

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

DESMETOXILAÇÃO DE PECTINA CÍTRICA

Adilma R.P. Scamparini
Engenheiro de Alimentos

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Florinda O. Bobbio

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

/
-1978-

UNICAMP
BIBLIOTECA

A meus pais,
ao Cid,
ã Adriana.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Andrê Tosello, Diretor da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, pelas facilidades proporcionadas ao desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Florinda O. Bobbio, pelo estímulo e dedicação - demonstrados durante a orientação desta tese.

A todos que direta ou indiretamente nos auxiliaram na realização deste trabalho.

Í N D I C E

	pag.
RESUMO	i
SUMMARY	ii
1. - INTRODUÇÃO	1
2. - REVISÃO DA LITERATURA	3
3. - MATERIAL	28
4. - MÉTODOS	30
5. - RESULTADOS	39
6. - DISCUSSÃO	50
7. - CONCLUSÕES	60
8. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
9. - ILUSTRAÇÕES	70

RESUMO

Foi feita uma revisão da literatura referente à preparação de pectina de baixo teor de grupos metoxila e à cinética da reação de desmetoxilação.

Foi estudada a ação de ácido clorídrico, hidróxido de sódio e amônia na desmetoxilação de pectina cítrica.

Foi também estudada a velocidade da reação de desmetoxilação, bem como a velocidade da reação de amonólise, quando foi empregada amônia, tanto em meio aquoso como alcoólico.

Dos resultados obtidos, concluiu-se que a desmetoxilação com amônia em meio alcoólico na proporção de 2,3/1 de amônia-pectina, é a técnica mais adequada para a obtenção de pectina de baixo teor de grupos metoxila. Os resultados são independentes do grau alcoólico da mistura de reação.

SUMMARY

The literature on the preparation of low methoxyl pectin and on the reaction kinetics of demethoxylation was reviewed.

The effect of hydrochloric acid, sodium hydroxide and ammonia on the demethoxylation of pectin was studied.

The reaction velocities of demethoxylation and ammonolysis when employing aqueous or ethanolic ammonia were also studied.

From the results it was established that the demethoxylation of pectin with ammonia in ethanol at the ratio of 2,3 parts of ammonia to 1 part of pectin was the most suitable technique for preparing low methoxyl pectin. Results were shown to be independent from the ethanol concentrations within the limits of 65 to 89%.

1. INTRODUÇÃO

Pectinas têm grande aplicação na indústria de alimentos, onde são largamente empregadas na preparação de geléias. Essas pectinas necessitam de ácido e de grande quantidade de açúcar para formarem géis.

Entretanto, existe considerável potencial de uso para as pectinas de baixo teor de grupos metoxila, que podem formar géis num largo intervalo de pH, sem necessidade de açúcar, necessitando, entretanto, da presença de cátions bivalentes, sendo o mais comumente empregado o cálcio.

No presente trabalho, visou-se estudar as melhores condições de laboratório para a desmetoxilação de pectinas cítricas através do estudo da cinética de reação de desmetoxilação. A otimização de um processo químico de hidrólise dos grupos metoxila da pectina, depende diretamente do conhecimento dos dados cinéticos dessa reação e apresenta consideráveis dificuldades de estudo sistemático pela diversidade de propriedades do produto final, quando pequenas variações de condições de reação são introduzidas no processo. Também o estudo cinético apresenta problemas que exigem algumas aproximações para a interpretação dos resultados quando temos sistemas heterogêneos de reação, como aqueles que aparecem neste trabalho.

Os dados cinéticos obtidos serão passíveis de extrapolação para valores de capacidade industrial, tornando a desesterificação de pectinas técnica e economicamente viável.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A desmetoxilação de pectina foi estudada já em 1921 por Tutin (1), que observou a formação de metanol e sal de ácido-péctico pela ação da pectase ou de álcali sobre pectinas.

Myers e Baker (2), em 1927, observaram uma diminuição na viscosidade de soluções de pectina por adição, à temperatura ambiente, de ácido ou álcali às soluções. O efeito era mais pronunciado quando eram empregadas soluções alcalinas.

Em 1929, Paul e Grandseigne (3) observaram que soluções de pectina tratadas com pectase formavam um gel firme na presença de sais de metais alcalino terrosos. Os mesmos autores observaram ainda que, quando pectina e pectase eram adicionados ao leite, havia formação de gel, mesmo sem aquecimento.

Joseph (4), em 1930, observando que o leite coagulava por adição de pectina, independente do meio, sugeriu que a coagulação era devida à remoção de cálcio do complexo de caseína pela pectina, por adsorção ou por combinação química.

Kertesz (5), em 1939, investigando a mudança na viscosidade de soluções de pectina a pH 3,2 aquecidas a 100°C por diferentes tempos, observou que o poder redutor e o teor de grupos metoxila não sofreram mudanças durante o período de a-

quecimento da experiência (8 horas), enquanto que a viscosidade mudou em aproximadamente 90% neste período. O referido autor sugeriu que o aquecimento não provocava mudanças químicas na pectina inicial e que, a viscosidade das soluções dependia da presença de agregados secundários formados pelas moléculas de pectina e que esses agregados seriam destruídos pelo calor.

Em 1941, Baker e Goodwin (6) patentearam um método de preparação de agentes geleificantes pela adição de sais de Al, Fe, Ca, Mn e Ni a pectinas com teor de metoxila variando de 3 a 6,5%. Segundo a patente de Baker e Goodwin (6), a formação do gel em água ocorria a pH variando de 3,5 a 7,0.

Kaufman et al (7), em 1942, preparando géis de pectina de baixo teor de grupos metoxila em presença de cálcio, observaram que, quanto maior o peso molecular da pectina, maior era a firmeza do gel. Os autores (7) observaram também que sais de cálcio solúveis não eram desejáveis na preparação dos géis, porque esses compostos forneciam íons de cálcio tão rapidamente que os géis ficavam granulados. Os sais de cálcio menos solúveis, como fosfato, citrato, carbonato, reagiam mais lentamente com o ácido pectínico, permitindo um melhor controle da reação.

Em 1944, Owens et al (8), estudando a viscosidade de soluções de pectinas cítrica e de maçã com igual teor de grupos

metoxila, verificaram que a viscosidade relativa das soluções variava com a concentração de maneira similar a outros colóides hidrofílicos ionizáveis. Para soluções diluídas de pectina, a viscosidade relativa tinha valor máximo a pH em torno de 6, sendo que, quando a concentração de pectina era maior que 0,5%, a viscosidade relativa não era afetada por mudanças de pH no intervalo de 1 a 7. Os referidos autores observaram que soluções de pectina de concentrações inferiores a 0,05% não sofriam mudança nas viscosidades relativas no intervalo de temperatura de 0 a 50°C. Entretanto, a concentrações superiores a 0,05%, as viscosidades relativas de cresciam com o aumento da temperatura.

McCready et al (9), em 1944, tratando pectina cítrica com hidróxido de sódio a diferentes pH e diferentes temperaturas, observaram que, paralelamente à reação de desmetoxilação, havia também a degradação da cadeia do polissacarídeo, e que a velocidade de desesterificação em relação à de degradação, variava com o pH e a temperatura. Assim, a pH 10 e a 15°C, a degradação era menor do que a desesterificação, e a pH acima de 10, à mesma temperatura, a degradação se da va em proporção maior que a desesterificação. Os referidos autores concluíram que as melhores condições de reação seriam temperaturas máximas de 15°C para valores de pH até 10, enquanto que para valores de pH acima de 10, a temperatura não deveria ser superior a 5°C.

Os mesmos autores, comparando as velocidades de desterificação da pectina com hidróxido de amônio e com hidróxido de sódio a pH 11 e a 15°C, verificaram que, apesar da velocidade de reação com hidróxido de sódio ser aproximadamente o dobro da velocidade de reação com hidróxido de amônio, o uso deste último reagente para a desesterificação da pectina a pH próximo de 11, apresentava a vantagem de formar um produto com menor conteúdo de cinzas.

Ainda McCready et al (9), estudando a influência de diferentes sais em várias concentrações na desesterificação da pectina com hidróxido de amônio a pH 11 e a 15°C, verificaram que um aumento nas concentrações dos diferentes sais aumentava a velocidade de reação e que a ordem de efetividade dos cátions no aumento da velocidade de reação era: Ca > Mg > Na = K.

Lineweaver (10), em 1945, desesterificando pectina com hidróxido de sódio a pH 9,0 e à temperatura de 29,5°C, observou que na presença de diversos eletrólitos em diferentes concentrações, havia um aumento da velocidade da reação de desesterificação da pectina em até 400%, dependendo da concentração dos eletrólitos. O referido autor observou ainda que o cloreto de cálcio acelerava mais a reação de desesterificação do que o cloreto de sódio em condições iguais de força iônica e pH.

Em seu trabalho, Lineweaver (10) concluiu que no caso da pectina, a considerável aceleração da velocidade de desesterificação, em relação à velocidade de desesterificação de este - res mais simples pelo efeito salino, seria devido à neutralização das cargas dos íons carboxílicos pelos câtions, facilitando desse modo a aproximação dos íons hidroxila responsáveis pela hidrólise.

Schultz et al (11), em 1945, desesterificando pectinas cítricas e de maçã por métodos químicos e enzimático, verificaram que pectinas desmetoxiladas enzimaticamente, apresentavam características de pectina de baixo teor de grupos metoxila, - com teor de metoxila acima de 8%, enquanto na desesterificação com ácido ou álcali, esse teor deveria ser ao redor de 6%. Os referidos autores verificaram também que ácidos pectínicos desesterificados por enzimas eram menos dissociados do que ácidos pectínicos com mesmo teor de grupos metoxila preparados por álcali. Para explicar essa diferença no comportamento de pectinas desesterificadas enzimaticamente e de pectinas desesterificadas por métodos químicos, os referidos autores sugeriram que o ácido ou álcali desesterificava a cadeia poligalacturônica indiscriminadamente, enquanto que a enzima atuava somente em determinadas regiões da cadeia, formando ácidos semelhantes a ácidos pectínicos. Segundo Schultz-et al (11), as porções da cadeia poligalacturônica livres de grupos metoxila, apresentavam uma concentração alta de gru -

pos carboxila que atrairiam os íons de hidrogênio mais fortemente que os grupos carboxila distribuídos mais homogeneamente na cadeia.

Speiser et al (12), em 1945, estudando a desmetoxilação de pectina de maçã com diferentes concentrações de ácido e a várias temperaturas, verificaram que o ácido não só desmetoxilava a pectina, como também removia outros carboidratos ligados à cadeia de pectina, produzindo uma substância com maior grau de pureza sem, no entanto, causar uma degradação excessiva na molécula. Os mesmos autores verificaram, com relação à cinética da desmetoxilação que a reação era de primeira ordem em relação à concentração de éster, e que a energia de ativação dessa reação estava de acordo com os valores obtidos para a hidrólise em meio ácido de ésteres de baixo peso molecular, sugerindo, portanto, que a hidrólise dos grupos metoxila era independente da estrutura do resto da molécula. Os referidos autores observaram também que a velocidade de reação aumentava com o aumento da temperatura.

Ainda Speiser et al (12), estudando a desesterificação da pectina de maçã por pectase a pH 6,0 e a diferentes temperaturas, verificaram que a velocidade de remoção de outros carboidratos ligados à cadeia poligalacturônica era muito menor que a velocidade de desesterificação e observaram também que a velocidade de desesterificação era máxima a 50°C.

Merrill e Weeks (13), em 1945, estudando a viscosidade a 25°C de soluções a 1% de pectinas cítrica e de maçã, como uma função do tempo de aquecimento a diversas temperaturas, verificaram que a perda em viscosidade relativa era extremamente associada ao decréscimo de viscosidade intrínseca da pectina e também que o valor para a energia de ativação da perda de viscosidade com o tempo de aquecimento estava de acordo com os valores para o rompimento de ligações químicas primárias. Os referidos autores sugeriram que a grande diminuição nas viscosidades de soluções de pectina com o aquecimento era devido mais ao rompimento de ligações químicas do que a destruição de agregados secundários.

Em 1946, Merrill e Weeks (14), desesterificando pectinas cítrica e de maçã a diferentes temperaturas e a diferentes pH, verificaram que a reação de desesterificação em meio ácido era de primeira ordem, em relação à concentração de pectina e que a energia de ativação decrescia com o aumento de temperatura. Os autores verificaram também que a velocidade de degradação em relação à velocidade de desesterificação em soluções aquosas, diminuía pela adição de ácidos; isto é, o ácido catalisava mais a desesterificação do que a degradação.

Foi observado também por Merrill e Weeks (14) que a adição de sais neutros diminuía o pH e aumentava a velocidade de desesterificação de soluções de pectina no seu pH natural; e que-

essas mudanças eram mais influenciadas pelos cãtions, principalmente divalentes do que pelos ânions. Segundo os referidos autores, essas observações estão de acordo com a hipótese de que estes efeitos específicos estão relacionados à interação dos grupos carboxila com cãtions.

Em 1946, Woodmansee et al (15), estudando a ação de açúcares na dispersibilidade de pectinas em água, em presença de sacarose e dextrose, verificaram que pectina de baixo teor de grupos metoxila era mais rapidamente dispersável em água, a pH 3,35, quando sacarose estava presente em grande quantidade, enquanto que a pH 2,95 a dispersibilidade era mais rápida em presença de grande quantidade de dextrose.

Os autores (15) estudando também o efeito de açúcares em pós para preparação de geléias com pectina, concluíram que a presença de sacarose, como único açúcar, produzia géis com textura granulosa e que essa textura poderia ser melhorada, substituindo parte da sacarose por dextrose. Por outro lado, pô para geléias, contendo somente dextrose como açúcar, produzia geléias nas quais, em pouco tempo, havia aparecimento de dextrose cristalizada. Portanto, para a obtenção de geléias de boa aparência, seria desejável que o açúcar adicionado em pós para a preparação de geléias, fosse uma mistura de dextrose e sacarose.

Speiser e Eddy (16), em 1946, desesterificaram pectina de ma

çã visando uma explicação para a grande diferença de comportamento na formação de géis, de pectinas desesterificadas - por ácido e por enzimas. Os autores (16), estudando a influência do peso molecular e do método de desesterificação na geleificação, observaram que a firmeza dos géis com 65% de sólidos solúveis, dependia, principalmente, do peso molecular da pectina, enquanto que a firmeza dos géis formados na presença de cálcio, dependia marcadamente, do grau de esterificação. Os mesmos autores notaram que pectinas desesterificadas por enzimas, produziam géis menos firmes do que as pectinas de peso molecular e grau de esterificação análogos desesterificadas por ácidos. Esses autores sugeriram que devido à grande seletividade da ação enzimática, certas regiões da molécula eram mais desesterificadas que outras, - formando géis menos firmes.

McCready et al (17), em 1946, estabeleceram um método de precipitação de pectinas de baixo teor de grupos metoxila, - apenas por adição de ácido, sem necessidade de concentração da solução de ácido pectínico e sem o emprego de agentes orgânicos precipitantes. Os autores (17), concluíram que pectinas desesterificadas por ácido ou álcali, com até 4% de grupos metoxila e viscosidade intrínseca maior do que 2, eram precipitadas pela adição de ácido com rendimento superior a 90% e a pH inferior a 2 e a temperaturas inferiores a 25°C. Por outro lado, pectinas desesterificadas por enzi-

mas, podiam ser precipitadas pelo mesmo método com um rendimento de 80% ou maior quando o conteúdo de grupos metoxila era inferior a 7%.

Baker e Woodmansee (18), em 1947, estudando o envelhecimento de géis de uva, feitos com pectina de baixo teor de grupos metoxila contendo, aproximadamente, 30% de sólidos solúveis e tendo um pH ao redor de 3,1, verificaram que a firmeza dos géis aumentava durante o armazenamento, paralelamente à perda de elasticidade dos mesmos, sendo esse aumento maior nos meses de verão, concluindo que a diminuição de grupos metoxila da pectina durante o armazenamento era responsável pelo aumento da firmeza do gel.

Owens e Maclay (19), em 1948, patentearam a preparação de pectinas de baixo teor de grupos metoxila e alto peso molecular por tratamento do próprio tecido vegetal desintegrado em água, com álcali a pH variando de 6 a 10 e a temperaturas variando de 0 a 60°C. O pH foi mantido constante durante todo o tempo de reação pela adição de álcali. A reação foi interrompida pela adição de ácido e, em seguida, a mistura foi aquecida à ebulição, na presença da Calgon para a extração da pectina do tecido vegetal.

Em 1948, McCready et al (20), em uma patente, descreveram o isolamento de ácidos pectínicos com baixo teor de grupos metoxila, produzidos por desesterificação ácida, alcalina ou

enzimática. A precipitação foi feita por tratamento da solu
ção aquosa com ácido mineral a um pH abaixo de 2,0. O ácido
pectínico foi separado da solução acidificada e o excesso -
de ácido removido por lavagem com água até que o pH da ã-
gua de lavagem fosse no máximo 2,2. O precipitado lavado, -
foi então seco.

Em 1948, Maclay et al (21), patentearam um método de deses-
terificação de pectinas pela ação de pectinaesterase em um
complexo pectina-alumínio a pH 4,2-4,5. A pectina de baixo-
teor de grupos metoxila obtida foi separada pela adição de
ácido mineral.

Owens et al (22), em 1949, estudando os fatores que influí-
am nas características de geleificação de pectinas cítrica-
e de maçã de alto e baixo teor de grupos metoxila, verifica-
ram que géis de pectina com alto teor de sólidos, tinham -
maior firmeza em condições que favoreciam a formação de pon
tes de hidrogênio entre as moléculas de pectina, tais como:
pH, onde a molécula de pectina era praticamente não ioniza-
da e conteúdo de agente desidratante suficiente para a des-
solvatação da molécula de pectina. Os referidos autores ob-
servaram, em relação aos géis de pectina de baixo teor de
grupos metoxila e com baixo teor de sólidos, que:

- a) a firmeza do gel era maior a pH em que a ionização do á-
cido pectínico poderia ser considerada total;

- b) a quantidade de íons de cálcio requerida para a formação do gel, dependia do teor de grupos metoxila na pectina;
- c) a solubilidade em água dos sais de cálcio do ácido pectínico aumentava com o aumento dos grupos metoxila na pectina.

Os autores (22), concluíram que os géis de pectina com alto teor de sólidos, seriam formados através de ligações de hidrogênio, enquanto que os géis de baixo teor de sólidos seriam formados através de ligações cruzadas envolvendo íons de cálcio, suplementadas por ligações de hidrogênio.

Em 1949, Woodmansee e Baker (23), estudando a reação de desesterificação de pectina a 60°C com várias concentrações de ácido, observaram que a desesterificação a pH 1,0 e a pH 0,5 era de fácil controle, enquanto que a pH abaixo de 0,5, o teor de grupos metoxila era rapidamente reduzido e a reação se tornava difícil de ser controlada. Segundo esses autores, ocorria um rápido decréscimo no grau de polimerização da pectina quando os tempos de desesterificação foram aumentados à alta acidez.

Joseph et al (24), em 1949, estudando a desesterificação da pectina com hidróxido de amônio, observaram que havia formação de amidas paralelamente à reação de hidrólise do éster, tanto em sistemas alcoólicos quanto em sistemas aquosos contendo alta concentração de hidróxido de amônio. Os referi -

dos autores verificaram também que em sistemas alcoólicos a quantidade de amônia era maior do que a de íons NH_4^+ , explicando assim o aumento da velocidade de formação de amida em sistemas alcoólicos em relação ao fato de que amidas formavam quando amônia reagia com ésteres.

Segundo os mesmos autores, se na desesterificação da pectina com hidróxido de amônio em meio alcoólico, a concentração de hidróxido de amônio, temperatura e tempo de reação forem controlados, o peso molecular da pectina não sofreria grande alteração, podendo então ser produzido um produto com 25 a 35% de esterificação para uso comercial.

Ainda Joseph et al (24), estudando géis de pectinas desesterificadas por hidróxido de amônio em meio alcoólico, verificaram que a quantidade de cálcio requerida por grama de pectina para a produção de um gel de determinada firmeza permaneceu constante mesmo com um aumento de até oito vezes na concentração de hidróxido de amônio durante a desesterificação, que produziu um aumento correspondente em grupos amídicos. Os referidos autores observaram também que o conteúdo de nitrogênio amídico permanecia constante antes e depois da geleificação sugerindo que os íons de cálcio reagiam com os grupos carboxila livres e com alguns grupos carboxila neutralizados por hidróxido de amônio, mas não com os grupos amídicos.

Hills et al (25), em 1949, estudando a eletroforese de pectinas desesterificadas por enzimas, concluíram que as enzimas hidrolizavam grupos metoxila em posições determinadas da molécula de pectina. Os referidos autores observaram tam bém que os géis de pectina desesterificada por enzimas eram pouco firmes e que a firmeza do gel aumentava com o aumento da desesterificação enzimática, concluindo que esse aumento de firmeza dos géis era devido ao aumento da homogeneidade na distribuição de cargas na molécula, pela diminuição progressiva do teor de grupos metoxila.

Em 1949, Maclay e McCready (26), patentearam um método de desesterificação de pectina em solução alcalina, a temperatura variando de 12 a 15°C e pH variando de 10 a 12. Durante a reação, o pH foi mantido constante pela adição de álca li. No final da reação, o pH foi ajustado para valores variando de 3,5 a 4,5 e a pectina foi precipitada pela adição de álcool.

Bryant (27), descreveu em uma patente de 1949, a preparação de pectina de baixo teor de grupos metoxila em solução alcoólica 75%, contendo 2 a 16 vezes a quantidade de amônia necessária para romper os grupos metoxila na pectina. A rea ção foi feita a 25°C e completada em duas horas. Por este tratamento, os grupos metoxila foram transformados em grupos amida e os grupos carboxila livres foram transformados em sais de amônio. O produto obtido por Bryant (27), mos -

trou aproximadamente a seguinte distribuição: grupos carboxila livres 12 a 20%; sais de amônio 15 a 35%; grupos amida 20 a 30% e grupos metoxila 25 a 35%, sendo que este produto só necessitava de íons de cálcio para a geleificação.

Em 1950, Owens et al (28) patentearam um método de isolamento de pectina de baixo teor de grupos metoxila, sem o uso de solventes orgânicos ou concentração à vácuo. Soluções de pectinas de baixo teor de grupos metoxila preparadas por desesterificação ácida, alcalina ou enzimática, foram tratadas com 2 a 10% de NaCl a pH entre 3 e 5 para a precipitação das pectinas.

Graham e Shepherd (29), patentearam em 1950 um método de neutralização de pectina de baixo teor de grupos metoxila, empregando um método que envolvia a neutralização do gel ácido, contendo 38 a 60% de pectina com NaHCO_3 em quantidades suficientes para a obtenção de uma solução de pectina a 1%, com um pH entre 4 e 5. O material obtido era posteriormente seco.

Em 1950, Mitchell (30), estudando a forma pela qual o nitrogênio se ligava à molécula de pectina desesterificada por amônia, observou que o aumento de grupos carboxila livres não se dava na mesma proporção que a diminuição dos grupos metoxila.

Mitchell (30) observou também que no tratamento com álcool metílico de pectinas desesterificadas com amônia, havia so mente uma pequena mudança no conteúdo de nitrogênio que po deria ser atribuída ao aumento no conteúdo de grupos metoxila ou no conteúdo de galacturonideo, enquanto que o teor de grupos metoxila aumentava, concluindo assim que os gru-pos amida não foram substituídos por grupos metoxila e que os grupos carboxila livres foram esterificados.

Owens (31), em 1950, em uma patente descreveu um método de lixiviação com ácido de pectina previamente desmetoxilada - "in situ", a pH de 0 a 2,5 e a temperaturas entre 20 e 50° C. Depois de completada a lixiviação, a pectina desmetoxilada foi extraída com água (o pH foi ajustado aproximadamente de 3,0 para 5,0) e, posteriormente, precipitada; o - referido autor não mencionou o método de precipitação da - pectina.

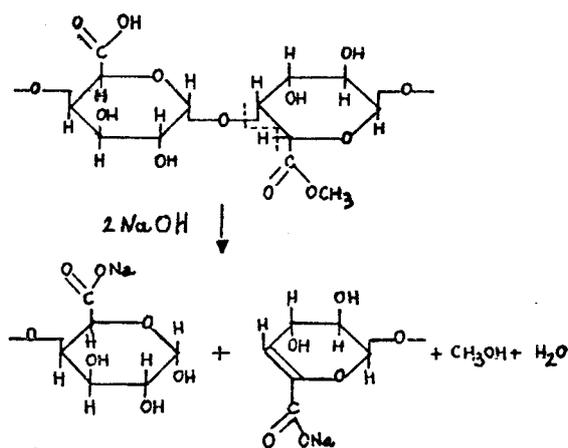
Em 1953, Graham e Shepherd (32), desesterificando pectina - cítrica com hidróxido de amônio em meio aquoso, verifica - ram que era possível evitar a degradação intensa da molécu - la desde que a reação fosse feita a baixas temperaturas. - Os referidos autores verificaram também que a neutraliza - ção parcial da pectina de baixo teor de grupos metoxila, - aumentava a sua solubilidade e a sua estabilidade durante - o armazenamento.

Em 1953, em uma revisão sobre pectinas de baixo teor de metoxila, publicado pela Sunkist Growers Inc (33), foi descrita a formação de géis com pectinas de baixo teor de grupos metoxila, tanto a pH 6,5, com leite, como a pH 2,5, com sucos de frutas ou vegetais. Segundo a referida publicação, a adição de baixas concentrações de íons de sódio, produziram géis de melhor qualidade.

Katchalsky e Feitelson (34), em 1954, desesterificando pectina cítrica com hidróxido de sódio a 4°C e a diferentes pH observaram que a constante de velocidade de reação decrescia com o tempo da reação. Os referidos autores sugeriram que o campo eletrostático fortemente negativo dos grupos carboxila, formados durante a hidrólise, causava a diminuição da velocidade de reação.

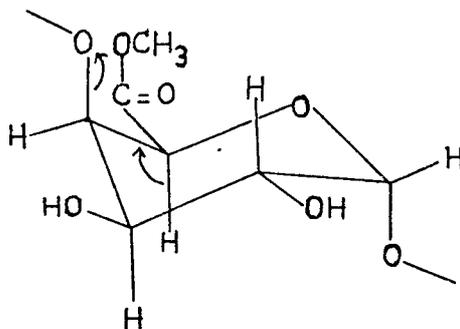
Shepherd et al (35), em uma patente de 1954, que descreve a preparação de géis de pectina de baixo teor de grupos metoxila, atribuíram as dificuldades da preparação desses géis a frio, à presença de íons de cálcio, que envolviam as moléculas de pectina de baixo teor de grupos metoxila, produzindo um gel granuloso. Segundo os referidos autores, esse efeito poderia ser eliminados pela preparação de um produto contendo uma combinação de açúcar e pectina. Este produto foi preparado, dissolvendo-se uma parte de pectina para, no mínimo, dez partes de açúcar em água, e a solução aquosa sofria posterior desidratação.

Em 1958, Neukon e Deuel (36), determinando a viscosidade intrínseca de pectatos de sódio obtidos por desesterificação de pectinas por hidróxido de sódio a diferentes temperaturas observaram que as pectinas, sendo polissacarídeos oxidados, teriam suas ligações glicosídicas facilmente rompidas por álcali produzindo compostos com cadeias de menor peso molecular. Esses autores explicaram o rompimento das ligações glicosídicas da pectina pelo mecanismo da β -eliminação, de acordo com o seguinte esquema:



Albersheim et al (37), em 1960, estudando a degradação da molécua de pectina a pH 6,8 e a temperaturas variando de 60 a 90°C , verificaram que a velocidade de degradação aumentava com o aumento de temperatura e era maior no início da reação diminuindo depois de determinado tempo de aquecimento. Os referidos autores explicaram que a diminuição da velocidade da

reação de degradação da molécula com o tempo de aquecimento se devia ao fato de que o conteúdo de grupos metoxila diminuía com o tempo de reação. Ainda Albersheim et al (37), - consideraram que a conformação das unidades de ácido galacturônico na cadeia de pectina deveria ser a conformação C-1; nessa conformação os dois substituintes diretamente envolvidos na β -eliminação, estariam situados em posição axial e a eliminação se daria de acordo com o seguinte esquema:



Segundo os referidos autores, os ésteres de ácidos algínicos que são compostos onde o hidrogênio do carbono 5 e o resíduo glicosídico não estão em posição axial, são degradados mais lentamente.

Em 1961, Di Giacomo e Rispoli (38) estudando a desesterificação de pectina com hidróxido de amônio em meio aquoso e em meio alcoólico (65^oGL), em tempos variando de 1 a 5 ho-

ras, concluíram que a reação era mais fácil de ser controlada em meio alcoólico por ser mais lenta.

Em 1962, Rispoli e Di Giacomo (39), estudaram a influência de vários fatores na preparação de géis de pectina de baixo teor de metoxila. Segundo os autores (39), dos quatro fatores estudados, íons de cálcio, sólidos solúveis, grupos metoxila e pH, este último era o menos importante, porque foi possível a preparação de géis a pH entre 2,5 e 6,0. Os autores (39) também observaram que íons de cálcio influíam mais, quanto mais baixo o teor de grupos metoxila e que a quantidade ótima desses íons para a geleificação, aumentava com a diminuição do teor de sólidos solúveis.

Leo e Taylor (40), em 1962, patentearam um método de preparação de géis com pectina de baixo teor de grupos metoxila, obtida pela desmetoxilação de pectina cítrica por pectinesterase. Segundo os referidos autores, os géis podiam ser preparados a frio, sem a presença de açúcar.

Bock e Lange (41), em 1963, desesterificando pectina com hidróxido de amônio em solução aquosa, a temperaturas que variavam de 10 a 30°C e a valores de pH variando de 9,0 a 10,3, verificaram que nesse intervalo de pH, o poder de geleificação dos produtos obtidos era maior, quanto mais baixa a temperatura usada na desesterificação. Os mesmos autores observaram que o pH ou a concentração de hidróxido de a

mônio empregados na desesterificação não tinham efeito marcante no poder de geleificação da pectina. A degradação da molécula de pectina foi da mesma ordem durante a desesterificação com amônia a alto pH por pouco tempo ou a baixo pH por longo tempo.

Segundo Bock e Lange (41), a máxima capacidade de geleificação da pectina de baixo teor de metoxila era obtida pela desesterificação a temperaturas variando de 10 a 15°C.

Em 1967, Dargel e Hock (42), fazendo reagir pectina cítrica e de beterraba, contendo 16,5% de grupos metoxila com gás amoníaco, obtiveram 80% de pectinamida e cerca de 10% de sais de amônio. Os autores (42), sugeriram que a presença de água (0,6%) deveria ser responsável pela formação do sal. O produto obtido foi hidrolisado com pectina esterase e os produtos da hidrólise separados por cromatografia em papel. Entre outros produtos, foram identificados: ácido galacturônico, amida do ácido galacturônico, arabinose e galactose.

Lopes e Li-Hsieng (43), em 1968, estudando a firmeza de géis de maçã a diferentes pH, conteúdo de sólidos solúveis e de íons de cálcio com pectina de baixo teor de grupos metoxila contendo grupos amídicos, verificaram que apesar de géis de pectina de baixo teor de grupos metoxila serem produzidos num largo intervalo de pH, o pH era um fator importante na qualidade e estabilidade dos géis de pectina-cál -

cio-ácido com baixo teor de sólidos. Os referidos autores ve
rificaram ainda que a determinado pH e conteúdo de cálcio, a
quantidade de pectina de baixo teor de grupos metoxila requer
rida para produzir um gel de determinada firmeza decrescia -
com o aumento do conteúdo de sólidos solúveis.

Lopes e Li-Hsieng (43) observaram ainda que um gel pouco firm
e era formado se a quantidade de pectina de baixo teor de
metoxila ou a concentração de cálcio era maior ou menor do
que o intervalo considerado ótimo. Os autores (43) também ob
servaram que o emprego de grandes quantidades de pectina ger
almente causava turvação no gel.

Ainda Lopes e Li-Hsieng (43) constataram que no armazenament
to, a firmeza do gel aumentava enquanto que a sua elasticidad
e diminuía. Tais mudanças foram relacionadas à diminuição -
de grupos metoxila.

Em 1969, Kohn (44), examinando a natureza e a força da ligaç
ão entre os grupos carboxila da pectina de beterraba e os -
íons de cálcio através da determinação da constante de estab
ilidade dos complexos formados entre íons de cálcio e pectin
a, verificou que pectinas desesterificadas por enzimas poss
uíam segmentos na cadeia poligalacturônica com alta densid
ade de carga elétrica, que podiam se ligar a íons de cálcio
mesmo quando essas pectinas possuíam alto grau de esterificaç
ão. O autor observou também que a afinidade dos grupos car-

boxila pelos íons de cálcio aumentava com a diminuição do teor de grupos metoxila.

Ainda Kohn (44), examinando a constante de estabilidade K_s de sais de cálcio de ácido pectico e de ácido pectínico acetilado, verificou que a constante de estabilidade diminuía com o aumento do grau de acetilação, explicando que tal diminuição era devida a impedimento estérico. Baseando-se no estudo da constante de estabilidade de pectina acetilada e na estrutura da molécula de pectina, o referido autor concluiu que, provavelmente, os íons de cálcio se ligariam aos grupos carboxila da pectina através de forças eletrostáticas.

Smit e Bryant (45), em 1969, metilando pectina cítrica com diazometano a temperaturas abaixo de -30°C, verificaram uma diminuição do peso molecular aparente, determinado pelos referidos autores, por medidas de viscosidade. Os autores (45), atribuíram a diminuição de peso molecular aparente durante a metilação como resultado da despolimerização da cadeia de pectina.

Em 1972, Sewer-Lewandowska et al (46), estudando a firmeza de géis de pectinas de baixo teor de grupos metoxila preparados a pH próximo de 3,0, observaram que com a diminuição de grupos metoxila, aumentava a sensibilidade de pectina a íons de cálcio.

Black e Smit (47), em 1972, estudando a desesterificação de pectina por diferentes métodos, observaram que a temperaturas variando de 5 a 7°C e a pH 8, a desmetoxilação com hidróxido de sódio era tão rápida a ponto de não permitir medidas exatas do tempo requerido para a produção de uma pectina com determinado teor de grupos metoxila. Os referidos autores verificaram que a pH 8 e temperaturas variando entre 5 e 7°C, a velocidade de desesterificação com hidróxido de sódio era cerca de 2,5 vezes maior do que a velocidade de desesterificação com hidróxido de amônio em solução aquosa no mesmo intervalo de temperatura e a pH 11. Os mesmos autores, desesterificando pectina com ácido clorídrico 1,4-N, verificaram que, apesar da reação de desesterificação ser muito lenta, a degradação da molécula se dava em menor proporção do que na desesterificação em meio alcalino.

Ainda Black e Smit (47), comparando géis preparados com pectinas desesterificadas por ácido, hidróxido de sódio ou hidróxido de amônio, verificaram que tanto as pectinas desmetoxiladas por ácido como por hidróxido de sódio, produziam géis de firmeza semelhante, quando os pesos moleculares e o conteúdo de grupos carboxila livres desses produtos eram aproximadamente iguais. Os mesmos autores observaram também que géis de pectinas com mesma porcentagem de grupos carboxila livres, produzidas por hidrólise com hidróxido de amônio ou por ácido tinham firmeza diferente. Pectinas de bai-

xo teor de grupos metoxila desesterificadas com hidróxido de amônio produziam géis mais firmes do que pectinas desesterificadas por ácido, apesar do maior peso molecular destas últimas. Os referidos autores sugeriram que a maior firmeza dos géis de pectinas desesterificadas por amônia se devia à presença de grupos amida que poderiam estar envolvidos em ligações de hidrogênio.

Kawabata (48), em 1975, estudando a formação de géis de pectina de baixo teor de grupos metoxila, em presença de íons de cálcio e magnésio, verificou que íons de cálcio formavam géis mais firmes e que seria necessário o emprego de quantidades três vezes maiores dos íons de magnésio do que íons de cálcio, para a preparação de géis de firmeza comparável.

3. MATERIAL

3.1. Reagentes

Em todas as experiências foi empregada pectina cítrica comercial previamente purificada e com as seguintes características:

grau de geleificação	178
umidade	14,63%
cinzas	0,42%
grupos metoxila	9,63%
viscosidade relativa	5,076

Foi empregado álcool comercial absoluto diluído com água, - sempre que necessário.

Para as titulações foram preparadas soluções padrões, com - Tritisol Merck ou Normex Carlo Erba.

Os demais reagentes empregados foram reagentes puros para análise das marcas Merck, Carlo Erba ou Baker.

3.2. Aparelhos

Para a pesagem das amostras foi empregada balança Mettler, - modelo H-34.

Para a secagem de amostras foi utilizada estufa marca Fanem, modelo 315/3.

As determinações de umidade foram feitas em estufa à vácuo, marca Fanem, modelo 99.

As medidas de pH foram feitas em potenciômetro Methrohm - AGCH-9100, com microeletrodo combinado.

As viscosidades foram determinadas com viscosímetro tipo Cannon-Fenske nº 100 V 727, para líquidos opacos.

Para obtenção dos espectros infra-vermelhos, foi empregado-espectrofotômetro PYE UNICAM SP 1000.

O poder de geleificação da pectina original foi determinado em Ridgelímetro tipo Cox-Higby munido de copos Hazel-Atlas-85.

Para a determinação de cinzas foi empregada mufla marca Fanem, com temperatura máxima de 1.200°C.

4. MÉTODOS

4.1. Purificação da Pectina

À 500 g de pectina cítrica comercial foram adicionados 2000 ml de etanol 65% e 100 ml de ácido clorídrico concentrado e a mistura agitada durante 30 minutos. Em seguida a mistura foi deixada em repouso até a separação da pectina; o líquido sobrenadante foi separado por decantação e a pectina lavada várias vezes com álcool 65% até ficar livre de íons cloreto; foi finalmente lavada com etanol 99,5% e seca a 60°C por 24 horas.

Na pectina purificada foram determinados: umidade, cinzas e grupos metoxila; foram também determinados: grau de geleificação e viscosidade.

4.2. Desesterificação da pectina em meio ácido

Foram preparados 800 ml de soluções contendo 16,0 g de pectina em água e ácido clorídrico a pH 1,5 e 0,5 respectivamente e as soluções mantidas a 20°C. Da solução a pH 1,5 foram tiradas amostras de 400 ml depois de 93 e 170 horas e da solução a pH 0,5 foram tiradas amostras de 400 ml depois de 358 e 1726 horas. Em cada amostra a pectina foi precipitada pela adição de álcool 99,5%, separada por filtração, lavada com álcool 65% até prova negativa para íons cloreto nas águas de lavagem e finalmente lavada com etanol 99,5% e seca em estu-

fa a 60°C por 24 horas.

Em seguida, os produtos obtidos foram triturados em almofariz a uma finura de 60 mesh.

4.3. Desesterificação de Pectina com Hidróxido de Sódio em Solução Aquosa

4.3.1. Efeito da concentração de hidróxido de sódio

Foram preparadas soluções contendo 8,0 g de pectina em 400-ml de soluções respectivamente 0,05; 0,10; 0,14; e 0,20 N - de hidróxido de sódio em água e as mesmas deixadas sob agitação em frasco fechado por 30 minutos à temperatura de 20°C. Em seguida a pectina nas soluções foi precipitada pela adição de ácido clorídrico suficiente para baixar o pH das soluções até 1,0. As amostras nas quais a precipitação da pectina não foi quantitativa, foram tratadas com álcool 99,5%.

A pectina de cada amostra foi precipitada, separada por filtração, lavada com álcool 65% até prova negativa para íons cloreto nas águas de lavagem; foi finalmente lavada com etanol 99,5% e seca em estufa a 60°C por 24 horas. Em seguida, os produtos obtidos foram moídos em almofariz a uma finura de 60 mesh.

Em todas as amostras foram determinados umidade, cinzas e -

grupos metoxila.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na ta
bela 2.

4.3.2. Efeito do tempo de reação

4.3.2.1. A Temperatura de 20°C

Foi preparada uma solução contendo 56,0 g de pectina em -
2800 ml de uma solução aquosa 0,10 N de hidróxido de sódio e
a mesma foi mantida sob agitação a 20°C em frasco fechado. -
Dessa solução foram retiradas amostras de 400 ml, depois de
3, 4, 5, 10, 20, 30 e 40 minutos de reação; e as amostras -
tratadas de maneira análogo ao descrito em 4.3.1.

Em todas as amostras foram determinados umidade, cinzas e -
grupos metoxila, bem como foram feitas medidas de viscosida-
de.

Os resultados, média de duas determinações, estão na tabela 3.

4.3.2.2. A Temperatura de 4°C

Foi preparada uma solução contendo 64,0 g de pectina em 3200
ml de uma solução aquosa 0,10 N de hidróxido de sódio, e a
mesma mantida sob agitação a 4°C.

Dessa solução foram tiradas amostras de 400 ml depois de 2,5;
5,0; 7,5; 10; 15; 20; 30; e 40 minutos de reação e as amos -
tras tratadas de modo análogo do descrito em 4.3.1.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na ta
bela 4.

4.4. Desesterificação de pectina com hidróxido de amônio em- solução aquosa.

4.4.1. Efeito da concentração de hidróxido de amônio

Foram preparadas soluções contendo 8,0 g de pectina em 400 -
ml de soluções respectivamente 1,34; 2,68; 5,36 e 8,04 N de
hidróxido de amônio em água e as mesmas mantidas sob agita -
ção a 20°C por 60 minutos em frascos tampados. Em seguida as
soluções foram acidificadas até pH 1,0 com ácido clorídrico-
concentrado e tratadas de modo análogo ao descrito no ítem -
4.3.1.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na -
tabela 5.

4.4.2. Efeito do tempo de reação

Foi preparada uma solução com 64,0 de pectina em 3200 ml de
uma solução aquosa 2,68 N de hidróxido de amônio, e a solu -
ção foi mantida em frasco tampado, sob agitação, a 20°C. Des
sa solução foram tiradas amostras de 400 ml após 8, 15, 20,-
25, 30, 45, 60 e 75 minutos de reação. As amostras foram tra
tadas de modo análogo ao descrito em 4.3.1.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na ta

bela 6.

4.5. Desesterificação de pectina com hidróxido de amônio em meio alcoólico a 65%.

4.5.1. Efeito das quantidades de pectina e amônia

Foram preparadas várias suspensões contendo quantidades variáveis de pectina e amônia em 100 ml de álcool 65%, conforme os dados apresentados na Tabela 1.

TABELA 1

Sistema	pectina (g)	amônia (g)
1	2,0	2,3
2	2,0	4,6
3	2,0	9,2
4	2,0	17,9
5	20,0	5,5
6	4,0	9,2
7	7,9	17,9
8	40,0	5,5
9	40,0	6,8

As suspensões foram mantidas a 20°C, em frascos fechados, sob agitação durante 180 minutos. Em seguida as amostras foram filtradas, lavadas com álcool 65% até ficarem livres de amônia, lavadas então com álcool 99,5% e secas a temperatura ambiente em dessecador a vácuo, por 24 horas.

Em todas as amostras, além de medidas de viscosidade, foram feitas determinações de umidade, grupos metoxila e nitrogênio. Os resultados encontram-se na tabela 7. Os resultados correspondentes ao teor de grupos metoxila e viscosidade representam a média de duas determinações.

4.5.2. Efeito do tempo de reação nos diferentes sistemas da tabela 1.

4.5.2.1. Efeito do tempo no sistema 7

Foram preparadas suspensões contendo 7,9 g de pectina e 17,9-g de amônia em 100 ml de álcool 65%, que foram mantidas sob agitação a 20°C, em frascos fechados, por 10, 20, 30, 40, 60, 120 e 180 minutos respectivamente. Em seguida, as amostras foram filtradas e tratadas de modo análogo ao descrito em 4.5.1.

Em todas as amostras, além de medidas de viscosidade, foram feitas determinações de umidade, cinzas, grupos metoxila e nitrogênio.

Os resultados média de duas determinações encontram-se na tabela 8.

4.5.2.2. Efeito do tempo no sistema 8

Foram preparadas suspensões contendo 40,0 g de pectina e 5,5 g de amônia em 100 ml de álcool 65% , que foram mantidas a 20°C em frascos fechados sob agitação por 30,60, 90, 120,150, 180 e 210 minutos respectivamente. Em seguida as amostras foram filtradas e tratadas de modo análogo ao descrito em 4.5.1.

Em todas as amostras, além de medidas de viscosidade, foram feitas determinações de umidade, cinzas, grupos metoxila e nitrogênio.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na tabela 9.

4.5.3. Efeito do grau alcoólico na reação de desesterificação da pectina.

Para essa experiência foi empregada pectina cítrica comercial, previamente purificada, com as seguintes características:

grau de geleificação	:	106
umidade	:	14,60%
cinzas	:	0,95%
grupos metoxila	:	9,14%
viscosidade relativa	:	4,110

Foram preparadas suspensões contendo 40,0 g de pectina e 5,5 g de amônia em 100 ml de álcool 65, 77 e 89% respectivamente e as mesmas mantidas sob agitação em frascos tampados por 180 minutos a 20°C. Após esse tempo as amostras foram filtradas e tratadas de modo análogo ao descrito em 4.5.1.

Em todas as amostras, além de medidas de viscosidade, foram feitas determinações de umidade, cinzas, grupos metoxila e nitrogênio.

Os resultados, média de duas determinações, encontram-se na tabela 12.

4.6. Métodos analíticos

4.6.1. Determinação de umidade, cinzas e grupos metoxila

As determinações de umidade, cinzas e grupos metoxila foram feitas segundo o método de Owens et al, 1952 (49).

4.6.2. Determinação de viscosidade

Para a determinação das viscosidades foram usadas soluções 0,50% de pectina a pH 6,0. As medidas de viscosidade foram feitas em tubos de viscosímetro tipo "Cannon Fenske" para líquidos opacos a 37,80°C.

4.6.3. Determinação do poder geleificante

O poder geleificante da pectina original foi determinado em-

Ridgelímetro segundo a técnica descrita por Leme (50).

4.6.4. Determinação do teor de amida.

O teor de amida das amostras de pectina desmetoxiladas por hidróxido de amônio foi determinado em Micro-Kjeldahl segundo o método da AOAC (51).

4.6.6. Espectros de absorção infra-vermelho

Para a análise dos espectros de absorção infra-vermelho das pectinas foram preparadas películas a partir de soluções a 2% de pectina (Figuras 1, 2, 3 e 4).

4.7. Determinação das constantes de velocidade

As constantes de velocidade das reações, k , foram determinadas pelas curvas dos gráficos 1, 2, 3 e 4, pelo método dos Quadrados Mínimos (52).

5. RESULTADOS

TABELA 2

Efeito da concentração de hidróxido de sódio na desesterificação da pectina a 20°C. Tempo: 30 minutos.

Normalidade da solução (N)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos metoxila (%)
0,05	14,95	0,52	9,11
0,10	15,04	0,58	1,67
0,14	15,01	0,49	0,54
0,20	14,98	0,53	0,53

TABELA 3

Efeito do tempo de reação na desesterificação da pectina com hidróxido de sódio 0,10 N a 20°C.

tempo (min)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	viscosidade relativa η_r	η_{sp}/c (dl/g)
3	14,95	0,46	4,13	2,650	3,300
4	15,02	0,53	3,40	2,424	2,848
5	14,97	0,51	2,55	2,342	2,684
10	15,04	0,48	2,01	2,291	2,582
20	14,93	0,45	1,70	2,150	2,300
30	15,03	0,55	1,68	2,090	2,180
40	15,01	0,50	1,64	1,925	1,850

Recuperação média do produto: 72,05%

TABELA 4

Efeito do tempo de reação na desesterificação da pectina com hidróxido de sódio 0,10 N a 4°C.

tempo (min)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	viscosidade relativa η_r	$\eta_{sp/c}$ (dl/g)
2,5	15,70	0,60	7,35	4,253	6,506
5,0	15,73	0,64	6,00	3,960	5,920
7,5	15,72	0,54	4,78	3,662	5,324
10	15,65	0,61	3,73	3,344	4,688
15	15,64	0,58	3,02	2,912	3,824
20	15,71	0,57	2,68	2,645	3,290
30	15,74	0,62	2,41	2,530	3,060
40	15,67	0,53	2,34	2,364	2,728

Recuperação média do produto: 75,48%

TABELA 5

Efeito da concentração de amônia em solução aquosa na desesterificação da pectina a 20°C. Tempo: 60 minutos

Normalidade da solução (N)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)
1,34	15,55	0,44	6,21
2,68	15,46	0,50	2,01
5,36	15,53	0,49	1,46
8,04	15,48	0,45	1,40

TABELA 6

Efeito do tempo de reação na desesterificação da pectina com amônia 2,68 N em solução aquosa a 20°C. Tempo: 75 minutos.

tempo (min)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	grupos amídicos (%)	viscosidade relativa nr	η_{sp}/c (dl/g)
8	15,50	0,43	6,50	0,66	3,225	4,450
15	15,46	0,48	4,80	1,31	2,750	3,500
20	15,48	0,51	3,60	1,67	2,601	3,202
25	15,42	0,46	2,99	2,01	2,540	3,080
30	15,51	0,50	2,40	2,21	2,445	2,890
45	15,41	0,45	2,10	2,30	2,414	2,828
60	15,43	0,43	1,99	2,37	2,385	2,770
75	15,47	0,47	1,95	2,45	2,373	2,746

Recuperação média do produto: 77,89%

TABELA 7

Efeito das quantidades de pectina e amônia em solução alcoólica na reação de desesterificação da pectina. Tempo: 180 minutos.

Sistema	g pectina/ g NH ₃	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	grupos MeO desest. (%)	grupos amídicos (%)	teor de MeO trans. em amida (%)	teor de MeO trans. em sal (%)	relação amida/ sal	visco- sidade relativa n _r	nsp/c (dl/g)	rendi- mento aparente (%)
1	2,0/2,3	19,01	0,48	5,46	4,17	0,96	1,86	2,31	0,81	3,687	5,374	92,20
2	2,0/4,6	19,00	0,43	3,84	5,79	2,00	3,88	1,92	2,03	3,553	5,106	93,55
3	2,0/9,2	18,99	0,51	2,05	7,58	3,14	6,08	1,49	4,09	3,453	4,906	94,36
4	2,0/17,2	19,08	0,49	1,00	8,53	3,86	7,48	1,15	6,50	3,342	4,684	93,56
5	20,0/5,5	19,07	0,53	3,59	6,04	2,30	4,45	1,59	2,80	3,506	5,012	94,51
6	4,0/9,2	18,94	0,44	2,11	7,52	3,09	5,98	1,54	3,88	3,462	4,924	94,08
7	7,9/17,9	19,01	0,46	1,01	8,62	3,86	7,48	1,14	6,55	3,350	4,700	94,51
8	40,0/5,5	18,98	0,50	3,64	5,99	2,23	4,32	1,67	2,58	3,531	5,062	95,90
9	40,0/6,8	19,03	0,43	3,51	6,12	2,31	4,47	1,65	2,71	3,529	5,058	94,65

TABELA 8

Efeito do tempo de reação na desesterificação de pectina com amônia em 100 ml de solução alcoólica 65%, contendo 7,9 g de pectina e 17,9 g de amônia a 20°C. (Sistema 7).

tempo (min)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos		viscosidade relativa η_r	η_{sp}/c (dl/g)	rendimento aparente (%)
			MeO (%)	grupos amídicos (%)			
10	18,98	0,47	6,50	1,13	3,725	5,450	98,45
20	18,95	0,46	4,28	2,16	3,520	5,040	96,50
30	18,99	0,48	2,64	3,04	3,451	4,902	97,20
40	19,00	0,45	1,96	3,78	3,380	4,760	95,05
60	19,03	0,49	1,44	3,79	3,362	4,724	98,57
120	18,93	0,44	1,05	3,83	3,351	4,702	97,65
180	19,01	0,46	1,01	3,86	3,350	4,700	94,51

TABELA 9

Efeito do tempo de reação na desesterificação de pectina com amônia em 100 ml de solução alcoólica 65%, contendo 40,0 g de pectina e 5,5 g de amônia a 20°C. (Sistema 8).

tempo (min)	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	grupos amídicos (%)	viscosidade relativa η_r	η_{sp}/c (dl/g)	rendimento aparente (%)
30	19,05	0,48	7,98	0,46	4,083	6,166	96,73
60	18,98	0,46	6,70	0,80	3,770	5,540	98,49
90	19,00	0,49	5,42	1,20	3,605	5,210	97,30
120	19,01	0,44	4,56	1,60	3,580	5,160	95,50
150	18,99	0,50	3,85	1,86	3,551	5,102	98,57
180	18,96	0,54	3,64	2,23	3,531	5,062	95,90
210	19,02	0,53	3,58	2,27	3,520	5,040	93,41

TABELA 10

Constantes de velocidade (k) da reação de desesterificação da pectina.

M e i o	constante de velocidade de reação k (min ⁻¹)
NaOH 0,10 N a 4°C	0,091
NaOH 0,10 N a 20°C	0,26
hidróxido de amônio aquoso 2,68 N a 20°C	0,047
hidróxido de amônio alcoólico 65% (7,9 g de pectina e 17,9 g de amônia) a 20°C	0,041
hidróxido de amônio alcoólico 65% (40,0g de pectina e 5,5 g de amônia) a 20°C	0,0062

TABELA 11

Relação entre a velocidade de formação de sal e a velocidade da reação de formação de amida na desesterificação da pectina com amônia.

M e i o	g NH ₃ /g pectina	k _A *	k _S **	k _A /k _S
amônia em solução aquosa 2,68 N	2,3	0,020	0,027	0,74
amônia em solução alcoólica 65% (sistema 7)	2,3	0,036	0,005	7,20
amônia em solução alcoólica 65% (sistema 8)	0,14	0,0033	0,0029	1,14

* k_A = constante de velocidade da reação de amonólise

** k_S = constante de velocidade da reação de saponificação

TABELA 12

Influência do grau alcoólico na reação de desesterificação de pectina. Tempo: 180 minutos.

grau al- coólico	umidade (%)	cinzas (%)	grupos MeO (%)	grupos MeO desest. (%)	grupos amídicos (%)	teor de MeO trans. em amida (%)	teor de MeO trans. em sal (%)	relação amida/ sal	visco- sidade relativa nr	n _{sp} /c (dl/g)	rendiment aparente (%)
65	18,94	1,01	3,59	6,04	2,00	3,88	2,17	1,79	3,081	4,162	93,0
77	18,98	1,05	5,06	4,57	1,67	3,24	1,33	2,43	3,224	4,448	94,8
89	18,88	0,98	5,29	4,34	1,63	3,17	1,17	2,71	3,270	4,540	95,6

6. DISCUSSÃO

6.1. Discussão dos Métodos

Para a desesterificação em meio ácido foram empregadas soluções de ácido clorídrico a pH 0,5, já empregadas em outros trabalhos (23) e a pH 1,5. A temperatura de 20°C foi empregada para que a degradação fosse reduzida ao mínimo.

Na hidrólise alcalina com hidróxido de sódio em solução aquosa, foram feitas experiências preliminares (experiência 4.3.1.) com diferentes concentrações de hidróxido de sódio, a fim de serem determinadas as melhores concentrações de cada reagente para o estudo da cinética da reação.

Os resultados dessas experiências (Tabela 2), levaram ao uso neste trabalho, de soluções 0,10 N de NaOH, com as quais foi obtida desesterificação superior a 80%, dentro de um intervalo de tempo aceitável, isto é, 30 minutos.

Para o estudo da cinética da desesterificação com hidróxido de amônio em solução aquosa as concentrações de reagentes a serem usadas também foram calculadas com base em experiências preliminares (experiência 4.4.1.), cujos resultados se encontram na Tabela 5.

Os resultados dessas experiências (Tabela 5) levaram ao uso, neste trabalho, de soluções 2,68 N de hidróxido de amônio, -

com as quais foi obtida desesterificação de 79% de grupos metoxila em 60 minutos de reação.

Para a desesterificação com amônia em meio alcoólico, foram feitas diversas experiências variando-se as quantidades de pectina e NH_3 (Tabela 1). Nessas experiências os sistemas 1, 2 e 3 correspondem às quantidades empregadas na reação com amônia em meio aquoso (soluções 1,34 N, 2,68 N e 5,36 N, respectivamente). No sistema 4 foi empregada para 2 g de pectina, a quantidade máxima de amônia, para a qual ainda é possível se obter uma solução alcoólica final de 65%, que foi empregada em todas as reações.

No sistema 5 foram empregadas quantidades iguais às da literatura (38).

Nos sistemas 6 e 7 foram empregadas quantidades maiores de pectina e de amônia, embora a relação dos reagentes seja a mesma do sistema 2, sendo que a quantidade de amônia empregada no sistema 7 foi a máxima possível para termos um grau alcoólico de 65%.

Nos sistemas 8 e 9 foi estudada a desesterificação com maiores quantidades de pectina em relação às quantidades de amônia. No sistema 8 a quantidade de pectina empregada foi o dobro da quantidade empregada no sistema 5 para a mesma quantidade de amônia.

As quantidades de reagentes a serem empregadas no estudo da cinética da reação de desesterificação foram escolhidas baseadas nos resultados da Tabela 7.

Foi escolhido o sistema 7, considerando-se que nesse sistema, embora havendo a mesma relação das quantidades de pectina e amônia do sistema 2, a velocidade das reações de desesterificação e de amonólise foram maiores, enquanto que a degradação sofrida, embora maior que no sistema 2, ainda apresentou resultados bastante satisfatórios.

O sistema 8 foi escolhido tendo-se em vista que os resultados obtidos neste sistema e no sistema 9 (Tabela 7) foram praticamente os mesmos, sendo que neste último sistema, a quantidade de amônia empregada foi maior que a empregada no sistema 8.

O estudo do efeito do grau alcoólico na desesterificação da pectina foi escolhido com base nos resultados obtidos com o sistema 8 (Tabela 7).

O grau alcoólico de 89% foi escolhido por ser o grau máximo para que a relação pectina-amônia fosse mantida, enquanto que o grau alcoólico de 77% representou a média entre 65 e 89%.

6.2. Discussão dos resultados

6.2.1. Desesterificação em meio ácido

Os resultados da desesterificação da pectina em meio ácido, conforme descrito na experiência 4.2., indicam que a reação é lenta, pois a pH 1,5, após 170 horas, somente 0,15% de grupos metoxila haviam sido desesterificados, enquanto que a pH 0,5 foram necessárias 1.726 horas para que 1,38% dos grupos metoxila fossem hidrolisados.

Tais resultados, aliados ao fato de que um aumento da temperatura da reação causaria maior degradação na cadeia poligalacturônica (23), mostram a pouca viabilidade da hidrólise ácida, a temperaturas nas quais a despolimerização pudesse ser evitada ou pelo menos diminuída.

6.2.2. Desesterificação em meio alcalino

A linearidade da variação do logaritmo da quantidade de grupos metoxila em função do tempo (Gráfico 1) na desesterificação com hidróxido de sódio, até 5 minutos de reação a 20°C e até 10 minutos de reação a 4°C, indica que nesses intervalos de tempo a reação pode ser tratada como sendo de primeira ordem em relação à concentração de grupos metoxila.

Pelos dados das Tabelas 3 e 4, observamos que o aumento da temperatura causa uma diminuição nas viscosidades relativas dos produtos obtidos, o que significaria uma maior degradação da

cadeia de pectina (37).

Pelo Gráfico 5, observamos que a 20°C a viscosidade relativa sofre uma diminuição brusca nos primeiros cinco minutos de reação, enquanto que a 4°C a diminuição da viscosidade é progressiva e lenta, tendendo a constante depois de 30 minutos.

Essa rápida diminuição inicial da viscosidade relativa, poderia ser explicada pelo fato de que a degradação da cadeia de ácido pectínico se dá pelo mecanismo da β -eliminação e sendo assim, seria necessária a presença de grupos metoxila para que o hidrogênio do carbono 5 se tornasse mais lábil. À medida que os grupos metoxila diminuem pela desesterificação, haveria diminuição também da velocidade de degradação da cadeia pectínica. A viscosidade reduzida está dentro do limite mínimo aceitável (32) de 3 dl/g somente para o produto obtido após 3 minutos de reação a 20°C, enquanto que a 4°C obtemos um produto com viscosidade reduzida de 3,060 dl/g, mesmo após 30 minutos de reação.

Se considerarmos que o teor de grupos metoxila ótimo para a geleificação seria de 2,5 a 4,5% (38) a desesterificação da pectina deveria ser feita em apenas 3 minutos a 20°C e entre 10 e 20 minutos a 4°C.

O desvio da linearidade na curva de desesterificação com hidróxido de sódio se dá quando a quantidade de grupos metoxi-

la residual estiver próxima de 2,55% para a reação a 20°C - (Tabela 3), enquanto que a 4°C o ponto de desvio é atingido - quando a concentração de grupos residuais estiver próxima de 3,73% (Tabela 4).

Na desesterificação com hidróxido de amônio, observamos que - as curvas nº 1 dos gráficos 2, 3 e 4 são semelhantes às curvas da reação com hidróxido de sódio a 20 e 4°C, embora a velocidade inicial da reação seja muito menor com hidróxido de amônio (Tabela 10).

Uma vez que a constante de velocidade de reação de ésteres - com amônia pode ser considerada como a soma das constantes da velocidade de formação de amida e de formação de sal (53) e que a reação de formação de amida é de primeira ordem em relação ao teor de éster, podemos, baseados nos Gráficos 2, 3 e 4 (curvas 1 e 2), calcular as constantes de velocidade da reação de formação de amida.

A constante de velocidade da reação de saponificação pode ser calculada por diferença.

O Gráfico 2 mostra que na desesterificação da pectina com hidróxido de amônio em solução aquosa, o desvio da linearidade, tanto da curva de desesterificação, como da reação de amonólise da pectina se deu ao redor de 2,40% de grupos metoxila e na desesterificação com amônia em álcool 65% esses desvios se dão ao redor de 1,96% para a desesterificação e amonólise no

sistema 7, e ao redor de 3,85% e 3,64% respectivamente para a desesterificação e amonólise no sistema 8 (Gráficos 3 e 4).

Tendo em vista que também na reação com amônia em solução aquosa há formação de amida, poderemos supor que o desvio da linearidade da curva de desesterificação dessa reação seja devido não só ao campo eletrostático negativo criado pelos grupos carboxila (34) mas também poderia ser influenciado pela reação de amonólise.

Analogamente ao que acontece na desesterificação com hidróxido de sódio, na reação com hidróxido de amônio em meio aquoso ou alcoólico, também a viscosidade decresce rapidamente na fase inicial da reação (Gráficos 6, 7 e 8 e Tabelas 6, 8 e 9). - Neste caso também uma diminuição da degradação dos produtos obtidos seria causada pela diminuição do teor de grupos metoxila.

Os dados da Tabela 6, indicam que a desmetoxilação de pectina com hidróxido de amônio em solução aquosa deveria ser feita - em tempos variando entre 20 e 25 minutos, para termos um produto final com teor de grupos metoxila e viscosidade intrínseca aceitáveis (32 e 38).

Os dados das Tabelas 8 e 9, que correspondem aos sistemas 7 e 8, respectivamente, mostram que a desesterificação com amônia em meio alcoólico, no sistema 7, com 40 minutos de reação já-

nos dá um produto com teor de metoxila baixo para a formação de géis (38), embora a viscosidade reduzida esteja com valor acima de 3 dl/g; no sistema 8 (Tabela 9) a desesterificação da pectina é mais lenta, e só vamos obter um produto com teor de grupos metoxila menor do que 5%, com 120 minutos de reação.

Nos dois sistemas estudados, a degradação se dá em proporção menor do que nas experiências anteriores, visto que mesmo depois de 180 minutos de reação, embora com teor de grupos metoxila 1,01% no sistema 7 e 210 minutos e 3,58% de grupos metoxila no sistema 8, em ambos os casos a viscosidade permaneceu acima do valor considerado aceitável (Tabela 8 e 9).

Pelas tabelas 6, 7, 8 e 9, verificamos que na desesterificação com hidróxido de amônio tanto em meio aquoso como alcoólico, há formação de amida e, considerando que a presença de grupos amídicos na molécula aumentam a firmeza dos géis (47), a desesterificação com amônia resultaria em todos os casos, num produto final de melhor qualidade do que a desesterificação com hidróxido de sódio.

No caso da desesterificação com amônia, a reação, em meio alcoólico daria produtos finais de melhor poder geleificante do que em meio aquoso, uma vez que nesse meio haverá maior formação de amida e menor degradação da cadeia poligalacturônica (Tabelas 6, 8 e 9).

Ainda pelos dados da Tabela 7, observamos que, embora a viscosidade seja ligeiramente maior no produto obtido no sistema 8, significando menor degradação, temos, em compensação, no produto obtido com o sistema 7, desesterificação bem maior e maior teor de amida, o que daria um produto final com melhor poder de geleificação.

Pelos resultados apresentados na Tabela 10, verificamos que a maior constante de velocidade da reação de desesterificação corresponde à da desesterificação com hidróxido de sódio a 20°C; no entanto, nessa reação, a degradação é muito intensa (Tabela 3), dando produtos finais de baixo poder geleificante.

Se compararmos as constantes de velocidade da reação de desesterificação com hidróxido de amônio e hidróxido de sódio, observamos que as constantes da reação com hidróxido de amônio são mais baixas do que as da reação com hidróxido de sódio, mesmo a 4°C e que há pouca diferença entre os valores das constantes de velocidade das reações com amônia em meio aquoso e meio alcoólico no sistema 7, valores esse bem maiores do que os obtidos para o sistema 8.

No entanto, no sistema 7, em que foi usado amônia em álcool, obtivemos um produto com degradação muito menor do que em meio aquoso. Se considerarmos também, como já foi dito, que a presença de grupos amídicos aumentam a firmeza do gel (47), então o método de desesterificação em meio alcoólico no siste

ma 7, seria ainda mais vantajoso.

A diferença entre as viscosidades dos produtos obtidos com os sistemas 7 e 8 (ambos em meio alcoólico), com pequena vantagem para o sistema 8, não é suficiente para considerarmos o sistema 8 superior, face aos valores de amonólise no sistema-7, com as vantagens já discutidas da formação de amidas.

O uso de álcool 77 ou 89% não parece influir na reação de desesterificação como mostram os dados da Tabela 12. Quando a desesterificação foi feita em álcool 65%, houve uma diminuição da viscosidade do produto final contrabalanceada pela menor desesterificação em álcool 77%.

A reação de ésteres de baixo peso molecular com amônia em meio aquoso pode produzir amidas, cujo rendimento aumenta quando a reação é feita em meio hidroalcoólico.

A pectina, que seria um éster de alto peso molecular e que em meio alcoólico participa de um sistema heterogêneo, formou quantidades consideráveis de amida, chegando mesmo a ser essa a reação predominante no sistema 7 (Tabela 8).

A identificação dos grupos amida foi feita através de espectros infravermelho em que está presente absorção em 1685 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento do grupo carbonila de amidas (54).

7. CONCLUSÕES

Em face dos resultados experimentais deste trabalho, conclui-se que:

1. A hidrólise ácida da pectina é muito lenta nas temperaturas em que haveria menor degradação da molécula.
2. A hidrólise alcalina com NaOH é muito rápida, mesmo à temperatura de 4°C, dificultando o controle do processo.
3. A hidrólise da pectina com NaOH é acompanhada de intensa degradação da molécula a 20°C, sendo que a redução de temperatura reduz tanto a degradação como a desesterificação.
4. A hidrólise com amônia em meio aquoso é mais lenta do que a hidrólise com NaOH.
5. A hidrólise com amônia em meio aquoso causa menor degradação da molécula do que em presença de NaOH.
6. Na hidrólise com amônia em meio aquoso, há formação de amida.
7. A hidrólise com amônia em meio alcoólico é relativamente mais lenta do que a hidrólise com amônia em meio aquoso.
8. A degradação da molécula de pectina com amônia é menor em meio alcoólico do que em meio aquoso.

9. A hidrólise com amônia em meio alcoólico conduz à formação de amida em quantidades elevadas.
10. A proporção pectina/amônia na reação em meio alcoólico é importante para a maior formação de amida.
11. A desmetoxilação de pectina com amônia em meio alcoólico - na proporção 2,3/1 de amônia-pectina é a técnica mais adequada à obtenção de pectina de baixo teor de grupos metoxila, pois conduziu à formação de um produto com alto teor de grupos amida e alta viscosidade.
12. A substituição do álcool a 65% por álcool a 77 ou 89% não ofereceu vantagens na reação de desesterificação de pectina com amônia.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. TUTIN, F. "Behaviour of pectin towards alkalies and pectase".
Biochem. J. 15, 494-97 (1921).
2. MYERS, P.B. & BAKER, G.L. "Fruit jellies. V - The role of pectin. I - The viscosity and jellifying properties of pectin solutions". Expt. Sta. Bull. 149 (1927) (c.f. Chemical Abstracts 21, 3988⁸, 1927).
3. PAUL, R. & GRANDSEIGNE, R. "Extraction and utilization of pectase". Bull.Assoc.Chem.Sucr.Dist. 46, 233-7, 245-6 (1929). (c.f. Chemical Abstracts 24, 2511², 1930).
4. JOSEPH, G.H. "A note concerning an interesting reaction between pectin and cow milk" J.Soc.Chem.Ind. 49, 159-160 (1930).
5. KERTESZ, Z.I. "Pectic Enzymes. IV - Structural considerations in connection with the Enzymic Hydrolysis of pectins" J.Am.Chem.Soc. 61, 2544-48, 1939.
6. BAKER, G.L. & GOODWIN, M.W. "Jellying pectin products suitable for use with salads, desserts, fruit juices, etc." US 223574, 4 Março, 1941. (c.f. Chemical Abstracts 35, p 3730⁵ (1941)).
7. KAUFMAN, C.W.; FEHLBERG, E.R. & OLSEN, A.G. "Chemists adapt

- pectins to new industrial uses. Part I". Food Inds. 14, 57-8, 109 (1942).
8. OWENS, H.S.; LOTZKAR, H.; MERRILL, R.C. & PETERSON, M.
"Viscosities of pectin solutions". J.Am.Chem. Soc. 66(2), 1178-82 (1944).
9. MCCREADY, R.M.; OWENS, H.S. & MACLAY, W.D. "Alkali-Hydrolyzed pectins are potential industrial products" Food Industries 16(10), 69-71, 139-40 (1944).
10. LINEWEAVER, H. "Acceleration by electrolytes of alkaline deesterification of pectin". J.Am.Chem.Soc. 67(7), 1292-1293 (1945).
11. SCHULTZ, T.H.; LOTZKAR, H.; OWENS, H.S. & MACLAY, W.D.
"Influence of method of deesterification on the viscosity and acid behaviour of pectinic acid solutions" J.Phys. Chem. 49, 554-63 (1945).
12. SPEISER, R.; EDDY, C.R. & HILLS, C.H. "Kinetics of deesterification of pectin". J.Phys.Chem. 49, 563-579 (1945).
13. MERRILL, R.C. & WEEKS, M. "The thermal degradation of pectin". J.Am.Chem.Soc. 67, 2244-47 (1945)
14. MERRILL, R.C. & WEEKS, M. "Kinetics of the deesterification of pectin". J.Phys.Chem. 50, 75-87 (1946).

15. WOODMANSEE, C.W.; BAKER, G.L.; POLLARI, V.E. & MURRAY, W.G.
"How sugars affect dispersibility of pectins in gel
powders" Food Industries, 18, 356-7 (1946).
16. SPEISER, R. & EDDY, C.R. "Effect of molecular weight and
method of deesterification on the gelling behaviour of
pectin" J.Am.Chem.Soc. 63, 287-93 (1946).
17. McCREADY, R.M.; OWENS, H.S.; SHEPHERD, A.D. & MACLAY, W.D.
"Acidic isolation of low-ester pectinic acids". Ind.
Eng.Chem. 38, 1254-6 (1946).
18. BAKER, G.L. & WOODMANSEE, C.W. "Shelf-Life of low-solids
grape gels". Food Technol. 1, 11-6 (1947).
19. OWENS, H.S. & MACLAY, W.D. "Pectic Materials" US 2444266,
junho 29, 1948 (cf. Chemical Abstracts, 42, P6472e, 1948)
20. McCREADY, R.M.; OWENS, H.S. & MACLAY, W.D. "Low-Methoxyl pec-
tinic acids" US 2448818, setembro 7, 1948 (cf. Chemical
Abstracts, 42, 9004g, 1948).
21. MACLAY, W.D.; SHEPHERD, A.D.; McCREADY, R.M. & GRAHAM, R.P.
"Low-Methoxy pectinic acids for aluminium-pectin
compositions" US 2457577, dez. 28, 1948 (cf. Chemical
Abstracts, 43, 3842a, 1949).
22. OWENS, H.S.; McCREADY, R.M. & MACLAY, W.D. "Gelation

- characteristics of acid-precipitated pectinates"
Food Technology, 3, 77-82 (1949).
23. WOODMANSEE, C.W. & BAKER, G.L. "High-polymer, acid demethylated pectinates and their gelation" Food Technology 3, 82-5 (1949).
24. JOSEPH, G.H.; KIESER, A.H. & BRYANT, E.F. "High-polymer ammonia-demethylated pectinates and their gelation" Food Technology 3, 85-90 (1949).
25. HILLS, C.H.; MOTTERN, H.H.; NUTTING, G.C. & SPEISER, R. "Enzyme-demethylated pectinates and their gelation" Food Technology, 3, 90-94 (1949).
26. MACLAY, W.D. & McCREADY, R.M. "Low methoxyl pectin" US 2478170, agosto 9, 1949 (cf. Chemical Abstracts 44, P248c, 1950).
27. BRYANT, E.F. "Acid amides of pectinic acid" US 2480710, agosto 30, 1949 (cf. Chemical Abstracts 44, 2018c, 1950).
28. OWENS, H.S.; McCREADY, R.M. & MACLAY, W.D. "Isolation of low-methoxyl pectin" US 2496306, fev. 7, 1950 (cf. Chemical Abstracts, 44, 4603e, 1950).
29. GRAHAM, R.P. & SHEPHERD, A.D. "Neutralization of pectinic acid with sodium bicarbonate" US 2503258, 11 abril, 1950 (cf. Chemical Abstracts, 44, 6051d, 1950).

30. MITCHELL, W.A. "Ammoniated pectins" Food Technology, 4, 135-138 (1950).
31. OWENS, H.S. "Acid leaching of pectinous material" US 2502477, 4 abril, 1950 (cf. Chemical Abstracts, 44, 6545f, 1950).
32. GRAHAM, R.P. & SHEPHERD, A.D. "Pilot-plant production of low-methoxyl pectin from citrus peel" J.Agr.Food Chem. 1, 993-1001 (1953).
33. Anon., 1953 "Exchange pectin L.M. California Fruit Growers Exchange, Ontario, California"
34. KATCHALSKY, A. & FEITELSON, J. "Kinetics of alkaline hydrolysis of pectinic acids" J.Polymer Sci. 13, 385-92 (1954).
35. SHEPHERD, A.D.; McCREADY, R.M. & OWENS, H.S, "Low-methoxyl pectin gels" US 2673157, 23 março, 1954 (cf. Chemical Abstracts, 48, 8444f, 1954).
36. NEUKON, H. & DEUEL, H. "Alkaline degradation of pectin" Chem. e Ind. (London) 1958, 683.
37. ALBERSHEIM, P; NEUKON, H. & DEUEL, H. "Splitting of pectin chain molecules in neutral solutions" Arch.Biochem. Biophys. 90, 46-51 (1960)
38. DI GIACOMO, A. & RISPOLI, G. "Pectins containning low level

methoxyl groups. I-Preparation of low-methoxyl pectin by means of deesterification with ammonia". Boll.Lab. Chim. Provinciali (Bologna) 12, 479-84 (1961).

39. RISPOLI, G. & DI GIACOMO, A. "Pectins containing low level methoxyl groups. II-Principal characteristics of gelatinization". Boll.Lab.Chim.Provinciali (Bologna) 13(2), 122-8 (1962).
40. LEO, H.T. & TAYLOR, C.C. "Low-sugar pectinic acid gels" US 3034901, 15 maio, 1962. Appl.Aug. 8, 1962, 3pp. (cf. Chemical Abstracts, 57, 5079f, 1962).
41. BOCK, W. & LANGE, D. "Production of low methoxyl pectin extracts with ammonia; effect of deesterification conditions on the gelation capacity" Nahrung 7(1), 71-8 (1963).
42. DARGEL, D. & HOCK, A. "Reaction of pectin with ammonia" Arch.Turernaehr 17(3), 197-207 (1967).
43. LOPES, A. & LI-HSIENG, L. "Low-methoxyl pectin apple gels" Food Technol. (Chicago) 22(8), 1023-8 (1968).
44. KOHN, R. "La liaison du calcium aux groupes carboxyliques de la pectine". La Sucrierie Belge 88(1), 13-19; 83-89 (1969).

45. SMIT, C.J.B. & BRYANT, E.F. "Changes in molecular weight of pectin during methylation with diazomethane" J. Food Sci. 34, 191-3 (1969).
46. SEWER-LEWANDOWSKA, B.; ZDZIENNICKI, A. & ZDZIENNICKA, D. "Conditions for gelling slightly methylated pectins" Pr. Inst. Lab. Badaw Przem. Spozyw, 22(4), 483-502 (1972).
47. BLACK, S.A. & SMIT, C.J.B. "The effect of demethylation procedures on the quality of low-ester pectins used in dessert gels" J. Food Sci. 37(5), 730-732 (1972).
48. 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).
49. OWENS, H.S.; MCCREADY, R.M.; SHEPHERD, A.D.; SCHULTZ, T.H.; PIPPEN, E.L.; SWENSON, H.A.; MIERS, J.C.; ERLANDSEN, R.F. & MACCLAY, W.D. "Methods used at Western Regional Research Laboratory for extraction and analysis of pectic materials". Bureau of Agricultural and Industrial Chemistry, junho, 1952.
50. LEME JR., J. "Contribuição ao estudo de geleificação de frutas e do equilíbrio do gel pectico". Tese (câtedra). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1968, p. 24-27.

51. A.O.A.C. "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists". Editor: William Horwitz. Washington, Association of Official Analytical Chemists, 1970, p.858.
52. SPIEGEL, M.R. "Teoria y problemas de estadística" Colômbia, McGraw Hill, Inc. 1969, p. 242.
53. BUNNETT, J.F. & DAVIS, G.T. "The mechanism of aminolysis of esthers" J.Am.Chem.Soc. 82, 665-674, 1960.
54. NAKANISHI, K. "Infrared absorption spectroscopy" Tokyo, Nankodo Company Limited. 1962, p. 44.

9 - I L U S T R A Ç Õ E S

●●● desesterificação a 4°C
○●○ desesterificação a 20°C

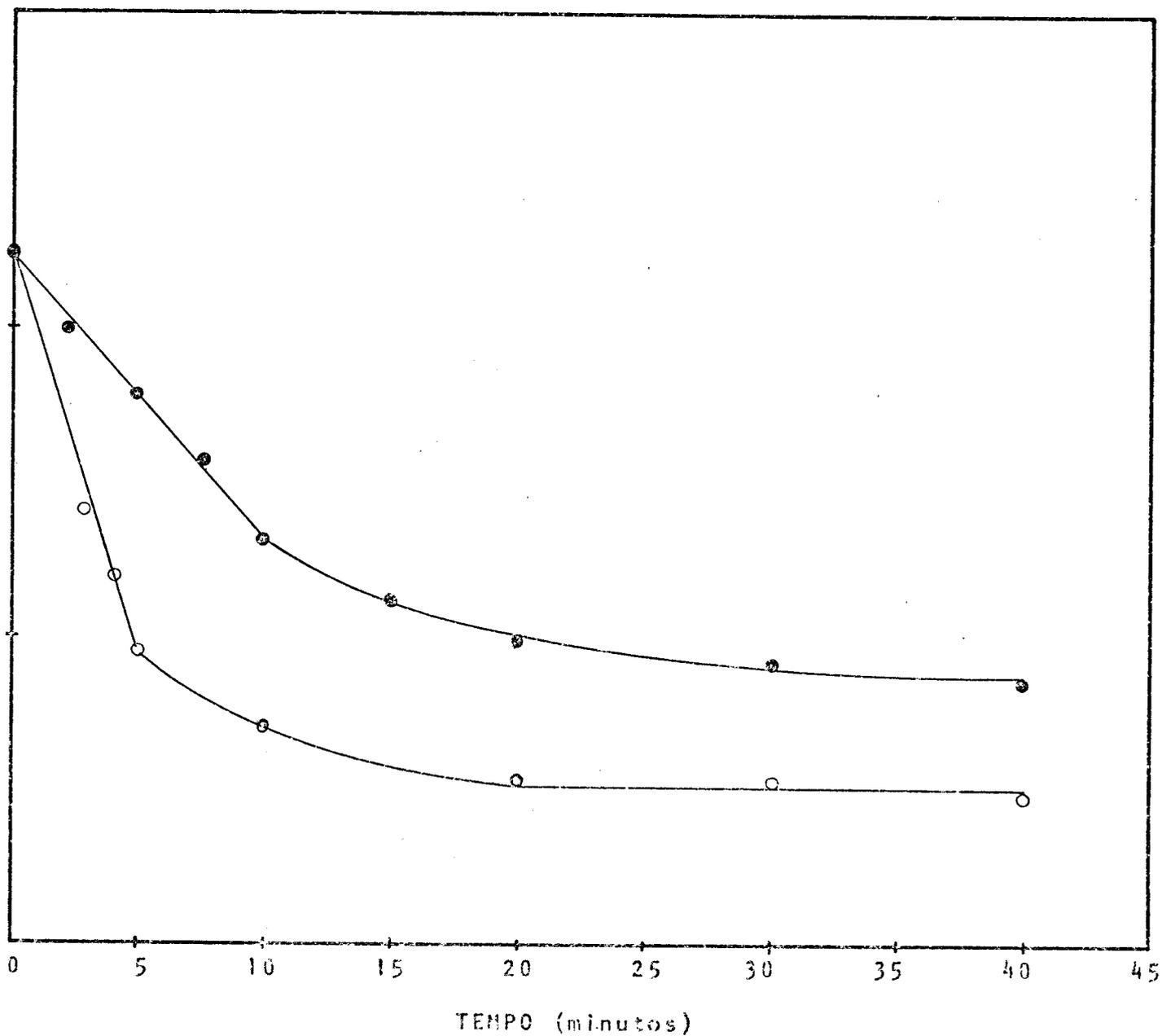


GRÁFICO 1 - Desesterificação com hidróxido de sódio em solução aquosa.

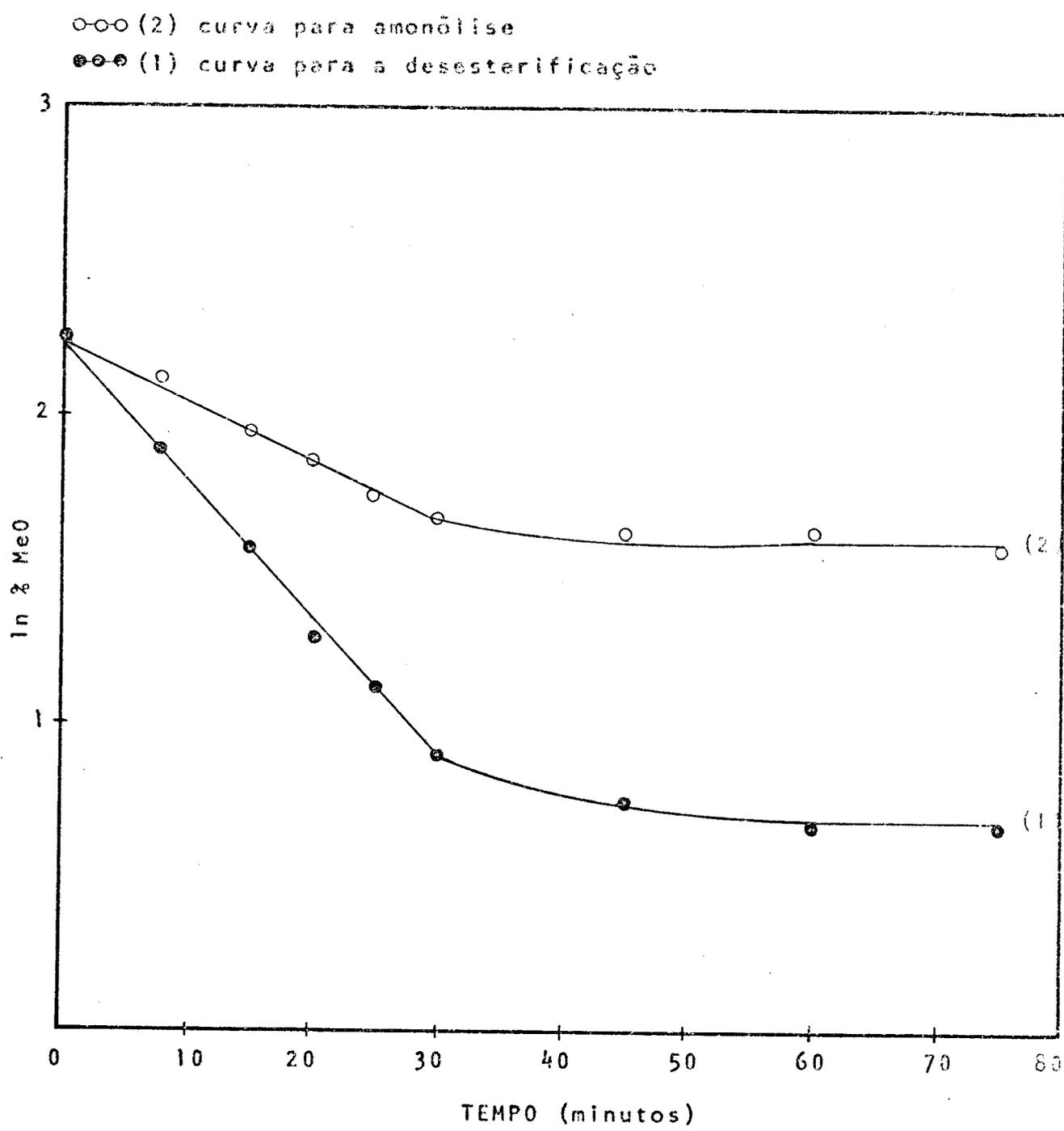


GRÁFICO 2 - Desesterificação com amônia em solução aquosa a 20°C

●—●—● (2) Curva para amonólise
○—○—○ (1) Curva para a desesterificação

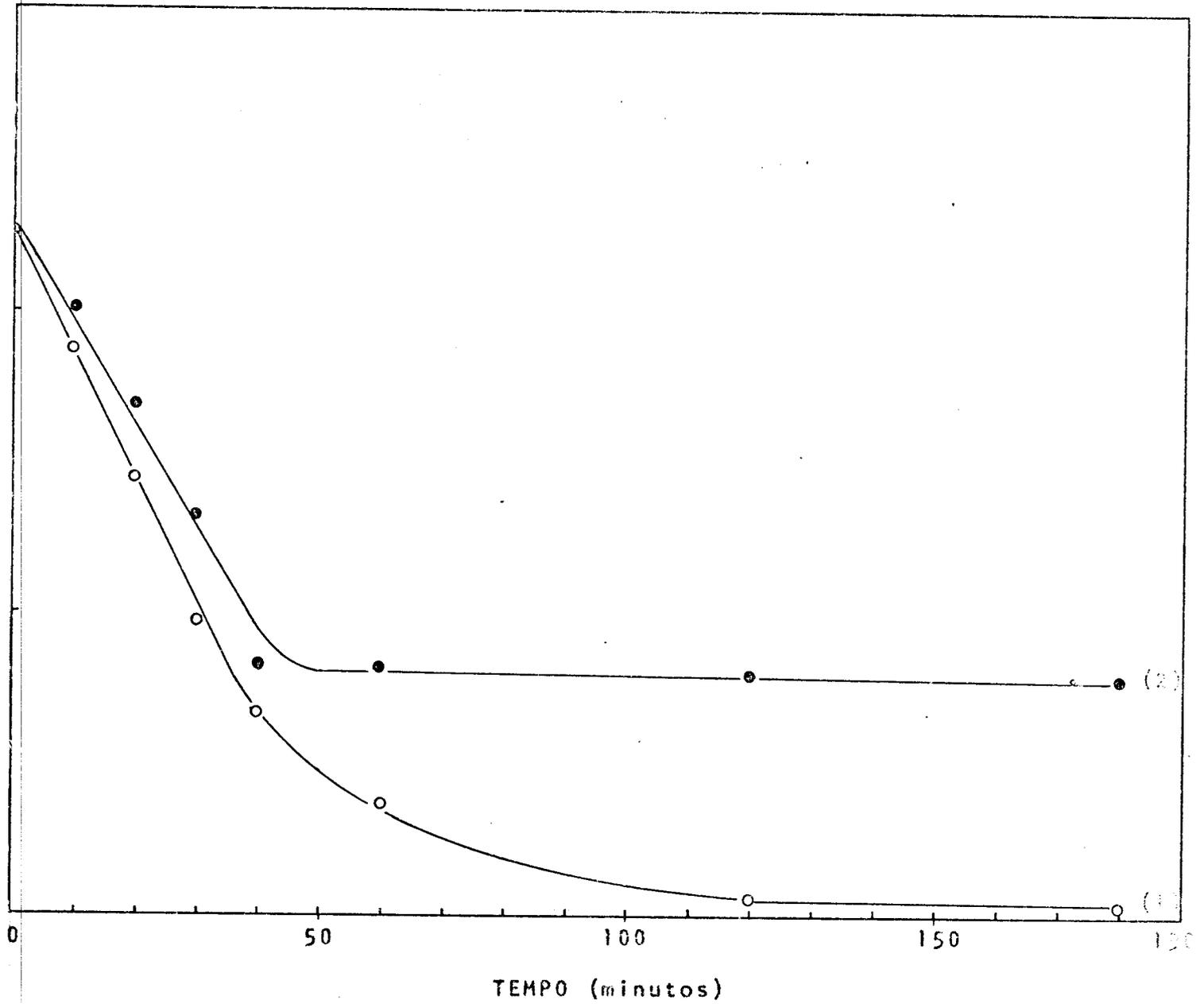


GRÁFICO 3 - Desesterificação com amônia em solução alcoólica 65% a 20°C (sistema 7).

- (2) Curva para amonólise
- (1) Curva para a desesterificação

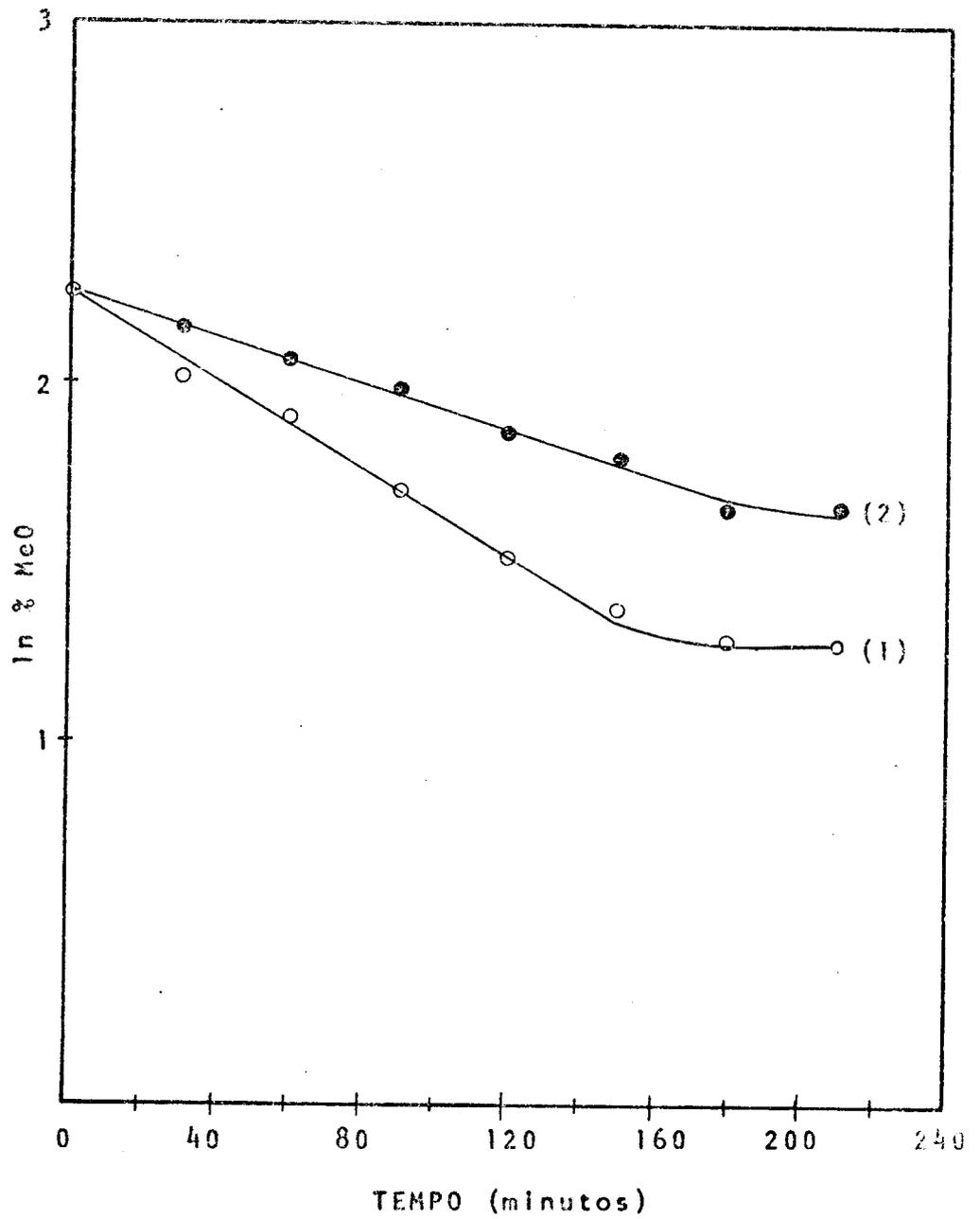


GRÁFICO 4 - Desesterificação com amônia em solução alcoólica 65% a 20°C. (sistema 8).

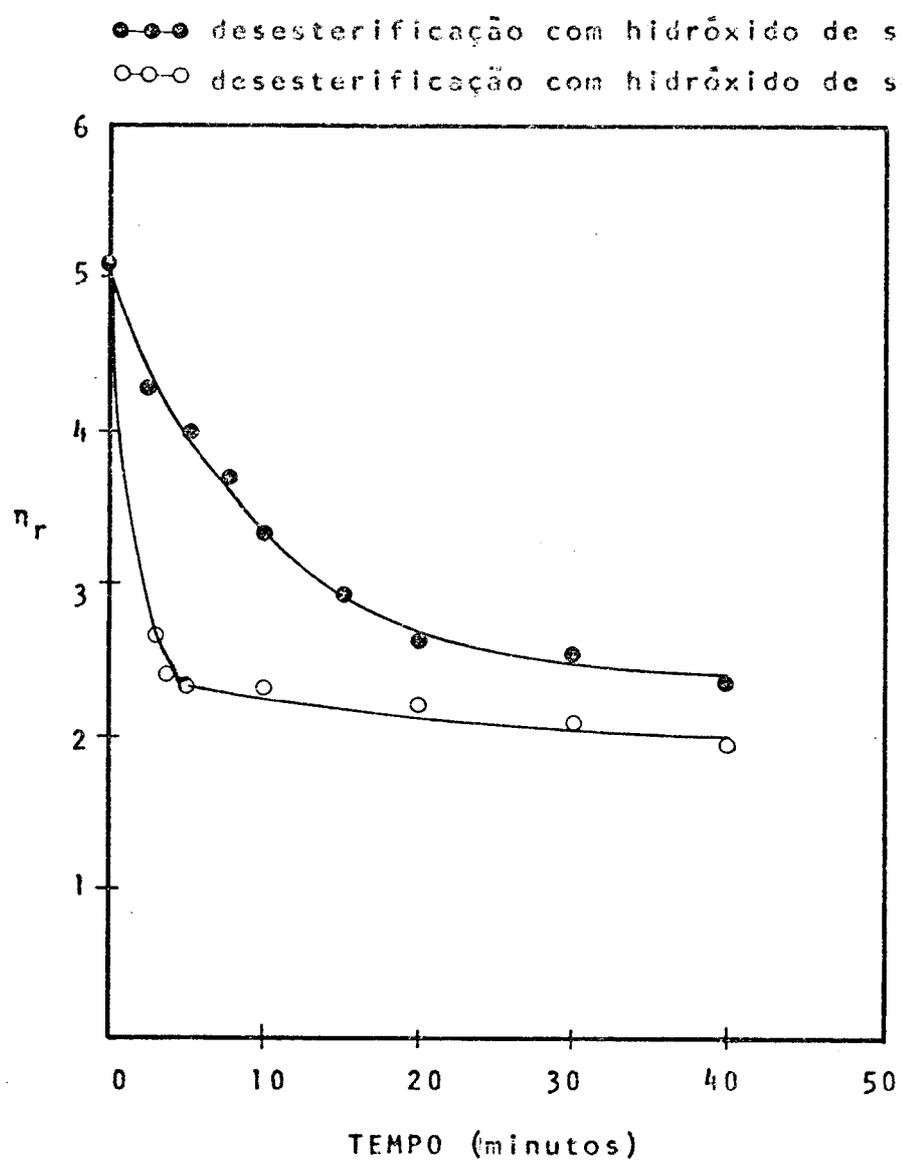


GRÁFICO 5 - Viscosidade relativa em função do tempo para desesterificação com hidróxido de sódio em solução aquosa.

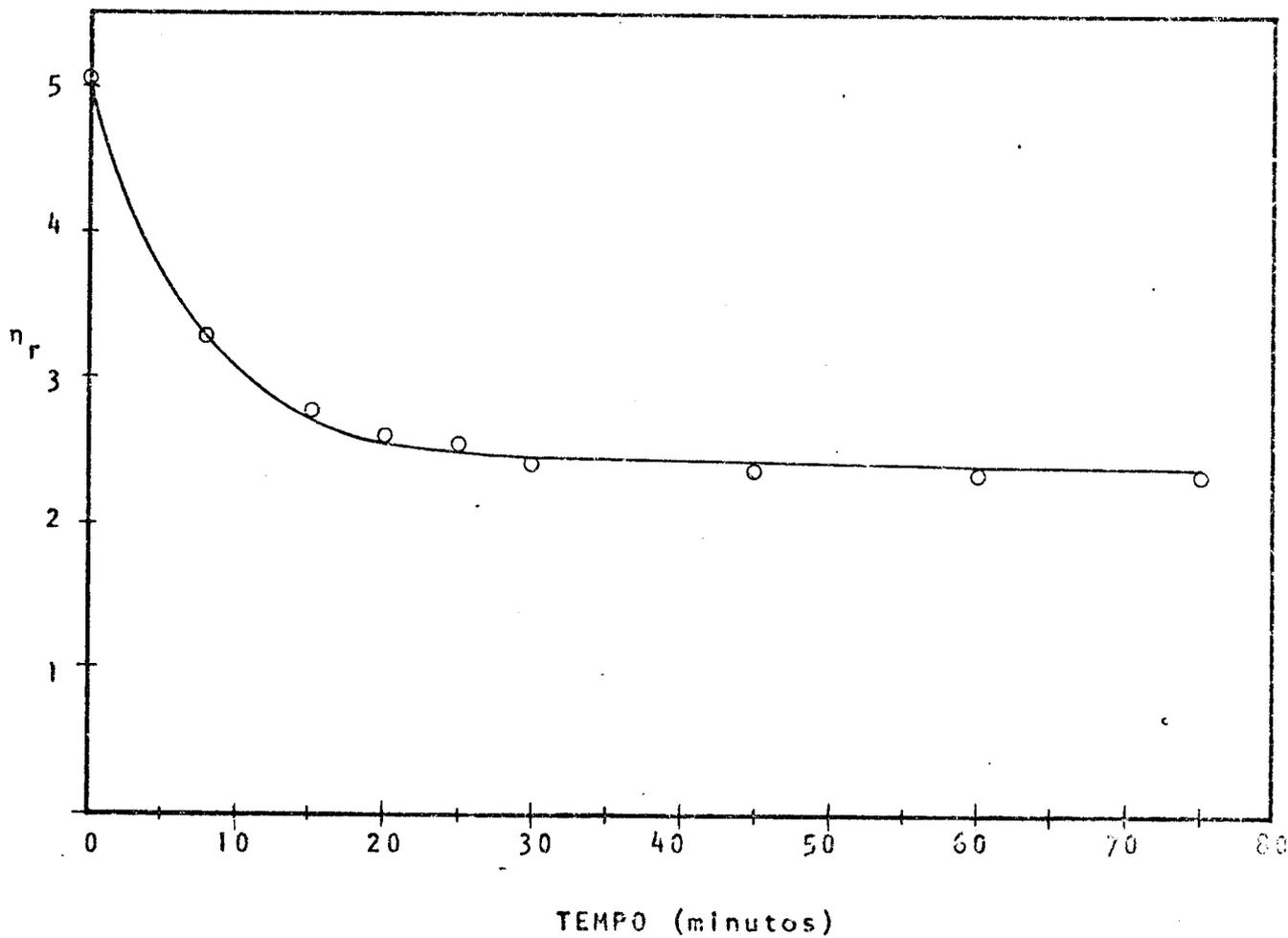


GRÁFICO 6 - Viscosidade relativa em função do tempo para a desesterificação com amônia em solução aquosa a 20°C.

●●● desesterificação no sistema 8
 ○○○ desesterificação no sistema 7

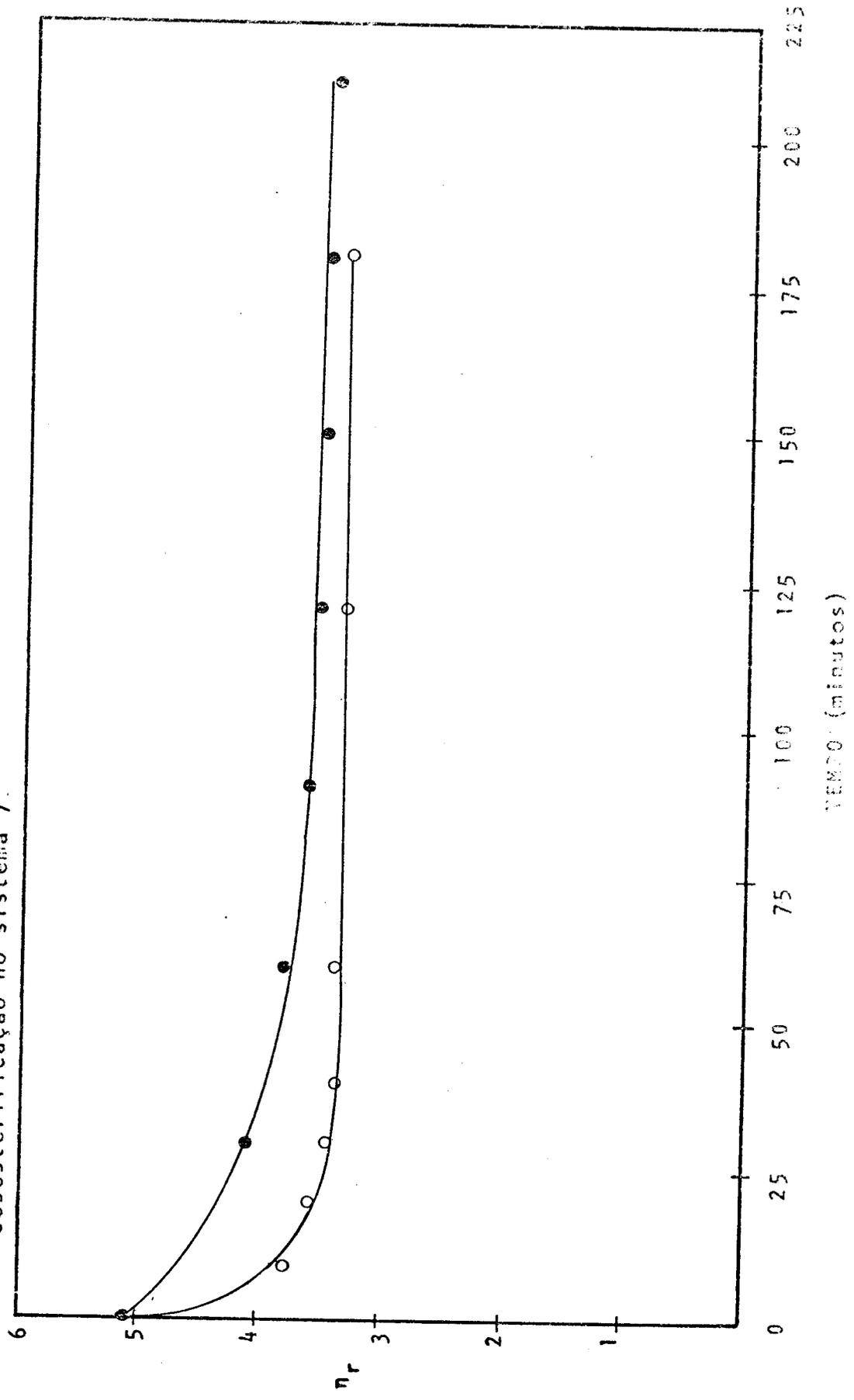


GRÁFICO 7 - Viscosidade relativa em função do tempo para a desesterificação com hidróxido de amônio em solução alcoólica 55%.

- ○ ○ desesterificação com hidróxido de sódio a 20°C
- △ △ △ desesterificação com hidróxido de sódio a 4°C
- ● ● desesterificação com amônia em solução aquosa
- ⊙ ⊙ ⊙ desesterificação com amônia em meio alcoólico 65% (sis. 7)
- □ □ desesterificação com amônia em meio alcoólico 65% (sis. 8)

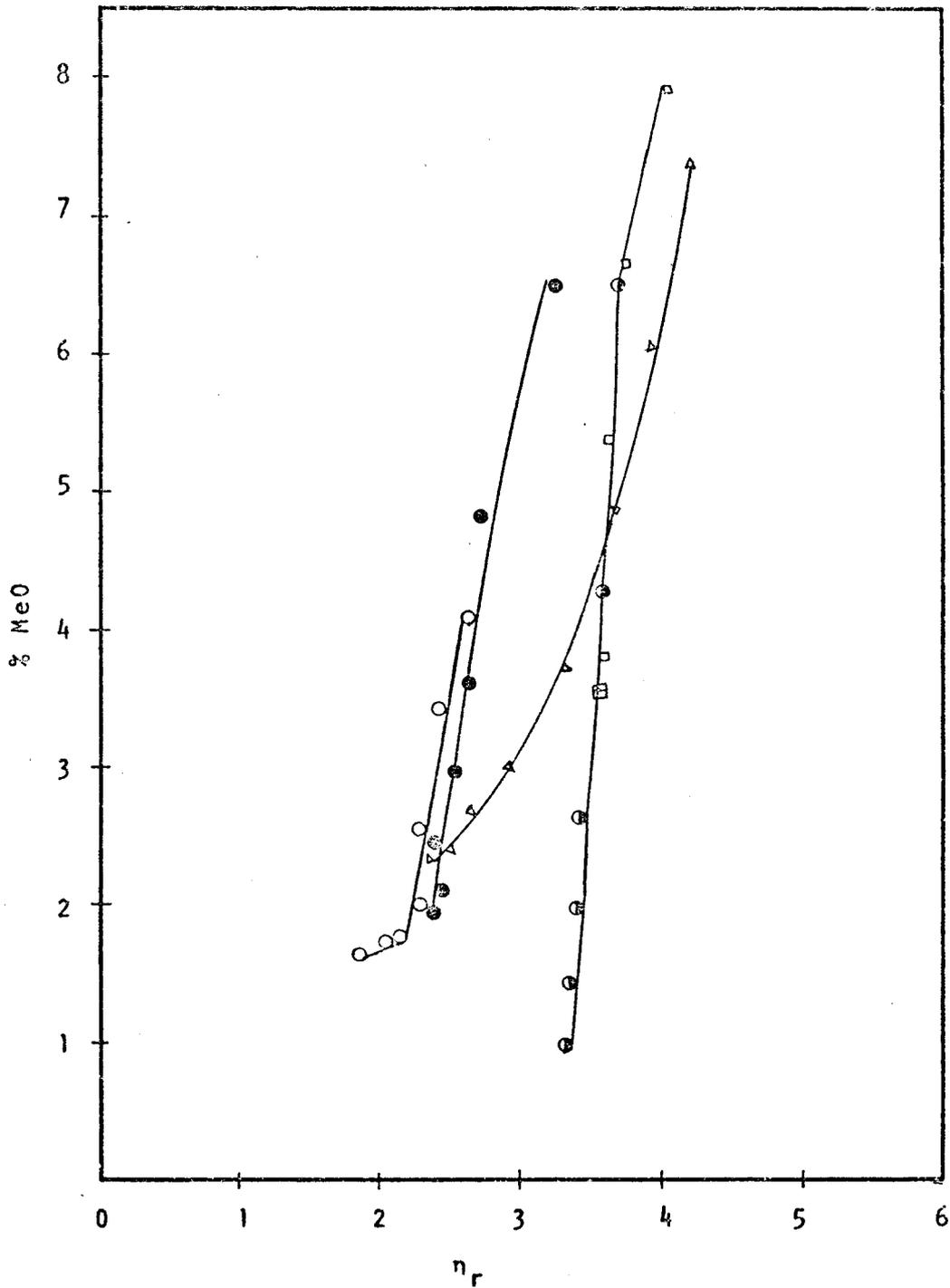


GRÁFICO 8 - Viscosidade relativa em função do teor de grupos metoxila para as desesterificações em diferentes condições.

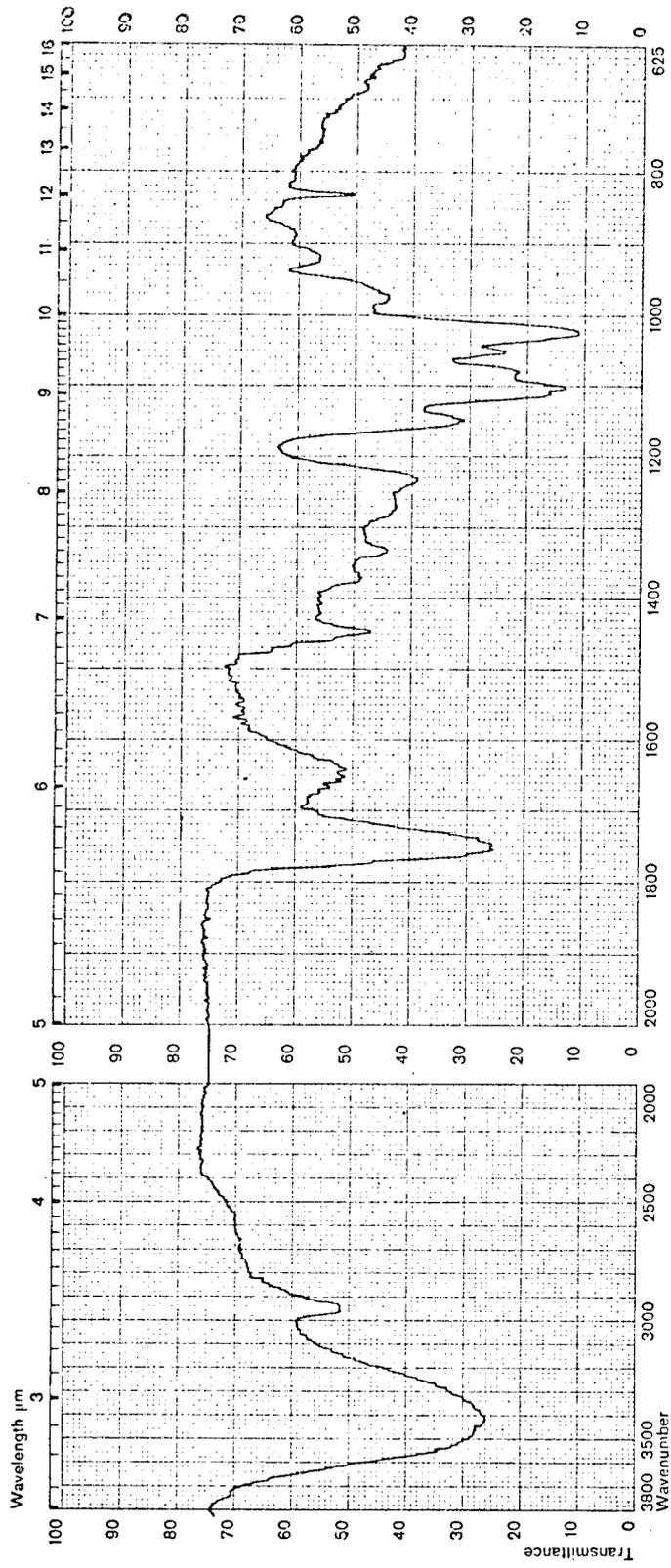


FIGURA 1 - Espectro infra-vermelho da pectina cítrica comercial purificada.

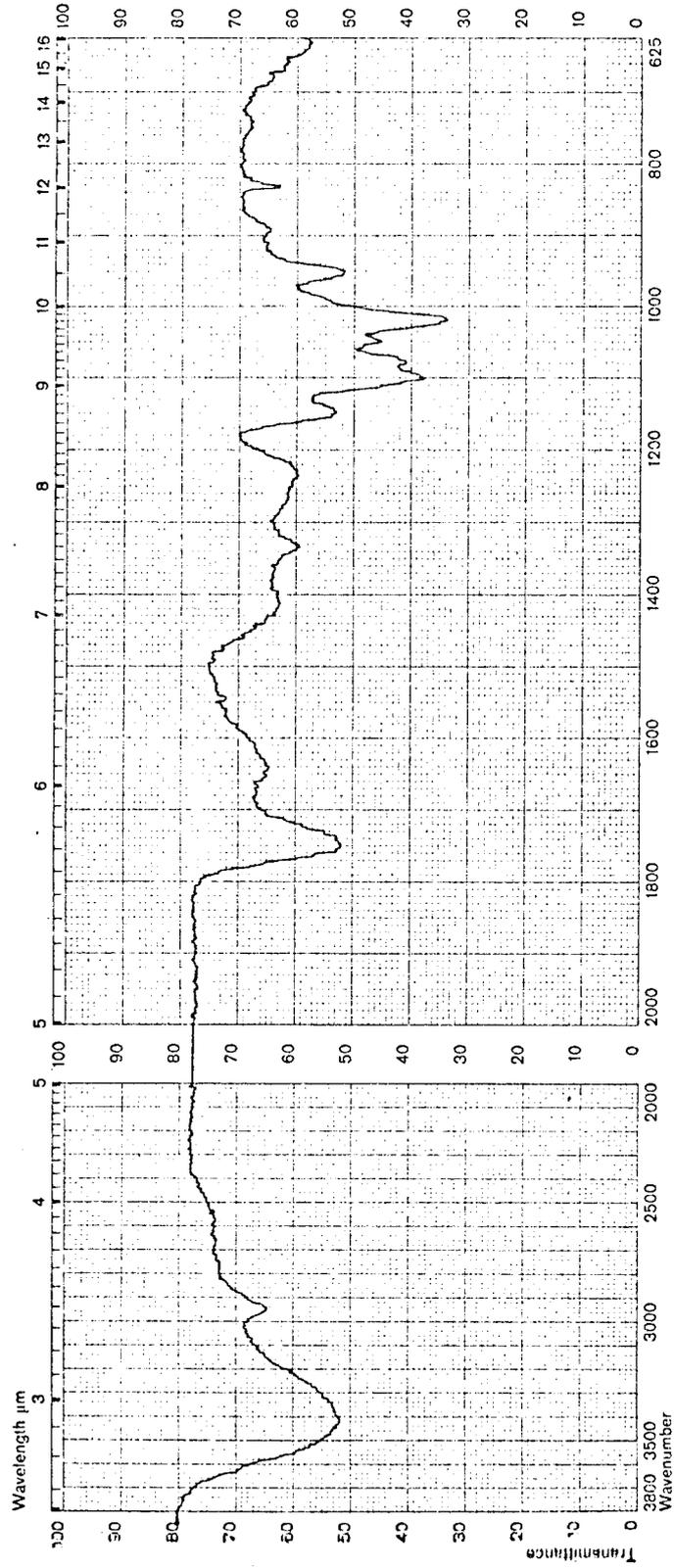


FIGURA 2 - Espectro infra-vermelho da pectina desesterificada com hidróxido de sódio por 30 minutos a 4°C.

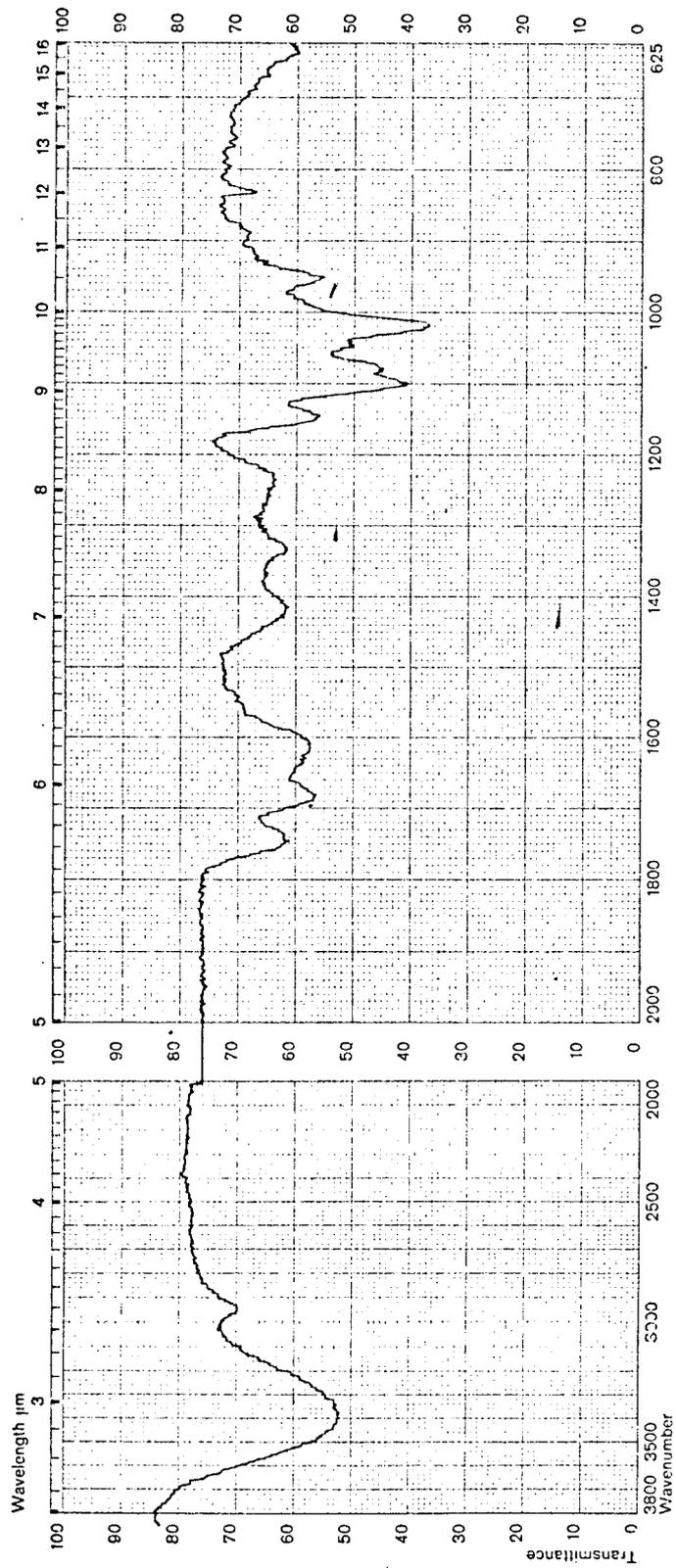


FIGURA 3 - Espectro infra-vermelho da pectina desesterificada com amônia em solução aquosa por 25 minutos a 20°C.

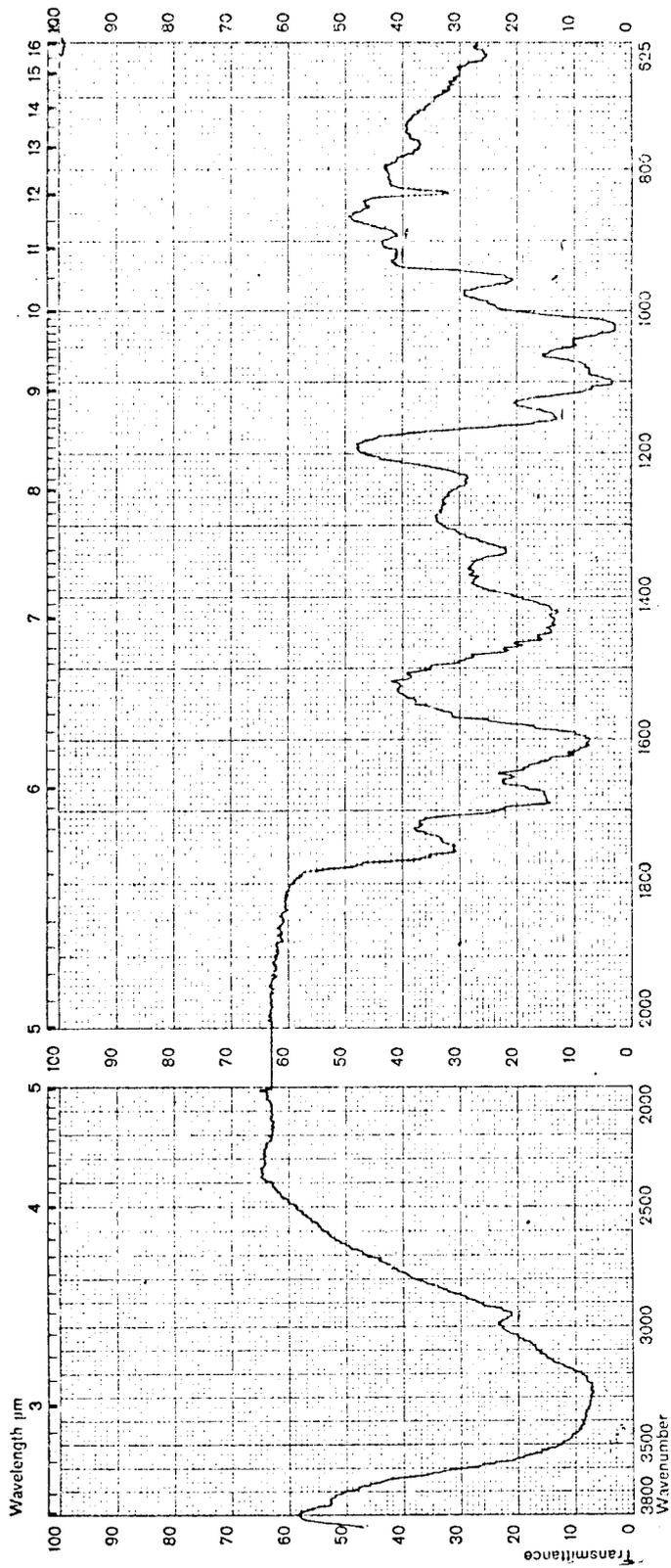


FIGURA 4 - Espectro infra-vermelho da pectina desesterificada com amônia em solução alcoólica 65% por 180 minutos a 20°C (sistema 8).