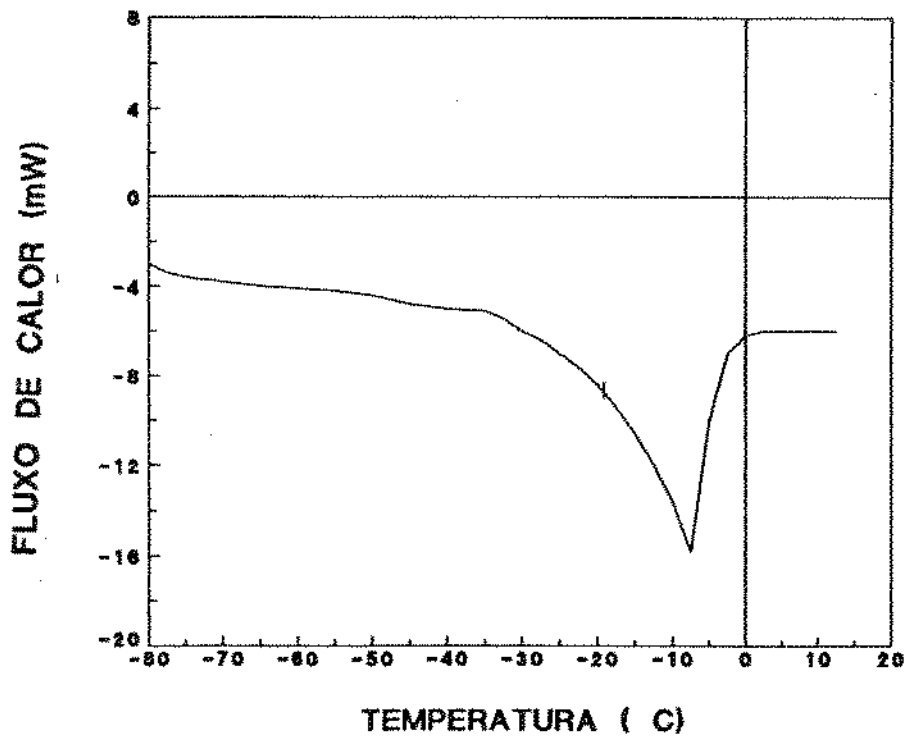


FIGURA 18 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 86,0% de URE.

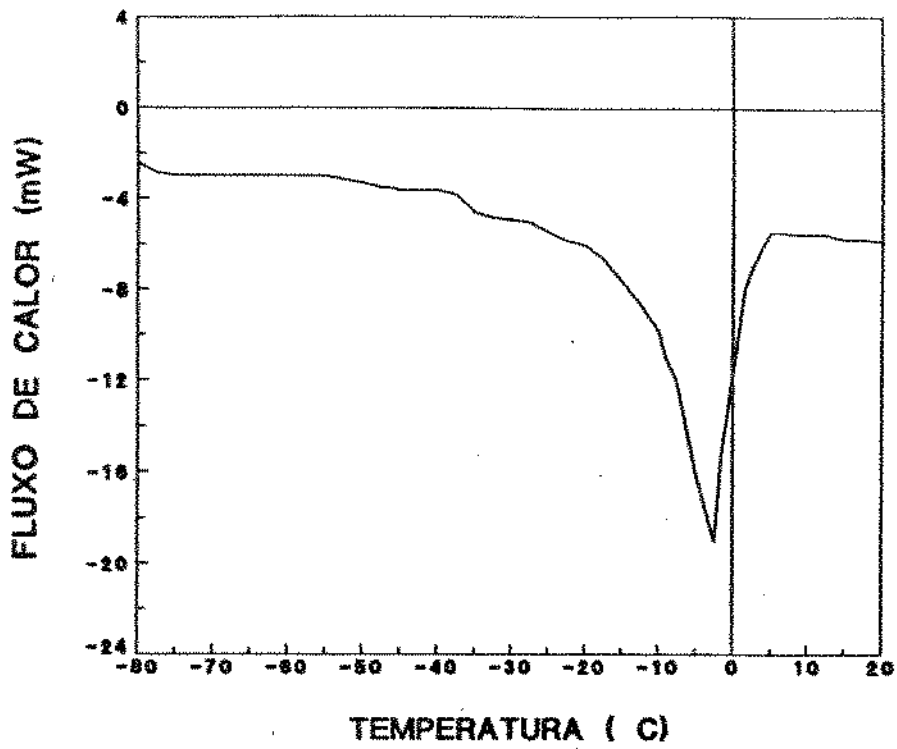


FIGURA 19 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 90,0% de URE.

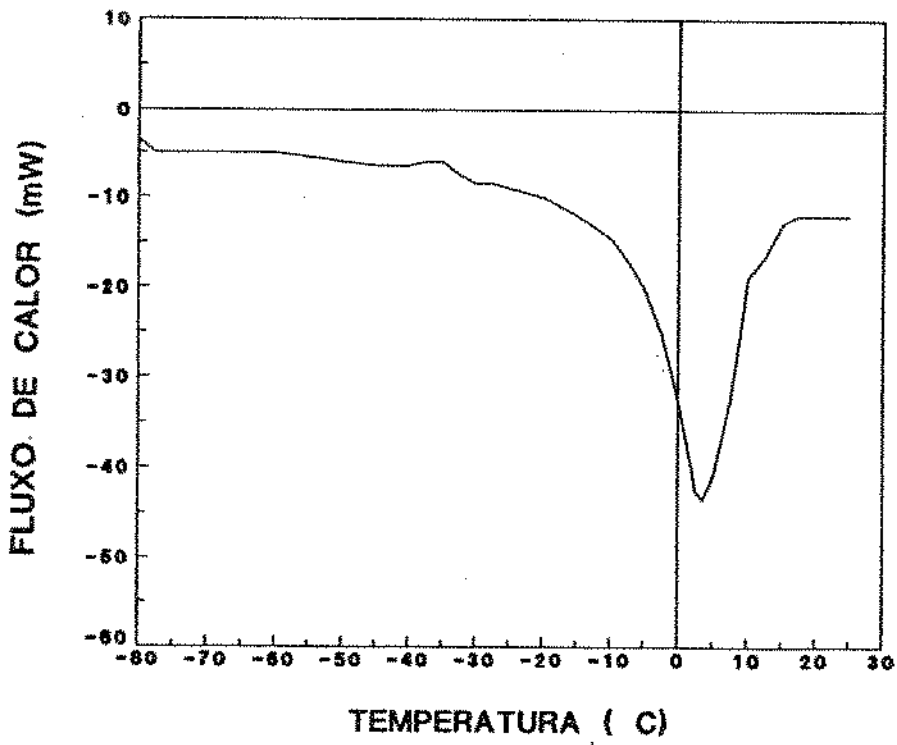


FIGURA 20 - Curva DSC para gel ATM contendo sacarose equilibrado a 95,0 de URE.

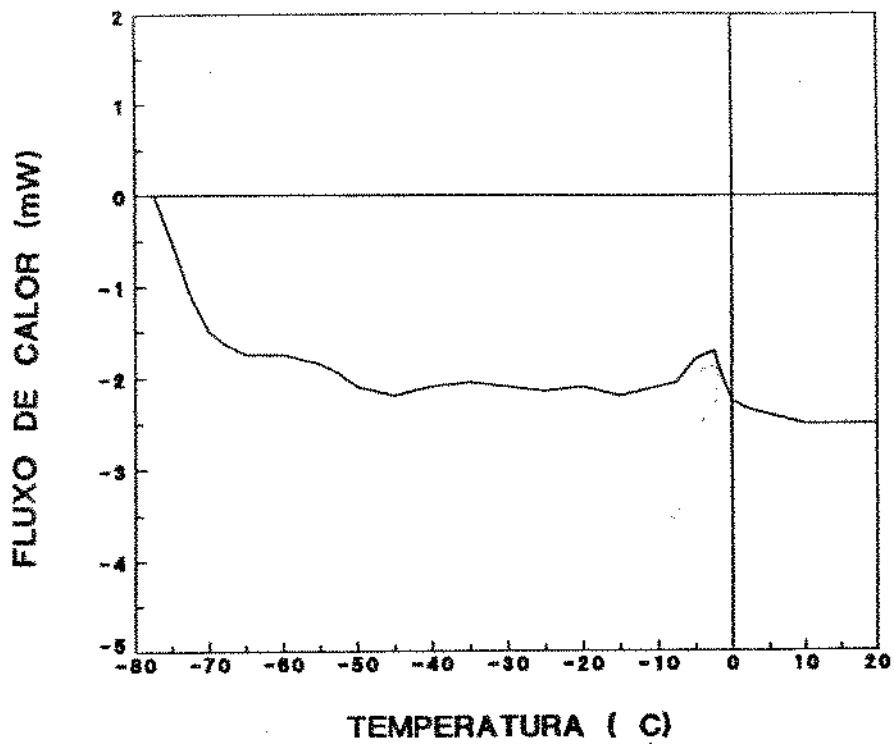


FIGURA 21 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 81,0% de URE.

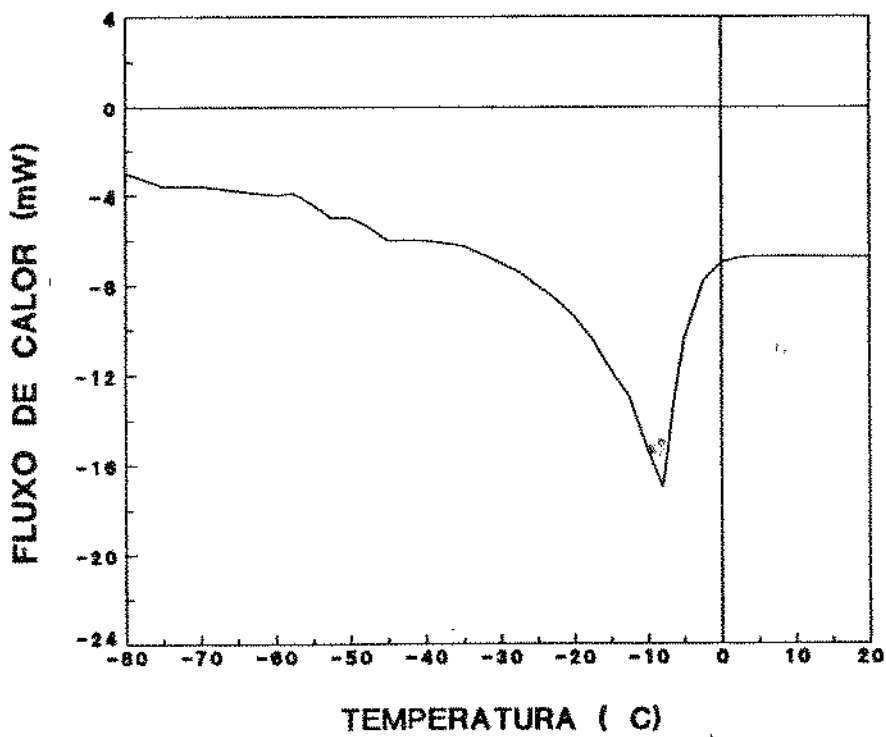


FIGURA 22 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 86,0% de URE.



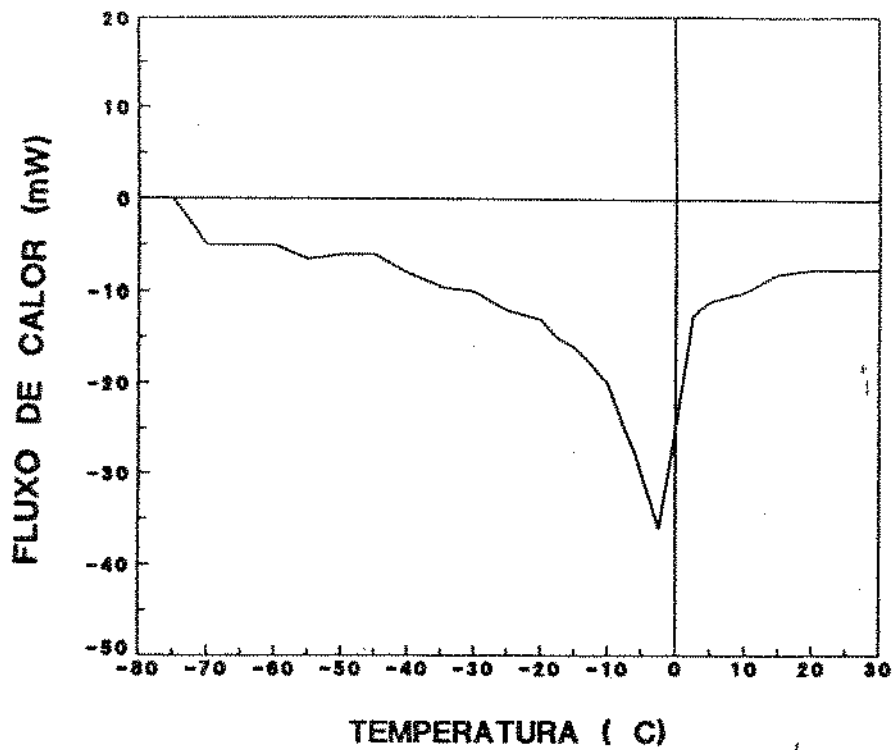


FIGURA 23 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 90,0% de URE.

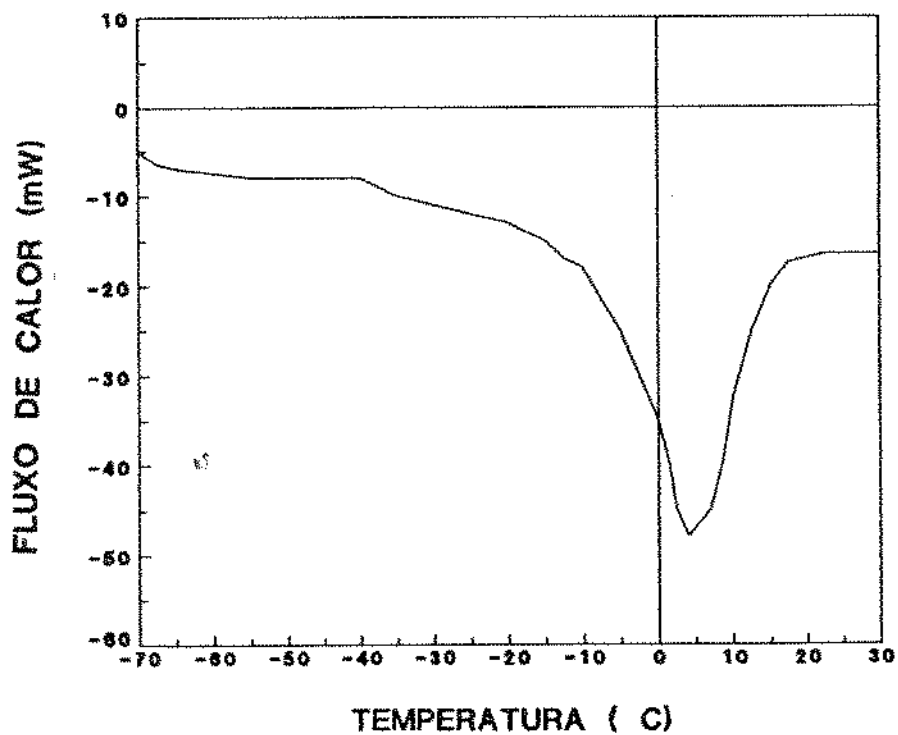


FIGURA 24 - Curva DSC para gel ATM contendo sorbitol equilibrado a 95,0% de URE.

Quando os valores de água ligada a 90% de URE são analisados (Tabela 9), as quantidades de água ligada aos géis contendo pectina ATM foram sempre maiores que as determinadas para os géis contendo pectina BTM amidada. Este fato pode indicar uma maior associação pectina-açúcar na matriz do gel ATM, acarretando portanto, uma maior quantidade de água ligada, enquanto para o gel BTM a não associação ou a associação de menor intensidade entre o açúcar e a pectina pode diminuir a capacidade de ligar água do conjunto.

Para os géis BTM as quantidades de água ligada em g/100g de gel ou em mol/mol de açúcar não mostram correlação com os valores de SAG como é esperado, face ao diferente mecanismo aceito para explicar a formação do gel.

A análise das curvas de DSC obtidas para URE a 90% dos géis ATM indicam ainda um deslocamento nas temperaturas de fusão dos géis contendo os diferentes açúcares, variando de -3,0°C para o gel contendo sorbitol e sacarose a -8,9°C para o gel contendo glucose, o que parece indicar que na água congelada em presença desse açúcar, as estruturas que formam o gelo, passam do estado sólido ao líquido com menor dispêndio de energia. Efeito semelhante pode ser observado quando a quantidade de água dos géis é aumentada em função do aumento da umidade relativa de equilíbrio para os géis ATM, contendo os diferentes açúcares. Variações no ponto de fusão do gelo foram também encontradas por PARDUCCI & DUCKWORTH (1972), os quais observaram que quanto mais baixo era o conteúdo de água do produto, mais baixo era o seu ponto de fusão. Uma hipótese para

TABELA 9 - Resultados obtidos por DSC para gel ATM e BTM a 90% de umidade relativa de equilíbrio

Gel Componentes	Água Congelável (g/100 g gel)	Água Ligada (g/100 g gel)	Água Total (g/100 g gel)	$\Delta H$ (cal/100 g gel)	SAG (%)
ATM com sacarose	40,0	86,0	126,0	3192	13,5
ATM com glucose	27,9	71,5	100,0	2224	15,5
ATM com sorbitol	41,0	107,0	148,0	3240	12,5
ATM com frutose	-	-	-	-	15,0
BTM com sacarose	19,0	48,0	67,0	1440	15,0
BTM com glucose	23,0	59,0	82,0	1820	18,0
BTM com sorbitol	21,0	68,0	89,0	1680	126,0
BTM com frutose	22,0	61,0	83,0	1790	126,0

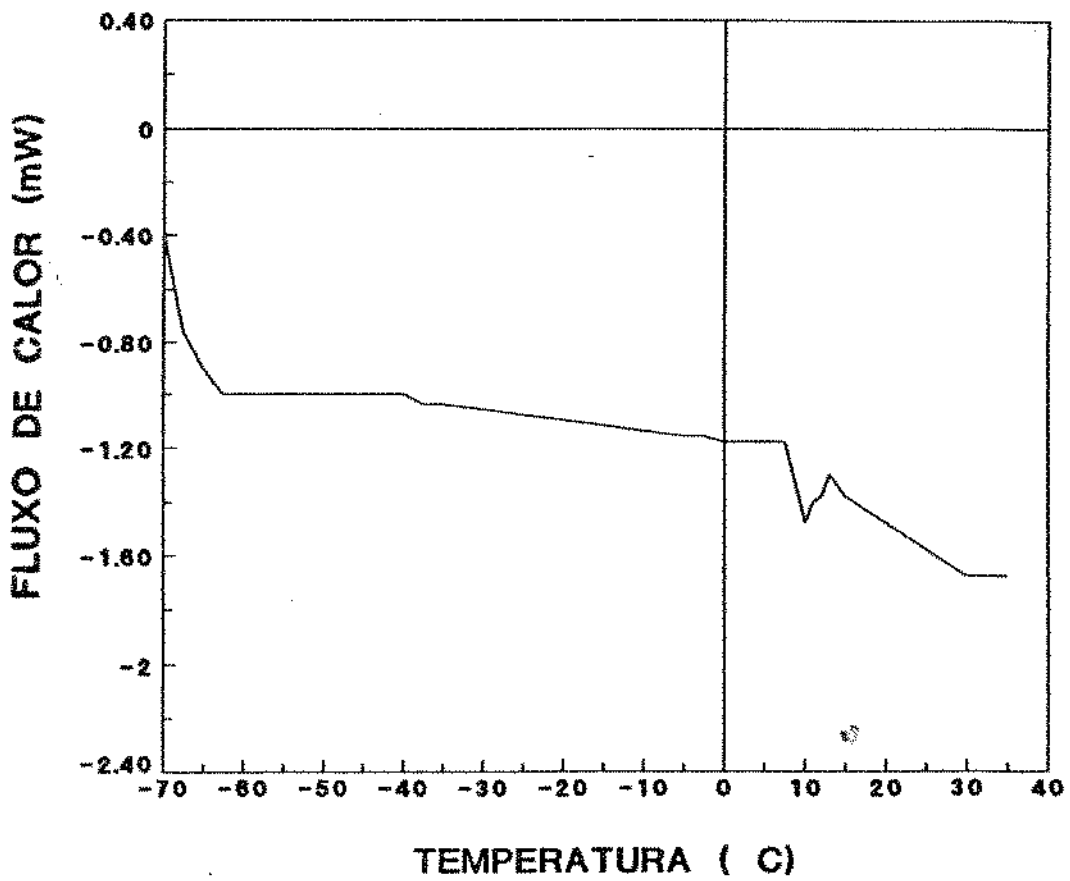


FIGURA 25 - Curva DSC para gel BTM sem açúcar equilibrado a 90,0% de URE.

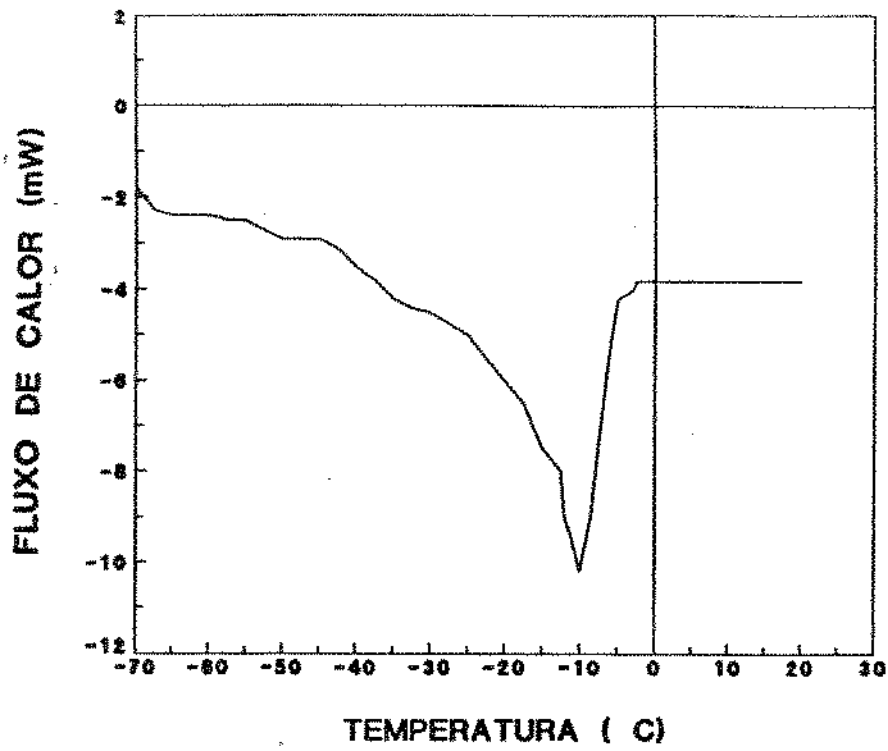


FIGURA 26 - Curva DSC para gel BTM contendo glucose equilibrado a 90,0% de URE.

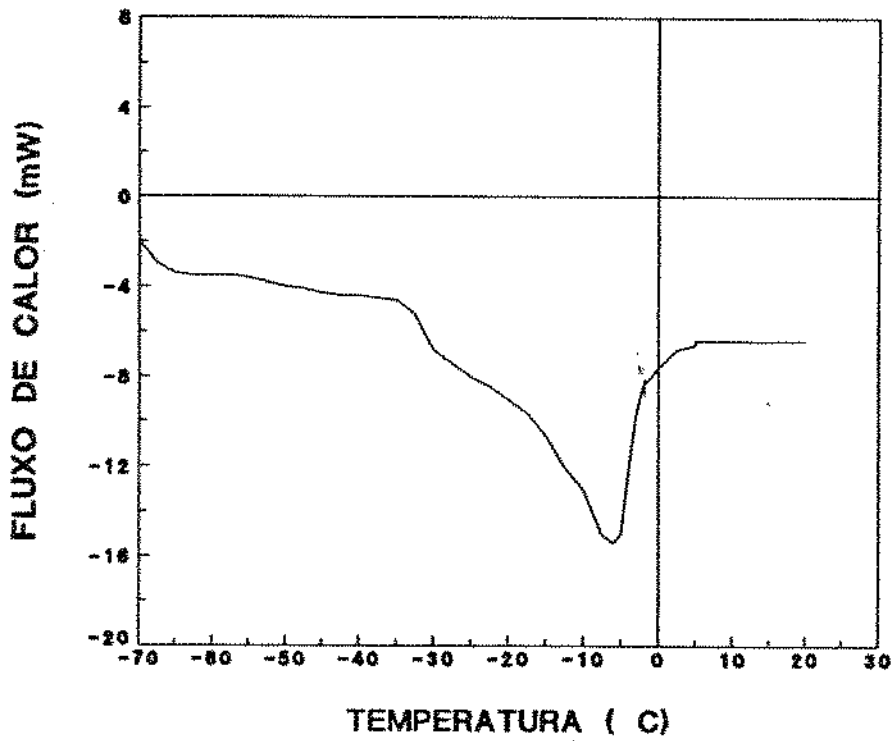


FIGURA 27 - Curva DSC para gel BTM contendo sacarose equilibrado a 90,0% de URE.

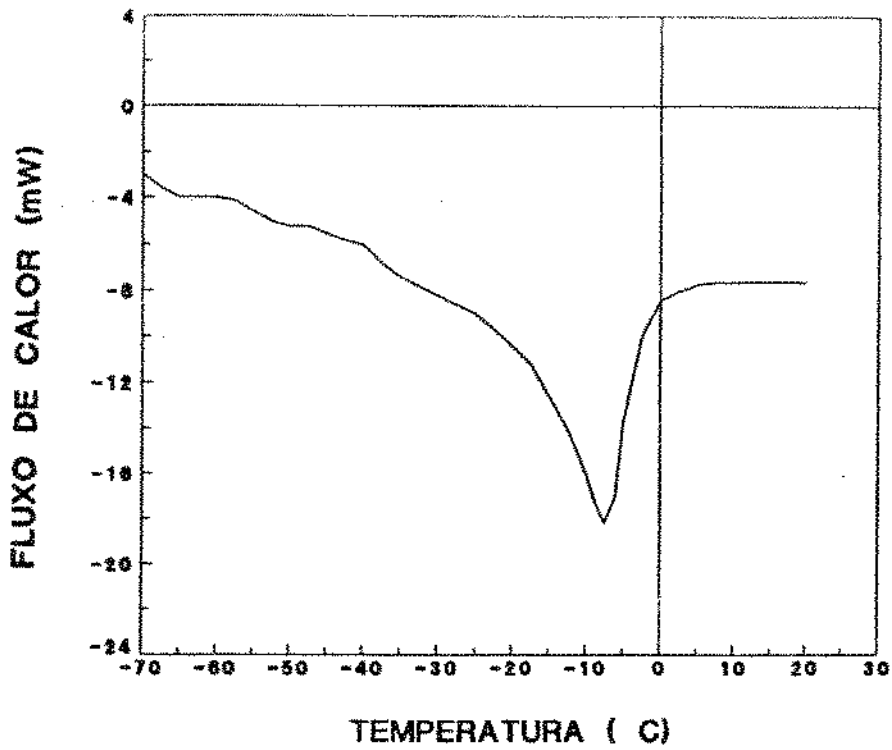


FIGURA 28 - Curva DSC para gel BTM contendo frutose equilibrado a 90,0% de URE.

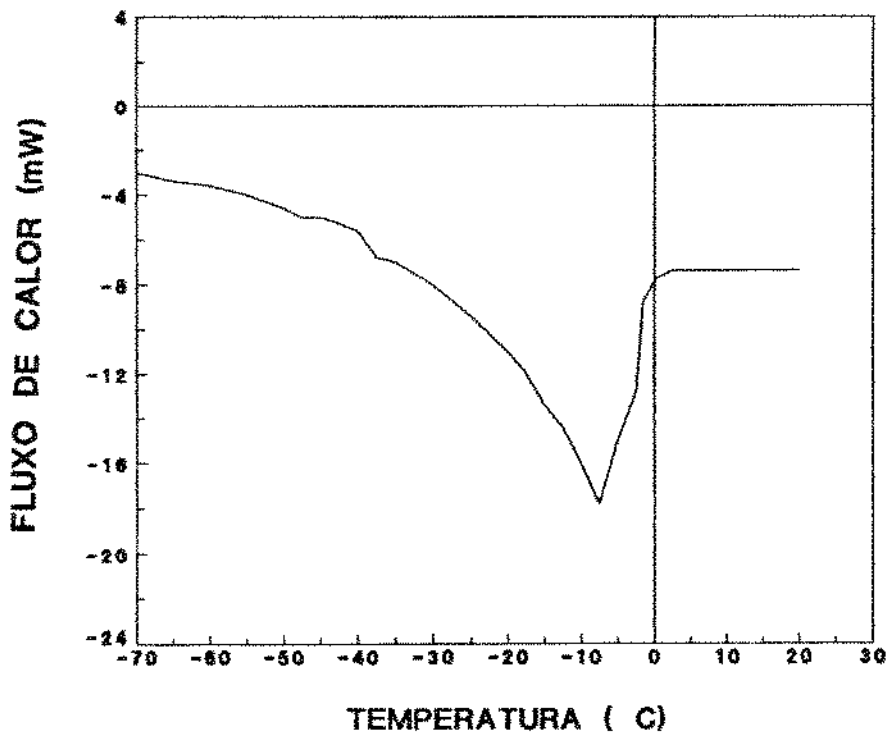


FIGURA 29 - Curva DSC para gel BTM contendo sorbitol equilibrado a 90,0% de URE.

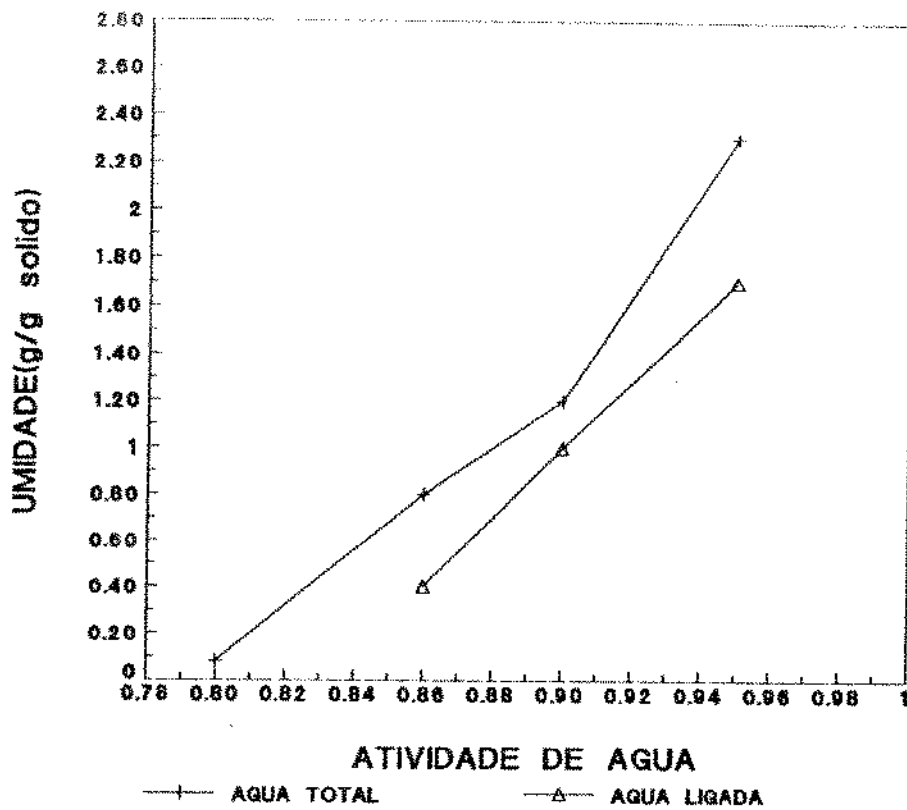


FIGURA 30 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo sacarose.

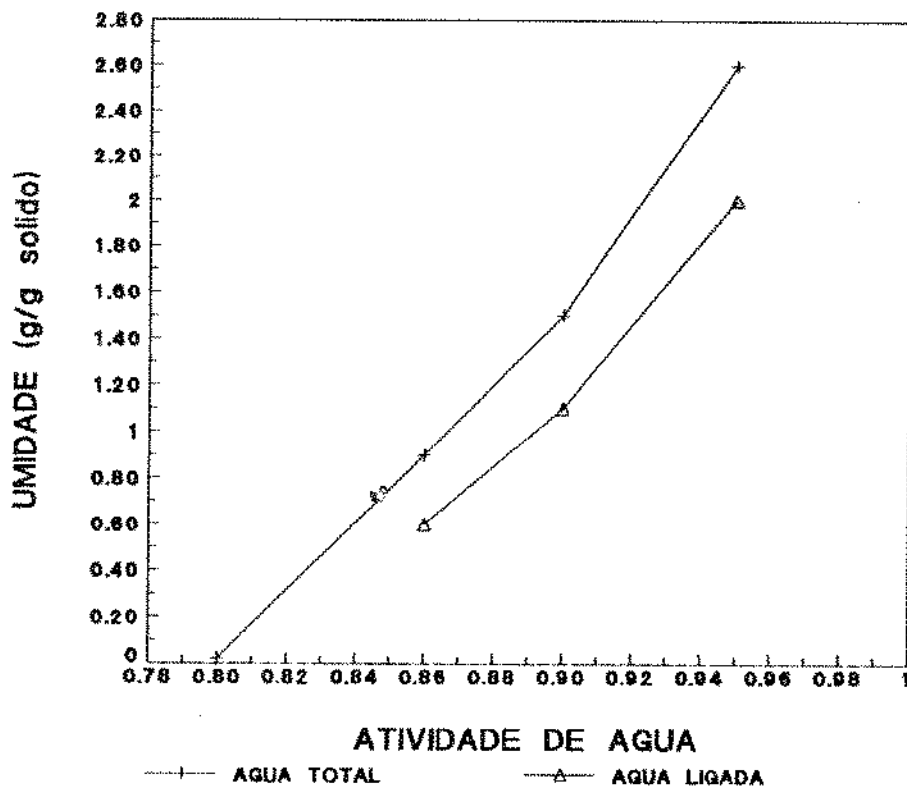


FIGURA 31 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo glucose.

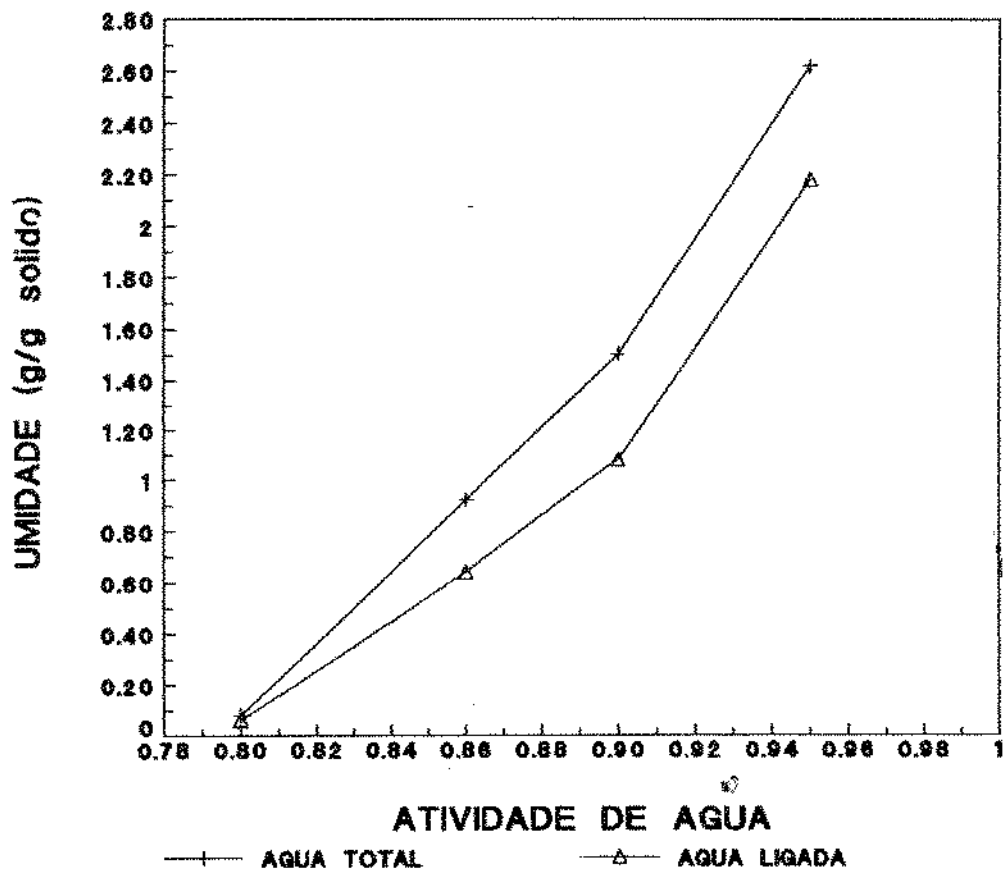


FIGURA 32 - Isoterma de água ligada para gel ATM contendo sorbitol.



explicar tal ocorrência é a possibilidade de coexistirem estados cristalinos e amorfos dos açúcares e estado amorfo da pectina. Neste modelo, além da água cristalizada pode existir uma solução solidificada da matriz que, por sua vez determina um ponto de fusão menor que o do gelo puro.

Considerando que na formação do gel de pectina de alto teor de metoxilação o papel do açúcar a nível molecular é de se associar a água de forma a facilitar a presença de ligações cruzadas em grande número, entre cadeias de pectina (REES 1972) para que ocorra a formação da matriz do gel, a força do gel ou o valor do SAG, deve estar associado à capacidade de ligação de água dos açúcares ou seja, maior capacidade de ligação de água mais forte o gel.

Os valores de BET, da água total (curvas de absorção) ou os valores de água ligada obtidos por DSC para o gel ATM apresentam correlação com a dureza do gel. Assim valores de BET para o gel ATM foram maiores para o sorbitol, sacarose e posteriormente para glucose em ordem inversa à obtida para os valores de SAG. Quanto a água ligada (Tabela 7) ao gel ATM contendo sorbitol, o mesmo apresenta maior valor que o observado para sacarose, que por sua vez é maior que o obtido para glucose. Quando entretanto, os valores são transformados em moles/mol de produto (Tabela 10) as correlações observadas acima não se mantêm. Pela Tabela 10 observa-se que o gel ATM contendo sacarose é capaz de associar mais água que o gel de sorbitol, e assim deve produzir um gel mais duro que aquele obtido com sorbitol, o que não ocorre. Deve-se considerar

TABELA 10 - Absorção de água para o gel ATM equilibrado a 90% de URE expressos em base molar

Gel	Composição	BET	Água absorvida	Água total	Água livre	$\Delta H$
Componentes	(mol/100 g gel)	para o gel	pele constituinte	absorvida gel	gel (DSC)	(cal/mol açúcar)
		(mol H <sub>2</sub> O/ mol açúcar)	(mol H <sub>2</sub> O/ mol açúcar)	(DSC) (mol H <sub>2</sub> O/ mol açúcar)	(mol H <sub>2</sub> O/ mol açúcar)	
Pectina ATM	$4,2 \times 10^{-6}$					
Sorbitol	0,35	2,4	7,8	12,7	6,5	9257
Água	1,98					
Pectina ATM	$4,2 \times 10^{-6}$					
Sacarose	0,18	4,2	8,5	20,0	12,3	17700
Água	1,98					
Pectina ATM	$4,2 \times 10^{-6}$					
Glucose	0,35	0,14	0,96	1,30	4,4	6357
Água	1,98					
Pectina ATM	$4,2 \times 10^{-6}$					
Frutose	0,35	-	7,92	-	-	-
Água	1,98					

também que o número de centros capazes de formar pontes de hidrogênio com a água ou a pectina é maior para a sacarose ou seja, potencialmente mais água poderia estar associada nesse gel, tornando-o mais duro. Estas observações indicam que não só o efeito desidratante do açúcar, mas também, sua estrutura e associação com as moléculas de pectina podem estar cooperando na formação do gel.

A teoria proposta por REES (1972) com relação à capacidade hidratante do açúcar sendo determinante na estruturação e dureza do gel não parece funcionar para o caso da frutose cuja capacidade de retenção é muito próxima à do sorbitol. No caso da glucose onde há um grande excesso de água, a perda da dureza é relativamente pequena em relação ao sorbitol, sendo praticamente igual à da frutose. Há também que se considerar, que no caso da glucose o excesso de água deveria fazer com que o gel fosse praticamente um sol viscoso.

Possivelmente, a estrutura do açúcar afete a retenção de água através de suas ligações a molécula de pectina ou a moléculas de água por justaposição direta, ou ainda, ligando duas moléculas de pectina e permitindo maior proporção de água intercadeias, e nesse caso diminuindo proporcionalmente a dureza do gel.

Os resultados obtidos para os géis ATM mostram que:

1. não há correspondência direta entre os valores de SAG e a capacidade de ligar água dos açúcares usados;
2. há uma maior absorção de água pelo gel liofilizado do que o valor correspondente, obtido pela soma das absorções dos componentes

individuais; 3. ocorre a formação do gel contendo glucose com enorme excesso de água em relação à capacidade de hidratação apresentada pela mesma e 4. o gel contendo frutose apresentou um comportamento anômalo quanto à capacidade de absorção e ao SAG, e também quanto a impossibilidade de liofilização, sendo possível assim admitir que na formação do gel ATM, além das ligações pectina-pectina, também a estrutura do açúcar afeta a retenção de água através de sua ligação à molécula de pectina reforçando o que já foi mencionado em parágrafos anteriores.

Conforme foi observado experimentalmente, o uso de diferentes açúcares na preparação do gel contendo pectina BTM, resulta em consideráveis diferenças na consistência dos produtos obtidos.

Nas geléias feitas com pectina BTM, a formação do gel diferentemente daqueles com pectina ATM, parece não depender da presença de açúcares capazes de reter água, mas sim da formação de uma matriz de moléculas de pectinas combinadas com valências iônicas e não iônicas do ácido galacturônico e dos grupos OH dos demais carbonos ao cálcio. É admitida a melhoria da dureza do gel pela presença de quantidades pequenas de açúcar, que podem ligar algum eventual excesso de água no gel.

Os dados da Tabela 6 indicam que efetivamente forma-se um gel relativamente duro (SAG de 20%) usando somente pectina, cálcio e água. A presença de açúcares altera o valor do SAG do gel em alguns casos fortemente, como para o sorbitol e frutose, ocorrendo inclusive perda de estrutura e amolecimento do gel, enquanto que para sacarose e glucose

ocorre aumento de dureza. Considerando que sorbitol e frutose pelas curvas de absorção absorvem a mesma quantidade de água, tanto individualmente, como no gel liofilizado, seu efeito sobre o SAG é, como esperado, semelhante. Sacarose e glucose que podem se associar à quantidades de água consideravelmente diferentes, apresentam valores de SAG diferentes, mas para a sacarose muito menores que para a frutose e sorbitol, apesar da mesma associar-se a menores quantidades de água. A glucose, cuja capacidade de absorver água é consideravelmente menor que para os demais açúcares, produz um gel cuja dureza é intermediária entre os valores de SAG para o gel sem açúcar e aquele com sacarose.

É portanto provável que o efeito do açúcar no gel não se restrinja à absorção de água, mas também a sua capacidade de competir com a pectina pelos íons de cálcio, podendo então alterar a consistência do gel a medida que a capacidade de competição do açúcar pelo metal passa a ser maior.

A possibilidade de formação de complexos entre os vários açúcares utilizados na formulação do gel de pectina BTM amidada com íons metálicos tem sido estudada por vários pesquisadores entre eles por ANGYAL (1980) que, também comprovou a não complexação da sacarose.

A formação de complexos desse tipo foi evidenciada pela análise do espectro de ressonância magnética nuclear de prótons do sistema açúcar-íon metálico (cálcio ou lantânio) em um solvente adequado conforme pode ser visto nas Figura 33 a Figura 39 (M.M .3.2.12.2).O espectro do sistema contendo o

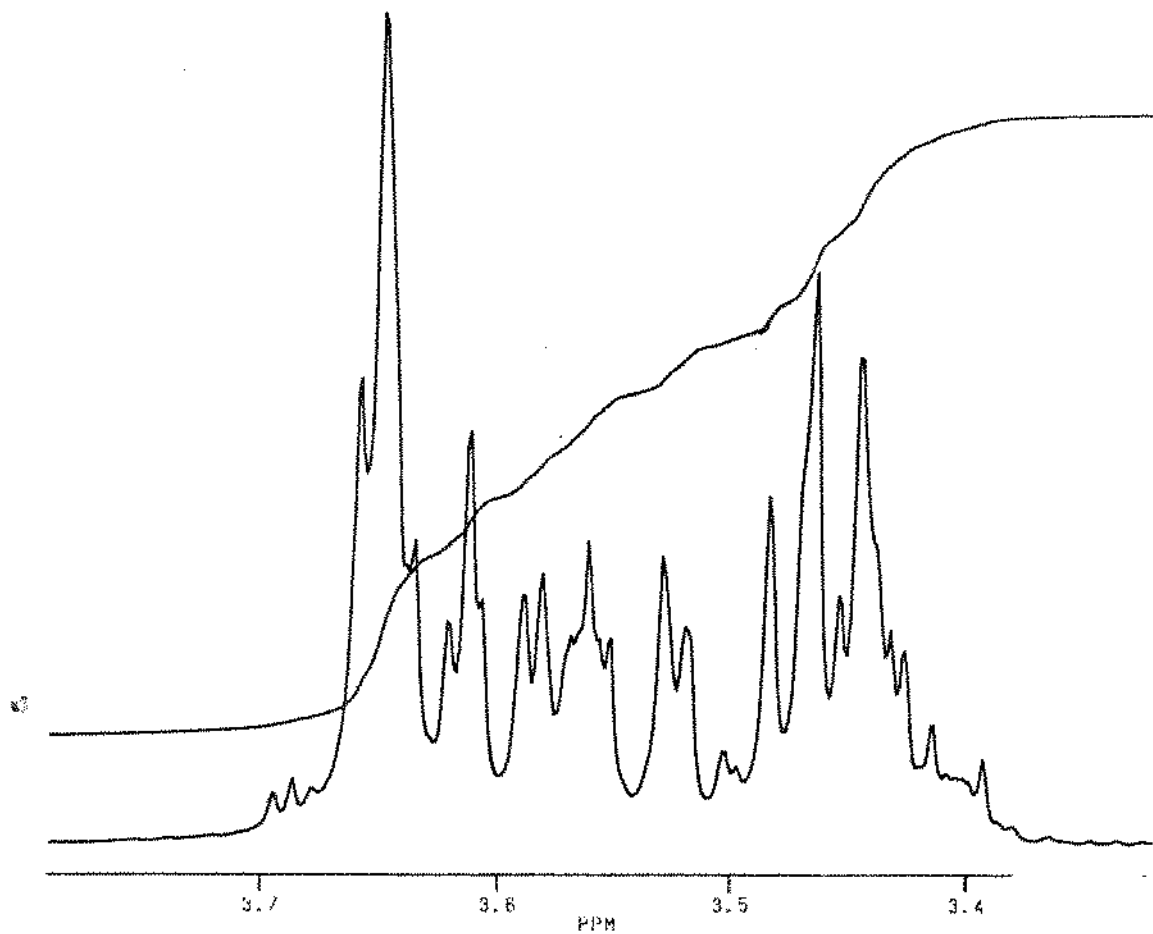


FIGURA 33 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5M de sorbitol em água deuterada.

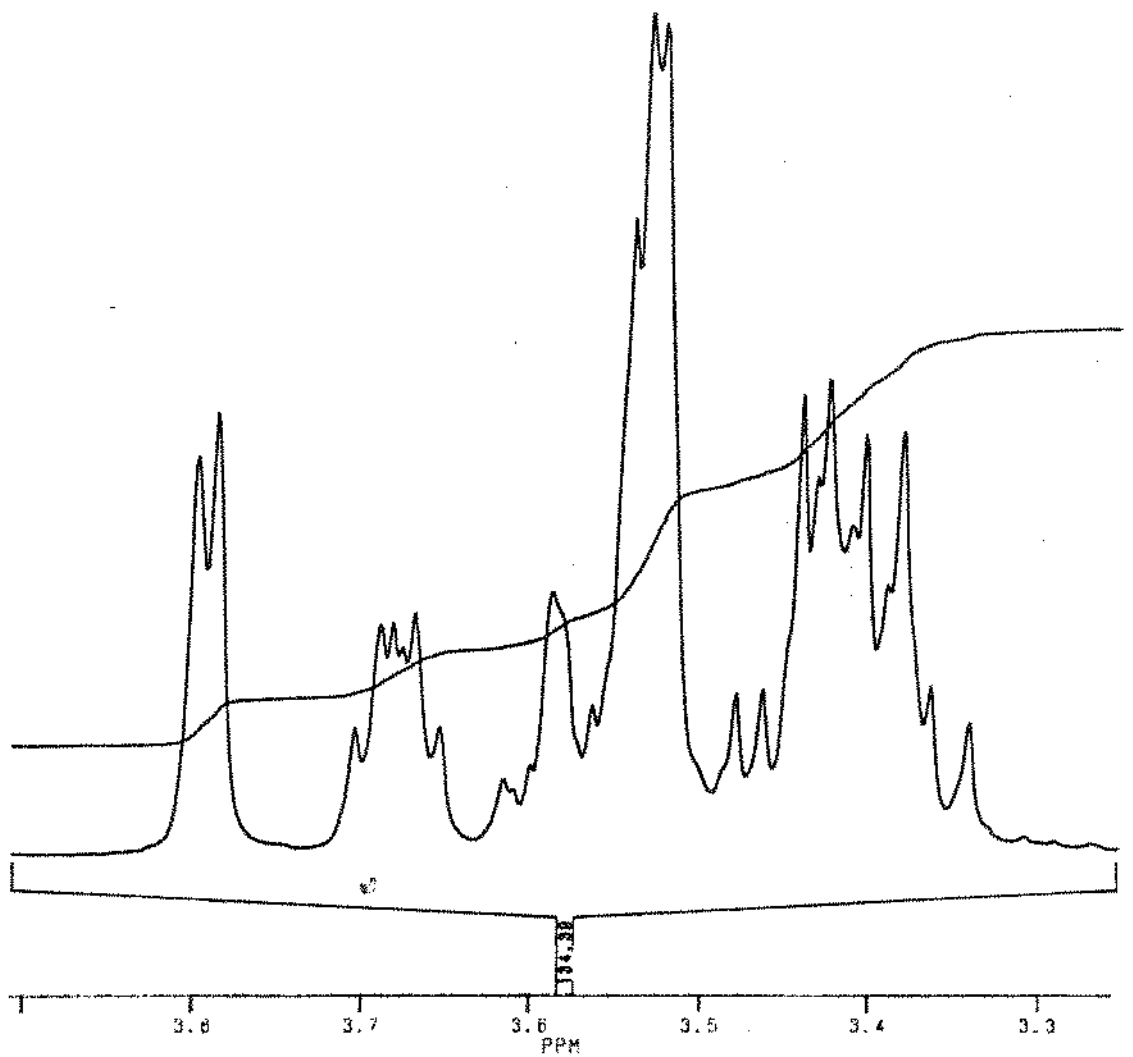


FIGURA 34 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução de sorbitol e cloreto de lantânio em  $D_2O$ .

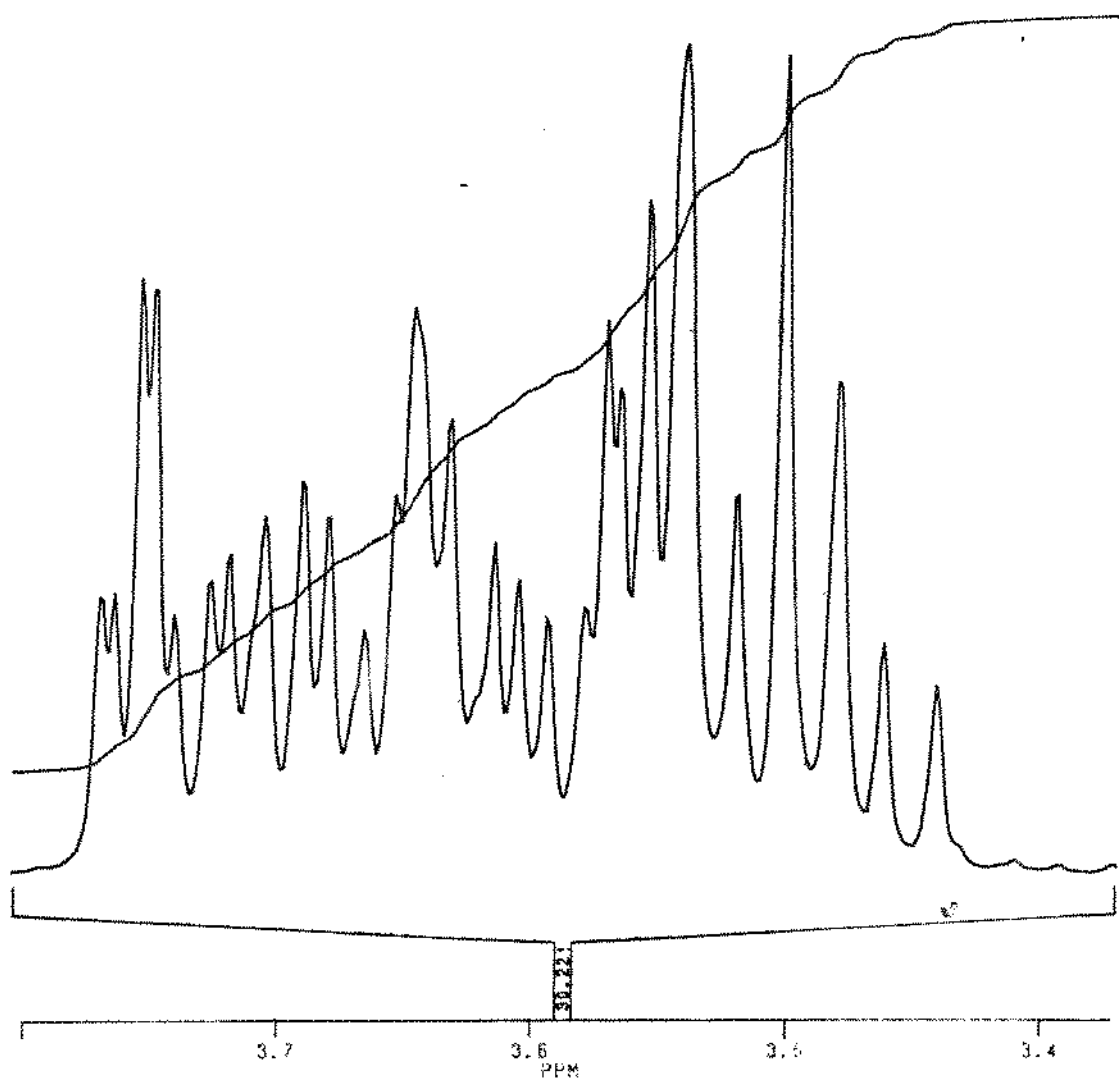


FIGURA 35 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução de sorbitol e cloreto de cálcio em  $D_2O$ .



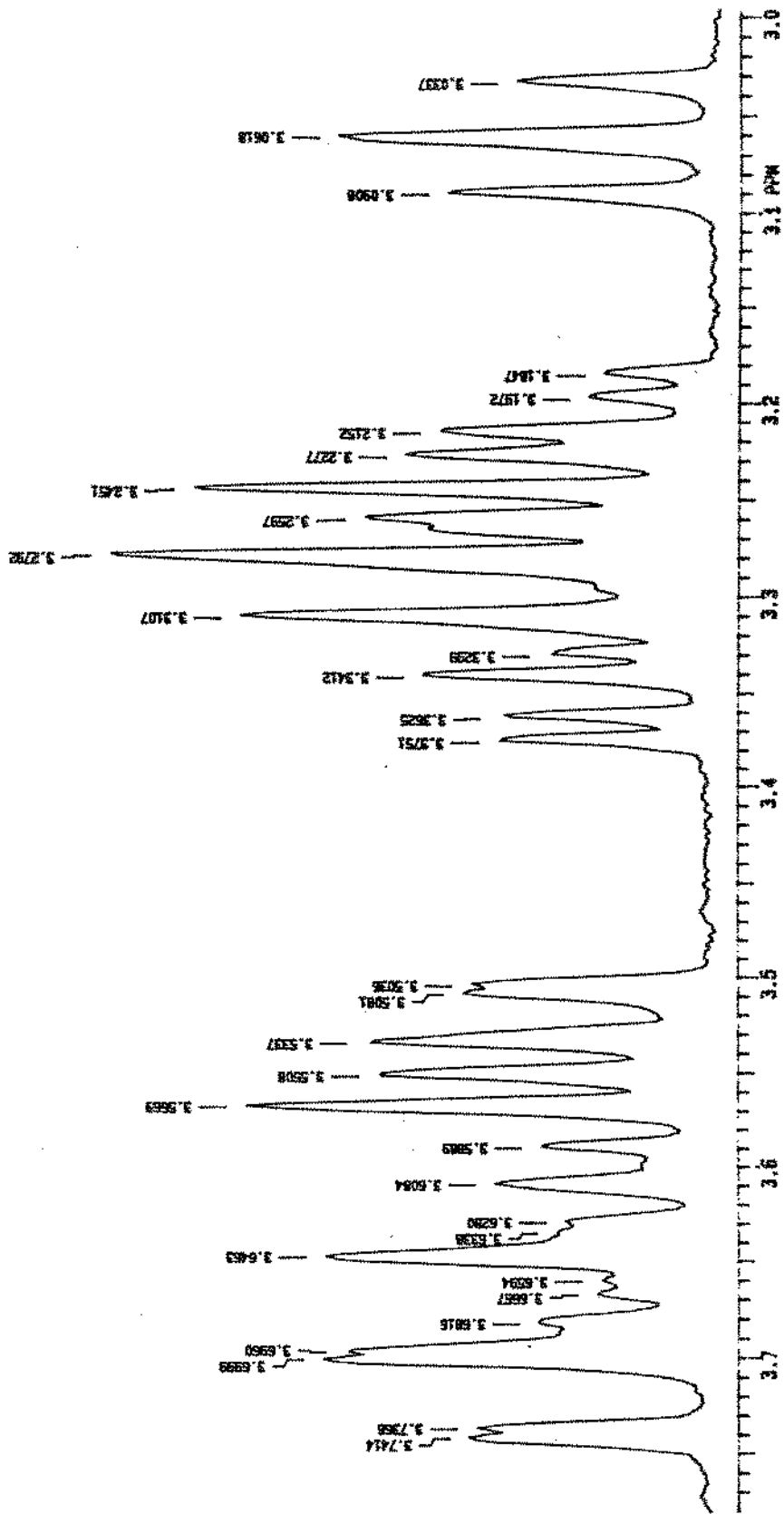


FIGURA 36 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5 M de glucose em D<sub>2</sub>O.

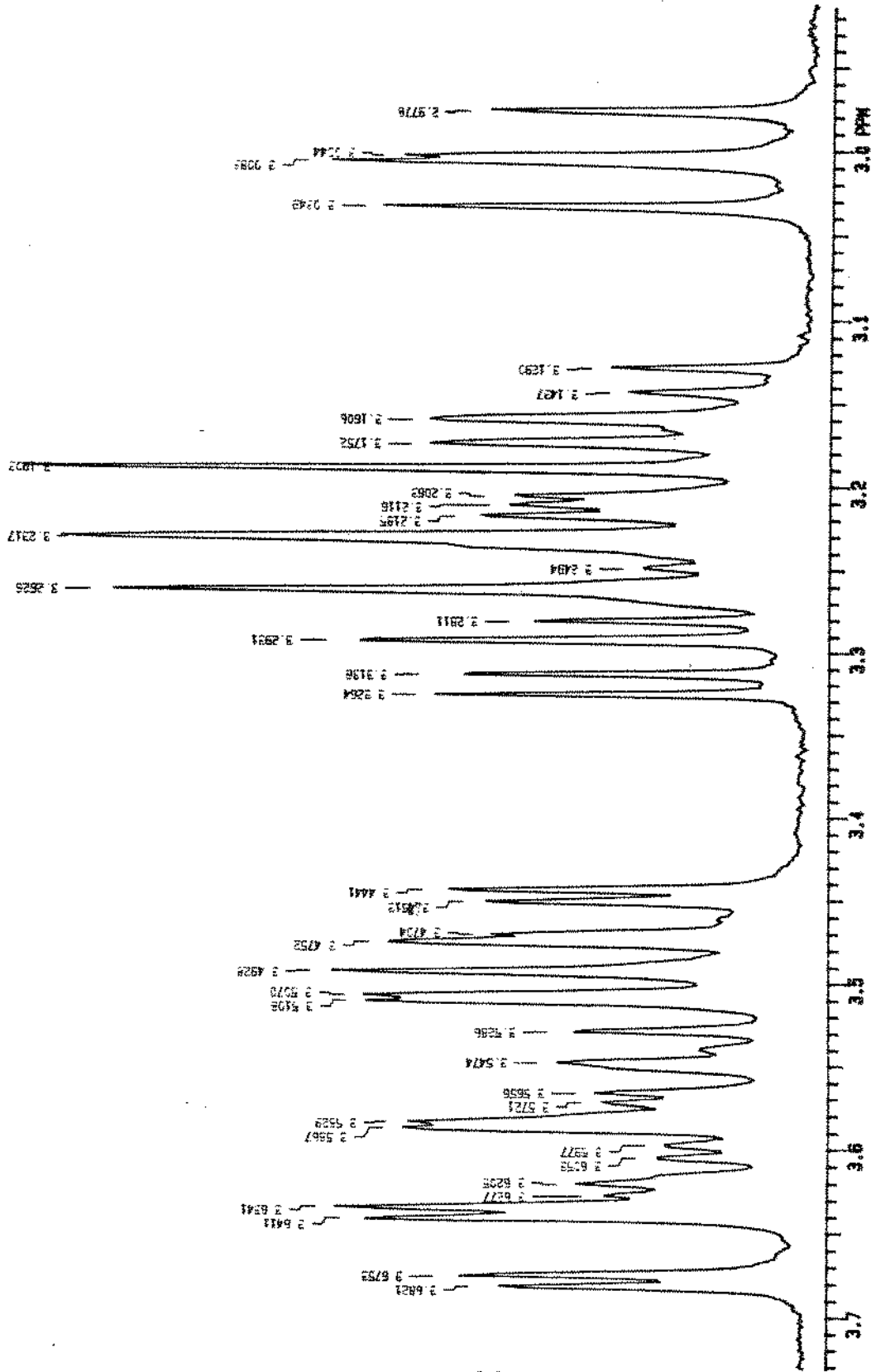


FIGURA 37 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de uma solução de glicose contendo cloreto de lantânio em D<sub>2</sub>O.

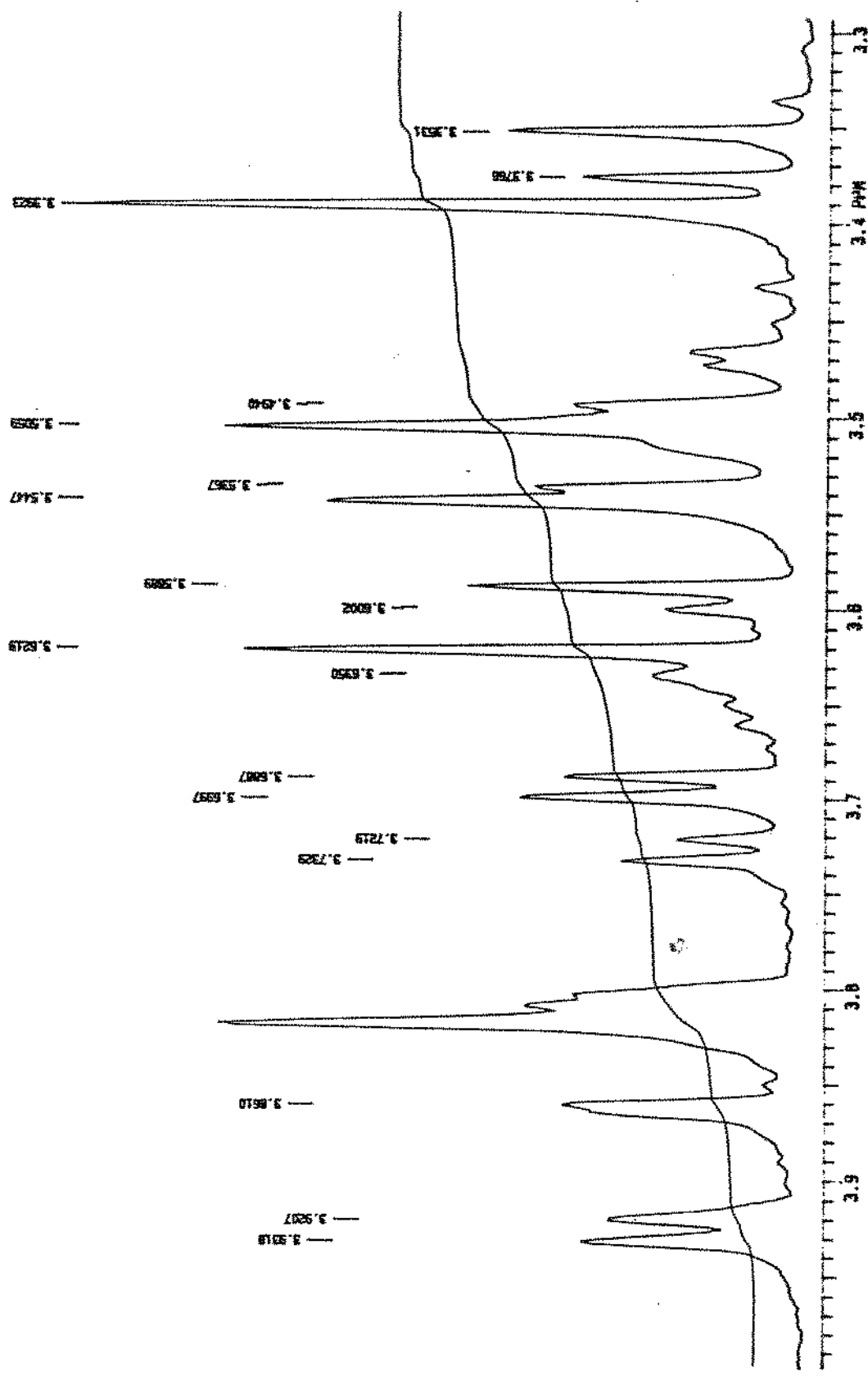


FIGURA 38 - Espectro de ressonância magnética nuclear de próton de solução 0,5M de frutose em D<sub>2</sub>O.



complexo apresenta uma clara variação em relação ao espectro do açúcar puro. Esta variação ocorre principalmente no deslocamento químico e no tipo de desdobramento adotado pelos prótons carbinólicos.

Entre os resultados, o sistema que demonstra a maior variação com a adição de um íon metálico em relação ao espectro do açúcar puro é o do sorbitol. A adição de íons acarreta mudanças significativas no espectro ocorrendo uma expansão dos deslocamentos químicos dos sinais antes confinados entre 3,40 e 3,65 para 3,50-3,80 ppm para o caso do cálcio (Figura 35) e de 3,35-3,80 ppm para o caso do lantânio (Figura 34). Os desdobramentos dos conjuntos de picos nos dois sistemas, também são completamente diferentes daquele observado no espectro do sorbitol puro.

O espectro do sorbitol após a adição de cloreto de cálcio tende a se aproximar dos espectros dos outros açúcares, como se a organização espacial do sorbitol no complexo tendesse para a dos açúcares cíclicos, representando assim o arranjo preferencial entre o sorbitol e o íon metálico. As ligações C-C da cadeia polihidroxílica acíclica do sorbitol possuem rotação livre de acordo com Angyal (1980), o que possibilita a este poliol organizar-se na sequência treo-treo de três hidroxilas consecutivas, adequado à formação do complexo com íons metálicos.

No caso da glucose, comparativamente aos outros açúcares, não ocorrem variações significativas após a adição de cloreto de lantânio nos espectros de ressonância (Figura 36 e

Figura 37). Esse resultado é suportado por trabalho descrito por Angyal (1973), sendo justificado pela ausência da configuração adequada a formação do complexo axial-equatorial-axial em quaisquer de suas formas cíclicas. Paralelamente observa-se que a textura obtida no gel contendo glucose sofre pouca alteração, quando comparada a do gel sem açúcar, reforçando assim o resultado aqui obtido.

No caso da frutose, a medida de SAG pressupõe um pronunciado efeito de competição, fato confirmado em nossos resultados quando os espectros de ressonância com e sem a adição do metal foi analisado (Figura 39 e figura 38). Nossos resultados são reforçados por GRAIG et alii (1974) em cujo trabalho foi observada a formação de complexo entre a frutose e o cálcio, embora de acordo com o modelo proposto por ANGYAL (1980) esse açúcar não apresente a conformação adequada a formação de complexo, em quaisquer de suas formas tautoméricas.

## 5. CONCLUSÕES

As pectinas ATM e BTM comerciais contêm como açúcares livres além da sacarose adicionada, glucose, galactose e manose e como açúcares ligados galactose, manose, arabinose e ramnose.

A massa molecular das pectinas ATM e BTM determinado pelo método da viscosidade intrínseca varia entre 100000 a 150000.

A heterogeneidade das pectinas usadas é evidenciada pela presença de duas frações detectadas por cromatografia de troca iônica.

A presença de grupos amidas na pectina BTM não altera sua capacidade de absorção de água que é devida à presença de grupos carboxílicos livres e às alterações na associação molecular das moléculas de pectina, pela presença de grupos metoxilas.

A remetilação da pectina ATM de 53,1% a 87,9% reduz sua capacidade de absorção de água incluindo a camada de BET, enquanto que o ácido poligalacturônico e seu produto metoxilado variando de 5,05% a 44,9%, não sofre alteração na capacidade de absorver água. Esse efeito é devido ao alto grau de associação das moléculas de pectina remetoxilada e ao menor grau de associação para aquelas do ácido poligalacturônico remetoxilado.

O processo de saturação primária com a formação do açúcar hidratado é termodinamicamente controlado em sua parte inicial e a energia envolvida deve ser maior que a energia liberada pela ruptura das ligações entre as moléculas de açúcar no sólido.

A capacidade de absorção de água dos açúcares utilizados é decrescente na seguinte ordem: sorbitol, frutose, sacarose e glucose.

A liofilização dos componentes dos géis não altera sua capacidade de absorção de água, em relação à capacidade de absorção dos componentes, obtidos por secagem convencional a níveis de URE superiores a 60%.

A dureza dos géis ATM mostra a seguinte ordem decrescente para os açúcares: sorbitol, sacarose, frutose igual a glucose. Para o gel BTM a ordem é sacarose, glucose, gel sem açúcar, frutose e sorbitol.

Para os géis ATM a absorção da água pelo gel está relacionada à capacidade de absorção de água do açúcar. As diferenças de dureza nos géis BTM independem da capacidade de absorção do açúcar presente.

Não existe aditividade nas propriedades absorptivas dos componentes de um gel de pectina comparado aos valores obtidos diretamente para o gel.

Os valores experimentais indicam que para valores de atividade de água abaixo de 0,80 toda a água presente nos géis se encontra na forma de água ligada.



A formação do gel de pectina ATM depende não só da hidratação do açúcar, como também, da maior ou menor capacidade das diferentes estruturas dos açúcares interagirem com a pectina. Essa associação determina a presença de maior ou menor número de grupos hidrofílicos expostos.

Para as pectinas BTM a formação do gel depende da formação de ligações iônicas e não iônicas entre a pectina e o cálcio.

A dureza do gel BTM está relacionada com a competição pelos íons de cálcio entre a pectina e o açúcar presentes. A competitividade do açúcar pelos íons cálcio está relacionada a sua estrutura.

A ressonância magnética de prótons mostra que os açúcares tem diferentes capacidades de ligar cálcio. O maior efeito dessa combinação no espectro de ressonância ocorre quando se utiliza sorbitol como açúcar. O gel contendo esse açúcar também apresenta o maior valor de SAG.

Os espectros de RMN de prótons mostram que também a frutose é capaz de complexar com íons cálcio, efeito esse que é responsável pelo alto valor de SAG do gel BTM contendo frutose.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALBERSHEIM, P.; NEVINS, D. J.; ENGLISH, P. D.; KARR A. A. Method for the analysis of sugar in plant cell-wall polyssacharides by gas-liquid chromatography. Carbohydrate Research 5 (3): 340-345, 1967.
- 2- ANGER, H. & BERTH, G. Gel permeation chromatography and the Mark-Houwink relation for pectins with different degree of esterification. Carbohydrate Polymers 6 (3): 193-202, 1986.
- 3- ANGER, H. & DONGOWSKI, G. Amidated pectins: characterisation and enzymatic degradation. Food Hydrocolloids 2 (5): 371-379, 1988.
- 4- ANGYAL, S. J. Complexes of carbohydrates with metal cation. I. Determination of the extent of complexing by NMR spectroscopy. Austr. J. Chem. 25 (9):1957-1966, 1972.
- 5- ANGYAL, S. J. Complex formation between sugars and metal ions. Pure and Applied Chemistry 35 (2):131-146, 1973.
- 6- ANGYAL, S. J. Complexing of polyols with cations. Tetrahedron 30, 1695-1702, 1974.
- 7- ANGYAL, S. J. Sugar-cation complexes. Structure and applications. Chemical Society Reviews 9 (4):415-428, 1980.
- 8- ANGYAL, S. J. Equilibria between pyranoses and furanoses. II. Aldoses. Austr. J. Chem. 25 (8):1695-1710, 1972.
- 9- A.O.A.C. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14.ed. Arlington, 1984. 1141p.
- 10- ARNDT, F. Diazomethane. Organic Synthesis Collection 2: 165-166, 1943 (a).
- 11- ARNDT, F. Nitrosomethylurea. I-From methylamine hydrochloride. Organic Synthesis Collection 2: 461-463, 1943 (b).
- 12- ASPINALL, G. O. Glycuronans. In: ASPINALL, G. O. Polyssacharides. Elmsford, Pergamon, 1970. Chap. 9 p.116-129.
- 13- BACK, J. F.; OAKENFULL, D.; SMITH, M. B. Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols. Biochemistry 18 (23): 5191-5196, 1979.

- 14- BAIG, M. M.; BURGIN, C. W.; CERDA, J. J. Fractionation and study of chemistry of pectic polyssaccharides. Journal of Agricultural and Food Chemistry 30 (4): 768-770, 1982.
- 15- BAIG, M. M.; BURGIN, C. W.; CERDA, J. J. Labeling and chemistry of grapefruit pectic substances. Phytochemistry 19 (7): 1425-1428, 1980.
- 16- BARBIER, M. & THIBAUT, J.F. Pectic substances of cherry fruits. Phytochemistry 21 (1): 111-115, 1982.
- 17- BECHTEL, P. J.; PALNIKAR, M. P.; HELDMAN, D. R.; PEARSON, A. M. Bound water determination using vacuum differential scanning calorimetry. Journal of Food Science 36 (1): 84-86, 1971.
- 18- BERLIN, E.; KLIMAN, P. G.; ANDERSON, B. A.; PALLANSCH, M. J. Water binding in whey protein concentrates. Journal of Dairy Science 56 (8):984-987, 1973.
- 19- BERTH, G. Studies on the heterogeneity of citrus pectin by gel permeation chromatography on sepharose 2B-4B. Carbohydrate Polymers 8 (2): 105-117, 1988.
- 20- BETTLHEIM, F. A.; STERLING, C.; VOLMAN, D. H. Pectic substances. I. Structural Changes in the polygalacturonide chains during water adsorption. Journal of Polymer Science 22: 303-314, 1956.
- 21- BETTLHEIM, F. A. & VOLMAN, D. H. Pectic Substances. II. Thermodynamics of water vapor sorption. Journal of Polymer Science 24: 445-454, 1957 (a).
- 22- BETTLHEIM, F. A. & VOLMAN, D. H. The sorption of water vapor by calcium pectate. Journal of Polymer Science 24: 485-488, 1957 (b).
- 23- BISWAS, A. B.; KUNSAH, C. A.; PASS, G.; PHILLIPS, G. D. The effect of carbohydrates on the heat of fusion of water. Journal of Solution Chemistry 4 (7): 581-590, 1975.
- 24- BLACK, S. A. & SMIT, C. B. J. The effect of demethylation procedure on the quality of low ester pectins used in dessert gels. Journal Food Science 37 (5): 730-732, 1972.
- 25- BRIGAND, G.; DENIS, A.; GRALL, M.; LECACHEUX, D. Insight into the structure of pectin by high performance chromatographic methods. Carbohydrate Polymers 12 (1): 61-67, 1990.
- 26- BRUN, H. & ABO, H. A gel chromatographic study of molecular weight distribution in native wheat starch and its oxidation products. Die Starke 29 (4): 122-126, 1977.

- 27- BRUNAUER, S.; EMMET, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. Journal American Chemical Society 60 (2): 309-319, 1938.
- 28- BUDDECKE, E. & DRZENIEK, R. Stability constants of the Ca complexes of acid mucopolysaccharides. Zeitschrift fur Physikalische Chemie 327: 49-64, 1962.
- 29- CARRILLO, P. J.; GILBERT, A. G.; DAUN, H. Starch-solute interaction in water sorption as affected by pretreatment. Journal of Food Science 53 (4): 1199-1203, 1988.
- 30- CHEN, T. S. & JOSLYN, M. A. The effect of sugars on viscosity of pectin solution. II Comparison of dextrose, maltose, and dextrans. Journal of Colloid and Interface Science 25 (3): 346-352, 1967.
- 31- CHILD, T. F. & PRYCE, N.G. Steady state and pulsed NMR studies of gelation in aqueous agarose. Biopolymers 11 (2): 409-429, 1972.
- 32- CRAIG, D. S. Cryst. Structure Commun. 3, 227-281, 1974 apud DHEU-ANDRIES, D. C. & PEREZ, S., 1983.
- 33- CRISTENSEN, P.E. Methods of grading pectin in relation to the molecular weight (intrinsic viscosity) of pectin. Food Research 19 (2): 163-172, 1954.
- 34- DEKERS, H. A.; OLIEMAN, C.; ROMBOOTS, F. M.; PILNIK, W. Calibration and application of high-performance size exclusion columns for molecular weight distribution of pectins. Carbohydrate Polimers 6 (5) 361-378, 1986.
- 35- DHEU-ANDRIES, M. L. & PEREZ, S. Geometrical features of calcium-carbohydrates interactions. Carbohydrate Research 124 (2 ):333-337, 1983.
- 36- DONGDWSKI, G.; ANGER, H.; BOCK, W. Einflub molekularer parameter des galakturonansubstrats auf die aktivitat und wirkung von polygalakturonasen aus *Aspergillus spec*/The effects of molecular parameters of the galacturonan substrate on the activity and the action of polygalacturonases from *Aspergillus spec*. Die Nahrung 27 (9): 817-829, 1983.
- 37- DOESBURG, J. J. & GREVERS, G. Setting time and setting temperature of pectin jellies. Food Research 25 (5): 634-645, 1960.
- 38- DUCKWORTH, R. B. Differential thermal analysis of frozen food systems. I The determination of unfreezable water. Journal of Food Technology 6 (3): 317-327, 1971.

- 39- DUBOIS, M.; GILLES, K., A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28 (3): 350, 1956.
- 40- FENNEMA, O. R. Water and ice. In: FENNEMA, O. R. ed. Food Chemistry New York, Marcel Dekker, 1985. p.23-67.
- 41- FERRY, J. D. Protein gels. Advances in Protein Chemistry 4: 1-78, 1948.
- 42- FISHMAN, M. L.; PEPPER, L.; PFEFFER, P. E. Dilute solution properties of pectin. Advances in Chemistry Series 213: 57-70, 1986.
- 43- FISHMAN, M. L.; PFEFFER, P. E.; BARFORD, R. A.; DONER, L. W. Studies of pectin solution properties by high performance size exclusion chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry 32 (2): 372-378, 1984.
- 44- FISHMAN, M., L. In: FISHMAN, M. L. & JEN, J. J. eds. Chemistry and function of pectins. Washington, ACS 1986. p.22.
- 45 - FLORY, P., J. Thermodynamics of high polymer solutions. Journal of Chemical Physics 10 (1): 51-61, 1942.
- 46- FLORY, P. J. Principles of polymer chemistry. Ithaca, Cornell University Press, 1953. 672p.
- 47- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Monograph on pectin. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Food chemical codex II. Washington, 1972. p.557.
- 48- GALAMBOS, J. T. The reaction of carbazole with carbohydrates. I Effect of borate and sulfamate on the carbazole color of sugars. Analytical Biochemistry 19 (1): 119-132, 1967.1f
- 49- GEE, M.; REEVE, R. M.; MCCREADY, R. M. Measurement of plant pectic substances. Reaction of hydroxylamine with pectinic acids. Chemical studies and histochemical estimation of the degree of esterification of pectic substances in fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry 7 (1): 34-38, 1959.
- 50- GIDLEY, M. J.; MORRIS, E. R.; MURRAY, E. J.; POWELL, D. A.; REES, D. A. Spectroscopic and stoichiometric characterization of the calcium mediated association of pectate chains in gels and in the solid state. Journal of Chemical Society: Chemical Communication (22): 990-992, 1979.

- 51- GILBERT, I. G. F. & MYERS, N. A. Metal binding properties of chondroitin sulfate. Biochim. Biophys. Acta 42, 469-475, 1960.
- 52- GRANT, G. T.; MORRIS, E. R.; REES, D. A.; SMITH, P. J.; C.; THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg box model. FEBS Letter 32 (1): 195-198, 1973.
- 53- GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. Journal of Research of the National Bureau of Standards. A. Physics and Chemistry 81A (1):89-96, 1977.
- 54- GREENWOOD, C., T. Viscosity molecular weight relations molecular weight of amylose on amylopectin by means of the limiting viscosity number. In: WHISTLER, R. L. ed. Methods in carbohydrate chemistry. New York, Academic Press, 1964. p.179-188.
- 55- HANKE, D. E. & NORTHCOTE, D. A. Molecular visualization of pectin and DNA by ruthenium red. Biopolymers 14 (1): 1-17, 1975.
- 56- HALL, L. D. Chemical shifts of carbohydrates. Tetrahedron Letters (23):1457-1460, 1964.
- 57- HAUG, A. & SMIDSRØD, O. Selectivity of some anionic polymers for divalent metal ions. Acta Chemica Scandinavica 24 (3): 843-854, 1970.
- 58- HOOD, L., F. & MERCIER, C. Molecular structure of unmodified and chemically modified manioc starches. Carbohydrate Research 61 (1): 53-66, 1978.
- 59- HYVONEN, L. & TORMA, R. Examination of sugars, sugars alcohols and artificial sweeteners as substitutes for sucrose in strawberry jam. Product development. Journal of Food Science 48 (1): 183-185, 192, 1983.
- 60- HUGGINS, M. L. Theory of solutions of high polymers. Journal of the American Chemical Society 64 (7): 1712-1719, 1942.
- 61- IFT COMMITTEE ON PECTIN STANDARDIZATION. Pectin standardization - Final Report of the IFT Committee. Food Technology 13 (8): 496-500, 1959.
- 62- JARVIS, M. C. Structure and properties of pectins gels in plant cell walls. Plant Cell and Environment 7 (3): 153-164, 1984.
- 63- JOSEPH, G. H.; KIESER, A. H.; BRYANT, E. F. High polymer ammonia demethylated pectinates and their gelation. Food Technology 3 (3): 85-90, 1949.

- 64- JOSLYN, M. A. & DEUEL, H. The extraction of pectins from apple marc preparations. Journal of Food Science 28 (1): 65-83, 1963.
- 65- KAWABATA, A. & SAWAYAMA, S. Effect of pH and salts on the texture of low-methoxyl pectin jelly. Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition 28 (1): 17-24, 1975.
- 66- KAWABATA, A.; SAWAYAMA, S.; NAKAHARA, H.; KAMATA, T. Mechanism of association of various demethylated pectins by calcium ions. Agricultural Biological Chemistry 45 (4): 965-973, 1981.
- 67- KAWABATA, A.; SAWAYAMA, S.; KOTBUKI, S. Effect of sugar and sugar alcohols on the texture of pectin jelly. Japanese Journal of Nutrition 34 (1): 3-10, 1976.
- 68- KINTNER, P. K. & VAN BUREN, J. Carbohydrate interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method. Journal of Food Science 47 (3): 756-759, 764, 1982.
- 69- KNEE, M. Properties polymethylgalacturonate and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. Phytochemistry 17 (8): 1257-1260, 1978.
- 70- KOHN, R. Ion binding on polyuronate-alginate and pectin. Pure and Applied Chemistry 42 (3): 371-397, 1975.
- 71- KOHN, R. & FURDA, I. Calcium ion activity in solutions of calcium pectinate. Collection of Czechoslovak Chemical Communication 32 (5): 1925-1937, 1967.
- 72- KOHN, R. & FURDA, I. Binding of calcium ions to acetyl derivatives of pectin. Collection of Czechoslovak Chemical Communication 33 (7): 2217-2225, 1968.
- 73- KOHN, R. & FURDA, I. Interaction of cations with free carboxyl groups of pectin. Chemical Society Special Publication (23): 283-291, 1968.
- 74- LABUZA, T. P. Interpretation of sorption data in relation to the state of constituent water. In: DUCWORTH, R. ed. Water relations of foods. New York, Academic Press, 1975. p. 155-172.
- 75- LABUZA, T. P. The properties of water in relationship to water binding in foods: a review. Journal of Food Processing & Preservation 1 (2): 167-190, 1977.

- 76- LABUZA, T. P. Determination of moisture sorption isotherm measurement and use. In: LABUZA, T. P. Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use. St. Paul, American Association of Cereal Chemists. 1984. chap.4, p.64-83.
- 77- LABUZA, T. P. & BUSK, G. C. An analysis of the water binding in gels. Journal of Food Science 44 (5): 1379-1385, 1979.
- 78- LANG, K. W. & STEINBERG, M. P. Characterization of polymer and solute bound water by pulsed NMR. Journal of Food Science 48 (2): 517-520,538, 1983.
- 79- LEMIEUX, R. V.; KULNIG, R. K.; BERNSTEIN, H. J.; SCHNEIDER, W. G. Configurational effects on the proton magnetic resonance spectra of six-membered ring compounds. J. Am. Chem. Soc. 80 (22 ):6098-6105, 1958.
- 80- LENZ, R. W. & HEESCHEN, J. P. The application of nuclear magnetic resonance to structure studies of carbohydrates in aqueous solutions. J. Polymer Sci. 51, 247-254, 1961.
- 81- LEVINE, H & SLADE, L. Water as a plasticizer: physico-chemical aspects of low-moisture polymers systems. In: FRANKS, F. ed. Water science reviews 3 Cambridge, Cambridge University Press, 1988, p 125.
- 82- LEWICKI, P. P.; BUSK, G. C.; LABUZA, T. P. Measurement of gel water binding capacity of gelatin, potato starch and carrageenan gels by suction pressure. Journal of Colloids & Interface Science 64 (3): 501-509, 1978.
- 83- LEWIS, B. A. & SMITH, F. Sugar and derivatives. In: STHAL, E. ed. Thin layer chromatography New York, Springer Verlag, 1969. chap 10, p.815.
- 84- MAY D. C. Industrial pectins: sources, production and applications. Carbohydrate polymers 12 (1): 79-99, 1990.
- 85- MC CREADY, R. M. Pectin. In: JOSLYN, M. A. ed. Methods in food analysis 2.ed. New York, Academic Press, 1970 chap. 11, p.565-599.
- 86- MICHEL, F.; THIBAUT, J. F.; MERCIER, C.; ATEITZ, F.; POUILLADE, F. Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp. Journal of Food Science 50 (6): 1499-1502, 1985.
- 87- MILLS, J. A. Association of polyhydroxy compounds with cation in solution. Biochem. Biophys. Res. Commun. 6 (6):418-421, 1961.



- 88- MORRIS, E. R.; GIDLEY, M. J.; MURRAY, E. J.; POWELL, D. A.; REES, D. A. Characterization of pectin gelation under conditions of low water activity by circular dichroism competitive inhibition and mechanical properties. International Journal of Macromolecules 2 (5): 327-330, 1980.
- 89- MORRIS, E. R.; POWELL, D. A.; GIDLEY, M. J.; REES, D. A. Conformations and interactions of pectins. I. Polimorphism between gel and solid state of calcium polygalacturonate. Journal of Molecular Biology 155 (4): 507-516, 1982.
- 90- MULTON, J. L. Conclusions provisoires des travaux de la comission aliments a humidite intermediaire du C.N.E.R.N.A. Industries Alimentaires et Agricoles 101 (11): 1125-1140, 1984.
- 91- NISHINARI, K.; WATANASE, M.; WILLIAMS, P. A.; PHILLIPS, G., D. K-carrageenan gels: effect of sucrose, glucose, urea and guanidine hydrochloride on the reological and thermal properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38 (5): 1188-1193, 1990.
- 92- NEUKON, H. & KUENDING, W. Fractionation on Diethylaminoethyl-cellulose columns. In: WISTLER, R. R. L. Methods in carbohydrate chemistry New York, Academic Press, 1965. v.5, p.14-17.
- 93- DAKENFULL, D. G. Food gels. CSIRO Food Research Quarterly 44 (3): 49-55, 1984.
- 94- DAKENFULL, D. & FENWICK, D. E. Thermodynamics and mechanism of hydrophobic interaction. Australian Journal of Chemistry 30 (4): 741-752, 1977.
- 95- DAKENFULL, D & SCOTT, A. Stabilization of gelatin gels by sugars and polyols. Food Hydrocolloids 1 (2): 163-175, 1986.
- 96- OBEIRNE, D. & VAN BUREN, J. P. Size distribution of high weigh species in pectin fractions from idared apples. Journal of Food Science 48 (1): 276-277, 1983.
- 97- OGUNMOYELA, O. A. & BIRCH, G. G. Effect of sweetner type and lecitin on hygrosopicity and mold growth in dark chocolate. Journal of Food Science 49 (4): 1088-1089, 1142, 1984.
- 98- DWENS, H. S.; MCCREADY, R. M.; MACLAY, W. D. Gelation characteristics of acid-precipitated pectinates. Food Technology 3 (3): 77-82, 1949.

- 99- OWENS, H. S.; LOTZKAR, H. SCHULTZ, T. H.; MACLAY, W. D.  
Shape and size of pectinic acid molecules deduced from  
viscometric measurements. Journal American Chemical  
Society 68 (8): 1628-1632, 1946.
- 100- PANCHEV, I. N.; KIRTICHEV, N. A.; KRATCHANOV, C. G.;  
PROICHEV, T. On the molecular weight of pectic substances  
and its relation to their gel strength. Carbohydrate  
Polymers 8 (4): 257-269, 1988.
- 101- PALMER, K. J.; MERRIL, R. C.; BALLANTYNE, M. Equilibrium  
moisture and X-Ray diffraction investigations of pectinic  
and pectic acids. Journal American Chemical Society 70  
(2): 570-577, 1948.
- 102- PARDUCCI, L. G. & DUCKWORT, R. B. Differential thermal  
analysis of frozen food systems: microscale studies on  
egg white cod and cellery. Journal of Food Technology 7  
(4): 423-430, 1972.
- 103- PFEFFER, P. E.; DONER, L. W.; HOAGLAND, P. D.; McDONALD, G.  
G. Molecular interactions with dietary fiber componets.  
Investigation of the possible association of pectin and  
bile acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry  
29 (3): 455-461.
- 104- PHARMACIA. Gel filtration: theory and pratice., Uppsala,  
Sweden. s.d.
- 105- PIPPEN, E. L.; MCCREADY, R. M.; OWENS, H. S. Gelation  
properties of partially acetylated pectins. Journal of  
American Chemical Society 72 (2): 813-816, 1950.
- 106- PLASHINA, I. G.; SEMENOVA, M. G.; BRAUDO, E. E.;  
TOLSTOBUZOV, V. B. Structural studies of the solutions  
of anionic polysaccharides. IV. Study of pectic solutions  
by light-scattering. Carbohydrates Polymers 5 (3): 159-  
179, 1985.
- 107- RACAPE, E.; THIBAUT, J. F.; REISTMA, J. C., E.; PILNIK, W.  
Properties of amidated pectins. II. Polyelectrolyte  
behavior and calcium binding of amidated pectins and  
amidated pectic acids. Biopolymers 28 (8): 1435-1448,  
1989.
- 108- RADOSTA, S. & SCHIERBAUM, F. Polymer-water interaction of  
maltodextrins. Part III: Non-freezable water in  
maltodextrin solutions and gels. Starch// Starke 42 (4):  
142-157.
- 109- RAEMY, A. & LAMELET, P. Thermal behaviour of food.  
Thermochimica Acta 193, 417-439, 1991.

- 110- RAD, V. S. R. & FOSTER, J. F. On the conformation of the glucopyranose ring in maltose and in higher polymers of D-glucose. J. Phys. Chem. 67 (4):951-954, 1963.
- 111- RAVANAT, G. & RINAUDO, M. Investigation on oligo and polygalacturonic acids by potentiometry and circular dichroism. Biopolimers 9 (12): 2209-2222, 1980.
- 112- REES, D. A. Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. Advances in Carbohydr. Chem. Biochemistry 24: 267-282, 1969.
- 113- REES, D. A. Polysaccharide gels. A molecular view. Chemistry Industry (16): 630-636, 1972.
- 114- REES, D. A. Shapely polysaccharides. Biochemical Journal 126 (2): 257-273, 1972.
- 115- REES, D. A. & WELSH, E. J. Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels. Angewandte Chemie International 16 (4): 214-224, 1977.
- 116- REES, D. A. Polysaccharide shapes and their interactions: some recent advances. Pure & Applied Chemistry 53 (1): 1-14, 1981.
- 117- REES, D. A. & WIGHT, A. W. Polysaccharide conformation. VII. Model building computations for galacturonan and the kinking function of L-rannose residues in pectic substances. Journal of Chemistry Society B (7): 1366-1372, 1971.
- 118- REISTMA, J. C., E.; THIBAUT, J. F.; PILNIK, W. Properties of amidated pectins. I. Preparation and characterization of amidated pectins and amidated pectic acids. Food Hydrocolloids 1 (2): 121-127, 1986.
- 119- RESING, H. A.; THOMPSON, J. K.; KREBES, J. J. Nuclear magnetic resonance relaxation time of water adsorbed on charcoal. Journal of Physical Chemistry 68 (7): 1621-1627, 1964.
- 120- RICE, S. A., & HARRIS, F. E. A chain model for polyelectrolytes. Journal of Physical Chemistry 58 (9): 733-739, 1954.
- 121- RISPOLI, G., & DIGIACOMO, A. Pectins containing low level methoxyl groups. II. Principal characteristics of gelatinization. Bolletino dei Laboratoro Chimici Provinciali (BOLOGNA) 12: 479-484, 1961.

- 122- ROCHESTER, H. C. & WESTERMAN, A. V. Sorption of water vapour by some derivatives of bovine serum albumin. Journal of the Chemical Society: Faraday Transactions 1 (73): 33-43, 1976.
- 123- ROOS, Y. & KAREL, M. Applying state diagrams to food processing and development. Food Technology 45 (12):66-71,107, 1991.
- 124- ROSS, K. D. Differential scanning calorimetry of non freezable water in solute-macromolecule-water systems. Journal of Food Science 43 (6): 1812-1815.
- 125- SANDERSON, G. R. Polysaccharides in foods. Food Technology 35 (7): 50-57,83, 1981.
- 126- SAWAYAMA, S.; KAWABATA, A.; NAKAHARA, H.; KAMATA, T. A light scattering study on the effects of pH on pectic aggregation in aqueous solution. Food Hydrocolloids 2 (1): 31-37, 1988.
- 127- SCHULTZ, T. H. Determination of the degree of esterification of pectin determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration. Determination of the anhydrouronic acid content by decarboxylation and titration of the liberated carbon dioxide. In: WHISTLER, R. L. ed. Methods in carbohydrate chemistry. New York, Academic Press, 1965. v.5, p.189-193.
- 128- SCHWEIGER, R. G. Acetylation of alginic acid. II. Reaction of algin acetates with calcium and other divalent ions. Journal of Organic Chemistry 27 (5): 1789-1791, 1962.
- 129- SIMATOS, D; FAURE, M.; BONJOUR, E.; COUCH, M. Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry in the study of water in foods. In: DUCKWORTH, R. B.ed. Water relations of foods; Proceedings of an International Symposium held in Glasgow, September 1974. London, Academic Press, 1975. p.193-209.
- 130- SMIDSRØD, O.; HAUG, A.; WHITTINGTON, S., G. The molecular basis for some physical properties of polyuronides. Acta Chemica Scandinavica 26 (6): 2563-2566, 1972.
- 131- SMIT, C. J., B. & BRYANT, E. F. Properties of pectin fractions separated diethyl-aminoethyl-celulose columns. Journal of Food Science 32 (2): 197-199, 1967.
- 132- SMIT, C. J. B. & BRYANT, E. F. Ester content and jelly pH influences on the grade of pectins. Journal of Food Science 33 (3): 262-264, 1968.

- 133- SOEKARTO, S. & STEINBERG, M. Bound water. In: ROCKLAND, L. B. & STYEWART, G. F. eds. Water activity: influences on food quality New York, Academic Press, 1981. p.265-280.
- 134- STOKES, R. H. & ROBINSON, R. A. Standard solutions for humidity control at 25 C. Industrial and Engineering Chemistry 41 (9): 2013, 1949.
- 135- SWENSON, H. A. Intrinsic viscosity and its conversion to molecular weight. In: WHISTLER, R. L. ed. Methods in carbohydrate chemistry New York, Academic Press, 1963. v.3, p.84-91.
- 136- TAIT, M. J.; SUGGETT, A.; FRANKS, F. ABLETT, S.; QUICKENDEN, P. A. Hydration of monosaccharides: A study by dielectric and nuclear magnetic relation. Journal Solution Chemistry 1 (2): 131-151, 1972.
- 137- TALMADGE, K. W., KEEGSTRA, K. BAUER, W. D. ALBERSHEIM, P. The structure of plant cell-walls. I. The macromolecular components of the walls of suspension-cultured sycamore cells with a detailed analysis of the pectic polysaccharides. Plant Physiology 51 (1): 158-173, 1973.
- 138- TAYLOR, M. D. & CARTER, C. P. Preparation of anhydrous lanthanide halides, especially iodides. J. Inorg. Nucl. Chem. 24, 387-391, 1962.
- 139- THIBAUT, J. F. & PETIT, R. Les substances pectiques: generalites te domaine d'aplication dans les industries alimentaires. Industries Alimentaires et Agricoles 96 (12): 1231-1240.
- 140- THIBAUT, J. F. & RINALDO, M. Interactions of mono and divalente counterions in salt free solutions. Biopolymers 24 (11): 2113- 2143.
- 141- THOM, D.; GRANT, G. T., MORRIS, E. R.; REES, D. A. Characterisation of cations binding and gelation of polyuronates by circular dichroism. Carbohydrates Research 100 (1): 29-42, 1982.
- 142- TSOUROUFLIS, S.; FLINK, J. M.; KAREL, M. Loss of structure in freeze-dried carbohydrates solutions: effect of temperature, moisture content and composition. J. Sci Food Agric. 27 (6):509-519, 1976.
- 143- TOWLE, G. A. & CHRISTENSEN, D. In: Industrial Gums ( ed Whistler, R. L. ed), pp 429- 461. Academic Press, London and N. Y.

- 144- VAN DEN BERG., C. & BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In: ROCKLAND, L. B. & STEWART, G. F. eds. Water activity: influences on food quality. New York, Academic Press, 1981. p.1-61
- 145- VAN DEN BERG., C.; KAPER, F. S.; WELDING, J. A. G.; WALTERS, I. Water binding by potato starch. Journal of Food Technology 10 (6):589-602, 1975.
- 146- VAN DEN VEEN, J. M. An NMR study of the glycoside link in glycosides of glucose and galactose. J. Org. Chem. 28 (2):564-566, 1963.
- 147- VOLLMERT, B. Complete methylation of pectic and pectic acid with diazomethane and the use of the esters in determining uronic content and molecular weight. Makromol. Chem. 5, 101-109, 1950.
- 148- ZWEIG, G. & SHERMA, J. Detection reagents for paper and/or thin layer chromatography. In: ZWEIG, G. & SHERMA, J. eds. handbook of chromatography: general data and principles. 8.ed. Boca Raton, CRC, 1986. p.125..
- 149- WALKINSHAW, M., D. & ARNOTT, S. Conformations and interactions of pectin. II Model for junction zones in pectinic acid and calcium pectate gels. Journal of Molecular Biology 153 (4): 1075-1085, 1981b.
- 150- WALLINGFORD, L. & LABUZA, T. P. Evaluation of the water binding properties of food hydrocolloids by physical-chemical methods and in a low fat meat emulsion. Journal of Food Science 48 (1): 1-5, 1983.
- 151- WATT, I. C. The theory of water sorption by biological materials. In: JOWITT, R.; ESCHER, F.; HALLSTROM, B.; MEFFERT, H.; SPIES, W.; VOS, G. eds. Physical properties of foods. London, Applied Science, 1983. p.27-40.
- 152- WATT, I. C. & LEEDER, J. D. Stoichiometric analysis of the wool water isotherm. Journal Texture Instrumentation 59 (8): 353-364, 1968.
- 153- WILLIAMS, K. T.; BEVENUE, A. Qualitative paper chromatography of sugar in plants. Journal of Association Official Agricultural Chemists 36 (3): 969-979, 1953.

A N E X O

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM utilizando primeiro bulbo do viscosímetro capilar.....	3
FIGURA 2 - Viscosidade intrínseca para pectina BTM utilizando primeiro bulbo capilar.....	3
FIGURA 3 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM utilizando segundo bulbo capilar.....	4
FIGURA 4 - Viscosidade intrínseca para pectina BTM utilizando segundo bulbo capilar.....	4
FIGURA 5 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM remetilada.....	5
FIGURA 6 - Viscosidade intrínseca para ácido poligalacturônico.....	5
FIGURA 7 - Viscosidade intrínseca para Ácido poligalacturônico metilado.....	6

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Tempos de efluxo em viscosímetro capilar para água e hexametáfosfato.....	1
TABELA 1 - Tempos de efluxo em viscosímetro capilar para material péctico.....	2



TABELA 1 - Tempos de efluxo no viscosímetro capilar, para  
 água e hexametáfosfato

Tempo de Efluxo	Água	Hexametáfosfato (1%)
1 <sup>o</sup> bulbo	1'03"30	1'06"13
	1'03"49	1'06"80
	1'03"63	1'06"50
	1'03"47	1'06"81
	1'03"39	1'06"14
2 <sup>o</sup> bulbo	1'30"35	1'34"82
	1'30"20	1'34"14
	1'30"32	1'34"84
	1'30"46	1'34"14
	1'30"59	1'34"25

TABELA 2 - Tempos de efluxo no viscosímetro capilar para material péctico.

Concentração (g/100 ml)	Pectina ATM (8105)		Pectina BTM (8002)		Pectina ATM Metilada		Ácido Poligalactorônico		Ácido Poligalac- torônico Metilado	
	t <sub>1</sub> <sup>(*)</sup>	t <sub>2</sub> <sup>(*)</sup>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>	t <sub>1</sub>	t <sub>2</sub>
0,5	6'45"26	9'44"35	7'34"75	10'52"62	1'46"69	2'33"52	1'24"39	2'01"08	1'22"63	1'57"78
	6'46"43	9'45"20	7'33"02	10'51"83	1'47"63	2'33"64	1'24"90	2'00"80	1'22"50	1'57"51
	6'45"34	9'45"70	7'33"46	10'53"17	1'47"38	2'33"22	1'24"66	2'01"37	1'22"65	1'57"10
	6'46"50	9'43"77	7'34"02	10'51"37	1'47"90	2'33"38	1'24"95	2'01"05	1'22"54	1'57"34
	6'46"77	9'46"28	7'33"46	10'51"06	1'47"64	2'33"46	1'24"79	2'01"82	1'22"61	1'57"50
0,25	2'52"63	4'08"07	3'14"47	4'39"14	1'26"10	2'02"85	1'15"90	1'48"26	1'15"12	1'46"67
	2'53"91	4'08"49	3'14"25	4'39"19	1'25"64	2'02"14	1'15"63	1'48"04	1'14"99	1'46"77
	2'53"12	4'08"64	3'14"70	4'39"14	1'26"46	2'03"53	1'16"25	1'48"57	1'14"91	1'46"63
	2'53"23	4'07"76	3'14"42	4'39"22	1'25"87	2'02"55	1'16"42	1'48"85	1'14"95	1'46"70
	2'53"74	4'07"96	3'14"88	4'40"22	1'25"94	2'02"90	1'15"75	1'48"14	1'15"02	1'46"64
0,125	1'49"74	2'37"41	1'59"26	2'50"28	1'16"69	1'49"39	1'11"93	1'42"15	1'11"25	1'41"56
	1'49"79	2'37"45	1'58"54	2'50"63	1'16"70	1'49"07	1'12"14	1'42"65	1'11"34	1'41"33
	1'50"23	2'38"10	1'58"47	2'51"02	1'16"41	1'48"61	1'12"15	1'42"57	1'11"47	1'41"79
	1'50"30	2'37"19	1'58"18	2'49"41	1'16"50	1'48"90	1'12"46	1'42"73	1'11"29	1'41"38
	1'49"35	2'37"16	1'58"43	2'49"73	1'16"62	1'49"00	1'12"30	1'42"61	1'11"19	1'41"40
0,0625	1'26"34	2'02"49	1'30"33	2'09"17	1'11"78	1'42"42	1'10"24	1'40"05	1'09"22	1'39"25
	1'25"84	2'02"74	1'30"31	2'09"35	1'11"92	1'42"35	1'09"81	1'39"52	1'09"58	1'39"63
	1'25"51	2'02"07	1'29"76	2'09"06	1'11"95	1'42"56	1'09"94	1'39"66	1'09"80	1'39"43
	1'25"32	2'01"94	1'30"17	2'09"14	1'11"84	1'42"40	1'09"82	1'39"50	1'09"45	1'39"29
	1'25"01	2'02"60	1'30"20	2'09"09	1'11"90	1'42"47	1'09"92	1'39"55	1'09"62	1'39"32

(\*) tempo de efluxo para primeiro bulbo

(\*\*) tempo de efluxo para segundo bulbo

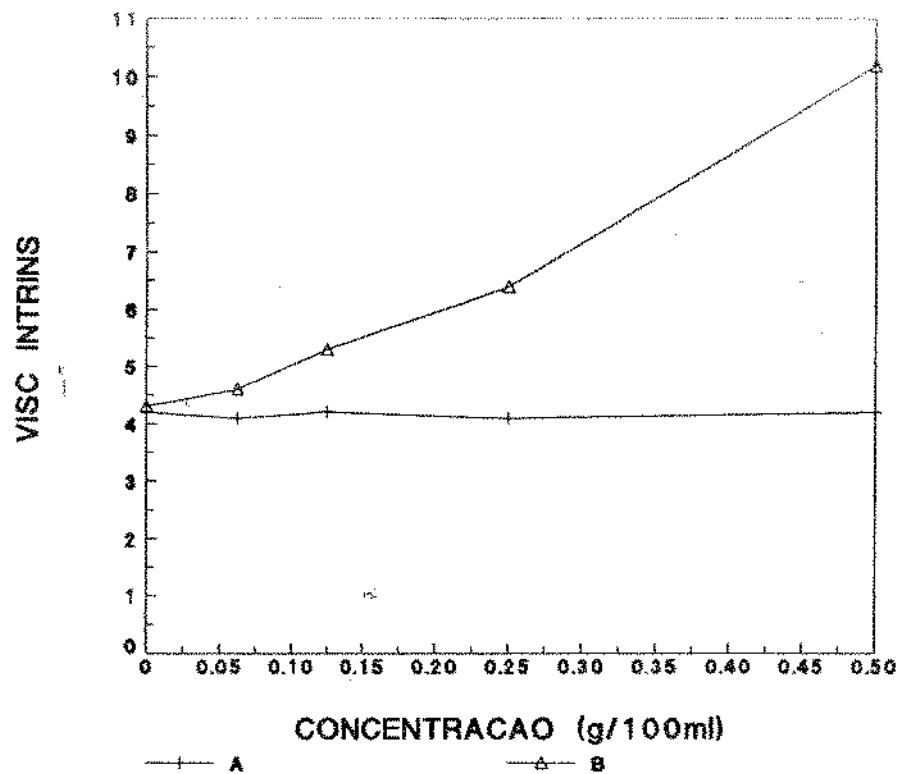


FIGURA 1 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM utilizando do primeiro bulbo do viscosímetro capilar. Para todas as figuras apresentadas neste anexo: A =  $[\eta]$  e B =  $n_{sp}/c$ .

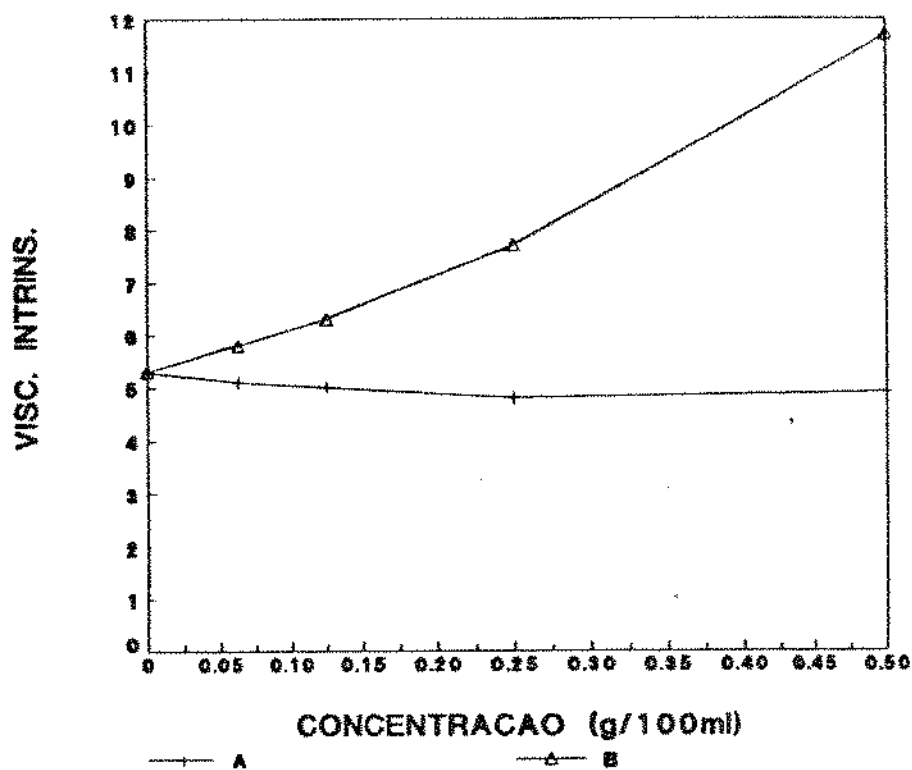


FIGURA 2 - Viscosidade intrínseca para pectina BTM utilizando do primeiro bulbo capilar.

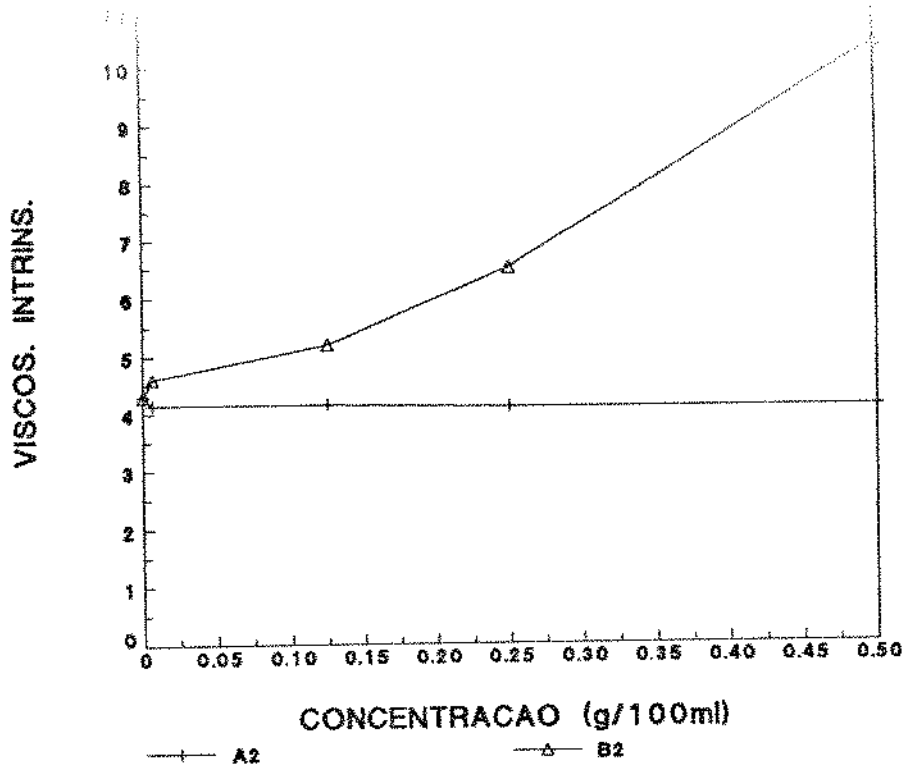


FIGURA 3 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM utilizando-se segundo bulbo capilar.

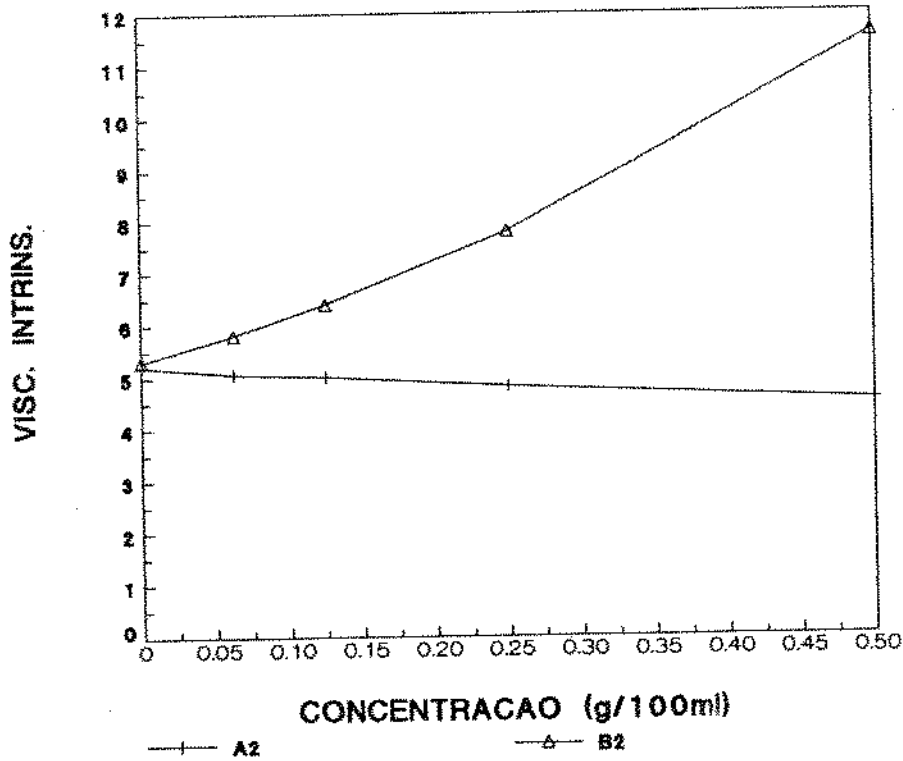


FIGURA 4 - Viscosidade intrínseca para pectina BTM utilizando-se segundo bulbo capilar.

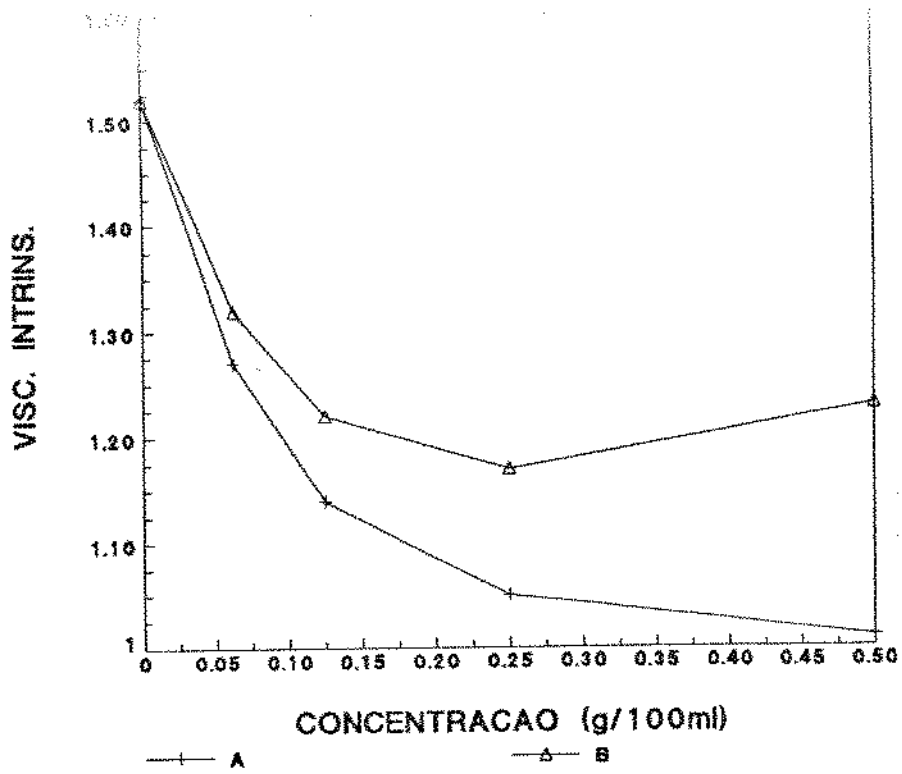


FIGURA 5 - Viscosidade intrínseca para pectina ATM remetilada.

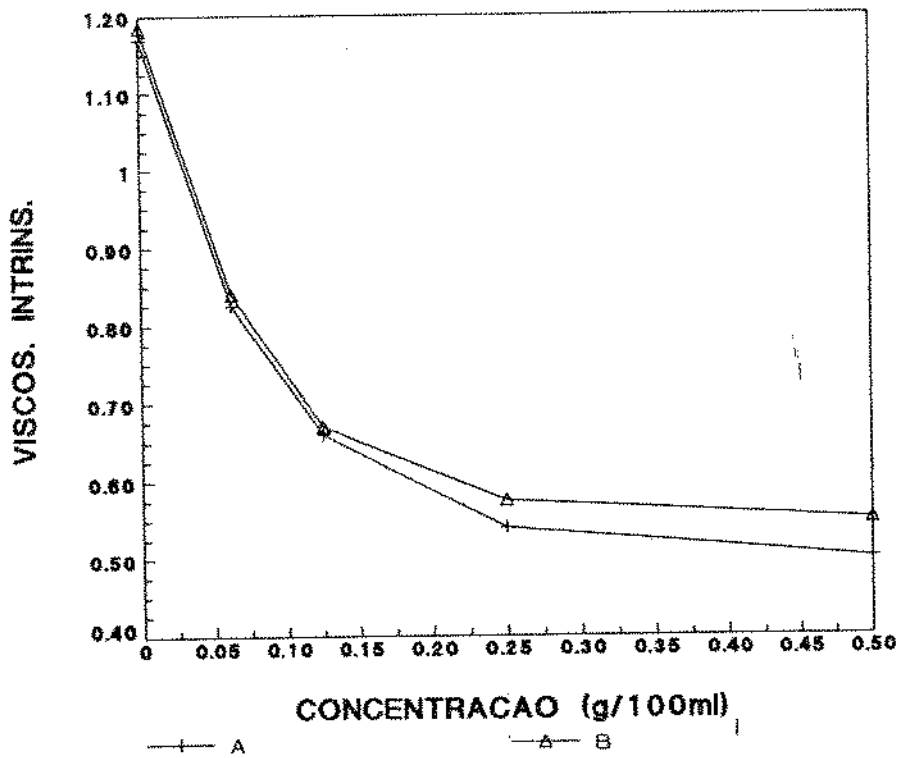


FIGURA 6 - Viscosidade intrínseca para ácido poligalacturônico.

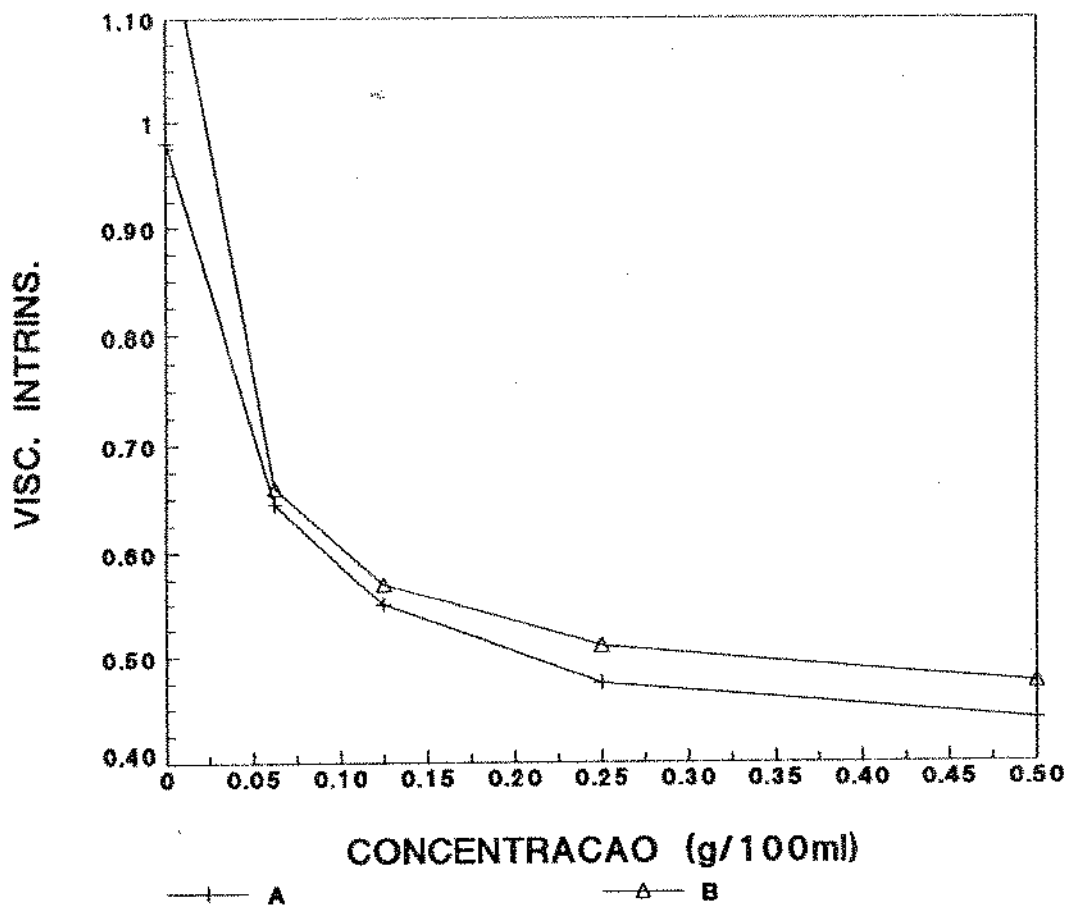


FIGURA 7 - Viscosidade intrínseca para Ácido poligalacturônico remetilado.