

Influência de Fatores Estruturais no Processo de Gelificação de Pectinas de Alto Grau de Metoxilação

Edimir M. Brandão e Cristina T. Andrade

Resumo: Duas amostras de pectina de alto grau de metoxilação, amostras A e B, foram purificadas, levando-se em conta os teores em grupos metoxílicos. Sua caracterização estrutural foi realizada através de dosagem de açúcares neutros com auxílio de cromatografia gasosa, GLC, e determinação do grau de metoxilação por técnicas de cromatografia líquida de alta resolução, HPLC. A amostra A apresentou teores mais elevados em açúcares neutros totais e grau de metoxilação mais alto. As viscosidades intrínsecas, $[\eta] = 3,68$ dL/g e $[\eta] = 3,56$ dL/g foram determinadas a pH 7,0 para as amostras A e B, respectivamente. A pH 3,0, valores menores foram obtidos. A gelificação das amostras foi investigada, em função da concentração e da temperatura, medindo-se os módulos de armazenamento, G' , e de perda, G'' , em função do tempo. A pH 3,0 a pectina A apresentou taxas de gelificação mais elevadas, tanto em função da concentração como da temperatura.

Palavras-chave: *Pectina, grau de metoxilação, gelificação*

Introdução

As pectinas, polissacarídeos estruturais, formam um grupo complexo de polissacarídeos que são encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares de plantas terrestres. Elas estão associadas à celulose, hemicelulose e lignina^[1-3] e são mais abundantes em frutos e em tecidos jovens, tais como cascas de frutas cítricas (30%), dentre as quais o limão é a fonte mais abundante^[1,4].

As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular^[1-3]. Além de seu papel importante no crescimento das células^[5], elas estão envolvidas em interações com agentes patogênicos, e a sua quan-

tidade e natureza são determinantes para a textura de frutos e vegetais em geral, durante o seu crescimento, amadurecimento, armazenamento e processamento^[6].

Estruturalmente, as moléculas de pectina são constituídas de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de (1→4)- α -D-ácido galacturônico, sendo que parte destas unidades apresenta-se esterificada, como éster metílico (Figura 1). As cadeias de resíduos galacturonato são, porém, interrompidas por unidades de (1→2)- α -L-ramnose, às quais estão ligadas cadeias laterais, formadas por açúcares neutros. Essas cadeias laterais são responsáveis pela união das moléculas de pectina à matriz polissacarídica da parede celular vegetal^[2,7,8].

Edimir M. Brandão e Cristina T. Andrade, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco J, C.P. 68525, CEP:21945-970, Rio de Janeiro, RJ.

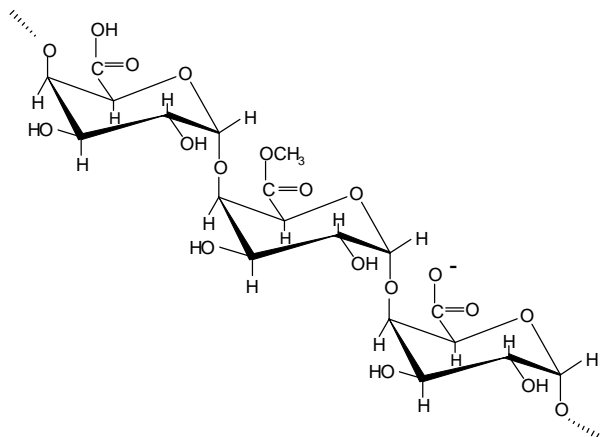


Figura 1. Estrutura química da cadeia de pectina^[29].

Embora o ácido D-galacturônico seja o principal açúcar constituinte das substâncias pecticas em geral, proporções variáveis de outros açúcares, tais como D-galactose, L-arabinose, D-xilose, L-ramnose, L-fucose e traços de 2-O-metilfucose também podem ser encontrados^[8-10].

Genericamente, as pectinas são subdivididas em duas classes, uma com alto grau de metoxilação (>50%), HMP, e a outra com baixo grau de metoxilação (<50%), LMP, que pode também possuir grupos amida. Comercialmente, as pectinas com alto grau de metoxilação apresentam teores na faixa 55 a 75%, já nas de baixo grau de metoxilação, esses teores variam na faixa 15 a 45%. Quando amidadas, as pectinas de baixo teor em grupamentos metoxílicos apresentam composição em grupamentos amida^[11] na faixa 10 a 25%.

As HMP possuem considerável poder gelificante e são amplamente usadas na gelificação de sucos de frutas para a obtenção de geléias^[1]. A presença de cadeias laterais, principalmente com unidades de arabinose e galactose^[8,12], afeta significativamente as propriedades funcionais das pectinas, tais como solubilidade, gelificação, formação de filme e propriedades reológicas, além de favorecer a agregação em soluções concentradas^[8].

Pectinas com alto grau de metoxilação gelificam em meio ácido, em presença de altas concentrações de um co-soluto, geralmente sacarose. Este processo de gelificação é complexo, havendo, ainda, divergência sobre seu mecanismo^[7,13,14].

As pectinas são polissacarídeos muito utilizados industrialmente, principalmente em produtos alimentícios, aos quais são adicionados em peque-

nas quantidades. O objetivo deste trabalho foi o de investigar as propriedades reológicas de pectinas de alto grau de metoxilação produzidas no Brasil. O processo de gelificação em presença de sacarose foi estudado através da variação dos parâmetros viscoelásticos na vizinhança de transição de fase sol-gel. Os resultados obtidos permitiram inferir sobre a hierarquia das forças de ligação envolvidas na formação do gel.

Experimental

Duas amostras de pectina cítrica, denominadas pectinas A e B, fornecidas pela Braspectina (Limeira, SP), com alto teor em grupos metoxílicos e com diferentes graus de metoxilação foram utilizadas neste trabalho. Foram purificadas por meio de dissolução em água destilada e deionizada e filtração, sob pressão de 10^5 Pa de nitrogênio comprimido, através de membranas Millipore de 3 e 1,2 μm de diâmetro de poro. Após a filtração, a forma predominantemente sódica da pectina foi obtida por meio de troca iônica em solução de NaCl (levando-se em conta a fração molar pectina/grupos carboxílicos de 1:0,25 para a pectina A e de 1:0,35 para a pectina B). O polímero foi recuperado pela precipitação em álcool etílico, e seco sob pressão reduzida a temperatura ambiente.

A razão galacturonato de metila/ácido galacturônico ou grau de metoxilação, GM, das amostras A e B foi determinada após hidrólise ácida do polímero, e os monossacarídeos resultantes analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC^[15].

Os teores de açúcares neutros das amostras de pectina foram obtidos mediante hidrólise ácida, seguida de redução e posterior acetilação. A análise dos açúcares resultantes foi realizada por cromatografia gasosa, GLC^[16], utilizando-se a arabinose como padrão interno. A hidrólise total das pectinas foi realizada em solução aquosa 2 M de ácido trifluoroacético, a 100°C, durante 3 h. O produto da hidrólise foi neutralizado com carbonato de bário. O produto de hidrólise era levado à secura, sob pressão reduzida, a 45°C. 200 μL de uma solução redutora de 2,5 mg/mL de NaBH_4 em 0,5 M de NH_4OH eram adicionados ao produto de hidrólise que, após homogeneização era deixado em repouso por 1 h a temperatura ambiente. Após esse período,

as soluções eram neutralizadas com ácido acético e os produtos de redução levados à secura, sob pressão reduzida, a 45°C. 0,2 mL de uma mistura anidrido acético: 4-(dimetilamina)-piridina, na proporção 10:1, foi adicionado sobre o produto de redução e homogeneizado. Esta acetilação foi realizada a 100°C por um período de 1 h. Após repouso por 12 h, os alditóis acetilados foram extraídos com HCl₃.

Dois tipos de reômetros foram utilizados neste trabalho para a caracterização reológica das duas amostras; o reômetro Contraves Low-shear 40, LS-40, e o reômetro Haake RheoStress, RS-100. O LS-40 permite a determinação de medidas de viscosidade e de propriedades viscoelásticas dentro de um regime de baixo cisalhamento. O RheoStress RS-100 é um reômetro rotacional de tensão controlada e que também segue o princípio de Couette em regime de cisalhamento alto. As soluções eram colocadas no sistema de medida e permaneciam em repouso por 10 min. antes da realização dos testes. Em todas as medidas realizadas sob temperatura superior a 25°C, foi utilizado um sistema que mantinha a amostra encapsulada, evitando a evaporação do solvente.

Para a determinação das viscosidades intrínsecas das amostras, soluções-mãe das amostras de pectina a 2,0 g/L foram preparadas em 0,1 M de NaCl, a pH 3,0 e a pH 7,0 e filtradas em membranas Millipore de 0,45 µm de diâmetro de poro. Soluções diluídas em 0,1 M de NaCl, a pH 3,0 e a pH 7, foram analisadas sob cisalhamento contínuo em reômetro LS-40, equipado com geometria de cilindros coaxiais (MS-DIN 412), na faixa de taxa de cisalhamento, $\dot{\gamma}$, correspondente ao platô newtoniano. As concentrações das soluções foram escolhidas de modo a fornecer viscosidades relativas entre 1,2 a 2,0, e garantir a extrapolação linear à concentração zero^[17]. As equações de Huggins (Equação 1) e de Kraemer (Equação 2) foram utilizadas.

$$(\eta_{sp})/C = [\eta] + k_H[\eta]^2C \quad (1)$$

$$(\ln \eta_{red})/C = [\eta] - k_K[\eta]^2C \quad (2)$$

onde k_H e k_K são os coeficientes de Huggins e de Kraemer, respectivamente, e C é a concentração da solução, dada em g/dL.

A transição de fase sol-gel foi monitorada medindo-se os módulos de armazenamento, G' , e de

perda, G'' , a uma frequência fixa de 0,464 Hz como uma função do tempo, no RheoStress RS-100, equipado com um sistema cone-placa (4°/35 mm).

Para o estudo da cinética de gelificação, a quantidade necessária de pectina era dispersa em água destilada e deionizada, aquecida a 95°C durante 5 minutos. Sob aquecimento e agitação constantes, a quantidade necessária de sacarose era adicionada em três porções e o sistema pectina-sacarose, a pH 3,0, era mantido a 95°C por um período de 15 minutos. A água perdida por evaporação era repostada e a amostra transferida para o sistema de medida do instrumento na temperatura da análise. O tempo decorrido desde o início do processo de aquecimento até o início da análise era de 18 minutos.

Resultados e Discussão

Os resultados de análise mostraram que a pectina A apresentou grau de metoxilação GM=64%, enquanto que na pectina B, GM=57%.

Na Tabela 1, são apresentados os teores de açúcares neutros e sua composição nas amostras das pectinas purificadas e analisadas por GLC. A pectina A contém um teor de açúcares neutros maior do que a pectina B (Tabela 1). Durante a extração da pectina, o processo mais utilizado produz pectina com grau de esterificação mais alto, geralmente entre 70 e 80%. Já as pectinas com menor grau de metoxilação são produzidas por desesterificação controlada de pectinas com alto grau de metoxilação, em meio ácido, básico ou enzimaticamente, sendo a desesterificação ácida a mais usada^[11]. Portanto, a diferença nos teores e

Tabela 1. Teor de açúcares neutros e sua composição nas amostras de pectina A e B.

Açúcar neutro	Pectina A	Pectina B
Ramnose	1,89	36,70
Fucose	25,95	—
Ribose	23,20	—
Arabinose	6,06	7,45
Manose	16,76	36,04
Galactose	26,14	19,81
Total de açúcares neutros (% m/m) contidos na pectina.	10,56	7,52

Nota: A composição está em % m/m, em relação ao total de açúcares neutros

composição dos açúcares neutros das amostras de pectina estudadas pode ser atribuída a diferenças nas fontes da matéria-prima.

Analisando a composição dos açúcares neutros na Tabela 1, verifica-se que o teor de L-ramnose aumenta na amostra B, em relação à amostra A. Por outro lado, a fucose e a ribose não são detectados na amostra B. Ainda, o teor de manose aumenta e o de galactose diminui na amostra B, em relação à amostra A. Isto pode ser explicado pelo fato de a ligação glicosídica (1→2) entre o C-1 do ácido galacturônico e o C-2 da ramnose ser uma ligação resistente à hidrólise ácida^[18,19], enquanto que as ligações dos outros açúcares neutros à ramnose são lábeis em meio ácido.

A Tabela 2 apresenta valores de viscosidade intrínseca, $[\eta]$. Pode-se verificar que esses valores a pH 7,0 são maiores do que a pH 3,0 para ambas as amostras. O valor mais baixo de $[\eta]$ a pH 3,0 pode ser atribuído à contração da cadeia de pectina, um polieletrólito, devido à supressão de repulsões eletrostáticas intermoleculares e/ou a um aumento na interação segmentar intramolecular. Comparando os valores de $[\eta]$ de ambas as pectinas a pH 7,0, a pectina B possui um valor menor, o que era inesperado, pois a pectina B possui um GM menor. A pH 3,0, os resultados estão concordantes com o esperado, pois em pectinas de alto grau de metoxilação a viscosidade das soluções geralmente aumenta com o grau de metoxilação crescente.

Testes preliminares mostraram que a concentração mínima de pectina que resultava em gel, em espaço de tempo relativamente curto, era de aproximadamente 3 g/L. O pH necessário para a formação desses géis foi testado na faixa de 2,0 a 3,5, sendo o pH 3,0 escolhido. A concentração de sacarose escolhida foi de 60% (em peso), após avaliações na faixa de 55 a 80% (em peso). Para estudar o sistema pectina/sacarose na transição de fase sol-gel foram escolhidas as concentrações de pectina na faixa de 3 a 10 g/L.

Tabela 2. Valores de $[\eta]$ e k_H para as amostras de pectinas purificadas, a 25°C, em 0,1 M NaCl, e a pH 3,0 e 7,0.

Sistema	Pectina A			Pectina B		
	$[\eta]$ (dl/g)	k_H	r^2	$[\eta]$ (dl/g)	k_H	r^2
0,1 M NaCl pH 3,0	3,36	0,60	0,998	3,24	0,70	0,997
0,1 M NaCl pH 7,0	3,68	0,21	0,984	3,56	0,30	0,989

Na Figura 2 são apresentadas, como exemplos, as curvas que representam a evolução de G' e G'' (a uma frequência constante de 0,464 Hz) em função do tempo de gelificação e da concentração da pectina A (na faixa de concentração de 3 a 10 g/L) em presença de 60% de sacarose, a 25°C. Para ambos os polímeros, no início do processo de gelificação, o módulo de perda é maior que o módulo de armazenamento, $G'' > G'$, caracterizando um comportamento viscoso do sistema. Com a evolução do tempo, G' e G'' aumentam, como consequência do aumento do número de zonas junção. O G' aumenta mais acentuadamente do que o G'' , e após a interseção das duas curvas, G' passa a exceder G'' .

O critério utilizado neste trabalho para determinar o ponto gel foi o tempo necessário para que G' e G'' se igualassem, em uma dada frequência^[20,21]. Na verdade, a igualdade de G' e G'' não deve ser considerada como uma propriedade universal do ponto gel, pois o tempo necessário para que a interseção de G' com G'' ocorra pode ser muito próximo, mas não é idêntico ao tempo necessário para a transição de fase sol-gel. No entanto, esse critério é simples e vem sendo utilizado por muitos autores. Deve-se, porém, levar em conta que o momento de interseção de G' com G'' depende da frequência do experimento dinâmico e, portanto, não deve ser usado como um critério absoluto para a determinação do ponto gel^[20,21].

Após a interseção de G' com G'' , G' continua tendo uma grande variação crescente, enquanto que o G'' também aumenta, mas menos acentuadamente. Este aumento rápido de G' resulta da formação rápida de zonas de junção entre cadeias de pectina que formam a rede do gel.

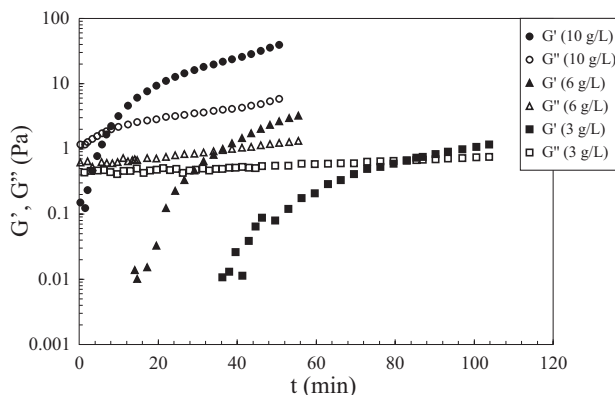


Figura 2. Cinéticas de gelificação para a pectina A em presença de 60% de sacarose na vizinhança de transição de fase sol-gel em função da concentração de polímero, a 25°C, e a 0,464 Hz.

Ainda na Figura 2, as curvas que representam G' como uma função do tempo, para diferentes concentrações de pectina A, mostram que com o aumento da concentração, a variação de G' é mais acentuada antes da transição de fase sol-gel. Entretanto, a concentrações mais baixas, G' aumenta mais lentamente seguido por um aumento relativamente mais acentuado. Além disso, o tempo necessário para o cruzamento de G' e G'' aumenta com o decréscimo da concentração. Comportamento similar foi encontrado para outros biopolímeros^[22,23] como por exemplo o sistema pectina de baixo grau de metoxilação/cálcio^[24].

A Figura 3 mostra que o tempo de transição de fase sol-gel, t_g , diminui com o aumento de concentração de pectina, o que está de acordo com dados reportados na literatura^[18]. Porém, para as pectinas A e B, os valores absolutos são diferentes. O perfil da curva t_g (min) versus C (g/L) confirma que o grau de metoxilação é o fator intrínseco mais importante para a gelificação de amostras de HMP, controlando a taxa de formação das zonas de junção da rede durante o processo de gelificação^[8, 25]. A transição de fase sol-gel para a pectina A que apresenta o maior grau de metoxilação é sempre mais rápida, para uma dada concentração, do que para a pectina B, em todas as concentrações estudadas. Geralmente, para as HMP, o tempo de gelificação é inversamente proporcional ao grau de esterificação^[26].

O valor de G' no ponto gel é plotado como uma função da concentração para as pectinas A e B na Figura 4. A pectina A, além de necessitar de

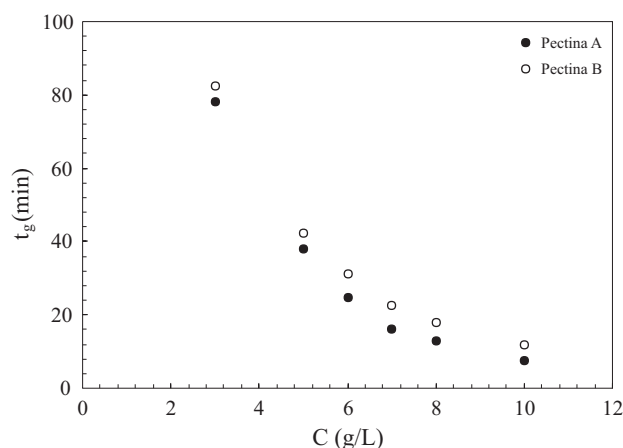


Figura 3. Variação do tempo de transição de fase sol-gel para as amostras de pectina A e B em presença de 60% de sacarose, em função da concentração de polímero, a 25°C e a 0,464 Hz.

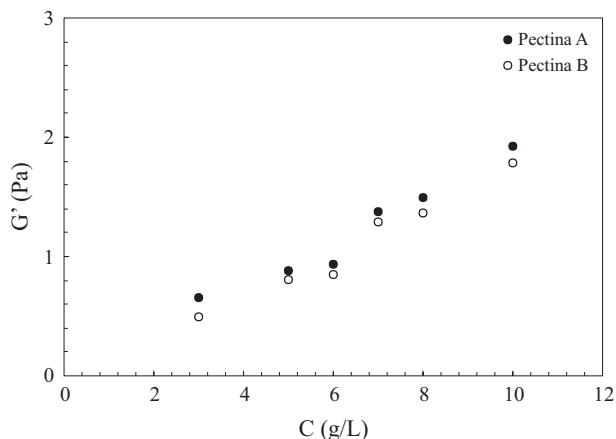


Figura 4. Variação do módulo de armazenamento, no ponto de interseção de G' com G'' , em função da concentração, para as amostras de pectina A e B.

menor tempo para a transição, fornece valores de G' maiores do que aqueles da pectina B, em toda a faixa de concentração estudada. Provavelmente, o gel de pectina A possui um número maior de zonas de junção.

A investigação do processo de gelificação em sistemas HMP-sacarose tem mostrado que o tempo de gelificação apresenta uma dependência complexa com a temperatura^[27,28]. As interações hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações de hidrogênio contribuem para a formação e estabilização da rede do gel e essas interações são afetadas pela temperatura.

No presente trabalho, a formação do gel foi investigada em função da temperatura, medindo-se os valores de G' e de G'' a uma frequência fixa de 0,464 Hz, como uma função do tempo, para ambas as amostras de pectina, na concentração de 7 g/L. Como exemplo, a Figura 5 mostra os resultados obtidos para a pectina A. Tanto para esta pectina como para a pectina B, G' e G'' aumentam em função do tempo, para todas as temperaturas estudadas. Pode-se observar que a taxa de variação dos módulos e o tempo de gelificação, t_g , dependem da temperatura na qual o experimento foi realizado. A 15°C, a transição de fase sol-gel é mais lenta. A 25°C, o valor de G' no ponto gel é maior do que aqueles obtidos sob as demais temperaturas.

Para ilustrar a influência da temperatura no processo de gelificação o gráfico da Figura 6 foi elaborado. Esta figura mostra a dependência do tempo de gelificação em função da temperatura, para as pectinas A e B. Nas faixas de temperatura de 15 a 25°C e de

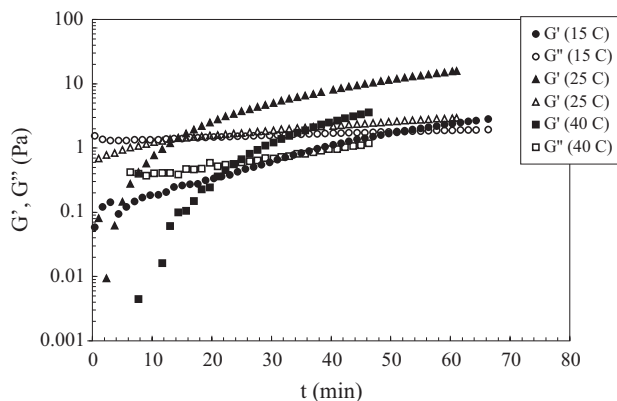


Figura 5. Cinética de gelificação para a pectina A a 7 g/L, em presença de 60% de sacarose, na vizinhança da transição de fase sol-gel em função da temperatura, a 0,464 Hz.

15 a 35°C para as pectinas A e B, respectivamente, o tempo necessário para a transição de fase sol-gel decresce. Este resultado pode ser atribuído à contribuição crescente das interações hidrofóbicas à formação da rede tridimensional, com o aumento da temperatura. A pectina A sofre uma influência maior da temperatura por possuir maior grau de metoxilação.

Os resultados das Figuras 5 e 6 evidenciam que há uma temperatura ótima para o processo cinético de gelificação, a qual varia com o grau de metoxilação. Para a pectina A a temperatura ótima de gelificação fica em torno de 25°C e, para a pectina B, o tempo de transição de fase sol-gel atinge a estabilidade a partir de 28°C. A nível molecular, a temperatura ótima corresponde a um máximo da cooperação das interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio. Analisando a variação do tempo de gelificação com a temperatura, pode ser notado que,

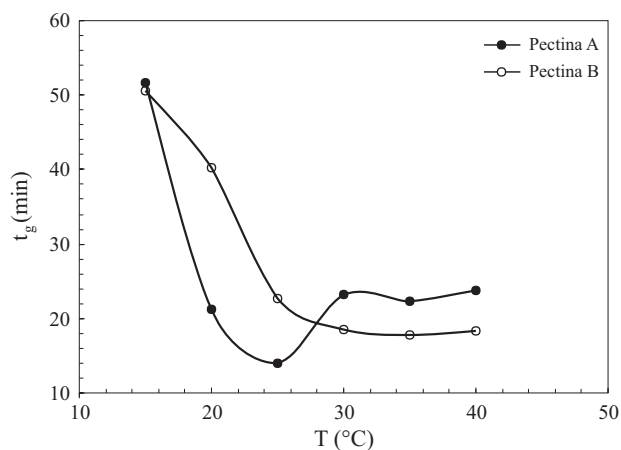


Figura 6. Variação do tempo de transição de fase sol-gel para as amostras de pectina A e B, a 7,0 g/L e 60% de sacarose, em função da temperatura, a 0,464 Hz.

entre 15 e 25°C, ocorre um decréscimo acentuado no tempo de gelificação e que, na faixa de 30 a 40°C, o tempo de gelificação permanece praticamente constante. Entretanto, para a pectina A, na faixa de temperatura analisada, um comportamento interessante é observado. A partir de aproximadamente 25°C, o tempo de gelificação volta a aumentar e passa a exceder os valores obtidos para a pectina B no mesmo intervalo de temperatura.

Com base nos resultados experimentais obtidos no presente trabalho, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas contribuem para formação da rede de HMP-sacarose. Essas ligações secundárias sofrem diferentemente o efeito da temperatura; enquanto que as ligações de hidrogênio são estabilizadas pelo abaixamento de temperatura, as ligações hidrofóbicas são formadas a temperaturas mais elevadas^[13,14,27].

O método utilizado neste trabalho visava a obtenção de géis bem estruturados. Para tal, foi planejado o aquecimento inicial das soluções, para favorecer a formação de ligações hidrofóbicas e que levam a uma conformação macromolecular compacta.

Com o resfriamento, um número maior de ligações de hidrogênio serão formadas, tendo-se em vista a proximidade entre os sítios ativos.

Desta forma, a temperaturas inferiores a 30°C, a rede tridimensional é formada por uma maior cooperação entre ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, e que necessitam de um período de tempo maior para a sua formação e que levam a estruturas mais fortes^[14]. Por outro lado, com o aumento da temperatura, o ponto gel é caracterizado por rede tridimensional mais fraca, devido à menor contribuição de ligações de hidrogênio, e que se forma mais rapidamente devido à contribuição predominante de ligações hidrofóbicas^[13,14].

Conclusões

A redução nos valores das viscosidades intrínsecas, observados a pH 3,0, indicam uma tendência à contração das cadeias de pectina em solução, através de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas intramoleculares.

O grau de metoxilação mostrou ser o fator intrínseco mais importante para a gelificação de pectinas, uma vez que a transição de fase sol-gel

para pectina A foi sempre mais rápida, pois em condições de baixo pH seqüências de cadeias esterificadas são capazes de formar associações estáveis a temperaturas mais altas e que são estabilizadas com o decréscimo da temperatura.

No ponto da transição de fase sol-gel, a pectina A apresentou valores de G' iguais a G'' sempre maiores do que aqueles da pectina B, possivelmente por formar um número maior de zonas de junção.

O sistema pectina/sacarose mostrou ser bastante complexo durante o processo de gelificação em função da temperatura, com predominância de interações do tipo ligação de hidrogênio a baixas temperaturas e interações hidrofóbicas a temperaturas mais altas. Portanto, dependendo da temperatura, as zonas de junção são formadas e estabilizadas por contribuições diferentes de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, o que afeta a estrutura da rede e o comportamento viscoelástico no ponto de transição de fase sol-gel.

Em tempo relativamente curto, a temperatura ótima de gelificação pôde ser determinada para as amostras de pectina.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Braspectina S.A. pelo fornecimento das amostras, ao CENPES/PETROBRAS pela utilização do Reômetro RS100 e à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referencias Bibliográficas

- 1 - Aspinall, G.O. – “Pectins, plants gums, and other plant polysaccharides”. in: The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry. V. Pigman & D Horton (ed.). New York: Academic Press. v.2b, p. 515 (1970).
- 2 - Hwang, J.; Pyun, Y. R. & Kokini, J.L. - Food Hydrocoll., 7, p. 39 (1993).
- 3 - Ptitchkina, N.M.; Danilova, I.A.; Doxastakis, G.; Kasapis, S. & Morris, E.R. - Carbohydr. Polym., 23, p. 265 (1994).
- 4 - Axelos, M.A.V.; Thibault, J.F & Lefèbvre, J. - Int. J. Biol. Macromol., 11, p. 186 (1989).
- 5 - Stoddart, R.W.; Barrett, A.J. & Northcote, D.H. - Biochem. J., 102, p. 194 (1967).
- 6 - Rombouts, F.M. & Pilnik, W. - Process Biochem., 13, p. 9 (1978).
- 7 - Powell, D.A.; Morris, E.R.; Gidley, M.J. & Rees, D.A. - J. Mol. Biol., 155, p. 517 (1982).
- 8 - Hwang, J. & Kokini, J.L. - Carbohydr. Polym., 19, p. 41 (1992).
- 9 - Grasdalen, H.; Bakoy, O.E. and Larsen, B. - Carbohydr. Res., 184, p. 183 (1988).
- 10 - Leitão, M.C.A.; Alcatraz Silva, M.L.; Januário, M.I.N. & Azinheira, H.G. - Carbohydr. Polym., 26, p. 165 (1995).
- 11 - Caderno de Informações técnicas – Braspectina S.A (1990).
- 12 - Fishman, M.L.; Pfeiffer, P.T.; Barford, R.A. and Doner, L.W. - J. Agric. F. Chem., 32, p. 372 (1984).
- 13 - Chronakis, I.S.; Kasapis, S. and Abeysekera, R. - Food Hydrocoll., 11, p. 271 (1997).
- 14 - Al-Ruqaie, I.M.; Kasapis, S. and Abeysekera, R. - Carbohydr. Polym., 34, p. 309 (1997)
- 16 - Albershein, P.; Nevins, D.J., English, P.D. & Karr, A. - Carbohydr. Res., 5, p. 340 (1967).
- 17 - Morris, E.R. & Ross-Murphy, S.B. “Chain flexibility of polysaccharides and glycoproteins from viscosity measurements”. in: Techniques in Carbohydr. Metabolism, B310, D.H. Northcode (ed.), Elsevier/ North Holland Scientific Publishers Ltd., Amsterdam (1981).
- 18 - Bemiller, J.N. - Adv. Carbohydr. Chem., 22, p. 25 (1967).
- 19 - Thibault, J. F.; Renard, C. M. G. C.; Axelos, M. A. V.; Roger, P. & Crépeau, M. J. – Carbohydr. Research, 238, p. 271 (1993).
- 20 - Stading, M. & Hermansson, A.M. – Food Hydrocoll., 4, p. 121 (1990).
- 21 - Stading, M. & Hermansson, A.M. - Carbohydr. Polym., 22, p. 49 (1993).
- 22 - Tang, J.; Tung, M.A. & Zeng, Y. – Carbohydr. Polymers, 29 (1), p. 11 (1996)
- 23 - Michel, A.S.; Mestdagh, M.M., & Axelos, M.A.V. – I. J. Biol. Macromol., 21, p. 195 (1997).
- 24 - Ross-Murphy, S.B. - Rheologica Acta, 30, p. 401 (1991).
- 25 - Powell, D.A.; Morris, E.R.; Gidley, M.J. & Rees, D.A. - J. Mol. Biological, 155, p. 517 (1982)
- 26 - Smit, C.J.B. & Bryant, E.F. - J. Food Sci., 33, p. 262 (1968).
- 27 - Rao, M.A.; Van Buren, J.P. and Cooley, H.J. - J. Food Sci., 58, p. 173 (1993).
- 28 - Rolin, C. – “Pectin”. in: Industrial Gums.. Whistler, R.L and BeMiller, J.N. (ed). Academic Press. London. p. 257 (1993).
- 29 - Hourdet, D. & Muller, G. – Carbohydr. Polym., 16, p. 409 (1991).

Recebido: 18/01/99
Aprovado: 27/09/99