

GISELE ELIANE PERISSUTTI

**Estudo da Interação entre Galactomanana de *Mimosa scabrella*  
Bentham e Proteínas do Leite**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área Bioquímica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

CURITIBA

1999

GISELE ELIANE PERISSUTTI

**Estudo da Interação entre Galactomanana de *Mimosa scabrella*  
Bentham e Proteínas do Leite**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área Bioquímica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

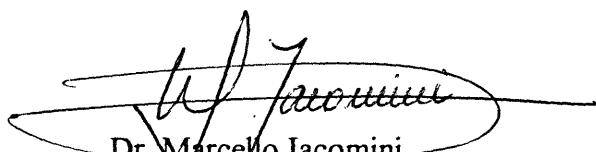
CURITIBA  
1999

Estudo da Interação entre Galactomanana de *Mimosa scabrella*  
Bentham e Proteínas do Leite

Gisele Eliane Perissutti

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências no  
Curso de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, pela comissão  
formada pelos professores:

Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter (Orientadora)  
Deptº. de Bioquímica – UFPR



Dr. Marcello Iacomini  
Deptº. de Bioquímica – UFPR



Dr. Moacir Kaminski  
Deptº. de Tecnologia Química – UFPR

Curitiba, 20 de agosto de 1999.

Orientadora: Profa. Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter

Muito deve o mundo aos homens de coragem. Aqueles que se manifestam em esforços silenciosos, que tudo ousam suportar e sofrer por amor à verdade e ao dever. A coragem moral é que caracteriza a verdadeira grandeza do homem; a coragem de dizer a verdade, de ser honrado e justo, a coragem de lutar por uma idéia, desafiando a todos. Cada passo no progresso do mundo foi dado em meio às maiores dificuldades, em maiores sofrimentos e oposições, e sustentado por homens valentes e intrépidos que guiavam os outros no domínio do pensamento.

Alberto Montalvão

Aos meus pais, Geraldo e Mafalda, pelo carinho, dedicação, sacrifício, e sobretudo pelo exemplo, que sempre me serviram de incentivo e crescimento. A vocês, meu amor e agradecimento.

Ao Luiz, com muito amor, pelo carinho,  
doçura, dedicação e paciência, sempre ao  
meu lado em todos os momentos.

## **Agradecimentos**

À Deus, por mais esta conquista, possibilitando a oportunidade de treinar a perseverança, paciência, e coragem.

Aos meus irmãos Gerson, pelo estímulo e carinho, e Adriano, pela amizade e auxílio nos desenhos das figuras, meu amor e agradecimento.

À Barbara, que tornou minha vida mais feliz, desde a sua chegada.

À Profa. Dra. Joana Léa Meira Silveira Ganter pela orientação, consideração, confiança, apoio e amizade durante todo este tempo, e pelos conselhos que me fizeram rever muitos pontos da minha vida, meu agradecimento e admiração.

À Profa. Dra. Fany Reicher, pela oportunidade, paciência, exemplo de dedicação e colaboração.

À Profa. Dra. Tania M. B. Bresolin, pelo incentivo, demonstração de amizade, sugestões e auxílio inestimável na discussão dos resultados, com carinho, admiração e agradecimento.

Ao Dr. Michel Milas pelo auxílio na parte experimental e discussão dos resultados.

Ao Prof. Dr. Phillip A. J. Gorin, pelas análises dos espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN.

À Doutoranda Eliana B. B. Carneiro pelo auxílio, carinho, estímulo e companheirismo.

Às amigas que passaram pelo laboratório Anat, Carmen, Juliana, Tania e Vanessa, pela amizade, auxílio e estímulo.

Às colegas de Mestrado Daniele, Gladis, Guilhermina e Sandra, pela amizade e companheirismo durante este período.

Aos queridos amigos Adriano, Angela, Eloisa, Fabiane, Fabíola, Juan, Renato e Silvia, pelo carinho, compreensão, e amizade sincera. Todos vocês ocupam um lugar especial em meu coração.

Às amigas Ana Paula e Luciane, pelos momentos em que pudemos compartilhar nossas alegrias, angústias e conquistas, e principalmente, pela amizade inestimável, com muito amor e carinho.

Aos amigos Eduardo, Guilherme e Jean, pela companhia e conversas agradáveis, amizade e auxílio.

Ao colega de Mestrado Cesar, pelas análises de  $^{13}\text{C}$ -RMN.

Às colegas Eneida, Fabiana e Silvia, pelo auxílio, apoio e atenção.

Às bibliotecárias Telma, Izabella, Ruth e Mariza, pela atenção e cooperação.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que esta tese fosse realizada.

À CAPEs, pelo suporte financeiro.

## **Sumário**

<b>Lista de tabelas.....</b>	xí
<b>Lista de figuras.....</b>	xii
<b>Lista de símbolos, siglas e abreviaturas.....</b>	xvi
<b>Resumo.....</b>	xviii
<b>1. Introdução.....</b>	1
1.1. Géis.....	3
1.2. Propriedades reológicas.....	6
1.2.1. Medidas de tensão temporária (“creep and recovery”)	11
1.2.2. Comportamento dinâmico.....	13
1.2.3. Propriedades reológicas de polissacarídeos.....	19
1.3. Galactomananas.....	25
1.3.1. Emprego de galactomananas em alimentos.....	29
1.3.2. <i>Mimosa scabrella</i> .....	32
1.4. Leite.....	35
1.5. Polissacarídeos e proteínas.....	38
1.5.1. Incompatibilidade entre polissacarídeos e proteínas.....	41
1.5.2. Interação polimérica em alimentos.....	43
<b>2. Objetivos.....</b>	46
<b>3. Materiais e métodos.....</b>	47
<b>    3.1. Métodos gerais.....</b>	47
3.1.1. Obtenção das sementes.....	47
3.1.2. Extração dos polissacarídeos.....	47
3.1.3. Preparo das misturas polissacarídeo-proteína.....	48
3.1.4. Preparo da caseína.....	49

<b>3.2. Métodos químicos.....</b>	<b>49</b>
3.2.1. Hidrólise ácida total.....	49
3.2.2. Redução.....	50
3.2.3. Acetilação.....	50
3.2.4. Dosagem de açúcar total.....	51
3.2.5. Dosagem de proteínas.....	51
<b>3.3. Métodos cromatográficos e espectroscópicos.....</b>	<b>52</b>
3.3.1. Cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.).....	52
3.3.2. Ressonância magnética nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN).....	52
<b>3.4. Métodos reológicos.....</b>	<b>52</b>
3.4.1. Determinação das viscosidades absolutas.....	53
3.4.2. Experimentos de tensão temporária.....	54
3.4.3. Comportamento dinâmico.....	55
3.4.4. Influência de sais nas misturas entre galactomanana e proteínas do leite.....	56
3.4.5. Análise da interação entre galactomananas e proteínas de leite fracionadas.....	56
3.4.6. Análise da interação das misturas entre galactomananas e frações purificadas da caseína.....	56
<b>4. Resultados e discussão.....</b>	<b>57</b>
4.1. Obtenção e caracterização da galactomanana de <i>Mimosa scabrella</i> .....	57
4.2. Conteúdo protéico da galactomanana.....	61
4.3. Análise reológica.....	63
4.3.1. Análise do comportamento de fluxo.....	63
4.3.1.1. Comportamento de fluxo da galactomanana em solução aquosa.....	64

4.3.1.2. Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou leite integral.....	65
4.3.2. Análise de tensão transitória.....	70
4.3.2.1. Análise de tensão transitória da galactomanana em solução aquosa.....	71
4.3.2.2. Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite desnatado ao integral.....	72
4.3.3. Análise do comportamento viscoelástico.....	74
4.3.3.1. Determinação da região de comportamento viscoelástico linear.....	74
4.3.3.2. Análise do comportamento viscoelástico da galactomanana em solução aquosa.....	78
4.3.3.3. Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral.....	79
4.3.4. Misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado.....	82
4.3.4.1. Análise do comportamento de fluxo.....	82
4.3.4.2. Análise de tensão transitória.....	85
4.3.4.3. Análise do comportamento viscoelástico.....	87
4.3.5. Influência da adição de sais sobre o sistema galactomanana : leite.....	89
4.3.6. Análise da interação nos sistemas contendo galactomanana e proteína do soro do leite ou caseinato de sódio.....	98
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>104</b>
<b>6. Referências bibliográficas.....</b>	<b>106</b>

## **Lista de tabelas**

Tabela 1: Conteúdo protéico das galactomananas de sementes de <i>Mimosa scabrella</i> .....	62
Tabela 2: Valores de viscosidade específica de galactomananas de <i>Mimosa scabrella</i> nas concentrações 3, 5, 10 e 20 g/l em solução aquosa, e das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral.....	68
Tabela 3: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite desnatado (LD) ou integral (LI).....	81
Tabela 4: Influência das diferentes concentrações de leite em pó desnatado nos valores de viscosidade absoluta das misturas entre galactomanana (G) 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado (LPD).....	84
Tabela 5: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado 100 g/l na presença de NaCl 0,01 e 0,1M.....	91
Tabela 6: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado 100 g/l na presença de CaCl <sub>2</sub> 0,01 e 0,1M.....	96

## **Lista de figuras**

Figura 1: Modelos estruturais de géis de polímeros a) rede formada pela associação de um único polímero, b) rede interpenetrada, c) rede de fases separadas, e d) rede acoplada.....	4
Figura 2: Fluxo laminar de um líquido contido entre duas placas paralelas.....	7
Figura 3: Viscosidade em função da velocidade de cisalhamento.....	8
Figura 4: Cadeias de polímeros emaranhadas dispostas ao acaso em solução. a) em repouso, e b) em campo de cisalhamento.....	9
Figura 5: Comportamento de diferentes materiais em experimentos de tensão transitória (“creep compliance”). a) sólido ideal, b) sólido viscoelástico, c) líquido viscoelástico e d) líquido ideal.....	12
Figura 6: Respostas das amostras em testes oscilatórios em fase e fora de fase. a) deformação em função do tempo, b) comportamento de um sólido elástico, c) líquido viscoso, e d) material viscoelástico.....	15
Figura 7: Comportamento dinâmico de sistemas de polissacarídeos. a) gel forte, b) gel fraco, e c) solução diluída.....	18
Figura 8: Estrutura genérica de galactomananas de sementes.....	26
Figura 9: <i>Mimosa scabrella</i> Bentham.....	34
Figura 10: Estrutura genérica da caseína.....	37
Figura 11: Sementes de <i>Mimosa scabrella</i> a) inteiras, e b) moídas. Galactomananas obtidas a partir das sementes c) purificadas, e d) secas.....	48

Figura 12: Esquema de um sensor de geometria do tipo cilindro-coaxial.....	54
Figura 13: Esquema de um sensor de geometria do tipo cone-placa.....	55
Figura 14: Fluxograma de obtenção das galactomananas de <i>Mimosa scabrella</i> Bentham.....	58
Figura 15: Comportamento de fluxo de galactomananas de <i>Mimosa scabrella</i> , em diferentes tempos de inativação enzimática.....	60
Figura 16: Espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) da galactomanana de <i>Mimosa scabrella</i> .....	61
Figura 17: Comportamento de fluxo da galactomanana de <i>Mimosa scabrella</i> em solução aquosa nas concentrações 1 a 20 g/l.....	65
Figura 18: Comportamento de fluxo das misturas galactomanana de <i>Mimosa scabrella</i> e leite. a) galactomanana e leite desnatado, e b) galactomanana e leite integral.....	66
Figura 19: Viscosidade específica de galactomanana de <i>Mimosa scabrella</i> nas concentrações 3,5,10 e 20 g/l em solução aquosa, e das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral.....	68
Figura 20: Análise de tensão transitória da galactomanana em solução aquosa nas concentrações 10 e 20 g/l.....	71
Figura 21: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite. a) mistura contendo leite desnatado, e b) mistura contendo leite integral.....	73
Figura 22: Análise do comportamento viscoelástico linear para as amostras de galactomanana em solução aquosa nas concentrações 5, 10 e 20 g/l.....	76

Figura 23: Análise do comportamento viscoelástico linear para a mistura entre galactomanana nas concentrações 5, 10 e 20 g/l e leite. a) leite desnatado, e b) leite integral.....	77
Figura 24: Análise do comportamento viscoelástico das amostras de galactomanana em solução aquosa nas concentrações 10 e 20 g/l.....	78
Figura 25: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l. a) mistura contendo leite desnatado, e b) mistura contendo leite integral.....	80
Figura 26: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado, em diferentes concentrações de leite. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	83
Figura 27: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado nas concentrações 100, 150 e 200 g/l. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	86
Figura 28: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l. a) galactomanana 10g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	88
Figura 29: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana, leite em pó desnatado 100 g/l e NaCl nas concentrações 0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	90
Figura 30: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana, leite em pó desnatado 100 g/l e CaCl <sub>2</sub> nas concentrações 0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	92

Figura 31: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l , na presença de $\text{CaCl}_2$ 0,01M e 0,1M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	94
Figura 32: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l na presença de $\text{CaCl}_2$ 0,01M e 0,1M. a) galactomanana 10g/l, e b) galactomanana 20 g/l.....	95
Figura 33: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e proteína do soro do leite. a) proteína do soro na concentração 50 g/l, e b) proteína do soro na concentração 100 g/l.....	99
Figura 34: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana e caseinato de sódio nas concentrações 10, 30, 50 e 100 g/l. a) galactomanana na concentração 10 g/l, e b) galactomanana na concentração 20 g/l.....	101
Figura 35: Análise de tensão transitória das misturas galactomanana na concentração 10 g/l e frações purificadas da caseína ( $\alpha$ , $\beta$ e $\kappa$ ) na concentração 5 g/l.....	103

## **Lista de símbolos, siglas e abreviaturas**

$\alpha_s$  - fração  $\alpha$ -caseína sensível ao cálcio

$\delta$  - ângulo de fase

$\gamma_0$  – amplitude de deformação

$\gamma$  - deformação

$\dot{\gamma}$  - velocidade de cisalhamento

$\eta$  - viscosidade

$\eta^*$  - viscosidade dinâmica complexa

$\eta_{rel}$  – viscosidade relativa

$\eta_{sp}$  – viscosidade específica

$\tau_0$  - amplitude de tensão de cisalhamento

$\tau$  - tensão de cisalhamento

$\omega$  - frequência

a - comprimento de persistência

$c^*$  - concentração crítica

CMC - carboximetilcelulose

CD- dicroismo circular

CS – (“controled stress”) módulo de tensão controlada

$C^\infty$  - razão característica

$^{13}\text{C}$ -RMN - ressonância magnética nuclear de carbono 13

d - deslocamento químico

$\text{D}_2\text{O}$  – óxido de deutério

$\text{DL}_{50}$  – dose letal 50% oral

DMSO - dimetilsulfóxido

DISAD/MS – Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Produtos Saneantes Domissanitários/ Ministério da Saúde

F - força

FPC – frações purificadas da caseína

$G^*$  - módulo de cisalhamento dinâmico complexo

$G'$  – módulo de cisalhamento dinâmico elástico

$G''$  – módulo de cisalhamento dinâmico viscoso  
g.l.c. - cromatografia líquido-gasosa  
J - parâmetro de complacência (“creep compliance”)  
L - leite  
LD – leite desnatado  
LI – leite integral  
LPD – leite em pó desnatado  
man : gal – relação manose : galactose  
Mw - massa molecular média  
NaC – caseinato de sódio  
Pa – pascal  
PSL – proteínas do soro do leite  
 $r$  - distância ponta a ponta  
 $(\langle s^2 \rangle^{1/2})$  - raio de giração  
SDS - dodecilsulfato de sódio  
Tg - temperatura de formação/fusão de gel  
UHT – temperatura ultra alta (“ultra high temperature”)

## **Resumo**

As propriedades reológicas da galactomanana de *Mimosa scabrella* Bentham e proteínas do leite em sistemas contendo leite desnatado, integral e leite em pó desnatado foram investigadas através de análises nos sistemas estático e dinâmico. As curvas de comportamento de fluxo para as misturas galactomanana (1 a 20g/l) e leite, mostraram um comportamento pseudoplástico, em concentrações menores (2g/l) que as galactomananas em solução aquosa (3,6 g/l). Foi observado um aumento nas viscosidades para os sistemas galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite desnatado (300 e 2000 mPa.s, respectivamente) ou integral (500 e 2000 mPa.s, respectivamente), em relação às soluções aquosas de galactomanana nas mesmas concentrações (100 e 1000 mPa.s), sugerindo uma interação polissacarídeo-proteína. Os sistemas galactomanana e leite em pó desnatado apresentaram valores de viscosidade superiores aos contendo leite desnatado, com valores de 700 e 2500 mPa.s, sugerindo uma interação preferencial em sistema reconstituído. Em experimentos de tensão transitória, observou-se uma diminuição do parâmetro de complacência ( $J$ ) com o aumento da concentração em galactomanana, caracterizando os sistemas como líquidos viscoelásticos, com este caráter decrescendo na ordem: leite em pó desnatado > leite integral > leite desnatado. Em sistema dinâmico, através dos módulos  $G'$  e  $G''$ , demonstrou-se um caráter viscoso (gel fraco), ocorrendo inversão dos módulos na concentração 20 g/l em galactomanana, em frequências de 7, 5 e 2 Hz, respectivamente, com valores de  $G'$  no ponto de inversão de 30, 50 e 35 Pa. O efeito dos sais NaCl e CaCl<sub>2</sub> foram avaliados nas misturas galactomanana : leite em pó desnatado, onde o NaCl mostrou um efeito negativo sobre a interação, enquanto que o CaCl<sub>2</sub> 0,1 M mostrou um efeito positivo no sistema contendo galactomanana 20 g/l. Os sistemas galactomanana : proteínas do soro ou caseinato de sódio foram investigados. Devido à ausência de mudança nas propriedades reológicas das amostras em relação às galactomananas em solução aquosa, observou-se que não ocorre interação entre proteínas do soro e galactomanana, mas nas misturas contendo caseinato de sódio, pôde-se observar uma mudança neste perfil, em relação aos sistemas galactomanana : leite desnatado, sugerindo uma possível interação. Sistemas contendo galactomanana 10 g/l e caseínas purificadas ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ) 5 g/l foram analisados, observando-se uma mudança no perfil viscoelástico das misturas, indicando uma possível interação entre galactomananas e caseína, com a fração  $\beta$ -caseína apresentando um perfil mais viscoelástico que as outras frações.

## *Introdução*

---

## 1. Introdução

O processamento de alimentos é a transformação de materiais no estado natural em produtos alimentícios, que apresentam específicas qualidades nutricional, sensorial e de uso. Para muitos alimentos, os polissacarídeos apresentam um importante papel nos passos de processamento e em aspectos de qualidade (Pilnik e Rombouts, 1985).

Os polissacarídeos são polímeros constituídos por unidades monossacarídicas, unidas covalentemente por ligações glicosídicas, e de todas as substâncias orgânicas existentes, são os mais abundantes e amplamente distribuídos (Aspinall e Whyte, 1964; Aspinall, 1969).

De um modo geral, os polissacarídeos são empregados para conferir um aumento na viscosidade das soluções e auxiliar na formação de géis não covalentes, na estabilização de emulsões ou flocação de materiais dispersos, como quelantes, ligantes e impermeabilizantes. Este uso deve-se principalmente às características destes biopolímeros, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade hidrofílica (Sanderson, 1981). São derivados de fontes naturais, não apresentam risco significante à saúde associado ao seu uso em alimentos, e podem apresentar vantagens no desenvolvimento da qualidade nutricional e de textura, porém para que possam ser utilizados adequadamente pela indústria, é necessário o desenvolvimento de critérios que definam a estrutura, a função e a conformação molecular adotada (Lillford e Norton, 1992).

Três propriedades fundamentais determinam o comportamento dos polissacarídeos hidrossolúveis: conformação, estrutura e massa molecular. A forma tridimensional destes biopolímeros pode ser continuamente alterada, conforme as condições impostas.

Os polissacarídeos de alta massa molecular solúveis em água (hidrocolóides), podem ser usados em conjunto com outros componentes alimentícios para elaborar produtos com alta qualidade, baixa caloria e isentos de gordura (Glicksman, 1991).

Agentes formadores de gel são utilizados na indústria alimentícia em um amplo grau de aplicações. A extensão de seu uso está aumentando rapidamente pela demanda de alimentos mais convenientes e versões com baixo conteúdo em gordura dos produtos tradicionais (Oakenfull, 1998). A maioria dos agentes formadores de gel utilizados são polissacarídeos, então a química de carboidratos é de grande importância em estudos da relação entre a estrutura e as propriedades funcionais destes biopolímeros. Alimentos formulados geralmente contêm misturas de hidrocolóides desempenhando funções

estruturais (Sanderson, 1981; Roller e Dea, 1992; Chronakis e Kasapis, 1993; Kasapis e Morris, 1993; Chronakis *et al.*, 1996; Manoj *et al.*, 1996; Zasypkin *et al.*, 1997; Walter, 1998).

Além do amido, o polissacarídeo mais utilizado como fonte energética e agente espessante, outras gomas como galactomananas (guar e alfarroba), carboximetilcelulose (CMC), e xantana são também utilizadas. A escolha de um agente espessante baseia-se, principalmente, nas propriedades reológicas e na estabilidade que o mesmo fornece à fase aquosa (Drohan *et al.*, 1997; Sanderson, 1998). Entre os critérios utilizados para a escolha do polissacarídeo mais apropriado estão o custo e a disponibilidade. Esta última está relacionada com a fonte da qual o polissacarídeo é derivado. Todos os polissacarídeos são obtidos de fontes renováveis, principalmente plantas e sementes (Sanderson, 1998).

O uso de polissacarídeos em alimentos é controlado. Eles são categorizados como reconhecidamente seguros, assegurados como seguros, ou aprovados por petição como aditivos em alimentos. Alguns polissacarídeos apresentam níveis máximos de uso especificados, com as galactomananas de guar e alfarroba, goma arábica, alginato e ágar, enquanto outros não apresentam estes limites, desde que usados de acordo com adequadas práticas de manufatura. Os níveis de uso atuais são determinados pelo nível mínimo requerido para fornecer o efeito desejado (Overeem, 1983; Baird, 1993).

Os níveis permitidos nos Estados Unidos para as gomas guar e alfarroba são de 0,35 a 2,0% e 0,15 a 0,8%, respectivamente (Baird, 1993). No Brasil, os níveis máximos permitidos para os aditivos constam no decreto nº 55871/65 de 26 de março de 1965, referente às normas reguladoras do emprego de aditivos em alimentos, onde, para a goma guar e alfarroba são permitidos 0,5 g/100g ou 0,5 g/100 ml do produto.

A percentagem de uso de goma de alfarroba em alimentos é de 83% de toda a goma produzida, enquanto que para a goma guar é de 57% em alimentos e 43% em outras indústrias (farmacêutica, tintas, explosivos, etc.). Em 1988 dez mil toneladas de goma guar foram utilizadas pela França, Alemanha e Inglaterra, e em 1995, este valor chegaria próximo a treze mil toneladas. O setor que mais utiliza a goma guar é o setor de laticínios, seguido pelo da panificação e alimentos para animais ("pet foods") (Gordon, 1992).

Além do uso isolado, é explorado o fato de que os polissacarídeos podem interagir com outros biopolímeros tais como polissacarídeos e proteínas. Muitos estudos tem se concentrado na investigação do mecanismo destas interações para futuras aplicações industriais.

## 1.1. Géis

Os géis são sistemas coloidais constituídos por uma fase dispersora líquida e uma fase dispersa sólida que apresentam propriedades macroscópicas (elasticidade e manutenção de forma), de natureza semi-sólida e com alto conteúdo em líquido. O agente formador de gel forma uma estrutura de fase sólida que é responsável pela alta consistência. Em baixas concentrações, os géis são pseudoplásticos (ver página 9), tornando-se plásticos em altas concentrações.

Resultam de associações intermoleculares, e esta formação é indicativa do fato que as moléculas hidratadas, sob condições em que ocorre formação de gel, preferem associar-se entre si a permanecer em solução, expandindo o volume do meio líquido (Oakenfull, 1998; Sanderson, 1998).

Os hidrocolóides podem formar géis desde que a concentração de cada um deles na solução mista exceda a concentração mínima para a formação de gel. Normalmente, esta concentração mínima de biopolímeros, influenciada pela temperatura, varia entre 0,1 a 15% (m/m) (Zasypkin *et al.*, 1997).

Um gel binário é a mais simples forma de um gel multicomponente. Várias estruturas podem surgir quando dois polissacarídeos são misturados e formam gel. Modelos esquemáticos para quatro tipos básicos de géis binários podem ser representados, conforme a figura 1.

Na figura 1a., somente um dos polissacarídeos associados forma uma rede, na figura 1b., cada polissacarídeo forma uma rede interpenetrada independente. Se uma separação dos polímeros ocorrer antes da formação do gel, então uma rede de fases separadas é formada (figura 1c.). Quando um polissacarídeo une-se por ligação intermolecular a outro, ocorre a formação de uma rede acoplada (figura 1d.) (Morris, 1985 e 1991).

Os géis binários com interação sinérgica também podem ser classificados em dois tipos: géis do tipo I e tipo II. Os géis binários do tipo I formam estruturas como na figura 1a. Eles compreendem misturas de um polissacarídeo formador e um não formador de gel. Como exemplo pode-se citar os géis de  $\kappa$ -carragenana e furcelarana com galactomananas de alfarroba ou goma tara. Os géis do tipo II são compostos por componentes não formadores de gel, e acredita-se que os géis apresentam redes acopladas (figura 1d.). Como exemplo tem-se

as misturas de galactomananas de alfarroba ou goma tara, e manana de Konjac com xantana (Morris, 1991).

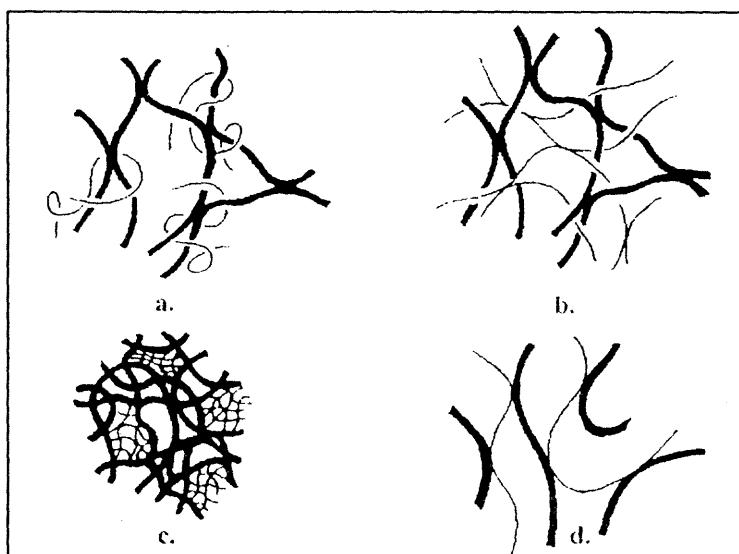


Figura 1: Modelos estruturais de géis de polímeros. a) rede formada pela associação de um único polímero, b) rede interpenetrada, c) rede de fases separadas, e d) rede acoplada (adaptado de Morris, 1991)

Dependendo das interações o gel formado por uma solução de dois biopolímeros pode envolver: géis com partículas dispersas (“filled”), misturas de géis, e géis complexos. Esta classificação é similar à classificação proposta por Morris (Morris, 1985; Zasyplkin *et al.*, 1997).

**Géis com partículas dispersas** ou géis de fases separadas contêm uma ou várias redes de biopolímeros independentes, formando uma fase contínua e repleta de partículas dispersas. Estas partículas podem ser de diferentes natureza química e estado físico (sólido, líquido ou gasoso), tais como bolhas de ar, gotículas de água ou óleo, cristais de gelo ou gordura, e ainda componentes celulares tais como grânulos de amido (Morris, 1985). O gel assim formado pode ser de 2 tipos: macromoléculas de biopolímeros e/ou partículas coloidais de biopolímeros. O gel obtido da formulação contendo leite como base apresenta gordura como ligante ou substância preenchedora (“filler”), que fortalece a rede polimérica (Xu *et al.*, 1992).

Sistemas de fase separada, como emulsão água em água (colóide em que as fases dispersora e dispersa são líquidas) contendo dois biopolímeros co-solúveis, podem conduzir a um gel com partículas dispersas (Zasypkin *et al.*, 1997).

**Misturas de géis**, ou seja, géis que compreendem dois biopolímeros como agentes formadores de gel (géis mistos). Estes formam redes interpenetradas com duas ou mais redes independentes. Ambas as redes se expandem por todo o sistema, mas a interação entre elas é localizada (puntual). Considerando que a incompatibilidade termodinâmica dos biopolímeros é de natureza geral e típica dos alimentos, pode ser assumido que a formação de redes interpenetradas é um caso particular de misturas de géis (Zasypkin *et al.*, 1997).

**Géis complexos**, ou géis de redes acopladas envolvem uma associação direta entre os dois polímeros e subsequente formação de rede (Zasypkin *et al.*, 1997). Um exemplo é a associação entre misturas de xantana-galactomanana, onde a xantana e a galactomanana isoladas não formam um gel verdadeiro, mesmo em altas concentrações, mas se misturadas elas podem formar gel pela interação entre esses dois polissacarídeos (Rocks, 1971; McCleary, 1979; Pedersen, 1980; Mannion *et al.*, 1992; Burgun, 1993; Bresolin *et al.*, 1996 e 1997; Bresolin, 1998).

Considerando a interação entre misturas de polissacarídeos e outros biopolímeros, alguns efeitos podem ocorrer na formação de gel de soluções de misturas proteínas e polissacarídeos de fase única. A formação de gel pode ser considerada como um desenovelamento parcial de proteínas globulares, seguida por agregação primária destas moléculas de proteínas desenoveladas e formação de rede como um resultado da interação de agregados primários. Polissacarídeos podem afetar a agregação de moléculas de proteína, e uma vez que a formação de rede do gel é um processo de difusão controlada, a viscosidade do meio é um fator de influência. O tamanho dos agregados primários de proteína aumenta e a taxa de sua difusão e agregação secundária decresce com o aumento da concentração de polissacarídeo nas soluções proteína globular/polissacarídeo de fase única. Isto resulta num aumento da heterogeneidade da rede do gel formado e em um enfraquecimento do mesmo. Aumentos adicionais na concentração de polissacarídeo e no tamanho dos elementos estruturais da rede (grandes partículas dispersas) contribuem para um aumento da plasticidade e da textura (Zasypkin *et al.*, 1997).

Outro efeito da formação de gel num biopolímero surge do fato que ela é sempre resultado da agregação de macromoléculas, consequentemente, é acompanhada por um forte

decréscimo no efeito do volume de exclusão (influência de interações por unidades a longa distância no volume molecular do emaranhado) das macromoléculas.

## 1.2. Propriedades reológicas

Reologia é a ciência da deformação e comportamento de fluxo da matéria, e é relacionada com a tensão que age sobre um corpo e a resultante deformação causada. As propriedades físico-químicas dos polissacarídeos, entre elas a massa molecular, grau de hidratação, interação intra e intermolecular, bem como a temperatura, pH e presença de íons, alteram a reologia das soluções (Krumel e Sarkar, 1975).

Para fluidos simples, o estudo da reologia envolve a medida da viscosidade, sendo que esta depende primeiramente da temperatura e eventualmente da pressão hidrostática. Entretanto a reologia dos polímeros é muito complexa, e depende da massa molecular, da estrutura do polímero, da concentração dos vários aditivos e da natureza do solvente. A maioria dos polímeros apresentam comportamento dinâmico que situa-se entre o caráter elástico e viscoso, sendo denominados viscoelásticos (Tager, 1978; Ferry, 1980; Schramm, 1994).

A deformabilidade é uma característica que distingue uma substância líquida de uma sólida. Segundo a Lei de Hooke, a deformação ( $\gamma$ ) de um corpo é proporcional à tensão ( $\tau$ ) nele aplicada. A tensão é definida como força aplicada por unidade de área, e é dada em pascal (Pa). A deformação é adimensional, mas pode ser dada em valores de percentagem. A rigidez do material é dada pela relação tensão/deformação (Tager, 1978).

O comportamento de fluxo pode ser caracterizado imaginando-se um líquido contido entre duas placas paralelas, sendo este líquido dividido em camadas paralelas muito delgadas, como representado na figura 2. Ao se aplicar uma força tangencial ao líquido, empurrando-se a placa superior com uma força constante  $F$ , enquanto que a placa inferior permanece em repouso, observa-se que as velocidades das camadas líquidas (representadas como setas), direcionam-se na direção do fluxo. A camada líquida superior, em contato com a placa móvel, adere-se à ela e move-se na mesma velocidade que a placa. A segunda camada, adjacente à anterior, é arrastada por fricção, porém sua velocidade é reduzida pela resistência das camadas abaixo dela. Cada camada é arrastada pela camada que se move acima dela,

porém é retardada pela camada que está imediatamente abaixo. Quanto mais afastadas as camadas líquidas da placa em movimento, menor serão suas velocidades. A camada inferior se adere à placa em repouso e tem uma velocidade igual a zero. A velocidade das camadas líquidas aumenta na direção y, perpendicular à direção do fluxo x (Schott, 1992).

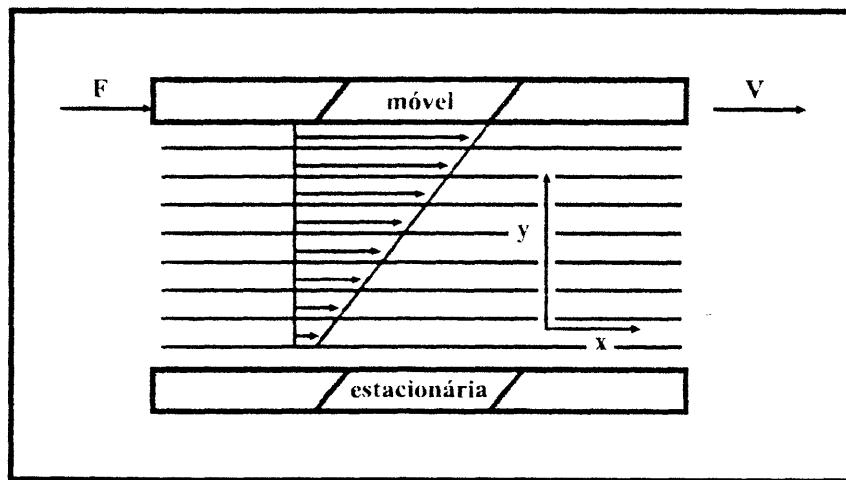


Figura 2: Fluxo laminar de um líquido contido entre placas paralelas (adaptado de Schott, 1992)

Com o tempo, todas as camadas, exceto a camada inferior, sofrem deformação infinita. O que distingue um líquido de outro é a velocidade na qual a deformação aumenta como o tempo, chamada de velocidade de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) ou gradiente de velocidade. A velocidade de cisalhamento é definida pela razão entre deformação/tempo. A velocidade de cisalhamento indica com que rapidez o líquido flui quando nele é aplicada uma tensão de cisalhamento ( $\tau$ ).

A viscosidade, originada do latim “viscum”, é a resistência contra o escoamento. É uma propriedade física dos fluidos e origina o aparecimento de tensões tangenciais na superfície de contato, entre elementos de fluidos adjacentes dotados de velocidades distintas (Ferry, 1980).

Pode-se determinar a viscosidade para um fluido Newtoniano puro pela equação de Newton da hidrodinâmica:

$$\eta = \tau / \dot{\gamma}$$

onde:

$\eta$  = viscosidade absoluta

$\tau$  = tensão de cisalhamento

$\dot{\gamma}$  = velocidade de cisalhamento

Segundo a Lei de Newton que define fluidos ideais (com deformação inelástica), a deformação aumenta contínua e linearmente, independente da tensão aplicada. Como nem todos os fluidos obedecem esta lei, eles podem ser classificados como Newtonianos e não Newtonianos, de acordo com a figura 3.

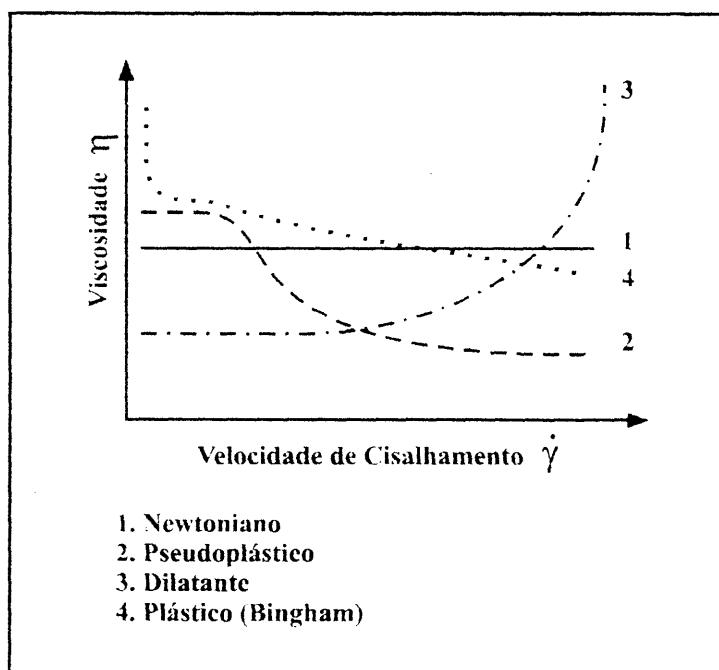


Figura 3: Viscosidade em função da velocidade de cisalhamento (adaptado de Schramm, 1994)

Um fluido é Newtoniano quando sua viscosidade ( $\eta$ ) independe da velocidade ou taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ), como a água e o ar (figura 3.1.) (Ferry, 1980).

Os fluidos não Newtonianos subdividem-se em materiais de Bingham (plásticos), dilatantes e pseudoplásticos. A viscosidade destes materiais não é constante, depende dos valores instantâneos da tensão e velocidade de cisalhamento, e independe do tempo.

Nos fluidos pseudoplásticos a viscosidade diminui com o aumento da velocidade de cisalhamento (figura 3.2.), enquanto que nos dilatantes (figura 3.3.), ela aumenta. Os materiais plásticos (semi-sólidos), não fluem quando submetidos a baixas tensões de cisalhamento (figura 3.4.), porém quando o valor crítico de tensão é atingido, o material flui.

Ao se aplicar uma força de cisalhamento, um movimento laminar unidirecional se superpõe ao movimento térmico arbitrário das moléculas das cadeias de água e dos segmentos de cadeia, como ilustrado na figura 4. As cadeias de polímeros agrupadas que formam emaranhados ao acaso (figura 4a.) tendem a se separar e alinhar-se na direção do fluxo (figura 4b.).

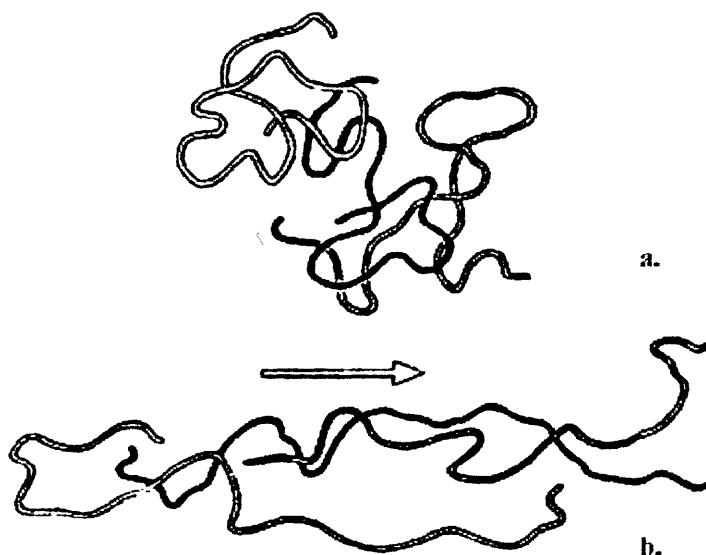


Figura 4: Cadeias de polímeros emaranhadas dispostas ao acaso em solução a) em repouso, b) em campo de cisalhamento (Schott, 1992)

A orientação dos segmentos moleculares através do fluxo é a causa básica para o

comportamento não Newtoniano dos polímeros, causando uma diminuição na sua viscosidade (Ferry, 1980). Para a maioria dos fluidos pseudoplásticos, observa-se que quando a velocidade de cisalhamento é extremamente alta, as partículas estão completamente alinhadas, e há uma interação desprezível entre elas, fazendo com que o fluido apresente um comportamento próximo ao Newtoniano, com valores constantes de viscosidade (figura 4.b.).

Em velocidades de cisalhamento muito baixas (menores que  $1\text{ s}^{-1}$ ), a velocidade de separação e o alinhamento das cadeias de polímeros são insignificantes, se comparados com a velocidade de enovelamento, distribuição ao acaso das cadeias e agregação das moléculas produzidas pelo movimento browniano (Schott, 1992).

A viscosidade da solução, ou seja, sua resistência ao fluxo, depende do tamanho da molécula e é afetada pelo cisalhamento de três maneiras: 1) as cadeias de polímeros separam-se progressivamente e se tornam lineares e alongadas, oferecendo menor resistência ao fluxo que suas formas originais aproximadamente esféricas, 2) simultaneamente a quantidade de água dentro dos emaranhados se torna menor, e 3) as cadeias gradualmente tornam-se menos emaranhadas. Estes três fenômenos aumentam juntamente com o cisalhamento e reduzem a viscosidade (Schott, 1992).

Para soluções diluídas o comportamento de uma macromolécula é independente das outras que a cercam. Em soluções mais concentradas ocorre uma perturbação do movimento da molécula pela presença de outras. A concentração nas qual ocorre a separação entre o regime diluído e o semi-diluído é chamada concentração crítica ( $c^*$ ), correspondente a uma ocupação total do volume disponível para o polímero, sem que haja entrelaçamento das cadeias. Acima deste valor crítico ocorre o aparecimento de entrelaçamentos (Menjivar, 1986).

Em soluções diluídas ( $c < c^*$ ), a viscosidade mostra somente uma leve dependência da velocidade de cisalhamento, devido aos emaranhados individuais estarem esticados pelo fluxo e oferecerem menos resistência ao movimento. Em redes emaranhadas ( $c > c^*$ ), em baixas velocidades de cisalhamento (onde existe tempo suficiente para novos emaranhados serem formados entre diferentes cadeias vizinhas), a densidade da ligação cruzada global permanece constante e a viscosidade também permanece constante a um valor fixo máximo. Em altas velocidades de cisalhamento, onde a taxa formação de emaranhados cai em relação à taxa de rompimento dos emaranhados existentes, a extensão do acoplamento do emaranhado diminui progressivamente com o aumento da velocidade de cisalhamento e a viscosidade diminui (Morris, 1995).

### 1.2.1. Medidas de tensão temporária (“creep and recovery”)

Além das curvas de fluxo, outros experimentos no sistema estático podem ser realizados para elucidar o comportamento reológico dos polímeros, como os experimentos de medidas temporárias de tensão ou arraste (“creep and recovery”), que avaliam o comportamento viscoelástico. O comportamento viscoelástico também pode ser avaliado através de medidas dinâmicas oscilatórias e medidas de tensão normal (Mitchell, 1984).

Em um experimento de arraste uma tensão constante é aplicada e a correspondente deformação é observada em função do tempo. Os resultados são expressos em função do parâmetro de complacência de arraste (“creep compliance”)  $J(t)$ , que é resultante da razão entre deformação e tensão de cisalhamento:

$$J(t) = \gamma(t) / \tau$$

onde:

$J$  = parâmetro de complacência

$\gamma$  = deformação

$\tau$  = tensão de cisalhamento

$t$  = tempo

A análise de tensão transitória ou de arraste permite diferenciar bem entre as respostas elásticas e viscosas das amostras (Schramm, 1994).

Aplicando-se uma tensão constante na placa superior (móvel) do reômetro, a amostra sofre uma torção. A tensão e a resultante deformação estão linearmente relacionadas, como mostra a figura 5.

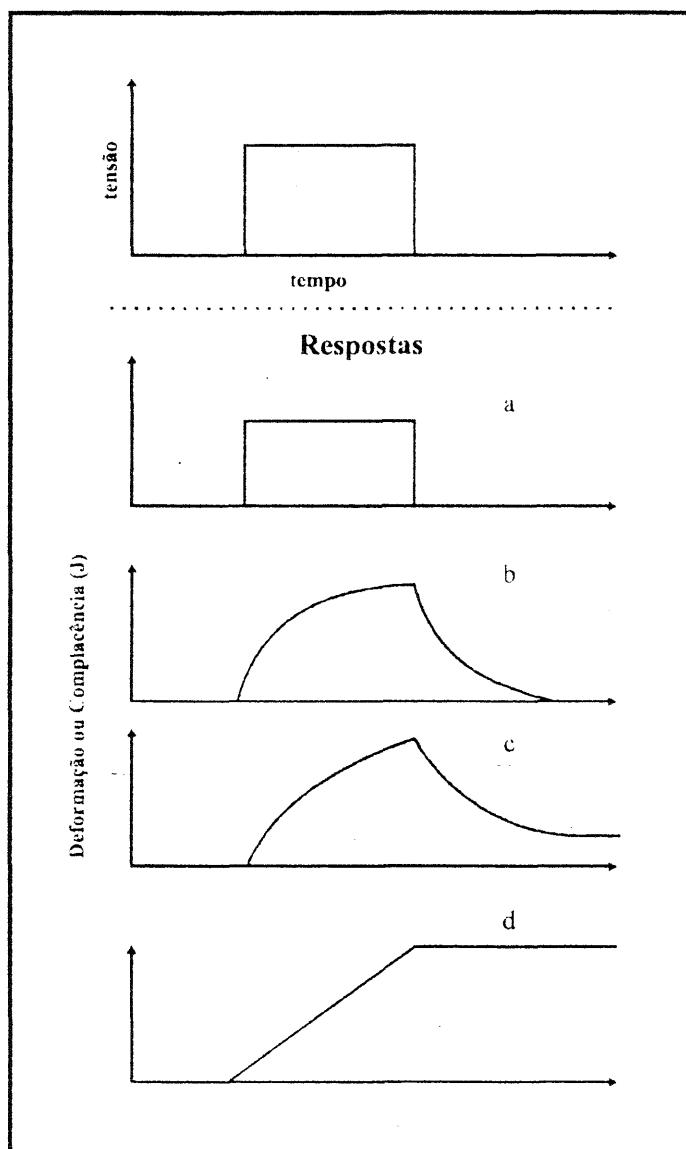


Figura 5: Comportamento de diferentes materiais em experimentos de tensão transitória (“creep compliance”). a) sólido ideal, b) sólido viscoelástico, c) líquido viscoelástico e d) líquido ideal (adaptado de Mitchell, 1984)

Num sólido elástico ideal (figura 5a), a energia utilizada na deformação é elasticamente armazenada e pode ser recuperada em até 100%, depois que a tensão é removida. O gráfico da deformação resultante em relação ao tempo mostra que a deformação é mantida enquanto a tensão é aplicada no decorrer do tempo, e a deformação desaparece completa e instantaneamente quando a tensão é removida. Em um líquido viscoso ideal (figura 5d) a energia utilizada na deformação é totalmente perdida na forma de calor, e o gráfico da deformação resultante em relação ao tempo mostra uma deformação linear

ilimitada ao longo da tensão aplicada. Quando a tensão é removida, a deformação é mantida. Os materiais viscoelásticos (figuras 5b e 5c) apresentam um comportamento intermediário, ou seja, a energia utilizada na deformação é armazenada até um certo grau, dependendo das características elásticas ou viscosas destes fluidos.

Em experimentos de arraste, o sistema transdutor do instrumento permite que uma tensão constante e de pequena amplitude seja aplicada à amostra e como consequência, baixas velocidades de cisalhamento possam ser acessadas. Em geral estudos de complacência de arraste podem prover uma introspeção no comportamento reológico de vários sistemas, praticamente em seu estado não perturbado. O experimento de arraste é dividido em fases de arraste e de recuperação. Durante a fase de arraste uma tensão é aplicada, e a mudança na deformação com relação ao tempo é monitorada. Durante a fase de recuperação a tensão é levada a zero e a resposta da amostra à tensão removida é observada (Rayment *et al.*, 1998).

A recuperação do arraste pode também ser medida quando o declínio na deformação é determinado, após a remoção da tensão. Uma distinção é geralmente feita entre sólidos viscoelásticos (figura 5b), onde em longos períodos de tempo a complacência irá atingir um valor de equilíbrio, e a recuperação do arraste irá decair até zero, e líquidos viscoelásticos (figura 5c), quando  $J(t)$  é uma função linear de tempo em longos períodos de tempo e a recuperação do arraste declina a um valor constante não zero (Mitchell, 1984). O tempo ( $t$ ) é aproximadamente equivalente a baixas freqüências em experimentos oscilatórios ( $t \approx 2\pi / \omega$ ) (Rayment *et al.*, 1998).

### **1.2.2. Comportamento dinâmico**

As medidas dinâmicas permitem estudar com maior profundidade os domínios pseudoplásticos e viscoelásticos, separando caráter elástico de viscoso, que ocorrem em soluções poliméricas concentradas, em relação ao sistema estático (Ferry, 1980).

Para analisar o comportamento não Newtoniano medidas dinâmicas ou oscilatórias podem se realizadas, onde a solução é submetida a uma tensão ou deformação senoidal oscilatória aplicada ao material, no decorrer do tempo, a uma dada freqüência. Em geral existe uma diferença de fase entre a tensão e a deformação oscilatória. Se a deformação varia

com o tempo, então a tensão correspondente pode ser representada como a soma de dois componentes, um em fase com a deformação e o outro 90° fora de fase (Mitchell, 1984).

Para os sistemas reais de polissacarídeos, o grau de caráter sólido e líquido pode ser quantificado. A razão tensão em fase/deformação aplicada é chamada módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ), enquanto que o parâmetro correspondente para a resposta fora de fase é chamada módulo de cisalhamento viscoso ( $G''$ ), os quais são expressos em unidade de tensão, pascal (Pa). O módulo de cisalhamento  $G'$  está relacionado com as medidas de elasticidade ou energia armazenada por ciclo de deformação senoidal. É relativo ao caráter sólido do polímero. O módulo de cisalhamento  $G''$  relaciona-se com a energia dissipada ou perdida como calor por ciclo de deformação, e é relativo ao caráter líquido do polímero (Tager, 1978; Ferry, 1980; Mitchell, 1984; Morris, 1995).

A energia usada na deformação de um sólido elástico é recuperada com o retorno da amostra ao seu estado original (é estocada), enquanto que para um líquido Newtoniano não há recuperação, e a energia é perdida. Por esta razão,  $G'$  e  $G''$  são também considerados como módulos de estocagem e de perda, respectivamente (Tager, 1978; Ferry, 1980; Mitchell, 1984). Em um material viscoelástico, durante o curso de oscilação completa, parte da energia é estocada elasticamente, enquanto parte da energia é perdida e não recuperada (The pharmaceutical codex, 1994).

Para um sólido perfeitamente elástico toda a energia é estocada, consequentemente a tensão e a deformação estão em fase e  $G''$  é igual a zero. Para um líquido que não possui propriedades elásticas, toda a energia é dissipada,  $G'$  é igual a zero, e a tensão e a deformação estão defasadas (fora de fase) em 90° (Mitchell, 1984).

Os módulos de cisalhamento dinâmicos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) são dados pelas seguintes equações:

$$G' (\omega) = \tau_0 / \gamma_0 \cdot \cos \delta$$

$$G'' (\omega) = \tau_0 / \gamma_0 \cdot \sin \delta$$

$$G'' (\omega) / G' (\omega) = \operatorname{tg} \delta$$

onde:

$G'$  = módulo de cisalhamento dinâmico elástico

$G''$  = módulo de cisalhamento dinâmico viscoso

$\tau_0$  = amplitude de tensão

$\gamma_0$  = amplitude de deformação

$\delta$  = ângulo de fase

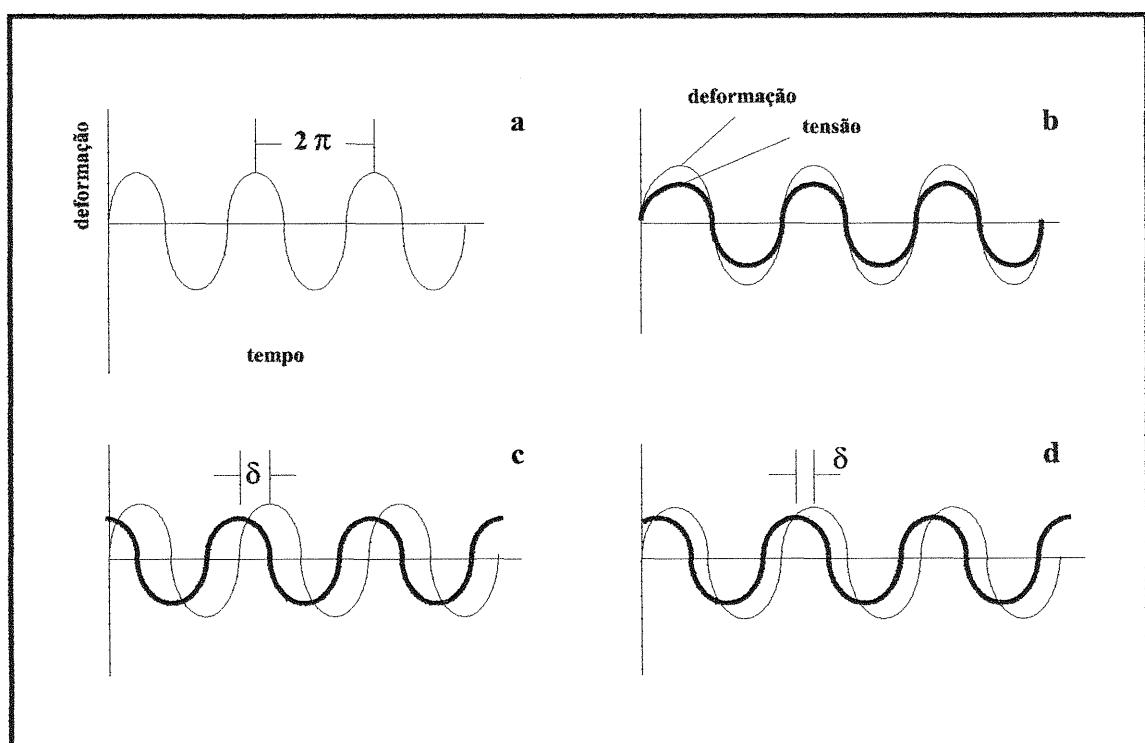


Figura 6: Respostas das amostras em testes oscilatórios em fase e fora de fase. a) deformação em função do tempo, b) comportamento de um sólido elástico, c) líquido viscoso, e d) material viscoelástico (adaptado de Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997)

Os materiais elásticos e viscosos comportam-se diferentemente em deformação oscilatória. A oscilação é imposta por aplicação e remoção de tensão alternadamente para produzir uma onda senoidal, conforme a figura 6a. Em um sólido elástico (figura 6b), a deformação máxima ocorre na tensão máxima, sendo diretamente proporcionais, e exatamente em fase. Em um líquido viscoso (figura 6c) a tensão é transmitida em função da velocidade de cisalhamento, então a tensão é máxima na metade do ciclo (deformação é nula) e cai para

zero nos extremos de oscilação (deformação é máxima). Neste caso deformação e tensão estão exatamente 90° fora de fase. O número de graus em defasagem é chamado de ângulo de fase ( $\delta$ ). Materiais viscoelásticos (figura 6d) têm ângulo de fase entre 0 e 90°. A tangente do ângulo de fase é igual à razão entre o módulo de cisalhamento viscoso ( $G''$ ) e o módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ), e quanto menor seu valor, maior é o caráter viscoelástico (Mitchell, 1984; Morris, 1995).

Em compostos que exibem um comportamento viscoelástico, a deformação depende da tensão aplicada e do tempo em que esta tensão é aplicada. Se as deformações envolvidas são pequenas, então a razão entre tensão e deformação é independente da magnitude da deformação, e o comportamento é chamado viscoelástico linear (Mitchell, 1984).

As tensões e deformações oscilatórias podem também ser expressas em notação complexa, ou seja, num módulo de cisalhamento dinâmico complexo  $G^*$ , que representa a resposta global de tensão da amostra em relação à deformação imposta (Morris, 1995), e é dado pela seguinte equação:

$$G^* = (G'^2 + G''^2)^{1/2}$$

onde:

$G^*$  = módulo de cisalhamento dinâmico complexo

$G'$  = módulo de cisalhamento dinâmico elástico

$G''$  = módulo de cisalhamento dinâmico viscoso

A freqüência ( $\omega$ ), expressa em  $\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$ , pode ser considerada como um análogo da velocidade de cisalhamento ( $\gamma$ ) (Morris, 1995). Então pode-se definir uma correspondente viscosidade dinâmica complexa ( $\eta^*$ ) de acordo com a equação:

$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega}$$

onde:

$\eta^*$  = viscosidade dinâmica complexa

$G^*$  = módulo de cisalhamento dinâmico complexo

$\omega$  = freqüência

As variações de  $G'$ ,  $G''$  e  $\eta^*$  com relação à freqüência fornecem importantes informações para a caracterização, em escala de tempo, das interações moleculares em sistemas poliméricos, e estas medidas reológicas podem ser aplicadas para ambos os sistemas sólido ou líquido, monitorando processos tais como a formação e a fusão de géis físicos formados por polissacarídeos. Se a amplitude de oscilação for suficientemente pequena (dentro do limite elástico da amostra), estes experimentos podem ser efetuados sem perturbar de modo significativo o processo sob investigação (Morris, 1995). Os sistemas de polissacarídeos podem ser classificados de acordo com a figura 7.

Na figura 7a. observa-se o espectro mecânico (dependência de  $G'$ ,  $G''$  e  $\eta^*$  da freqüência) para um típico gel de polissacarídeo, onde o módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) é muito maior que o módulo de cisalhamento viscoso ( $G''$ ), mostrando uma resposta predominantemente sólida, e ambos os módulos são paralelos entre si e essencialmente independentes da variação da freqüência, o que é esperado para uma rede elástica. A viscosidade dinâmica diminui abrupta e linearmente com o aumento da freqüência (Morris, 1995).

A figura 7b. mostra uma estrutura de gel fraco ou solução concentrada. O módulo  $G''$  é maior que o módulo  $G'$  em baixas freqüências de oscilação, e a viscosidade dinâmica é essencialmente independente da freqüência (Newtoniano). Em altas freqüências, o seu comportamento aproxima-se ao de um gel, onde os módulos  $G'$  e  $G''$  tornam-se independentes da freqüência, a resposta elástica ( $G'$ ) predomina sobre o fluxo viscoso ( $G''$ ), e a viscosidade dinâmica decresce. Em elevados valores de freqüência, onde os emaranhados intercadeia não têm tempo suficiente para dissociarem-se dentro do período de oscilação, a rede comporta-se como um gel com ligação cruzada, enquanto que em baixas freqüências as cadeias têm tempo suficiente para dissociarem-se e fluírem (Morris, 1995).

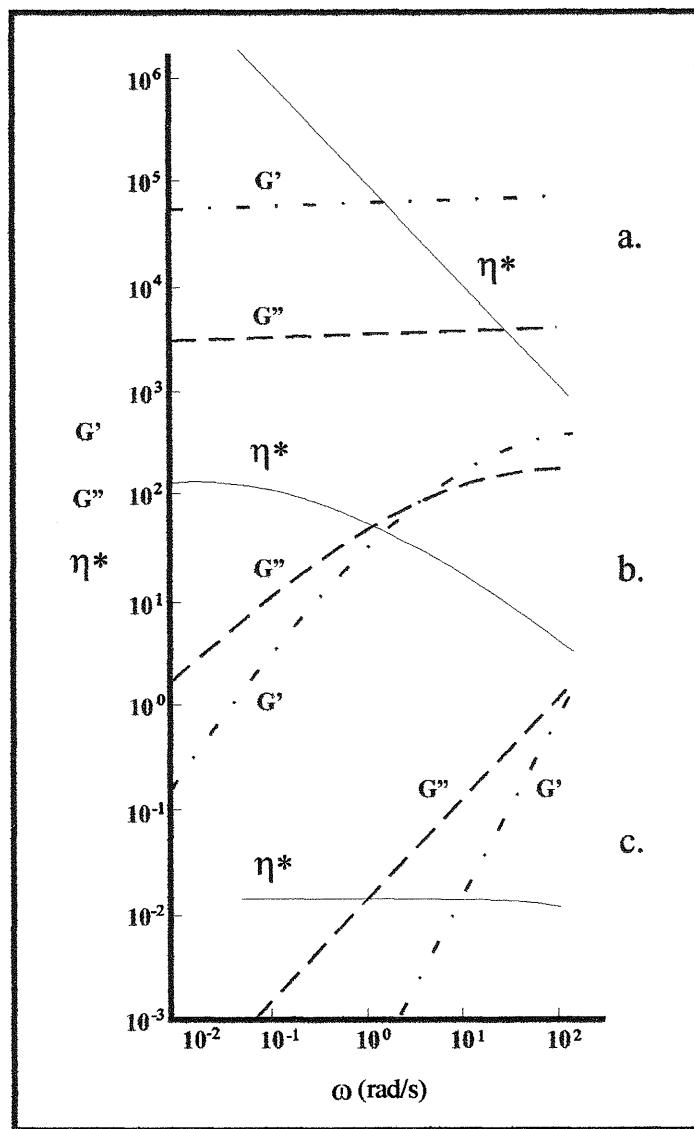


Figura 7: Comportamento dinâmico de sistemas de polissacarídeos. a) gel forte, b) gel fraco, e c) solução diluída (Morris, 1995)

Na figura 7c. pode-se observar uma estrutura típica de uma solução viscosa ou diluída de polissacarídeos. A viscosidade dinâmica complexa mostra uma pequena variação com a freqüência (comportamento essencialmente Newtoniano através da variação da freqüência), e o módulo  $G''$  é significativamente maior que o módulo  $G'$ , principalmente em baixos valores de freqüência (Morris, 1995).

### 1.2.3. Propriedades reológicas de polissacarídeos

Mais evidências são requeridas para que as medidas reológicas fundamentais possam ser correlacionadas com fatores como apreciação da textura pelo consumidor, desempenho do material no processo de fabricação, maturidade de frutas e vegetais, e susceptibilidade do produto ao abuso no manuseio (Mitchell, 1984).

A relação entre propriedades reológicas de polissacarídeos como espessantes e seus efeitos na textura percebida e atributos relacionados como liberação do sabor, podem ser quantificadas. Para amostras que apresentam um valor constante de viscosidade (Newtonianas), existe uma relação linear direta entre os logaritmos da viscosidade e o da capacidade espessante percebida (Baines e Morris, 1988).

Pesquisas na área de alimentos são necessárias para o conhecimento das propriedades reológicas e seu relacionamento com a microestrutura dos alimentos. As técnicas reológicas em conjunto com técnicas como microscopia eletrônica, cristalografia, ressonância magnética nuclear, dicroismo circular e espalhamento de luz (“light scattering”) podem fornecer informações importantes sobre as propriedades funcionais dos alimentos (Payens, 1971; Ashton, 1975; Kalab e Emmons, 1975; Clark e Ross-Murphy, 1987; Aguilera e Kessler, 1989; Aguilera e Kinsella, 1991; Clark, 1991; Horne, 1991; Hart *et al.*, 1992; Xu *et al.*, 1992; Kapoor *et al.*, 1998; Newman e Hemmingson, 1998).

A aplicação de espectroscopia mecânica dinâmica para estudar a formação de gel em biopolímeros, é feita através de experimentos de varredura de freqüência para testar a dependência dos módulos de cisalhamento ( $G'$  e  $G''$ ) em relação à freqüência, e uma varredura de tensão ou de deformação para examinar a extensão da variação da resposta linear (amplitude de tensão ou de deformação em que os módulos de cisalhamento são independentes da tensão ou deformação) (Clark, 1991).

Hember e Morris (1995) estudaram a solubilidade e reologia da formação de gel induzida por NaCl de welana em solventes orgânicos como etileno glicol e dimetilsulfóxido (DMSO), utilizando um sensor do tipo cone-placa. A welana é produzida pela *Alcaligenes* e tem uma cadeia principal formada por uma seqüência repetida do tetrassacarídeo  $\rightarrow 3\text{-}\beta\text{-D-GlcP}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-GlcPA}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-GlcP}\text{-}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}\text{-}(1\rightarrow ,$  e substituição em O-3 das unidades de glucose 4 ligadas por unidades de  $\alpha\text{-L-ramnose}$  ou  $\alpha\text{-L-manose}$  na proporção

de 2:1 aproximadamente. Os autores observaram que a solubilidade da welana ordenada em solventes orgânicos polares diminui severamente com o aumento na concentração de sal.

A welana apresenta um comportamento de gel fraco em solução aquosa, mas na presença de etíleno glicol forma uma estrutura em rede de gel. Altas concentrações de sal ocasionam um leve aumento no módulo elástico ( $G'$ ). Adição de sal (NaCl 10 mM) no sistema ordenado da welana-DMSO (80%) ocasiona a formação de uma rede verdadeira de gel, e a adição de sal no sistema desordenado welana-DMSO (91%) causa um rápido reordenamento na estrutura, com desenvolvimento da rede de gel. Estes géis são mais fortes e mais resistentes à dissociação em excesso de água que os primeiros (Hember e Morris, 1995).

Pintado *et al.* (1998) estudaram as propriedades reológicas da lactana, um polissacarídeo composto por manose, galactose e ácido galacturônico na proporção 5:3:2, produzido via fermentação por *Rahnella aquatilis* em meio contendo soro do leite, através de curvas de fluxo. As soluções de lactana apresentaram um comportamento pseudoplástico, com aumento de viscosidade relacionado ao aumento da concentração de polissacarídeo. A adição de sais como KCl e CaCl<sub>2</sub>, e mudanças no pH afetaram levemente a viscosidade das soluções de polissacarídeo.

Ashton *et al.* (1975) estudaram o efeito do exudato de *Albizia zygia*, uma leguminosa, que apresenta L-arabinose, D-galactose, ácido D-glucurônico, D-manose, 4-O-metil ácido D-glucurônico e L-ramnose na proporção 6:4:2:1:5:1, na estabilização de um sorvete em comparação com outros estabilizantes comerciais, como alfarroba e carboximetilcelulose (CMC). Foi observado, através de estudos reológicos, que em termos de viscosidade, a goma de *Albizia zygia* é menos efetiva que a alfarroba e a CMC, apresentando somente um pequeno efeito estabilizador. Aumentando-se a concentração da goma (0,38%), o efeito estabilizador apresentou-se semelhante ao da alfarroba na concentração 0,175%.

O conhecimento dos parâmetros reológicos das galactomananas é importante devido aos efeitos nas propriedades de escoamento do produto, bem como sua influência na palatabilidade e propriedades texturais (Farkas e Glicksman, 1967).

Richardson e Ross-Murphy (1987), em estudos da viscoelasticidade não linear de soluções de galactomanana de guar, utilizando um sensor de geometria cone-placa em cisalhamento fixo e medidas oscilatórias, observaram que as soluções aquosas nas concentrações de 1, 2 e 3 % (m/m) apresentavam uma rede emaranhada típica, com um

comportamento viscoso ( $G'' > G'$ ) em baixas freqüências, e um comportamento elástico ( $G' > G''$ ) em altas freqüências ( $> 2 \text{ rad/s}$ ).

Noble *et al.* (1990) estudaram as propriedades reológicas de géis de galactomanana de guar e hidroxipropilguar (30 – 80 g/l) em meio alcalino (NaOH 0,05 – 0,3 M) a quente em experimentos com baixa deformação. Foram testados parâmetros como pH e concentração de polissacarídeo na formação do gel. Os autores observaram a formação de géis estáveis e maleáveis, que não apresentaram sinérese, e não termo-reversíveis. Ocorreu formação de gel em valores mais baixos de pH para o hidroxipropilguar que para o guar não modificado. Em um meio alcalino a quente, as gomas podem ser mais facilmente dispersas, já que os polímeros não são imediatamente solúveis nestas soluções à temperatura ambiente. A hidratação dos polímeros ocorre progressivamente quando a temperatura é aumentada, levando a um aumento na viscosidade aparente.

Goycoolea *et al.* (1995) em estudos da viscosidade dos hiper-emaranhados das galactomananas, através de um sensor cilindro-coaxial, em pH neutro e alcalino observaram que em pH elevados, os grupos hidroxil tornam-se ionizados, convertendo os polissacarídeos neutros em polieletrólitos, com um efeito de expansão nas dimensões moleculares por repulsão eletrostática intramolecular, esperando-se que haja um aumento na viscosidade das soluções de emaranhados desordenados independentes. Isto também pode desestabilizar associações intermoleculares por introdução de repulsões eletrostáticas entre as cadeias constituintes. Os autores observaram que o valor de viscosidade intrínseca  $[\eta]$  da alfarroba em solução contendo NaCl 1M (pH neutro) foi duas vezes maior que a da solução de alfarroba em solução contendo NaOH 1M (pH alcalino). Estes resultados são consistentes com uma substancial redução do volume hidrodinâmico por dissociação dos hiper-emaranhados intermoleculares. Efeitos similares foram obtidos para a goma guar, mas muito menores em magnitude.

Kapoor *et al.* (1998) realizaram estudos estruturais, cristalográficos e reológicos da galactomanana de *Cassia spectabilis*. Esta galactomanana apresentou uma razão manose:galactose 2,65 , viscosidade intrínseca  $[\eta]$  de 615 ml/g, massa molecular média (Mw) de aproximadamente  $1,1 \times 10^6$  , proteínas totais de 8,41% e um alto conteúdo de goma no endosperma (cerca de 40%). Em estudos reológicos os autores observaram que em soluções aquosas esta galactomanana apresentou comportamento Newtoniano em concentrações variando entre 0,2 e 2 g/l e comportamento pseudoplástico em concentrações acima de 3 g/l. Em concentrações superiores a 20 g/l o comportamento da goma era

semelhante ao de um gel fraco. Em altas concentrações (acima de 50 g/l) esta galactomanana apresentou um comportamento de pseudo-rede.

As misturas entre galactomanana e carragenana são conhecidas pelas suas características especiais que não são capazes de ser observadas em nenhum dos polissacarídeos isolados. Os efeitos sinérgicos na força e elasticidade do gel obtidos quando a  $\kappa$ -carragenana e a galactomanana de alfarroba são misturadas têm levado a uma ampla aplicação deste sistema na indústria alimentícia como na manufatura de sorvetes, iogurtes e outros laticínios (Lundin e Hermansson, 1995).

Mitchell *et al.* (1992), estudaram os efeitos de antioxidantes no controle da viscosidade e perda da força do gel por aquecimento de sistemas de galactomananas de goma guar e alfarroba e misturas entre alfarroba e carragenana, utilizando-se sensores com geometria cilindro-coaxial e cone-placa, sugerindo que os antioxidantes atuam na proteção da galactomanana contra a degradação.

Fernandes *et al.* (1993), caracterizaram as propriedades reológicas de misturas contendo  $\kappa$ -carragenana e galactomananas de guar e alfarroba, na vicinidade da transição sol-gel, através de experimentos oscilatórios dinâmicos, utilizando-se uma geometria cone-placa em uma deformação de 5%, e observaram que estes sistemas podem ser descritos como resultado de duas fases interpenetradas, e que na presença de galactomanana de alfarroba, o conteúdo de  $\kappa$ -carragenana necessário para a formação de gel era a metade do conteúdo requerido para a  $\kappa$ -carragenana sozinha.

Lundin e Hermansson (1995) através de experimentos reológicos oscilatórios com baixa deformação e por microscopia de transmissão de elétron de misturas de géis de galactomanana de alfarroba e  $\kappa$ -carragenana na presença de KCl (0,05 e 0,1 M), observaram um aumento na estabilidade para misturas contendo um relativamente alto conteúdo de goma de alfarroba com alta relação manose:galactose e dependente da concentração de sal.

Rayment *et al.* (1998), estudaram as propriedades reológicas do sistema galactomanana de guar e amido de arroz através de medidas de tensão transitória ou arraste em comparação com curvas de comportamento de fluxo em cisalhamento fixo. Com o aumento da concentração de amido na solução de galactomanana ocorreu uma diminuição do parâmetro de complacência de arraste ( $J$ ). Isto é característico de propriedades mais viscoelásticas no sistema, em relação ao sistema contendo somente galactomanana.

Em estudos prévios realizados pelo grupo de Química de Carboidratos Vegetais do

Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, Ganter e colaboradores analisaram as propriedades em solução da galactomananas de *Mimosa scabrella*. Os resultados de viscosidade indicaram um polímero com estrutura em emaranhado, com uma concentração crítica ( $c^*$ ) de 2,6 /  $[\eta]$ . O comportamento viscoelástico desta galactomanana foi menor que o encontrado para outras galactomananas, e sua menor dependência da viscosidade no parâmetro de sobreposição do emaranhado é devido provavelmente a baixas interações em razão de sua alta substituição por unidades de galactose (Ganter *et al.*, 1992).

Lucyszyn (1994), estudou as propriedades reológicas de galactomananas de *Mimosa scabrella* na preparação de produtos alimentícios, e observou que na formulação de um pudim com substituição parcial de amido por galactomanana, ocorreu uma pequena interação entre galactomanana e amido, com significante aumento na viscosidade nos pudins formulados com leite como meio líquido, e diminuição da sinérese em relação ao produto comercial. Esta diminuição da sinérese é uma importante propriedade em produtos comerciais, como pudins e sorvetes, que são estocados geralmente por longos períodos, e devem manter suas características originais, sem a liberação indesejável de água.

Bresolin *et al.* (1997), fizeram estudos viscométricos de sistemas contendo xantana e galactomanana de *Mimosa scabrella* Bentham e *Schizolobium parahybae* e observaram um efeito sinérgico nos sistemas contendo misturas dos polissacarídeos. Os autores observaram a formação de uma estrutura de gel que apresenta histerese, entre o aumento e a diminuição da velocidade de cisalhamento. O sistema contendo a mistura entre galactomanana de *Schizolobium parahybae* e xantana apresentou uma forte interação em soluções aquosas nas concentrações 1 e 2 g/l. As misturas contendo xantana e galactomanana de *Mimosa scabrella* com concentração de galactomanana 2 g/l apresentaram um aumento de 32% na viscosidade em comparação com a solução contendo somente galactomanana. As interações ocorreram principalmente quando o sistema era aquecido a uma temperatura de 80° C, independente da conformação da xantana.

Considerando que a galactomanana de *Mimosa scabrella* é altamente substituída (manose:galactose 1,1:1), os autores salientam que o efeito sinérgico observado para o sistema contendo xantana e galactomanana de *Mimosa scabrella* deve envolver um mecanismo de interação diferente dos propostos nas literatura (Dea e Morrison, 1975; Lundin e Hermansson, 1995), onde afirma-se que a xantana interage com a galactomanana via regiões não substituídas da galactomanana (Bresolin *et al.*, 1997 e 1998).

Schorsch *et al.* (1997), em estudos das propriedades viscoelásticas de misturas galactomanana de guar a alfarroba e xantana, através de medidas dinâmicas e medidas de tensão temporária com sensor de geometria cone-placa, na amplitude de deformação 5%, dentro dos limites de viscoelasticidade linear das amostras, foi observado que para ambas as galactomananas ocorreu um forte fenômeno sinérgico, e a adição de xantana, mesmo em pequenas quantidades, induziu uma transição dos sistemas para uma forma de gel. Foi também observada a influência da massa molecular na interação de tais sistemas, demonstrando uma interação mais forte com o aumento desta. As propriedades reológicas dos sistemas galactomanana/xantana foram altamente afetadas pela presença de eletrólitos. Nos sistemas contendo galactomanana de guar, os módulos de cisalhamento elástico e viscoso aumentaram com a presença de eletrólitos, mas para galactomanana de alfarroba ocorreu uma tendência inversa.

Hart *et al.* (1992) estudaram géis formados por misturas polissacarídeo-proteína de  $\kappa$ -carragenana com caseína total e frações purificadas da caseína ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ), através de medidas reológicas no sistema oscilatório, utilizando-se uma deformação de 1,5% e freqüência de 0,7 Hz, e de dicroismo circular (CD). A adição de  $\kappa$ -caseína (0,5%) no sistema contendo carragenana (1%) e cloreto de cálcio (0,01 M) causa um aumento significativo no módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ), dando origem a uma estrutura de gel termo-reversível. Os sistemas contendo carragenana e caseína total, e as frações  $\alpha$  e  $\beta$ -caseína também apresentaram interações formadoras de gel, mais fracas que as do sistema carragenana e  $\kappa$ -caseína.

O dicroismo circular indicou a capacidade da carragenana em alterar a conformação da  $\kappa$ -caseína, mas não das frações  $\alpha$  e  $\beta$ -caseína, devido à turbidez destes sistemas. A adição de polissacarídeos aniônicos perturba significativamente o dicroismo circular da caseína. Foram realizados experimentos onde foi adicionado ao sistema cloreto de cálcio e observou-se que a presença de íons cálcio favorece a interação específica entre carragenana e  $\kappa$ -caseína. Através dos experimentos de dicroismo circular os autores concluíram que o sistema contendo carragenana e caseína na presença de íons cálcio apresenta interação eletrostática específica, que é reduzida a elevadas temperaturas, devido a carragenana tornar-se conformacionalmente desordenada (Hart *et al.*, 1992).

Manoj *et al.* (1996) estudaram o sistema maltodextrina-caseinato de sódio através de medidas de oscilação dinâmica com pequena deformação, perfis de taxa de aquecimento controlados, espectros mecânicos, varredura de deformação com grandes valores de

deformação e análise de tensão transitória, para caracterizar as propriedades viscoelásticas dos géis. A dependência da concentração, razão viscoelástica e perfis de fusão dos módulos de cisalhamento ( $G'$  e  $G''$ ) para as amostras de maltodextrinas concentradas, sugerem um gel de biopolímero altamente agregado. Por outro lado, as partículas de caseinato de sódio formam um sólido “pastoso” a baixas temperaturas, com um componente altamente viscoso, que sob aquecimentos moderados reverte-se em um corpo líquido. A mistura dos polímeros resulta em um sistema composto, cuja inversão de fase (de rede contínua da maltodextrina com inclusões protéicas descontínuas para uma dispersão de caseinato suspendendo as partículas de maltodextrina) é determinada pela razão entre as massas dos dois componentes da mistura.

A combinação de maltodextrina com caseinato ou gelatina produz um sistema de fases separadas microscopicamente heterogêneo que imita a textura suave e sensação/aparência cremosa desejada em uma dispersão plástica comercialmente comestível (Manoj *et al.*, 1996).

### 1.3. Galactomananas

Galactomananas são macromoléculas constituídas de uma cadeia principal de unidades  $\beta$ -D-manopiranosídicas ligadas glicosidicamente em (1→4), possuindo ramificações laterais de unidades de  $\alpha$ -D-galactopiranose em (1→6) (Dea e Morrison, 1975).

São consideradas galactomananas, polissacarídeos que contêm no mínimo 5 a 15% de galactose (Aspinall, 1959). Ocorrem como polissacarídeos de reserva do endosperma de sementes, particularmente em espécies das famílias Mimosaceae (Leguminosae), Caesalpiniaceae e Fabaceae (Dea *et al.*, 1972; Dea e Morrison, 1975). Podem também ocorrer como componentes da parede celular em caules de Pinophyta (Gimnospermae), em liquens, e microorganismos como fungos (Gorin e Spencer, 1968; Gorin e Iacomini 1984 e 1985).

O endosperma de sementes possui função de reserva durante a germinação e para a nutrição do embrião. Age também como um tecido de absorção de água para a semente, prevenindo contra a sua perda nos períodos de seca, o que poderia causar a desnaturação das proteínas, e em particular das enzimas essenciais para a germinação. Pode-se considerar que as ramificações laterais das galactomananas sejam a porção hidrofílica do endosperma

(Dey, 1978; Reid, 1985). Existe uma relação entre a estrutura e as propriedades físicas-químicas com sua função como agente na regulação do equilíbrio hídrico durante a germinação (Pilnik e Roumbouts, 1985).

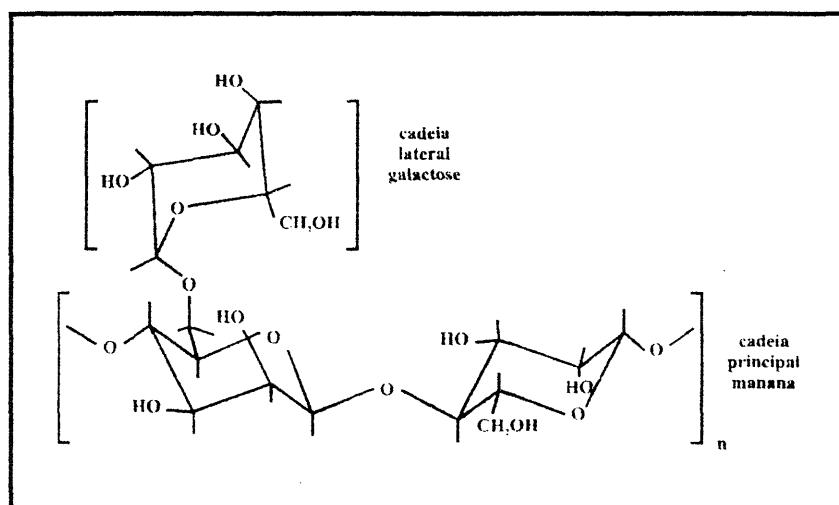


Figura 8: Estrutura genérica de galactomananas de sementes (adaptado de Clark, 1987)

As galactomananas destacam-se entre os polissacarídeos de reserva vegetal, pelas suas propriedades viscosantes e emulsificantes, apresentando altos rendimentos, que variam de 15 a 38% do peso seco da semente. Sua quantidade armazenada nas sementes depende do tamanho relativo do endosperma. A soja (*glycine max*) tem um endosperma rudimentar contendo menos de 1% de galactomanana (Whistler e Saarnio, 1957; Aspinall e Whyte, 1964), enquanto que o guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e a alfarroba (*Ceratonia siliqua*) possuem um endosperma maciço com 35 a 38% de galactomanana, respectivamente (Dea e Morrison, 1975).

A extração destes biopolímeros é realizada geralmente em água à temperatura ambiente, mas para a alfarroba os maiores rendimentos são obtidos com aquecimento.

Apesar das análises químicas destes polissacarídeos de sementes terem iniciado no fim do século XIX, em sementes de *Ceratonia siliqua*, e que atualmente galactomananas de inúmeras espécies vêm sendo estudadas, somente três são utilizadas para a produção a nível industrial: *Ceratonia siliqua* ("locust bean gum" ou alfarroba) (man:gal 4:1), *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) (man:gal 1,5:1) e *Caesalpinia spinosa* (goma tara) (man:gal 3:1).

(Chudzikowski, 1971; Dea e Morrison, 1975; Soni e Bose, 1985; Herald, 1986b; Kaup *et al.*, 1991; Garcia-Ochoa e Casas, 1992; Maier *et al.*, 1993; Kroeger *et al.*, 1994).

Segundo Bulpin *et al.* (1990), as propriedades das galactomananas utilizadas para fins comerciais provêm de dois fatores concernentes à sua estrutura molecular:

1. cadeia principal de  $\beta$  (1→4) manana que é relativamente rígida e conduz a altas viscosidades em soluções aquosas diluídas (Robinson *et al.*, 1982; Morris *et al.*, 1980);
2. para galactomananas com baixo conteúdo em galactose (< 30%), géis elásticos formados em combinação com outros polissacarídeos (carragenana, ágar, xantana) podem ser estabilizados em sistemas alimentares multifase congelados, tais como sorvetes (Dea e Morrison, 1975).

Outro aspecto importante é a distribuição das unidades de galactose ao longo da cadeia principal de manana, podendo estabelecer uma relação entre a estrutura do polímero, que ocorrem na forma regular (alternada), em blocos ou randômica, e suas propriedades em solução (Dea e Morrison, 1975).

Segundo Dea *et al.* (1972), estes biopolímeros em solução aquosa apresentam uma conformação de emaranhado ao acaso. Este estado pode ser revertido, em condições favoráveis de agregação ou interação com outras espécies, a uma forma ordenada.

São polímeros não iônicos estáveis, e não mostram mudanças na viscosidade quando submetidos a leves mudanças de pH ou adição de sal. A viscosidade tende a manter-se constante na faixa de pH 1,0 – 10,5 , e à temperatura ambiente, suas propriedades reológicas independem do conteúdo de galactose (Mannion *et al.*, 1992), mas pode ocorrer degradação em soluções altamente ácidas ou alcalinas, principalmente quando aquecidas, com redução de sua viscosidade (Dea e Morrison, 1975; Neukon, 1989).

Existem diferentes razões manose:galactose para as galactomananas. Estas diferenças dependem da fonte biológica e do método de extração utilizado (Enriquez *et al.*, 1989). A diferença da razão manose:galactose causa variações nas suas propriedades de interação com outros polissacarídeos, onde atuam como agentes formadores de gel (Neukon, 1989).

Observou-se que a solubilidade do polímero em água aumenta com o decréscimo da relação manose:galactose. As  $\beta$ -mananas lineares puras são completamente insolúveis em água, onde as ramificações por unidades de galactose estão ausentes (McCleary *et al.*, 1981).

As ramificações por unidades de galactose favorecem a solubilidade em água, e para garantir a solubilidade, são necessários níveis de no mínimo 10% em galactose (Dea, 1987). Logo, as galactomananas com menos de 10% em galactose formam precipitados, pois não possuem galactose suficiente para manter um agregado em solução. O tempo envolvido no processo de extração pode alterar o rendimento, como consequência da degradação enzimática, afetando a composição do polissacarídeo e sua solubilidade (Dea e Morrison, 1975; Dey, 1978).

A seletiva remoção de galactose da cadeia principal de manose, pela enzima  $\alpha$ -galactosidase pode demonstrar a dependência da solubilidade sobre o conteúdo de galactose. McCleary *et al.* (1981) estudaram o efeito do conteúdo de galactose de *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) e *Ceratonia siliqua* (goma de alfarroba) nas propriedades das soluções (solubilidade e interação com outros polissacarídeos). Ao submeter as amostras a um tratamento por 2 horas com  $\alpha$ -D-galactosidase, aproximadamente 75% da galactose foi eliminada, ocorrendo uma leve diminuição da viscosidade da solução.

Após 5 horas de hidrólise, houve formação de partículas relativamente grandes e turvação da solução, sendo que com mais 1 hora de hidrólise, houve precipitação da manana residual. O autor concluiu que não há relação entre o conteúdo de galactose e a viscosidade intrínseca das soluções de galactomanana, sugerindo que esta propriedade seja totalmente dependente da cadeia principal da manana. As cadeias laterais de galactose têm papel importante na solubilização das galactomananas, mas não afetam o grau de interação entre as moléculas em solução diluída, e nem a sua conformação aparente (McClarey *et al.*, 1981 e 1985).

Petkowicz *et al.* (1998), através de estudos de modelagem molecular, observou que o conteúdo de galactose e o padrão de distribuição destas unidades (ao acaso, alternado ou em blocos), afetam a conformação das galactomananas, através de cálculos teóricos de parâmetros que fornecem uma descrição quantitativa do tamanho ou dimensão da cadeia, como o comprimento de persistência ( $a$ ), o raio de giração ( $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ ), a razão característica ( $C_\infty$ ) e a distância ponta a ponta ( $r$ ).

Entre os polissacarídeos estudados pelo grupo de Química de Carboidratos Vegetais do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná, destaca-se a galactomanana de *Mimosa scabrella*, que é composta por uma cadeia principal  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4) manopiranosídica, com 88% das unidades substituídas em O-6 por unidades de  $\alpha$ -D-galactopiranose. Sua relação man:gal e sua viscosidade intrínseca foram determinadas por

Ganter (1988), com valores de 1,1:1 e  $[\eta] = 0,890 \text{ ml/g}$ , respectivamente, para a solução aquosa diluída de galactomanana de *Mimosa scabrella* a 25 °C, caracterizando-a como um biopolímero altamente ramificado.

### **1.3.1. Emprego de galactomananas em alimentos**

Por apresentar características como: caráter hidrofílico (rapidamente hidratável em água fria), formação de dispersão coloidal, ser um biopolímero atóxico e não digerível pelo trato intestinal, pequenas quantidades de goma guar são utilizadas industrialmente em alimentos processados, em quantidades entre 0,1 e 0,15% do peso total dos ingredientes secos, onde o produto final apresenta a maior tempo de prateleira, aumento da retenção de umidade e diminuição da tendência de fracionamento (Staub e Ali, 1982).

Considerando a não degradabilidade no trato intestinal, as galactomananas vêm sendo utilizadas em alimentos de baixa caloria, como auxiliares no tratamento de diabéticos e indivíduos hipercolesterolêmicos (Jenkins *et al.*, 1977, 1979a e 1979b; Jarjis *et al.*, 1984; Pilnik e Rombouts, 1985).

Lucyszyn (1994) realizou testes toxicológicos de dose letal 50% oral ( $\text{DL}_{50}$ ) para a galactomanana de *Mimosa scabrella*, e verificou que este polissacarídeo apresentava  $\text{DL}_{50}$  em ratos em doses superiores a 6000 mg/kg, enquadrando-se como produto fitossanitário da classe IV (segundo portaria nº 04 – DISAD/MS de abril de 1980), ou seja, praticamente atóxico. A  $\text{DL}_{50}$  é a dose única (em miligramas) da substância administrada via oral, por quilograma de peso do animal, que causa a morte de 50% dos animais testados em até 14 dias após sua administração.

Reichman (1991) preparou emulsões não viscosas óleo-em-água com galactomananas (gomas guar e alfarroba) agindo como único emulsificante, e observou que a tendência à cobertura dos cristais líquidos parece aumentar quando as gomas guar ou alfarroba são utilizadas, sugerindo que as regiões das unidades de manose não substituídas por galactose na goma de alfarroba permitem um alto grau de ordenamento como nas estruturas do gel formado em soluções aquosas.

Garti e Reichman (1994) observaram que a atividade de tensão de superfície da goma

guar purificada por ultracentrifugação e tratamento com isopropanol, onde a quantidade de proteína presente foi reduzida a 0,8% não era inferior à da goma nativa, indicando que os componentes protéicos presentes nas galactomananas não apresentam nenhum papel na estabilização de emulsões óleo em água, parecendo ser ativos não em superfície, e provavelmente não unidos à cadeia principal do polissacarídeo.

A galactomanana de guar modifica o comportamento da água em sistemas alimentares de uma maneira altamente eficiente, reduzindo e minimizando o atrito em produtos alimentícios, auxiliando no processamento e palatabilidade do alimentos (Herald, 1986b).

São polissacarídeos de menor custo, quando comparados com a carragenana ou xantana, e interações sinérgicas com estes polímeros oferecem a possibilidade de novas funcionalidades com grande importância industrial (Zhan *et al.*, 1993).

A mais importante característica das galactomananas, da acordo com a sua aplicação principalmente na indústria de alimentos, é a sua capacidade de modificar as propriedades reológicas das soluções aquosas. Estes biopolímeros possuem a capacidade de apresentar soluções altamente viscosas em baixas concentrações. São empregados como espessantes, formadores de gel, emulsificantes, estabilizantes, floculantes, ligantes e impermeabilizantes (Whistler e Smart, 1953; Elfak *et al.*, 1977).

A viscosidade destes biopolímeros em solução é diminuída na presença de glucose, galactose e sacarose (devido à competição entre glucose ou galactose e polissacarídeo pelas moléculas de água, diminuindo a interação polímero-solvante e aumentando a interação polímero-polímero) e alguns sais como sulfato de sódio, pois seu poder de dissolução torna-se menor (Dea *et al.*, 1972). Porém a galactomanana de alfarroba forma géis tanto sob condições de baixa atividade de água, como em altas concentrações de açúcar em produtos alimentícios, como compotas e sobremesas geladas (Chudzikowski, 1971).

As galactomananas, geralmente, não formam géis em soluções aquosas, entretanto, a adição de certos eletrólitos como boratos, soluções alcalinas de cobre e cloreto óxido de zinco conduzem à coagulação ou formação de gel (Staub e Ali, 1982; Enriquez *et al.*, 1989; Neukon, 1989; Noble e Taravel, 1990).

Na indústria de alimentos são adicionadas a uma variedade de produtos como sopas, molhos, maioneses, embutidos, queijos, geléias, sucos, iogurtes, pães, bebidas alcoólicas e alimentos congelados (Dea e Morrison, 1975; Kroger, 1976; Staub e Ali, 1982; Enriquez *et al.*, 1989; Neukon, 1989).

A função primária do gel é ligar-solidificar a água livre. Esta água pode ser proveniente de um ingrediente líquido, como por exemplo, o leite, ou pode ser água celular sendo exudada de um ingrediente alimentício (Pedersen, 1980).

Em um grande número de sistemas alimentícios, misturas entre galactomananas e amido tem encontrado propriedades benéficas. A retrogradação do amido (transformações que ocorrem durante o resfriamento e armazenamento das pastas de amido gelatinizado) dá origem à sinérese, ou seja, a contração espontânea da rede tridimensional, com consequente separação da fase líquida. Este fenômeno ocorre em muitos géis, principalmente quando a concentração de polissacarídeo é baixa, consistindo na passagem para um estado de maior estabilidade, que pode ocorrer após várias horas ou dias, indicando que o equilíbrio não se estabelece quando o gel se forma (Rees *et al.*, 1969; Rees, 1977). Ligações sinérgicas entre amido e galactomananas podem evitar este fenômeno, que muitas vezes é prejudicial em sistemas alimentícios (Dea e Morrison, 1975).

Interações entre polissacarídeos e proteínas do leite são de considerável interesse em alimentos. Gardiner (1975) desenvolveu misturas contendo goma guar e outros hidrocolóides, a qual reconstituída com leite frio produz uma sobremesa tipo iogurte.

Labropoulos *et al.* (1984) apontaram três técnicas para a melhoria do corpo e textura do iogurte: 1) aumento da viscosidade por aumento no conteúdo de sólidos totais, 2) adição de estabilizantes, e 3) controle dos tempos e temperaturas de processamento.

Estudos realizados por Sajjan e Rao (1989) com goma guar nativa e carboximetilada em suspensões de caseína, mostraram através de microscopia, que na ausência de goma guar, as partículas de caseína aderem-seumas às outras, formando grumos e promovendo a instabilidade do sistema. Entretanto, na presença de 1 g/l de goma guar, o grau de grumos das partículas de caseína dispersas é reduzido, indicando que o polímero protege as partículas dispersas, separando-as umas das outras e prevenindo a formação de grumos e agregação de sedimentos. A goma guar nativa na concentração 7,5 g/l aumentou a estabilidade da suspensão de caseína de 5 minutos para 40 horas, enquanto que a goma guar carboximetilada 5 g/l a estabilizou por mais de 120 dias.

As interações entre as moléculas de caseína e o grupo iônico carboximetil, resultam em uma conformação altamente estendida com um aumento na viscosidade e pseudoplasticidade (Sajjan e Rao, 1989).

Kaup *et al.* (1991) testaram queijos fortificados com lactato de cálcio e goma guar, e verificaram que este produto tem atributos sensoriais melhores que queijos fortificados

com outros sais se cálcio (cloreto, fosfato, carbonato e citrato de cálcio), quando testados em filhotes de cobaias.

Em estudos prévios realizados pelo grupo de Química de Carboidratos Vegetais do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná (Lucyszyn, 1994), observou-se que na formulação de um pudim com substituição de amido por galactomanana de *Mimosa scabrella*, ocorreu um aumento na viscosidade dos pudins formulados contendo leite e diminuição da sinérese em relação ao produto comercial. Testes sensoriais de análise descritiva quantitativa e de escala Hedônica realizados para os pudins mostraram que pudins sabor baunilha, com substituição de amido por galactomanana em até 2,5%, foram aceitos pelo painel sensorial, e que pudins elaborados com 1% de substituição por galactomanana apresentaram médias superiores nos parâmetros aroma e textura em relação aos produtos comerciais.

Nunes e Coimbra (1998) estudaram a influência da composição de polissacarídeos na estabilidade da espuma do café expresso, a qual é responsável pela aceitabilidade visual da bebida e pela captura dos aromas voláteis. A estabilidade da espuma está relacionada com a quantidade e o tipo de polissacarídeos extraídos do grão de café torrado, que conferem certa viscosidade à bebida. Os autores observaram que os polissacarídeos extraídos com etanol 55% eram principalmente galactomananas, e a quantidade de material de alto peso molecular, além da viscosidade da fase contínua, podem também ser responsáveis pela estabilização da espuma do café expresso.

### **1.3.2. *Mimosa scabrella***

A *Mimosa scabrella* Bentham é uma planta leguminosa da família Mimosaceae, popularmente conhecida como bracatinga, abraçaatinga, abracatinga, anizeiro (MG), braacatinga (SC), bracaatinga (SC), bracatinga comum (PR), bracatinga branca, bracatinga vermelha, bracatinho, mandergo (RJ), maracatinga (SC), paracaatinga e paracatinga (Lorenzi, 1992; Carvalho, 1994).

É uma árvore perenifólia, com altura variando de 10 a 18 metros (Carvalho, 1994), representada na figura 9. O tronco é alto e esbelto, com 30 a 40 cm de diâmetro, apresenta ramificação dicotômica e irregular, cimosa e densa, copa alta e arredondada, paucifoliada,

estratificada (Lorenzi, 1992). O diâmetro da copa varia de 1,5 a 10 metros. A espessura da casca pode ser de até 20 mm, e tem uma coloração marrom-acastanhada quando jovem, passando a castanha-acinzentada com o crescimento, a textura é áspera, verrucosa, e com separação em fendas com orientação longitudinal. A casca interna é de coloração creme-rosada a rosada. As folhas são compostas, bipinadas, paripinadas, alternadas, com folíolos em número de 15 a 30 pares por pina, de 4 a 8 mm de comprimento (Lorenzi, 1992; Carvalho, 1994). As flores são amarelas, pequenas, em capítulos pedunculados, axilares ou terminais, em racemos curtos e melíferas. O fruto é um craspédio articulado deiscente, séssil, pubescente, com indumento estrelado, com até 48 mm de comprimento por 9 mm de largura, com 2 a 4 sementes (Carvalho, 1994).

Segundo Bianchetti (1981), o fruto é um lomento oblongo-linear, achatado, séssil, com articulações rombóides ou quase retangulares, caducas e deiscentes, de 1,7 a 4,8 por 0,5 a 0,9 cm de comprimento e largura, respectivamente. As sementes apresentam uma forma irregular, com coloração escura, quase preta, lustrosas e duras, com 6 mm de comprimento por 3 mm de largura, com linha fissural e albúmen vítreo, e cotilédones esverdeados. Estas sementes apresentam dormência devido à impermeabilidade do tegumento (casca) à água, que pode ser superada por aquecimento solar ou fogo em ambientes naturais, imersão das sementes em água aquecida a 80-96 °C, deixando as sementes em repouso nesta água, até atingir a temperatura ambiente por 18 horas

(85,2% de germinação), sendo que a proporção de quebra da dormência é de um volume de sementes para três volumes de água, ou imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado (93% de pureza) de 1 a 4 minutos (86% de germinação). A dormência das sementes varia de acordo com a origem das espécies, sendo que as sementes originárias de Santa Catarina apresentam menor grau de dormência em relação às do Paraná. O número de sementes por quilograma varia de 46500 a 89504 sementes (Carvalho, 1994).

Quanto à floração, o aparecimento dos botões florais dá-se em março e o florescimento de junho a setembro no Paraná e em Santa Catarina, em julho em São Paulo, e de setembro a outubro no Rio Grande do Sul. A frutificação ocorre nos meses de novembro a fevereiro no Rio Grande do Sul e em São Paulo, de dezembro a março no Paraná e em Santa Catarina (Inoue *et al.*, 1984). A dispersão das semente é autocórica (Carvalho, 1994).

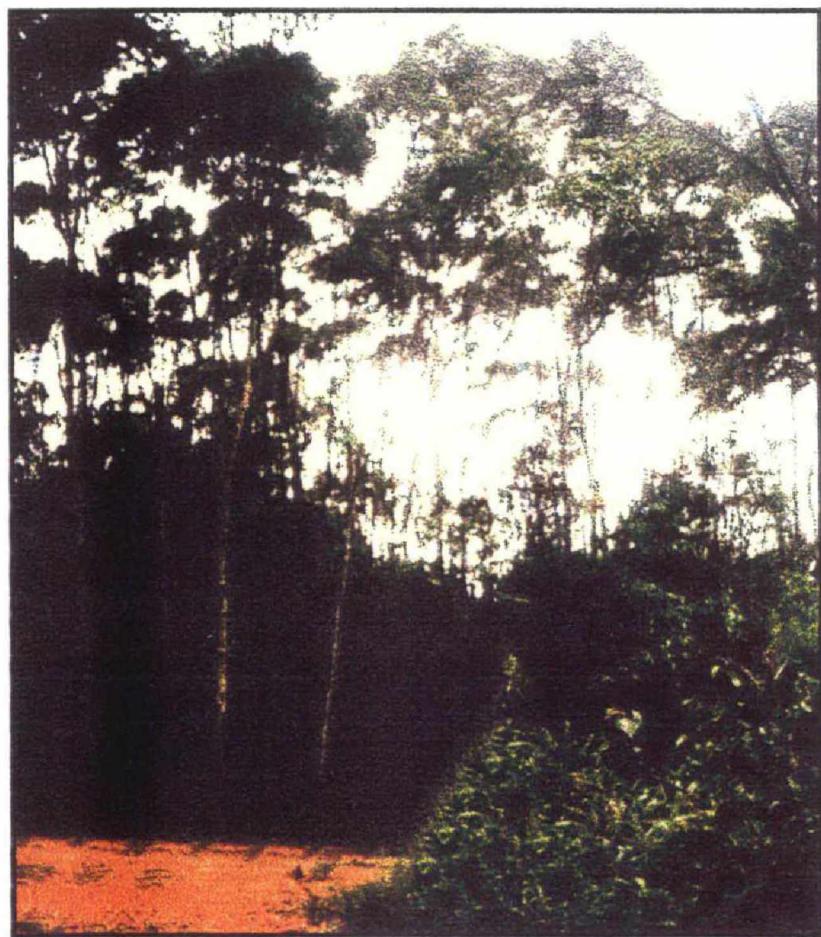


Figura 9: *Mimosa scabrella* Bentham

As árvores apresentam crescimento rápido além de extraordinária capacidade de regeneração natural, com florescimento a partir de oito meses de idade. O início efetivo de produção de sementes ocorre a partir de três anos de idade (Inoue *et al.*, 1984).

A área de ocorrência natural se dá no sul do Estado de Minas Gerais (MG), no leste e sul de São Paulo (SP), no nordeste do Rio de Janeiro (RJ), no sul e centro-sul do Paraná (PR), no leste e sul de Santa Catarina (SC) e no nordeste do Rio Grande do Sul (RS). A latitude de ocorrência é de 21°30' (Coronel Pacheco-MG) a 29°40' (RS). A área mais expressiva e contínua de ocorrência situa-se entre as latitudes 23°50' e 29°40' e longitude de 48°50'W até 53°50'W (Rotta, 1981; Carvalho, 1994).

É uma espécie pioneira, e destaca-se por colonizar terrenos nus ou áreas degradadas, por via de suas sementes. É muito comum na vegetação secundária, invadindo e colonizando áreas após a ação antrópica, principalmente em capoeiras e capoierões e na floresta secundária, às vezes formando associações puras, conhecidas como bracatingais. Possui uma longevidade de até 25 anos (Carvalho, 1994).

Encontra-se exclusivamente na vegetação secundária da Floresta Ombrófila Mista (Floresta de Araucária), nas formações Montana e Alta-Montana, sendo característica destas vegetações. Nos pinheirais primários não perturbados, a bracatinga é pouco abundante (Carvalho, 1994).

A bracatinga é considerada uma das espécies de crescimento inicial mais rápido do sul do Brasil. Na região metropolitana de Curitiba-PR, a produtividade anual média em rotação de 7 anos é estimada em 12,5 a 15 m<sup>3</sup>/ha, sob regeneração natural (Carvalho, 1994).

É uma planta nativa do planalto Sul brasileiro, presente em 195 municípios nas regiões do Sul do estado de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Norte do Rio grande do Sul (Rota e Oliveira, 1981).

No Estado do Paraná pode formar associações com o pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*), mas não atinge as florestas pluviais, tropicais e subtropicais do Norte e Oeste do estado, e inexiste na floresta pluvial Atlântica (Inoue *et al.*, 1984).

A área de maior expressão de plantio localiza-se na região metropolitana de Curitiba, que atinge 14 municípios: Bocaiúva do Sul, Colombo, Almirante Tamandaré, Rio Branco do Sul, Campo Largo (norte), Campina Grande do Sul, Piraquara, São José dos Pinhais, Quatro Barras, Araucária, Contenda, Balsa Nova, Campo Largo (sul), além de Curitiba. É importante para a produção de lenha e carvão, além de ser uma planta apícola de grande importância no inverno, fornecendo mel e pólen (Carvalho, 1994; Mazza, 1995).

#### **1.4. Leite**

Apesar do leite apresentar a aparência de um simples líquido, sua estrutura é muito complexa e não conhecida totalmente. O conhecimento das características fisico-químicas deste fluido biológico é necessário para a melhor compreensão das mudanças que ocorrem durante o processamento e as propriedades de produtos intermediários e finais derivados do leite.

Os produtos derivados do leite incluem um diverso grupo de alimentos, como creme de leite, manteiga, sorvete, iogurte, leite fermentado, queijo, leite em pó e outros bioproductos menos conhecidos comercialmente. Estes produtos são muito importantes no ponto de vista nutricional, tecnológico e econômico (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

Os componentes do leite são classificados em sete grupos: proteínas, lipídeos, carboidratos, minerais, pigmentos, vitaminas e enzimas, e componentes variados. Do ponto de vista físico-químico, o leite é uma solução complexa de sais, lactose e outros componentes orgânicos hidrofílicos menores, onde as proteínas do soro, micelas corpusculares de caseína e glóbulos de gordura são dispersas (Meyer, 1960).

Os constituintes do leite interagem de diferentes maneiras e dão origem a diferentes microestruturas, e consequentemente, desenvolvem propriedades particulares e estruturas, dependendo do processo de manufatura aplicado para elaborar cada produto derivado.

A microestrutura dos produtos do leite controla as propriedades físicas tais como a viscosidade, elasticidade, textura, susceptibilidade à sinérese, firmeza e espalhamento (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

As proteínas e os lipídeos são os mais importantes componentes do leite, e suas modificações físico-químicas afetam a estrutura e o comportamento global dos seus derivados. Os lipídeos são compostos principalmente de gorduras (triacilgliceróis), apesar de existirem também pequenas quantidades de fosfolipídeos e esteróis (Meyer, 1960).

As proteínas do leite têm a capacidade de formar um gel consistindo de uma matriz protéica com caseína como o elemento estrutural principal. Esta matriz pode conter componentes adicionais tais como proteínas do soro do leite, glóbulos de gordura, bactérias do ácido láctico, e outros ingredientes (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

A caseína é a proteína presente em maior quantidade na forma de partículas globulares chamadas micelas, que são compostas por submicelas unidas por pontes de fosfato de cálcio.

A caseína apresenta três frações denominadas  $\alpha_s$  ( $\alpha_{s1}$  e  $\alpha_{s2}$ ),  $\beta$  e  $\kappa$ -caseína, que diferemumas das outras por suas massas moleculares, taxa de migração em um campo elétrico e conteúdo em fósforo. Estas frações estão presentes nas submicelas na proporção 4:3:1 (Meyer, 1960, Clark e Ross-Murphy, 1987).

A  $\kappa$ -caseína, apesar de estar presente em somente pequena extensão na caseína, é um constituinte altamente significativo, e é conhecido por promover estabilidade às micelas contra agregação (Clark e Ross-Murphy, 1987).

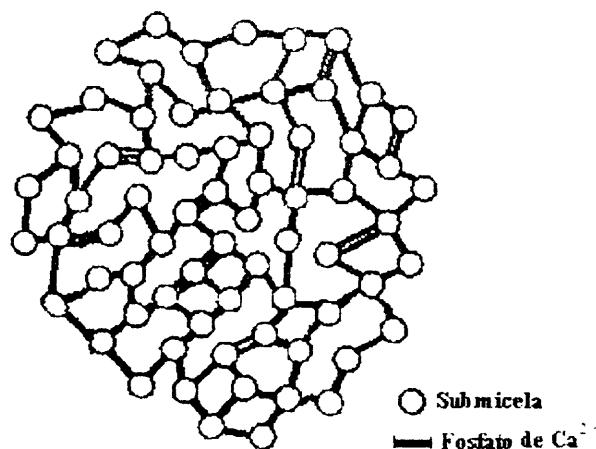


Figura 10: Estrutura genérica da caseína (adaptado de Clark, 1987)

As micelas de caseína constituem uns dos mais importantes componentes do leite, e que tornam possível formular uma variedade de produtos com características muito diferentes, variando de líquidos como o leite evaporado, e semi-líquidos como iogurtes, para semi-sólidos tais como o queijo. A habilidade da caseína de interagir com proteínas do soro do leite, agregar e hidrolisar sob os efeitos de baixo pH, aquecimento, e a presença de enzimas proteolíticas, é a mais importante propriedade do leite na produção de laticínios (Kalab, 1985).

O fenômeno de agregação das moléculas de caseína em baixos valores de pH ( $\text{pH} \approx 4,6$ ) não ocorre somente por condições de diminuição da carga das micelas, mas por um processo que envolve mudanças na estrutura original destas. Quando o pH diminui do valor normal do pH do leite ( $\text{pH} \approx 6,6$ ), o material inorgânico (fosfato de cálcio amorfo) dentro da estrutura da micela dissolve-se, e alguns dos componentes da proteína também tornam-se solubilizados. Como o pH continua a cair, uma seqüência complexa de eventos ocorre finalizando com a reagregação da parte protética do sistema e formação de novas partículas de proteína floculada em uma rede particulada em grumos.

As proteínas do soro do leite representam cerca de 20% do conteúdo de proteínas contidas no leite desnatado. Estas proteínas não são precipitadas pela acidificação em pH 4,6. Estas proteínas podem ser separadas em duas frações denominadas  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina (Meyer, 1960).

A lactose é um carboidrato característico do leite. É um dissacarídeo que ocorre

naturalmente e está presente como uma molécula não dissociada em uma solução verdadeira. A molécula de lactose não é esférica, e sua contribuição para conferir viscosidade ao leite não é significante.

A água é o constituinte mais abundante do leite, correspondendo de 82 a 90%, e apresenta um papel importante durante a manufatura de laticínios. A presença de água torna-se relevante através de interações hidrofílicas e/ou hidrofóbicas com outros componentes do leite (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

Constituintes secundários como enzimas, gases, minerais, vitaminas, agentes emulsificantes, acidulantes e microrganismos, adicionados ou desenvolvidos durante o processo de manufatura podem promover interações com os componentes primários (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

O leite e leite evaporado comportam-se como fluidos Newtonianos, mas o leite concentrado, creme de leite e iogurte são fluidos não Newtonianos. Géis de proteína do soro do leite e alguns tipos de queijo têm sido caracterizados como sólidos com comportamento elástico. Outros laticínios como sobremesas geladas, sorvetes e queijos apresentam uma natureza viscoelástica (Vélez-Ruiz e Cánovas, 1997).

Estas características particulares do leite e de seus componentes originam a grande diversidade dos produtos derivados do leite. Cada processo de manufatura e qualquer variante neste processo causam diferentes efeitos nos produtos derivados. Apesar de existirem muitos estudos relacionando as medidas reológicas com as mudanças estruturais, tais como desnaturação de proteínas do leite, formação de gel em leite evaporado, propriedades de emulsões em sorvetes, e formação de rede protéica em iogurte (O'Neil *et al.*, 1979; Aguilera e Kessler, 1989; Hart *et al.*, 1992; Xu *et al.*, 1992; Goff, 1993; Manoj *et al.*, 1996; Drohan *et al.*, 1997), o interesse na busca de correlações entre estrutura e propriedades reológicas cresce a cada dia.

## 1.5. Polissacarídeos e proteínas

Durante as últimas três décadas, observou-se um crescente interesse em misturas contendo proteínas e polissacarídeos. Com isto ocorreu um aumento do número de hidrocolóides usados como aditivos em alimentos, como por exemplo a xantana, gelana, proteínas concentradas ou

isoladas de soja e do soro do leite,  $\beta$ -lactoglobulina, glúten, além do desenvolvimento de novos métodos de processamento, como aquecimento em microondas, extrusão termoplástica e tratamentos com alta pressão (Zasypkin *et al.*, 1997).

Uma importante propriedade funcional dos polímeros em alimentos está na estabilização dos colóides alimentares. Os dois principais tipos de polímeros alimentares encontrados em emulsões óleo em água são os polissacarídeos e as proteínas, e alguns produtos contêm ambos os tipos de macromolécula em ingredientes de uma larga série de colóides alimentares, como por exemplo a maionese e o sorvete. A natureza da interação polissacarídeo-proteína afeta o comportamento de tais sistemas coloidais (Dickinson e Euston, 1991; Dickinson, 1995; Oakenfull, 1998).

Na indústria alimentícia, a distinção entre os termos emulsificador (agente emulsificante) e estabilizador (agente estabilizante) é muito usada, apesar de que na prática muitos polímeros alimentícios são capazes de executar ambas as funções (Dickinson e Euston, 1991).

Pode-se definir emulsificador como um único componente químico, ou uma mistura de componentes, que têm a capacidade de promover a formação de emulsão e estabilização por ação interfacial, e um estabilizador como um componente químico, ou misturas de componentes, que podem conferir estabilidade prolongada a uma emulsão, possivelmente por um mecanismo envolvendo adsorção. Para ser um bom emulsificador, então, uma espécie macromolecular deve ter a capacidade de absorver rapidamente a interface nascente de óleo-agua criada durante a emulsificação, e então proteger as novas gotas formadas contra a mistura imediata (Dickinson e Euston, 1991).

Por outro lado, o papel de um bom estabilizador é manter as gotas separadas na emulsão uma vez que tenham sido formadas, desse modo retardando ou inibindo a formação de floculação, ou seja, coagulação ou precipitação, durante o armazenamento prolongado.

A visão tradicional de que as proteínas são bons agentes emulsificantes devido a sua substancial hidrofobicidade e flexibilidade molecular, justifica-se pela rápida adsorção e rearranjo na interface resultando em uma camada macromolecular protetora. Porém, é conhecido que quando a capacidade da proteína é insuficiente em dar completa cobertura durante a homogeneização, a floculação por pontes macromoleculares pode ocorrer (Dickinson e Euston, 1991; Reichman, 1991; Gallegos *et al.*, 1997; Polyakov *et al.*, 1997).

Os polissacarídeos são bons agentes estabilizadores devido a sua hidrofilicidade, alta massa molecular, e comportamento de formação de gel, que conduz à formação de uma

barreira macromolecular no meio aquoso entre gotas dispersas (Dickinson e Euston, 1991; Dickinson e Galazka, 1992), desempenhando um importante papel na estabilização de emulsões em alimentos. Embora sejam geralmente usados em níveis menores que 2% para ativar as propriedades desejadas em sistemas de alimentos, apresentam alta rentabilidade (Dziezak, 1991). Seu comportamento total é determinado por um balanço entre a competição termodinâmica e os fatores reológicos. A natureza e a força das interações interfaciais proteína-polissacarídeo são de crucial significância em relação à estabilidade com respeito a cremosidade e floculação, e os complexos polissacarídeo-proteína podem prover uma nova classe de biopolímeros com potencial para o uso como agentes emulsificantes em sistemas alimentares, já que misturas de soluções polissacarídeo-proteína são normalmente mais eficientes como estabilizadores de emulsão que os biopolímeros individuais (Dickinson, 1995; Zasypkin *et al.*, 1997).

O uso de um conjugado polissacarídeo-proteína permite aliar a propriedade superficial (hidrofobicidade) da proteína, com o aumento da viscosidade do meio (hidrofilicidade) do polissacarídeo, tornando esse conjugado um agente estabilizante e emulsificante ideal (Dickinson e Euston, 1991; Dickinson e Galazka, 1992, Dickinson, 1995).

Avaliações das interações entre hidrocolóides em soluções aquosas e géis, são necessárias para a modelagem e aperfeiçoamento de alimentos convencionais. Em resposta, novas formulações vêm sendo desenvolvidas para melhorar as propriedades de controle funcional de sistemas alimentícios por adição de hidrocolóides. Contudo, apesar de uma ampla utilização prática destes como aditivos em alimentos e ingredientes, muitos aspectos fundamentais relacionados com a estrutura-propriedade das misturas de hidrocolóides são ainda desconhecidos (Zasypkin *et al.*, 1997).

A estabilidade total e a textura do colóide em alimentos depende não somente das propriedades funcionais de biopolímeros individuais, mas também da natureza e da força das interações polissacarídeo-proteína. Dependendo da estrutura química dos biopolímeros e das condições em solução (temperatura, pH, força iônica, etc.), estas interações podem ser atrativas ou repulsivas, fracas ou fortes, específicas ou não específicas (Dickinson e Galazka, 1992; Dickinson, 1993). De um modo geral, a interação entre polissacarídeo e proteína pode se dar de três maneiras: forte associação, fraca associação ou sem nenhuma associação entre as duas macromoléculas.

Os biopolímeros complexos podem interagir através de ligações covalentes, ligações iônicas, pontes de hidrogênio, interação hidrofóbicas, forças de van-der-Waals, e por

emaranhado ao acaso (Dickinson e Euston, 1991; Dickinson e Galazka, 1992). Entre as interações não específicas de hidrocolóides em meio aquoso, estão a complexação e incompatibilidade termodinâmica de hidrocolóides (Polyakov *et al.*, 1997).

As interações repulsivas são sempre não específicas e de duração transitória. Elas normalmente derivam de efeitos de volume de exclusão e/ou interações eletrostáticas, e elas tendem a ser relativamente fracas, exceto em uma grande proximidade entre os biopolímeros ou em baixa força iônica. Tais interações são encontradas em misturas entre proteína-polissacarídeo não carregado, ou com polissacarídeos aniónicos com pH acima do ponto isoelétrico da proteína (Dickinson e Galazka, 1992; Dickinson, 1993).

Entre os exemplos de interações atrativas, a ligação covalente entre proteína e polissacarídeo é específica, forte e permanente. Já a interação não específica entre polissacarídeos e proteínas é resultado de um conjunto de interações químicas individuais e específicas, tais como ligação iônica, dipolar, van-der-Waals, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Dickinson, 1993).

Interações atrativas fortes podem ocorrer entre proteínas positivamente carregadas e polissacarídeos aniónicos, especialmente em baixa força iônica. Interações atrativas fracas podem ocorrer em proteínas não carregadas ou carregadas negativamente e polissacarídeos. Em qualquer sistema particular, a interação polissacarídeo-proteína pode mudar de uma rede repulsiva para uma rede atrativa, e vice-versa, mudando-se as condições de temperatura, de pH ou de força iônica (Dickinson, 1993).

### **1.5.1. Incompatibilidade entre polissacarídeos e proteínas**

A incompatibilidade entre polissacarídeos e proteínas é um fenômeno geral. Soluções contendo misturas de biopolímeros que apresentam diferenças químicas e/ou conformacionais normalmente são instáveis e separam-se em duas fases líquidas. Isto significa que sob determinadas condições, a interação biopolímero-solvente é mais favorável que a interação entre os dois biopolímeros, e qualquer sistema polissacarídeo-proteína é espontaneamente separado em duas fases líquidas, uma contendo a proteína e outra contendo o polissacarídeo. As condições necessárias para a separação de fase variam de acordo com os biopolímeros, e dependem das características estruturais específicas e compostionais, tanto

quanto da massa molecular e conformação (Tolstoguzov, 1993; Grinberg e Tolstoguzov, 1997; Zasypkin *et al.*, 1997).

Vários sistemas de fases separadas entre polissacarídeos e proteínas são conhecidos, como por exemplo a mistura entre caseína e polissacarídeos neutros como caseína-amilopectina e caseína-dextrana, e com polissacarídeos aniónicos como caseína-pectina, caseína-CMC, caseína-alginato de sódio, caseína-goma arábica e caseína-dextrana sulfato (Tolstoguzov, 1993; Grinberg e Tolstoguzov, 1997).

As proteínas e polissacarídeos não carregados podem formar complexos devido à atração entre dipolos locais de unidades de carboidratos das macromoléculas do polissacarídeo e grupos carregados da proteína, ou devido à formação de bases de Schiff instáveis, com a participação de grupos aldeído do polissacarídeo e grupos amino da proteína (Grinberg e Tolstoguzov, 1997).

A incompatibilidade de proteínas com polissacarídeos torna-se mais pronunciada com o aumento da força iônica, devido à intensificação da associação entre as moléculas de proteína, e quando o pH aproxima-se do ponto isoelétrico da proteína (Tolstoguzov, 1993; Grinberg e Tolstoguzov, 1997).

Grinberg e Tolstoguzov (1997), através de diagramas de estado de fase, observaram que ocorre uma diminuição da incompatibilidade em proteínas na ordem: albumina > globulina > caseína > prolamina > glutelina, para todos os tipos de polissacarídeos na ordem: polissacarídeos contendo grupo carboxil > polissacarídeos neutros > polissacarídeos contendo sulfato. Outro fator que afeta o fenômeno da incompatibilidade é o grau de ramificação das macromoléculas do polissacarídeo, sendo a incompatibilidade menor em polissacarídeos ramificados que em lineares, tendo em vista que estes apresentam um tamanho maior que seus homólogos ramificados com o mesmo grau de polimerização.

A concentração mínima para formação de gel normalmente decresce quando outro biopolímero incompatível é adicionado. Isto é devido ao efeito do volume de exclusão na solução mista de uma única fase. Em sistemas de biopolímeros de fase separada o mesmo efeito pode ser devido à redistribuição entre fases durante a formação de gel (Zasypkin *et al.*, 1997). Como resultado deste efeito de volume de exclusão, a taxa de formação de gel e o módulo de elasticidade ( $G'$ ) da mistura de géis podem ser altos, com diminuição da concentração mínima para formação de gel.

A maioria dos polissacarídeos não iônicos e muitos polissacarídeos carregados não mostram nenhum sinal óbvio de formação de complexo com proteínas de alimentos sobre

uma larga extensão de solventes. Nestes sistemas proteínas e polissacarídeos não há nem uma associação muito fraca, nem interações repulsivas, se comparadas com interações proteína-proteína e polissacarídeo-polissacarídeo (Dickinson e Euston, 1991).

### 1.5.2. Interação polimérica em alimentos

O desenvolvimento comercial do conceito funcional de alimento tem usado misturas de polissacarídeo-proteína e proteína-proteína como ingredientes estruturais de produtos com calorias reduzidas (Dickinson, 1995; Walter, 1998).

Muitos alimentos processados e formulados existentes no mercado atualmente são sistemas multicomponentes que contêm misturas polissacarídeo-proteína-gordura. Reações de vários hidrocolóides com leite desnatado e com proteínas purificadas foram estudadas por eletroforese em gel de poliacrilamida e centrifugação (Grindrod e Nickerson, 1968). A carragenana pode reagir com a  $\kappa$ -caseína do leite e formar um complexo estável, mas nenhuma reação observada ocorreu entre proteínas do soro do leite e carragenana (Xu *et al.*, 1992).

O desenvolvimento de géis de substâncias lácteas tem se concentrado principalmente em estudos de géis de proteínas do soro do leite, géis de caseína, e géis de misturas caseína-proteína do soro do leite. Também eles compreendem um sistema típico multicomponente que pode envolver interações polissacarídeo-proteína, polissacarídeo-polissacarídeo, proteína-lipídeo, e polissacarídeo-lipídeo. Todas estas interações podem ser responsáveis pela formação e estrutura da rede do gel (Xu *et al.*, 1992).

As principais proteínas do leite, caseína e proteínas do soro do leite, formam géis sob diferentes condições e tais misturas de géis apresentam propriedades únicas (Aguilera e Kessler, 1989; Aguilera e Kinsella, 1991). Neste contexto, muitos produtos lácteos, incluindo queijo e iogurte, são essencialmente géis compostos em que proteínas do soro desnaturadas agem como ligantes dentro de uma matriz de caseína, e glóbulos de gordura são incorporados dentro da estrutura final. Novos produtos lácteos podem ser desenvolvidos se as interações entre estes três componentes forem compreendidas e controladas durante a manufatura (Aguilera e Kinsella, 1991).

Misturas entre agentes formadores de gel possibilitam uma redução na quantidade destes agentes usados nas formulações, e o controle do relacionamento entre composição-estrutura-propriedade de muitos sistemas de alimentos processados e os produtos finais, incluindo produtos de confeitoria (doces) e de padaria. Outra recente aplicação é a utilização de géis multicomponentes para a produção de alimentos com pouca gordura e substitutos de gordura (Clegg, 1996).

Emulsões com baixo conteúdo em gordura estão sendo desenvolvidas através da utilização de sistemas alternativos contendo proteínas e polissacarídeos em combinação com vários métodos para ligar partículas de gordura dispersas, dando origem a emulsões que teoricamente podem conter pouco ou nenhum conteúdo em gordura (Chronakis e Kasapis, 1993).

Recentemente, produtos da hidrólise ácida ou enzimática do amido têm sido muito utilizados na indústria de alimentos, bebidas e fermentação. Géis de amido hidrolisado de batata e milho têm sido considerados como substitutos de gordura na produção de manteigas e queijos “light” com baixas calorias (Manoj *et al.*, 1996).

Galactomananas vêm sendo utilizadas como substitutos de gordura em sorvetes com baixo teor de gordura e queijos macios em versões “light”. A alfarroba, em particular, fornece uma textura desejável única, que acredita-se ser resultado de uma formação de complexo entre a galactomanana com polímeros da caseína do leite (Herald, 1986a).

As proteínas do soro do leite são solúveis em uma larga faixa de pH e apresentam boas qualidades para a formação de géis, emulsões e espumas. Comercialmente, a formação de gel das proteínas do soro do leite é uma propriedade funcional muito importante, utilizada pela indústria de panificação e alimentos, mas é indesejável em produtos como bebidas, imitação de alimentos lácteos e sobremesas geladas (Ju *et al.*, 1995).

Alguns autores estudaram géis lácteos com partículas dispersas, e misturas de géis lácteos combinando leite em pó desnatado e concentrado de proteína do soro do leite, ou leite em pó desnatado e isolado de proteína do soro do leite com gordura (Kalab e Emmons, 1975; Kalab, 1985; Aguilera e Kessler, 1989; Aguilera e Kinsella, 1991; Xu *et al.*, 1992).

Kinekawa e Kitabatake (1995) prepararam um ingrediente protéico que fornece géis e sóis (colóides em que a fase dispersora é líquida e a dispersa é sólida) transparentes em um isolado de proteínas do soro do leite por aquecimento sob condições livres de sal a pH neutro, e esta proteína processada pode ser usada na textura de presuntos, lingüiças, e produtos de carne de peixe, porque a proteína do soro do leite processada produz um gel elástico e com

grande capacidade de retenção de água. O sol preparado pela proteína processada é um líquido nutritivo que pode ser usado como uma base para vários tipos de bebida, como um novo tipo de bebida proteinácea com pH neutro e outras aplicações como alimentos medicinais, alimentos para bebês, e alimentos para pessoas idosas. A proteína do soro de leite processada também dá origem a um sol ou solução límpida, com baixa concentração de proteínas a pH ácido, que poderia ser usada em sucos ou refrescos.

O sorvete é um colóide alimentar complexo que consiste em bolhas de ar, glóbulos de gordura, cristais de gelo e uma fase de soro não congelada. Os estabilizantes, principalmente polissacarídeos, são adicionados em alimentos congelados para proteger o produto do desenvolvimento de uma textura grosseira durante as flutuações de temperatura que ocorrem durante a estocagem e distribuição (Goff, 1993).

Cottrell *et al.* (1979) utilizaram pequenas quantidades de vários polissacarídeos como estabilizantes em sorvetes, comparando compostos tradicionais com o exudato de *Khaya grandifoliola*, e observaram através de medidas reológicas, avaliação organoléptica e propriedades de estocagem, que dos exudatos testados (*Albizia zygia*, *Lannea coromandelica*, *Khaya grandifoliola*, Acacia, Karaya e Tragacanth), a goma *Khaya* foi a mais efetiva, apesar de que o sorvete que utilizou esta goma apresentou uma baixa viscosidade. Uma pequena quantidade da goma produziu uma grande extensão de efeitos desejáveis, como boa textura e fusão acima da média.

Goff (1993) em estudos sobre a interação e contribuição de estabilizantes e emulsificantes no desenvolvimento da estrutura de um sorvete, realizou experimentos sobre a ação de estabilizantes utilizando goma de alfarroba (0,15%) e carragenana (0,02%), através da medida da temperatura de formação de gel (Tg), por calorimetria, medidas de viscosidade (em temperaturas abaixo de zero) e microscopia eletrônica em baixas temperaturas (“cryo-scanning”). O autor observou que os polissacarídeos atuavam protegendo o sistema, reduzindo o tamanho dos cristais de gelo e sua taxa de crescimento; aumentavam a viscosidade do sistema em temperaturas acima da Tg, reduzindo a mobilidade molecular da fase do soro e promovendo resistência à recristalização e colapso estrutural.

## *Objetivos*

---

## 2. Objetivos

O objetivo do presente trabalho consiste na investigação da interação entre misturas de galactomananas de sementes de *Mimosa scabrella* e proteínas do leite, baseada em estudos reológicos, de acordo com os seguintes objetivos específicos:

1. análise das características reológicas dos sistemas isolados e da mistura galactomanana-proteína em módulo estático, relacionando a viscosidade absoluta ( $\eta$ ) e velocidade de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ );
2. análise do comportamento viscoelástico das amostras através de medidas reológicas de tensão temporária (arraste) e medidas oscilatórias dinâmicas ( $G'$  e  $G''$ ), nos seguintes sistemas:
  - . galactomananas de *Mimosa scabrella* e proteínas do leite *in natura* desnatado e integral, e leite em pó desnatado;
  - . galactomananas e leite em pó desnatado em presença de sais;
  - . galactomananas e proteína do soro do leite;
  - . galactomananas e caseinato de sódio;
  - . galactomananas e frações ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) da caseína do leite.

## *Materiais e Métodos*

---

### **3. Materiais e métodos**

#### **3.1. Métodos gerais**

##### **3.1.1. Obtenção das sementes**

As sementes foram fornecidas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), provenientes de povoamentos naturais da região de Bocaiúva do Sul, tendo sido colhidas em dezembro de 1997.

##### **3.1.2. Extração dos polissacarídeos**

As sementes foram moídas em moinho Wiley, utilizando-se peneiras de 2 e 1mm, sucessivamente.

A inativação enzimática do material moído foi realizada utilizando-se 500 ml de água destilada fervente em microondas na potência alta em diferentes tempos (2, 4, 6, 8 e 10 minutos), seguido da adição de 500 ml de água destilada gelada à solução, para que as enzimas que poderiam degradar o polissacarídeo fossem inativadas. Em seguida foram realizadas extrações aquosas à temperatura ambiente por um período de quatro horas, sob constante agitação.

O material extraído foi centrifugado em centrífuga Hitachi Himac CR21E por 15 minutos, a 20000 g em temperatura de 20 °C, para a retirada preliminar dos resíduos da semente. O sobrenadante foi novamente centrifugado por 60 minutos, a 20000 g em temperatura de 20 °C para a retirada total dos resíduos da semente.

O polissacarídeo foi então precipitado com a adição de 1 volume de etanol comercial, sob agitação vigorosa e constante, centrifugado a 20000 g por 5 minutos, a 20 °C.

O precipitado resultante foi separado da mistura etanólica por tratamentos sucessivos com etanol (70% a 100% v/v) e centrifugação por 5 minutos, a 20000 g, numa temperatura de 20 °C.

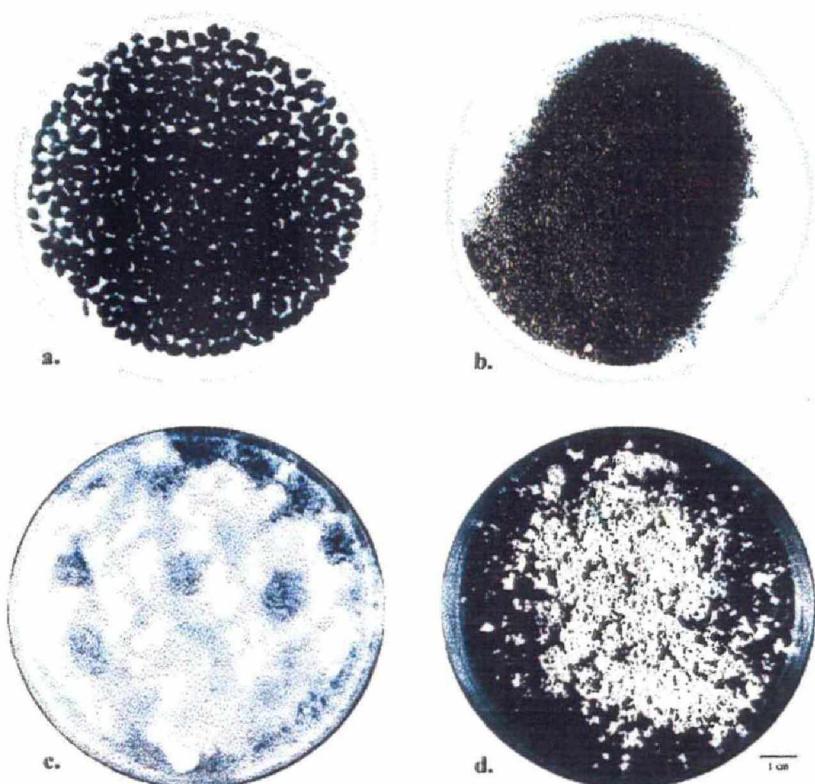


Figura 11: Sementes de *Mimosa scabrella* a) inteiras, e b) moidas. Galactomananas obtidas a partir das sementes c) purificadas, e d) secas

### 3.1.3. Preparo das misturas polissacarídeo-proteína

As misturas foram preparadas a partir de galactomanana de *Mimosa scabrella* Bentham, por adição de galactomanana em diferentes concentrações (1 a 20 g/l) ao leite comercial desnatado e integral ultrapasteurizados pelo sistema UHT (“ultra high temperature”) da marca Batavo (Indústria e Cooperativa Batavo S.A.) e ao leite em pó desnatado Molico (Nestlé).

No sistema de ultrapasteurização o leite é aquecido a 140 °C por 4 segundos, em seguida resfriado a 20 °C e envasado numa embalagem à vácuo. Este processo garante as qualidades nutritivas e naturais do produto por um período de 180 dias à temperatura ambiente, desde que a embalagem permaneça intacta.

As amostras em pó foram pesadas precisamente em balança analítica, e as misturas feitas num volume total de 10 ml.

As misturas sofreram um processo de agitação mecânica por um período de cerca de 4 horas à temperatura ambiente para a completa solubilização, e permaneceram em repouso antes dos ensaios reológicos. As amostras foram preparadas diariamente em triplicatas, e analisadas em reômetro no mesmo dia para evitar contaminação.

### **3.1.4. Preparo da caseína**

A caseína total foi obtida a partir de uma solução de leite em pó desnatado Molico (Nestlé) na concentração 100 g/l após precipitação a pH 4,6 sob agitação, à temperatura ambiente. A amostra foi centrifugada a 10000 g por 15 minutos. A caseína é insolúvel em solução aquosa, então foi adicionado NaOH, sob agitação constante, até a neutralização, dando origem ao caseinato de sódio, que é uma forma totalmente solúvel. A solução de caseinato de sódio foi liofilizada e estocada.

## **3.2. Métodos químicos**

### **3.2.1. Hidrólise ácida total**

A galactomanana foi solubilizada em água destilada (1ml), e a este material solúvel foi acrescido 1ml de ácido trifluoracético (TFA) 2N, deixando-o hidrolisar em tubos

hermeticamente fechados em banho a 100 °C por 5 horas (Adams, 1965).

Após a hidrólise, o excesso de TFA foi removido por evaporação em capela à temperatura ambiente.

### 3.2.2. Redução

As frações submetidas à hidrólise ácida total foram reduzidas com boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas (Wolfson e Thompson, 1963a). O excesso do agente redutor foi decomposto e a remoção dos íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) foi realizada pela adição da resina trocadora de cátions na forma ácida Lewattit S-100 ( $\text{H}^+$ ). As soluções foram filtradas à vácuo e evaporadas em balão de evaporação num rotaevaporador (40 °C). Ao balão foi adicionado metanol para a retirada de íons boro, com a formação de tetraborato de metila, um composto volátil na temperatura de evaporação. O sistema foi novamente evaporado em rotaevaporador. Esta operação foi repetida 3 vezes. Assim, os monossacarídeos constituídos por um grupo funcional aldeído, passam a ser álcoois com a adição de 2 átomos de  $\text{H}^+$  na extremidade da molécula, denominados aldítóis.

### 3.2.3. Acetilação

Após a redução da amostra, esta foi submetida ao processo de acetilação. Ao aldítol foram adicionados 1 ml de piridina e 1 ml de anidrido acético, em tubo hermeticamente fechado, e o sistema deixado em capela à temperatura ambiente por 24 horas (Wolfson e Thompson, 1963b).

A reação de esterificação foi interrompida pela adição de gelo, para a degradação do excesso de anidrido acético, e os produtos acetilados foram extraídos da solução pela adição de 3 ml de clorofórmio. O excesso de piridina presente na fase clorofórmica do sistema foi eliminado através de sucessivas aplicações de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) 5% e água destilada,

alternadamente (formando um complexo azul escuro, o sulfato de piridina, que passa para a fase aquosa e é eliminado).

A fase clorofórmica contendo os acetatos de aldítóis foi coletada e levada à secura para análise em cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.).

### 3.2.4. Dosagem de açúcar total

As determinações de açúcar total das galactomananas e das misturas galactomanana-proteína do leite foram feitas pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), em comprimento de onda de 490 nm, utilizando-se como solução padrão mistura de soluções padrão D-manose e D-galactose 1:1 (v/v) (Sigma), para a obtenção de uma curva de calibração.

### 3.2.5. Dosagem de proteínas

As dosagens de proteínas da galactomanana de *Mimosa scabrella* foram realizadas através dos métodos de Hartree (Hartree, 1972) e Peterson (Peterson, 1977), para avaliar o conteúdo de componente protéico presente nas amostras.

### 3.3. Métodos cromatográficos e espectroscópicos

#### 3.3.1. Cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.)

A cromatografia líquido-gasosa foi realizada em um cromatógrafo Hewlett Packard 5890 Series II, com detector de ionização de chama (FID), utilizando-se nitrogênio como gás de arraste, com fluxo de 2,0 ml/minuto, a 220 °C, e a temperatura do detector e do injetor é de 250 °C, para a análise quantitativa e qualitativa da fração polissacarídica. O aparelho estava equipado com uma coluna capilar (0,25 mm x 30 m), modelo DB-210, com espessura de filme de 0,25 µm. Através do g.l.c. foram identificados e quantificados os monossacarídeos presentes na amostra.

#### 3.3.2. Ressonância magnética nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ - RMN)

As análises de  $^{13}\text{C}$  - RMN da galactomanana na concentração 5 mg/ml, em óxido de deutério ( $\text{D}_2\text{O}$ ), foram realizadas em espectrômetro Bruker DRX-400 no modo FT. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em ppm, em relação ao padrão externo DMSO,  $\delta = 0$ . Os espectros foram obtidos em 100,62 MHz, à 50 °C.

### 3.4. Métodos reológicos

As análises reológicas foram determinadas em um reômetro Haake RS 75 Rheostress acoplado a um termocirculador DC5B3 e banho termostatizado Haake K15, em temperatura constante de 25° C, em sistema estático e dinâmico, utilizando-se 2 tipos de sensores: cilindro-coaxial (DG41AL) e cone-placa (C60/2°). A determinação da inércia dos sensores foi

realizada para descontar os valores das forças centrifuga e centrípeta geradas durante os experimentos no equipamento. Todas as análises reológicas foram feitas em triplicata, com amostras preparadas diariamente.

### 3.4.1. Determinação das viscosidades absolutas

As viscosidades para as soluções de galactomanana em solução aquosa e misturas polissacarídeo-proteína do leite em sistemas contendo leite desnatado, leite integral e leite em pó desnatado, descritos conforme o item 1.3. dos métodos gerais, foram determinadas de acordo com a variação da velocidade de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ), em sistema estático, utilizando-se um sensor cilindro-coaxial do tipo Couette.

O primeiro instrumento rotacional foi descrito por Couette em 1890, usando um copo rotacional e um cilindro interno montado em um instrumento de torção.

No sistema cilindro-coaxial, a solução em que a viscosidade deve ser determinada, encontra-se entre duas superfícies: a superfície do cilindro externo (fixo) e a do cilindro interno (móvel) na geometria coaxial, conforme a figura 12. Ao cilindro interno impõe-se uma velocidade de rotação ( $\omega$ ) bem definida, dando movimento ao líquido. Devido à força de atrito interno, o líquido em movimento na superfície interna transmite o movimento à superfície do cilindro externo, tentando arrastá-lo. O torque aplicado pela amostra à superfície o cilindro externo permite a determinação da viscosidade do líquido, conhecendo-se a velocidade de cisalhamento imposta pela rotação do cilindro interno (Schott, 1992; Schramm, 1994).

Este sistema permite a análise das viscosidades das amostras em uma variação de velocidade de cisalhamento de  $10^{-3}$  até  $2000\text{ s}^{-1}$ , dependendo das características da amostra. Se a amostra é pouco viscosa, a sensibilidade do equipamento permite medir as viscosidades numa faixa de cisalhamento de 10 até  $2000\text{ s}^{-1}$ , mas se a amostra possui uma viscosidade elevada (pseudoplástica), pode-se medir as viscosidade numa faixa de velocidade de cisalhamento bem menor, com sensibilidade de  $10^{-3}$  até  $2000\text{ s}^{-1}$ .

Estes valores de velocidade de cisalhamento nem sempre permitem a análise das

amostras na região do primeiro platô Newtoniano, onde a viscosidade independe da velocidade de cisalhamento. A comparação entre as viscosidades das amostras faz-se através da utilização de um valor determinado (estabelecido) de velocidade de cisalhamento, com valor de  $10\text{ s}^{-1}$ .

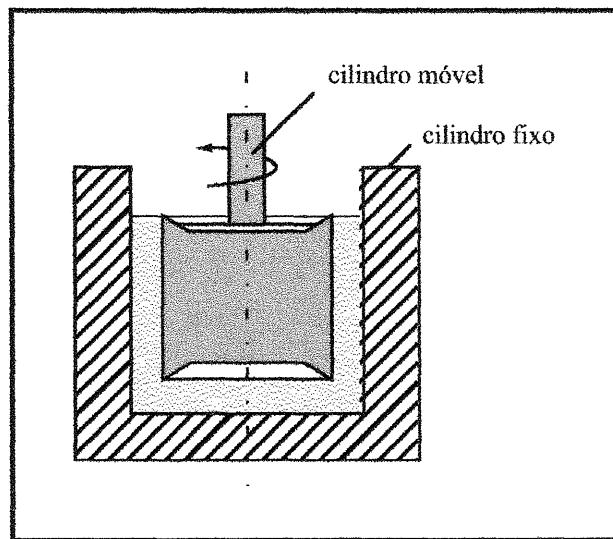


Figura 12: Esquema de um sensor de geometria do tipo cilindro-coaxial (adaptado de Schramm, 1994)

### 3.4.2. Experimentos de tensão temporária

Para a análise do comportamento viscoelástico das amostras, medidas reológicas no sistema estático e dinâmico ou oscilatório foram utilizadas. No módulo estático, a análise de tensão temporária ou arraste (“creep and recovery”) foi realizada, utilizando-se um sensor do tipo cone-placa ( $C\ 60/2^\circ$ ), com diâmetro do cone de 60 mm, e ângulo de  $2^\circ$ , de acordo com a figura 13, e a amostra foi submetida a uma tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) constante e de pequena amplitude, com valor de 0,017 Pa pelo tempo de 600 segundos, à temperatura de 25 °C.

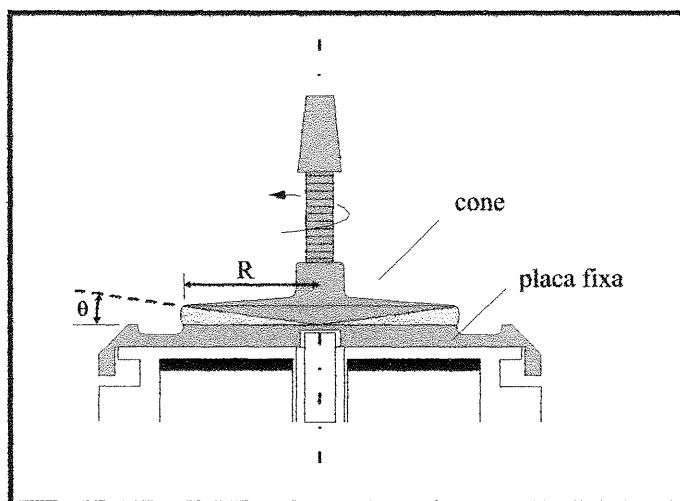


Figura 13: Esquema de um sensor de geometria do tipo cone-placa (adaptado de Schramm, 1994)

### 3.4.3. Comportamento dinâmico

Para avaliar o comportamento viscoelástico das amostras, além dos experimentos de tensão transitória, foram também realizadas análises sistema dinâmico ou oscilatório, utilizando-se um sensor do tipo cone-placa.

As respostas elásticas ( $G'$ ) e viscósas ( $G''$ ) do material foram avaliadas, utilizando-se baixos valores de deformação ( $\gamma$ ). Fez-se uma varredura de tensão ( $10^{-2}$  a  $10$  Pa) em freqüência de  $1$  Hz para determinar-se a região viscoelástica linear das amostras, ou seja, a região onde os módulos elástico e viscoso permanecem constantes com a variação da deformação, indicando que não ocorre perturbação significativa na estrutura do polímero. A deformação escolhida dentro da faixa viscoelástica linear das amostras para dar continuidade às análises do comportamento dinâmico foi de  $7\%$ .

#### **3.4.4. Influência de sais nas misturas entre galactomanana e proteínas do leite**

A influência de sais foi analisada em misturas contendo galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l, e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l, utilizando-se NaCl e CaCl<sub>2</sub> 0,01 e 0,1 M.

#### **3.4.5. Análise da interação entre galactomananas e proteínas do leite fracionadas**

A análise da interação entre galactomananas e proteínas do leite fracionadas foi realizada através do fracionamento da caseína do leite, como descrito no item 1.4, obtendo-se caseinato de sódio e proteínas do soro do leite. Para a análise reológica foram utilizadas concentrações em galactomananas de 10 e 20 g/l, proteínas do soro do leite 50 e 100 g/l, e caseinato de sódio 10, 30, 50 e 100 g/l.

#### **3.4.6. Análise da interação das misturas entre galactomananas e frações purificadas da caseína**

Foram realizadas análises reológicas para a investigação da interação das misturas entre galactomananas na concentração 10 g/l e frações purificadas da caseína ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ) (Sigma) nas concentrações 5 g/l.

## *Resultados e Discussão*

---

## 4. Resultados e discussão

O estudo da composição e estrutura química dos polissacarídeos de espécies vegetais nativas vem sendo desenvolvido no Laboratório de Química de Carboidratos Vegetais da Universidade Federal do Paraná há mais de vinte anos.

Dentre os polissacarídeos estudados, destacam-se as galactomananas, que estão presentes no endosperma das sementes, com função estrutural (germinação) e de reserva.

As galactomananas obtidas através de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga) já foram estudadas previamente quanto a sua estrutura química, aplicação e propriedades reológicas (Ganter, 1988; Ganter, 1991; Ganter *et al.*, 1991, 1992a, 1992b, 1993, 1995, 1997 e 1999; Lucyszyn, 1994; Sugui, 1994; Cardoso, 1995; Bresolin *et al.*, 1996, 1997 e 1998; Bresolin, 1998).

Estes polissacarídeos apresentam rendimentos de aproximadamente 30% (m/m), sendo comparáveis aos das galactomananas produzidas comercialmente, e podem servir como fontes alternativas para a substituição de galactomananas comerciais, que são importadas.

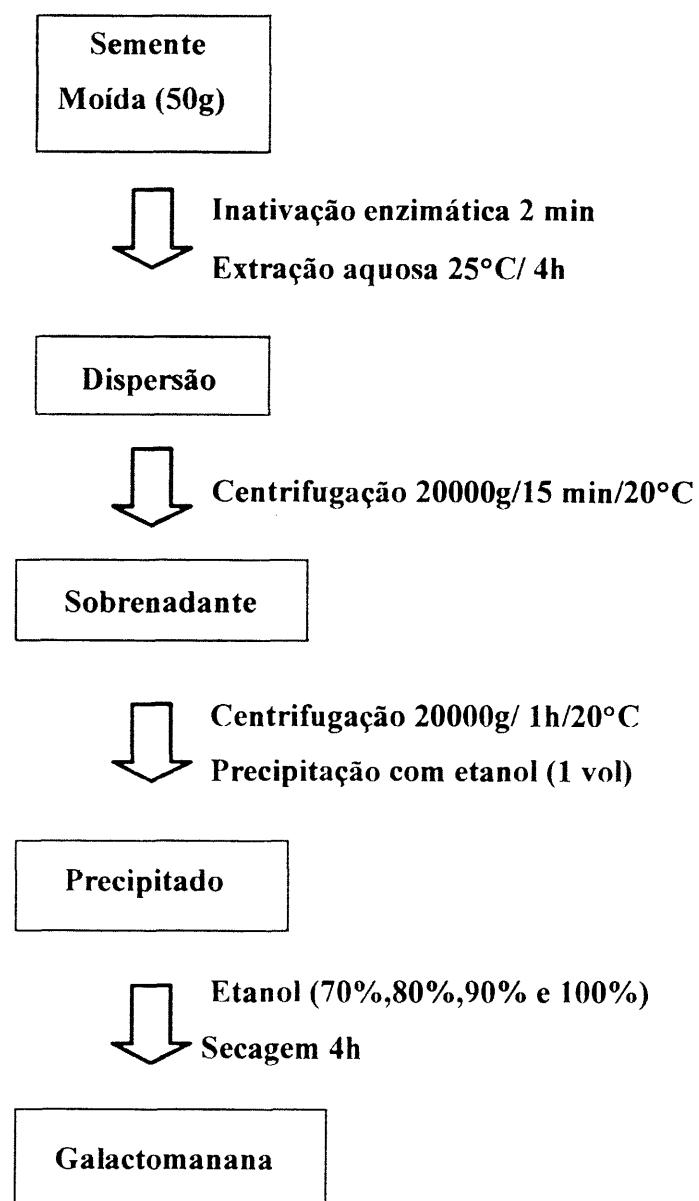
O presente trabalho investigou os sistemas constituídos por misturas entre polissacarídeos e proteínas, utilizando-se galactomananas presentes no endosperma de sementes de *Mimosa scabrella* e proteínas do leite, visando-se avaliar uma possível interação entre estes biopolímeros através de estudos reológicos.

### 4.1. Obtenção e caracterização da galactomanana de *Mimosa scabrella*

As sementes de *Mimosa scabrella* Bentham foram concedidas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), coletadas em povoamentos naturais, em dezembro de 1997.

As sementes foram moidas e sofreram um processo de inativação enzimática por aquecimento, para evitar a degradação dos polissacarídeos por enzimas (hidrolases e transferases). A inativação enzimática foi realizada em microondas nos tempos 2, 4, 6, 8 e 10 minutos.

Figura 14: Fluxograma de obtenção das galactomananas de *Mimosa scabrella* Bentham



A obtenção dos polissacarídeos, ilustrada no fluxograma da figura 14, consiste na extração aquosa à temperatura ambiente e centrifugação do material para a separação dos resíduos das sementes e de possíveis estruturas agregadas, que podem influenciar nas propriedades reológicas dos polímeros, garantindo que os polissacarídeos obtidos apresentem qualidade adequada sob o ponto de vista físico-químico, com estruturas primárias e secundárias preservadas (Akiyoshi *et al.*, 1993; Rinaudo, 1993).

O processo de separação dos polímeros em meio aquoso envolve a utilização de etanol (agente desidratante) para a precipitação das macromoléculas. O material precipitado foi centrifugado e submetido a concentrações crescentes de etanol (70 a 100%) para que o polissacarídeo fosse purificado e estivesse livre da presença de água ou do contato com o ar, que poderiam promover o escurecimento do mesmo, devido provavelmente, à presença de compostos fenólicos provenientes da semente (Cardoso, 1995; Bresolin, 1998).

A galactomanana foi levada imediatamente à secura em estufa à vácuo à temperatura ambiente, obtendo-se um rendimento de 20%.

As galactomananas obtidas através de inativação enzimática em microondas nos tempos de 2 a 10 minutos foram submetidas à hidrólise ácida total, e após redução e acetilação, os derivados na forma de alditóis-acetato foram analisados por cromatografia líquido-gasosa (g.l.c.) para a determinação dc sua composição monossacarídica e relação manose:galactose, e através de reômetro para a comparação entre as suas viscosidades absolutas ( $\eta$ ).

Os resultados obtidos por g.l.c. das galactomananas inativadas em microondas nos tempos 2, 4, 6, 8 e 10 minutos comprovou que estas apresentavam como monossacarídeos principais manose e galactose em razão 1,1:1, em concordância com os resultados obtidos por Ganter (1988).

O processo de inativação enzimática das galactomananas em microondas em diferentes tempos foi investigado para a escolha de uma condição ideal de inativação, que não alterasse as propriedades físicas e o comportamento em solução das amostras, e a análise foi realizada através de curvas comportamento de fluxo das amostras de galactomanana na concentração 1 g/l, de acordo com a figura 15.

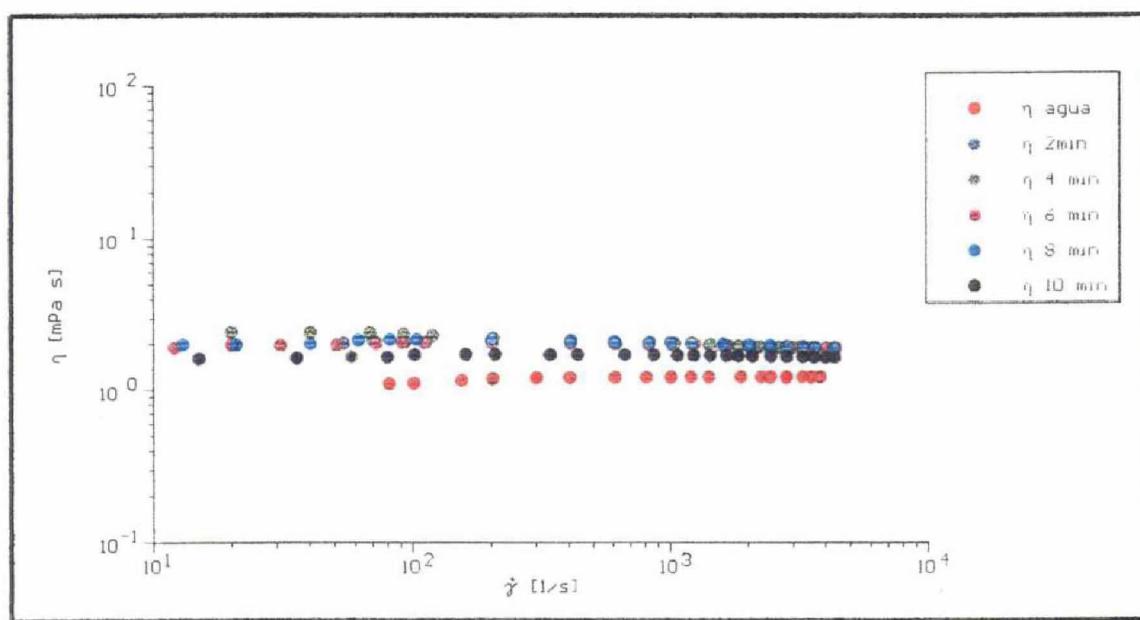


Figura 15: Comportamento de fluxo de galactomananas de *Mimosa scabrella*, em diferentes tempos de inativação enzimática

A análise reológica das galactomananas foi utilizada para monitorar o processo de inativação enzimática. Se a amostra sofrer algum tipo de degradação devido ao tempo de inativação, sua viscosidade absoluta seria inferior à viscosidade das amostras não degradadas.

Comparando-se as galactomananas obtidas em diferentes tempos de inativação enzimática, optou-se pela utilização do tempo de 2 minutos de inativação em microondas, tendo em vista que não houve alteração significativa nas viscosidades absolutas entre os tempos 2 a 8 minutos. Somente a galactomanana que sofreu inativação por 10 minutos em microondas teve seu valor de viscosidade absoluta diminuído, indicando degradação da amostra devido ao tempo de inativação.

O processo de inativação enzimática realizado por microondas nos tempos de 2 a 8 minutos, mostrou ser tão efetivo quanto o processo de inativação convencional por ebulação, onde as sementes em solução aquosa são mantidas em ebulação, durante um intervalo de tempo pré-fixado (Cardoso, 1995; Cardoso *et al.*, 1998).

A estrutura química da galactomanana de *Mimosa scabrella*, analisada por g.l.c. e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (<sup>13</sup>C-RMN), de acordo com a figura 16, correspondeu à estrutura anteriormente caracterizada por Ganter (1988), com uma cadeia principal constituída por unidades β-D-manopiranosil unidas por ligação do tipo 1→4,

com substituições em O-6 por unidades  $\alpha$ -D-galactopiranosil, e relação manose:galactose 1:1.

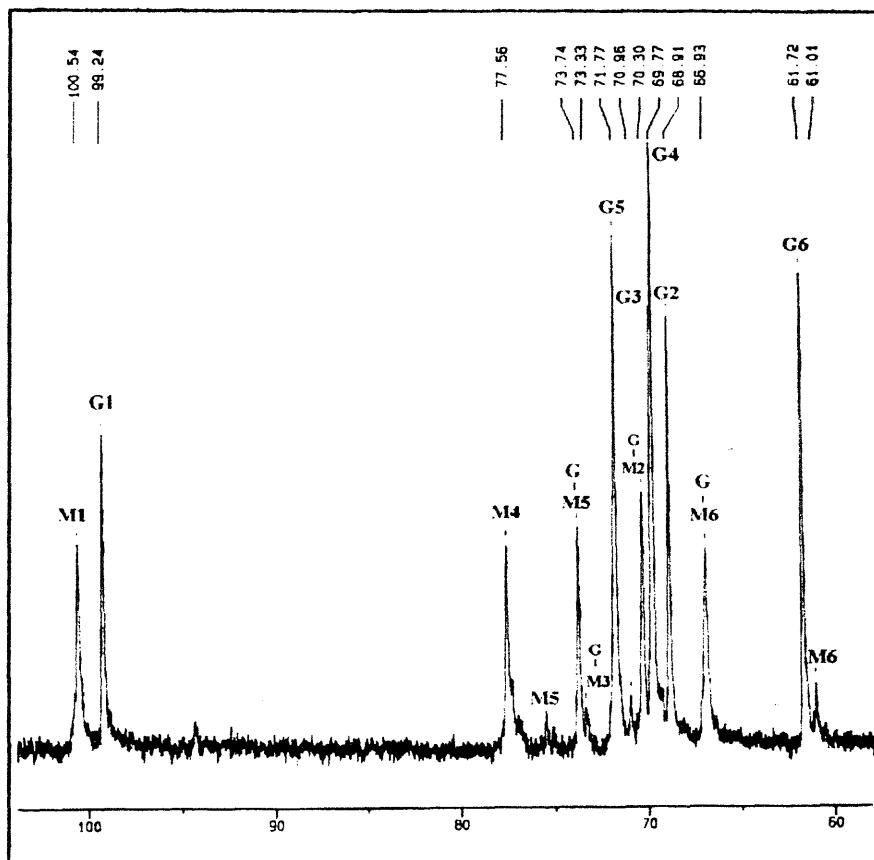


Figura 16: Espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -RMN) da galactomanana de *Mimosa scabrella*

#### 4.2. Conteúdo protéico da galactomanana

Além da composição monossacarídica presente nos polissacarídeos isolados das sementes, foi investigada a presença de conteúdo protéico das amostras de galactomanana.

As dosagens de proteínas foram realizadas pelos métodos de Hartree (Hartree, 1972) e Peterson (Peterson, 1977), obtendo-se as seguintes percentagens em proteína, de acordo com a tabela 1.

Tabela 1: Conteúdo protéico das galactomananas de sementes de *Mimosa scabrella*

Método	Conteúdo Protéico (% m/m)
Hartree <sup>a</sup>	5,2
Peterson <sup>b</sup>	2,6

<sup>a</sup> Hartree, 1972; <sup>b</sup> Peterson, 1977

A variação encontrada entre as percentagens de proteína da amostra de galactomanana pelos métodos empregados pode ser melhor compreendido tendo em vista que através do método de Hartree, que é uma modificação do método de Lowry para dosagem de proteínas, pode-se fazer a dosagem de proteínas e também de compostos fenólicos presentes na amostra. O método de Peterson, também é uma modificação do método de Lowry, mas utiliza dodecilsulfato de sódio (SDS) para a precipitação do material protéico da amostra, eliminando possíveis contaminantes que possam interferir nos resultados, sendo portanto, este método mais confiável.

A presença de um componente protéico em galactomananas de origem vegetal já foi observada anteriormente, e mesmo após diversos tratamentos como extração com solventes orgânicos, complexação com cobre, hidrólise alcalina, dissolução em elevada força iônica e hidrólise enzimática, permanecem na amostra (Ganter, 1988; Leitner, 1991; Rechia, 1992; Petkowicz, 1993; Zawadzki-Baggio, 1994; Sugui, 1994; Bresolin *et al.*, 1996; Bresolin, 1998). Este conteúdo protéico presente nas amostras da galactomanana de *Mimosa scabrella* sugere uma ligação carboidrato-proteína, que pode ser iônica, covalente ou por adsorção (Bresolin *et al.*, 1996).

### 4.3. Análise reológica

Após a caracterização química dos polissacarídeos, procedeu-se a análise reológica das soluções de galactomananas e de suas misturas em leite desnatado, integral e leite em pó desnatado.

A distinção entre viscosimetria e reologia está na habilidade da reologia quantificar o comportamento viscoelástico das amostras além de fornecer informações sobre o comportamento de fluxo das mesmas. Os equipamentos mais modernos são capazes de operar em multi-sistemas (tensão controlada e cisalhamento controlado no sistema estático, e medidas oscilatórias no sistema dinâmico) controlados por computador para captura e processamento dos dados (The pharmaceutical codex, 1994).

Todas as análises reológicas estáticas foram realizadas no modo de tensão controlada (“controlled stress”) (CS), onde a tensão é aplicada na amostra e a deformação resultante é medida. Uma ampla variação de tensão normalmente é empregada, com sensível detecção de deformação, permitindo tanto estudos de arraste (baixas tensões) como curvas de fluxo (altas tensões). O sistema de geometria empregado foram: cilindro-coaxial (Couette) e cone-placa.

Tendo em vista que os níveis permitidos para o uso das gomas guar e alfarroba na indústria de laticínios no Brasil são de 5 g/l, e nos Estados Unidos, estes níveis podem variar entre 8 e 20 g/l, respectivamente (Baird, 1993), foram escolhidas concentrações de galactomanana de *Mimosa scabrella* variando de 1 a 20 g/l para as análises nos sistemas estático e dinâmico.

#### 4.3.1. Análise do comportamento de fluxo

As medidas realizadas no sistema estático fornecem dados importantes sobre o comportamento de fluxo da solução polimérica em função da velocidade de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ). Para fluidos com comportamento Newtoniano, o valor de viscosidade absoluta ( $\eta$ ) independe do valor da velocidade de cisalhamento, mantendo-se constante, mas para fluidos não Newtonianos com comportamento pseudoplástico, o valor de viscosidade absoluta decresce

com o aumento do valor da velocidade de cisalhamento, ou seja, o fluido escoa mais facilmente conforme sofre uma maior agitação (Tager, 1978; Ferry, 1980).

Os fluidos pseudoplásticos escoam em maiores valores de velocidade de cisalhamento devido a uma ruptura progressiva da estrutura tridimensional do meio líquido (com uma reconstituição desta estrutura por movimento Browniano) (Schott, 1992).

Ao se aplicar uma tensão de cisalhamento ( $\tau$ ), um movimento laminar unidirecional superpõe-se ao movimento arbitrário das moléculas. As cadeias dos polímeros tendem a separar-se e alinhar-se na direção do fluxo, diminuindo a viscosidade absoluta (Couazarre *et al.*, 1991). Este processo pode ser revertido quando a tensão de cisalhamento é cessada, fazendo com que o sistema retorne a sua característica original.

#### **4.3.1.1. Comportamento de fluxo da galactomanana em solução aquosa**

Considerando-se o comportamento pseudoplástico da galactomanana em concentrações acima de 3,6 g/l (Ganter, 1991), foram analisados os comportamentos de fluxo das galactomananas em diferentes concentrações (1 a 20 g/l) para verificar a influência da velocidade de cisalhamento nos valores de viscosidade absoluta do polímero, e utiliza-las como referência para comparação com os sistemas galactomanana-proteína, de acordo com a figura 17.

Para a análise das curvas de fluxo, o valor de velocidade de cisalhamento de  $10 \text{ s}^{-1}$  ( $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ ) foi escolhido por conveniência experimental, como aquele que proporcionou a melhor comparação entre as medidas de viscosidade absoluta nas diferentes concentrações do polímero.

A figura 17 mostra que as soluções de galactomanana em solução aquosa, com concentrações 1, 2 e 3 g/l apresentam comportamento Newtoniano na faixa de velocidade de cisalhamento selecionada ( $10^{-1}$  a  $10^3 \text{ s}^{-1}$ ), com valores de viscosidade absoluta de 2, 3 e 6 mPa.s, respectivamente. As soluções aquosas de galactomanana nas concentrações 5, 10 e 20 g/l apresentaram comportamento pseudoplástico, com valores de viscosidade absoluta de 18, 100 e 1000 mPa.s, respectivamente em  $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ . Estes resultados estão de acordo com os valores previamente obtidos por Ganter (Ganter, 1991).

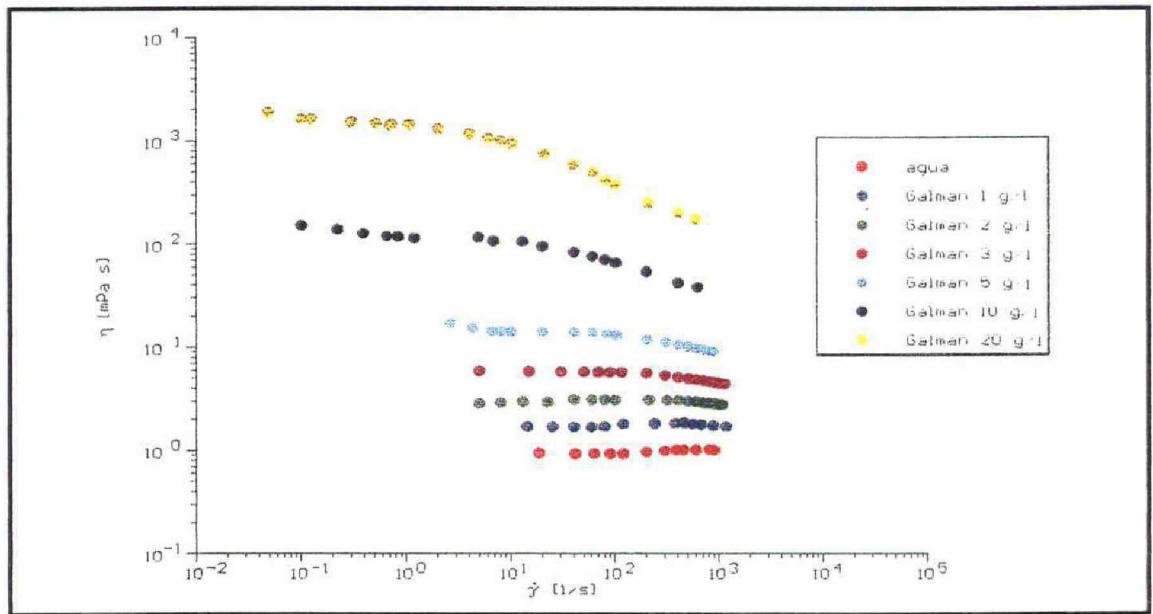


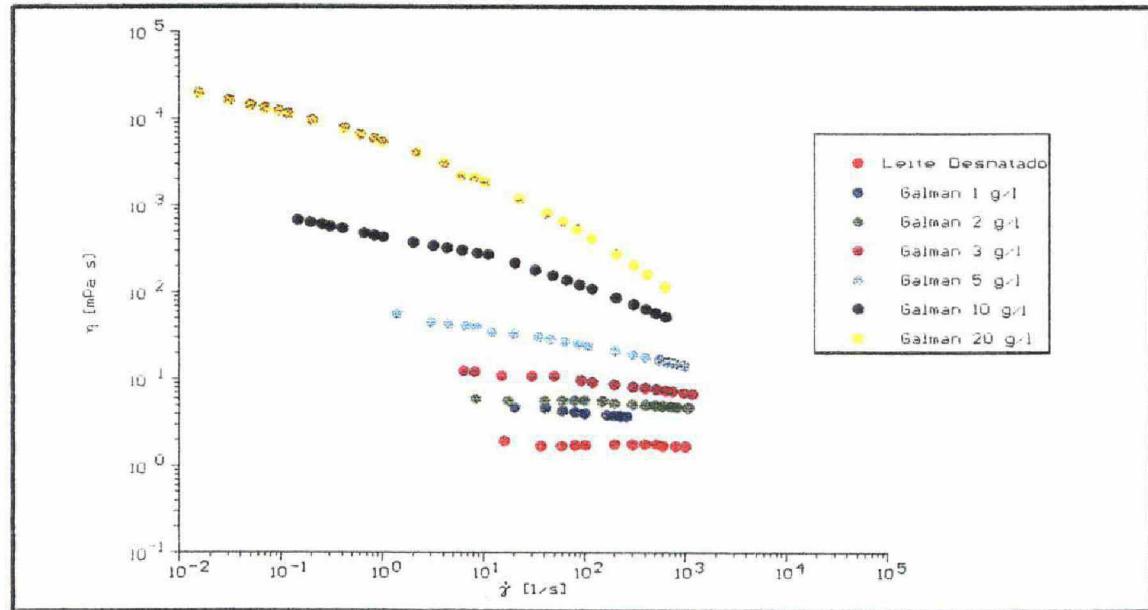
Figura 17: Comportamento de fluxo da galactomanana de *Mimosa scabrella* em solução aquosa nas concentrações 1 a 20 g/l

#### 4.3.1.2. Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou leite integral

Para analisar o comportamento de fluxo da mistura galactomanana e proteínas do leite foram feitas curvas de fluxo das misturas em concentrações de galactomanana variando de 1 a 20 g/l em leite desnatado e integral, conforme a figura 18.

Observa-se através da figura 18a que as soluções de misturas entre galactomanana e leite desnatado nas concentrações de 1, 2 e 3 g/l apresentam comportamento Newtoniano na faixa de velocidade de cisalhamento escolhida, com viscosidade absoluta de 4, 6 e 12 mPa.s, respectivamente. Nas concentrações 5, 10 e 20 g/l estas soluções apresentam comportamento pseudoplástico, com valores de viscosidade absoluta de 40, 300 e 2000 mPa.s em velocidade de cisalhamento de 10 s<sup>-1</sup>, respectivamente.

a)



b)

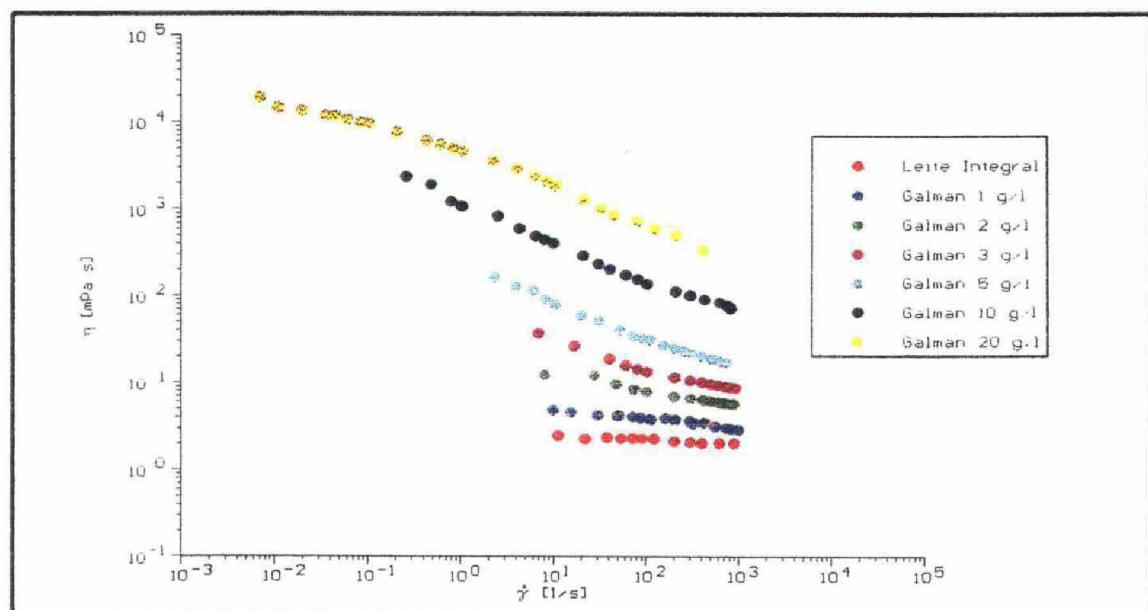


Figura 18: Comportamento de fluxo das misturas galactomanana de *Mimosa scabrella* e leite. a) galactomanana e leite desnatado, e b) galactomanana e leite integral

Na figura 18b pode ser observado, que nas concentrações 1 e 2 g/l, as misturas apresentam comportamento Newtoniano, com viscosidade absoluta de 5 e 12 mPa.s, respectivamente, em velocidade de cisalhamento de  $10\text{ s}^{-1}$ . Nas misturas nas concentrações 3, 5, 10 e 20 g/l apresentam comportamento pseudoplástico, com viscosidade absoluta de 30, 100, 500 e 2000 mPa.s, respectivamente na mesma velocidade de cisalhamento.

Considerando-se que a viscosidade absoluta do leite desnatado (LD) e integral (LI) (solventes do sistema) é de 2 mPa.s, e as viscosidades absolutas das galactomananas (G) em solução aquosa nas mesmas concentrações (5, 10 e 20 g/l) apresentam valores de 18, 100 e 900 mPa.s, pode-se sugerir uma possível interação sinérgica entre as galactomananas nas concentrações 3, 5, 10 e 20 g/l e os leites desnatado e integral.

A fim de melhor investigar a interação entre estes sistemas, fez-se o cálculo das viscosidades relativa ( $\eta_{rel}$ ) e específica ( $\eta_{sp}$ ), considerando-se a velocidade de cisalhamento  $10\text{ s}^{-1}$ .

A viscosidade relativa é a relação entre a viscosidade absoluta da amostra e a do solvente. É um parâmetro importante na eliminação da influência do solvente nas soluções contendo polímeros.

A viscosidade específica, representa a relação entre a viscosidade absoluta, devido somente à presença do polímero, e a viscosidade do solvente, e nos cálculos foi relacionada com a concentração relativa de galactomanana utilizada na mistura binária para um valor de velocidade de cisalhamento de  $10\text{ s}^{-1}$ .

Os gráficos para analisar o efeito da concentração de galactomanana nas misturas contendo leite desnatado e integral em função da viscosidade específica, estão representados na tabela 2 e figura 19.

Os valores de viscosidade específica das misturas entre galactomanana e leite desnatado são superiores aos valores da viscosidade específica da galactomanana isolada nas concentrações 5 e 10 g/l. Para as misturas entre galactomanana e leite integral, os valores de viscosidade específica das misturas são superiores aos das galactomananas em solução aquosa nas concentrações 3, 5, e 10 g/l, sugerindo uma interação sinérgica entre a galactomanana e leite.

Tabela 2: Valores de viscosidade específica de galactomananas de *Mimosa scabrella* nas concentrações 3, 5, 10 e 20 g/l em solução aquosa, e das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral

G (g/l)	G em solução aquosa <sup>a</sup> $\eta_{sp}$	G : LD <sup>a</sup> $\eta_{sp}$	G : LI <sup>a</sup> $\eta_{sp}$
3	5	5	14
5	17	19	49
10	99	149	249
20	999	999	999

\* Água  $\eta = 1 \text{ mPa.s}$ , \*\* Leite desnatado e integral<sup>a</sup>  $\eta = 2 \text{ mPa.s}$ , <sup>a</sup>  $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$

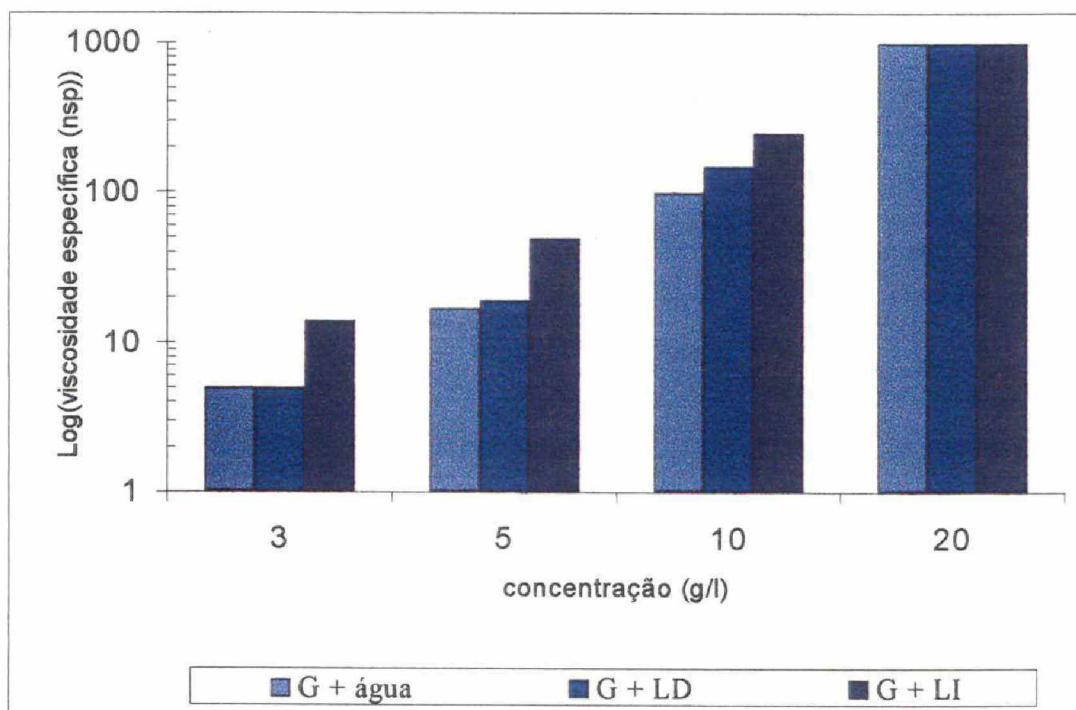


Figura 19: Viscosidade específica de galactomanana de *Mimosa scabrella* nas concentrações 3, 5, 10 e 20 g/l em solução aquosa, e das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral

Para o sistema contendo galactomanana e leite desnatado, um máximo efeito de sinergia foi observado na concentração 10 g/l, com um aumento relativo de 1,5 vezes nos valores de viscosidade específica experimentais em relação à viscosidade específica da galactomanana em solução aquosa na mesma concentração. Para o leite integral, os aumentos relativos nos valores de viscosidade específica foram de 2,8, 2,9 e 2,5 vezes, para as concentrações 3, 5, e 10 g/l, respectivamente. Na concentração 20 g/l não houve diferença na viscosidade específica em relação à galactomanana em solução aquosa na mesma concentração, mas deve-se levar em consideração que na velocidade de cisalhamento  $10\text{ s}^{-1}$ , as curvas de fluxo das misturas contendo leite desnatado e integral nesta concentração encontram-se fora do platô Newtoniano. Se menores valores de velocidade de cisalhamento pudessem ser acessadas para as concentrações mais baixas em galactomanana, provavelmente poderiam ser observadas diferenças entre as viscosidades específicas das amostras.

Carlson *et al.* (1962), em sistemas contendo goma guar e leite desnatado, evidenciaram um aumento significativo da viscosidade absoluta da mistura, sem que ocorresse separação de fases, observando um efeito sinérgico. Outros autores também comentam a existência de interação entre sistemas contendo galactomananas e leite (Ambrose, 1935; Mitchell *et al.*, 1992), confirmado os resultados obtidos no presente trabalho, mas não há estudos mais aprofundados sobre o comportamento rcológico estático e dinâmico destes sistemas, o que torna importante a complementação destes, para identificar o mecanismo de interação entre tais biopolímeros.

Grindrod e Nickerson (1968) realizaram estudos sobre o efeito de várias gomas, entre elas as galactomananas, em leite desnatado e proteínas purificadas (caseína,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina), através de eletroforese em gel de poliacrilamida, observando que as misturas entre galactomananas de guar ou alfarroba e leite desnatado foram resistentes à sedimentação por centrifugação, mas produziram um sedimento quando deixadas a 4° C por uma noite.

A interação entre galactomanana e leite integral mostrou-se mais efetiva que a interação entre galactomanana e leite desnatado. Xu *et al.* (1992) observaram que a adição de lipídios no sistema contendo carragenana e leite em pó desnatado aumentava a força do gel e diminuía a tan  $\delta$ , sugerindo que além de apresentarem função preenchedora, contribuem moderadamente nas propriedades físicas do gel.

Considerando os resultados obtidos, pode-se sugerir que a interação entre

galactomanana e leite integral é devida, provavelmente, à presença uma maior quantidade de lipídeos, que podem interagir com os polissacarídeos e/ou proteínas do sistema, conforme já descrito na literatura (Aguilera e Kinsella, 1991; Xu *et al.*, 1992).

#### **4.3.2. Análise de tensão transitória**

O comportamento viscoelástico dos polímeros pode ser avaliado em sistema estático, por experimentos de medidas temporárias de tensão ou arraste (“creep and recovery”), e através de medidas dinâmicas oscilatórias.

Em experimentos de tensão transitória, uma tensão constante de pequena amplitude é aplicada, e a correspondente deformação é observada em função do tempo na fase de arraste. Na fase de recuperação, a tensão é totalmente removida, e a resposta da amostra pode então ser avaliada, permitindo acessar baixas velocidades de cisalhamento e estudar o comportamento reológico de vários sistemas, praticamente em seu estado não perturbado.

As medidas de tensão transitória e recuperação, através da complacência da amostra, introduzem um novo parâmetro de resposta em função do tempo para a dependência de tensão, em ambos os comportamentos elástico e viscoso. Esta análise permite diferenciar as respostas elásticas das viscosas nos sistemas (Schramm, 1994).

Nos fluidos viscoelásticos, quando uma tensão é aplicada, instantaneamente o fluido pode reagir com muitas fases de deformação em relação com o tempo, inicialmente por alguma elongação espontânea dos segmentos que se soltam posicionados paralelamente à tensão aplicada. Então, outros segmentos que se soltam e a rede entre os aglomerados temporários deformam dentro de seus limites mecânicos resistindo e sendo retardados pela massa contínua viscosa ao redor. Finalmente as moléculas do emaranhado se desfazem e o fluido começa a fluir continuamente. O gráfico da resposta da deformação em função do tempo (figuras 5b e 5c), mostra um rápido aumento da deformação que é seguido por um gradual decréscimo na inclinação da curva de deformação. Quando cessa-se a tensão aplicada, começa a fase de recuperação, e a deformação diminui em função do tempo indicando que houve recuperação de parte da energia utilizada na deformação da amostra. Quanto maior a recuperação, maior é o caráter viscoelástico da amostra (Schramm, 1994).

A geometria do tipo cone-placa apresenta grandes vantagens como o ângulo do cone

pequeno ( $< 4^\circ$ ), inércia do fluido que pode ser desprezada em baixas velocidades rotacionais, utilização de pequenos volumes de amostra, e uma tensão e deformação homogêneas (Mitchell, 1984).

Através desta técnica pôde-se analisar o comportamento viscoelástico das amostras com grande sensibilidade, sem que ocorresse uma perturbação significativa na estrutura intermolecular da amostra.

#### 4.3.2.1. Análise de tensão transitória da galactomanana em solução aquosa

Para avaliar o comportamento viscoelástico das soluções aquosas de galactomanana, as concentrações 10 e 20 g/l foram escolhidas para análise em medidas de tensão transitória, conforme a figura 20.

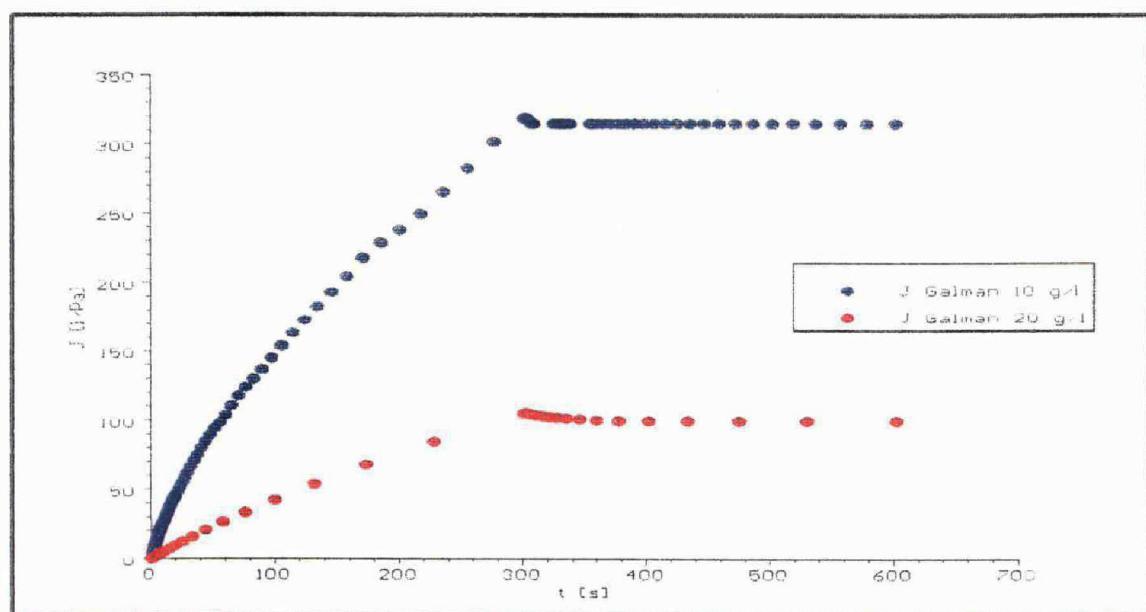


Figura 20: Análise de tensão transitória da galactomanana em solução aquosa nas concentrações 10 e 20 g/l

Pode-se observar que as galactomananas de *Mimosa scabrella* em solução aquosa nas concentrações 10 e 20 g/l apresentam valores de complacência de  $320 \text{ e } 110 \text{ Pa}^{-1}$ ,

respectivamente, onde a galactomanana na concentração 20 g/l apresenta um caráter mais viscoelástico que a na de 10 g/l, devido ao menor valor de complacência desta amostra.

Como pode ser observado em comparação com a figura 7, o perfil das soluções de galactomananas de *Mimosa scabrella* em solução aquosa é comparável ao de um líquido viscoelástico (figura 7c), isto é, ocorre uma recuperação parcial do parâmetro de complacência após a retirada da tensão. Estes resultados são concordantes com os valores obtidos em sistema estático no que se refere à maior viscosidade para a concentração 20 g/l (1000 mPa.s), em relação a 10 g/l (100 mPa.s).

#### **4.3.2.2. Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral**

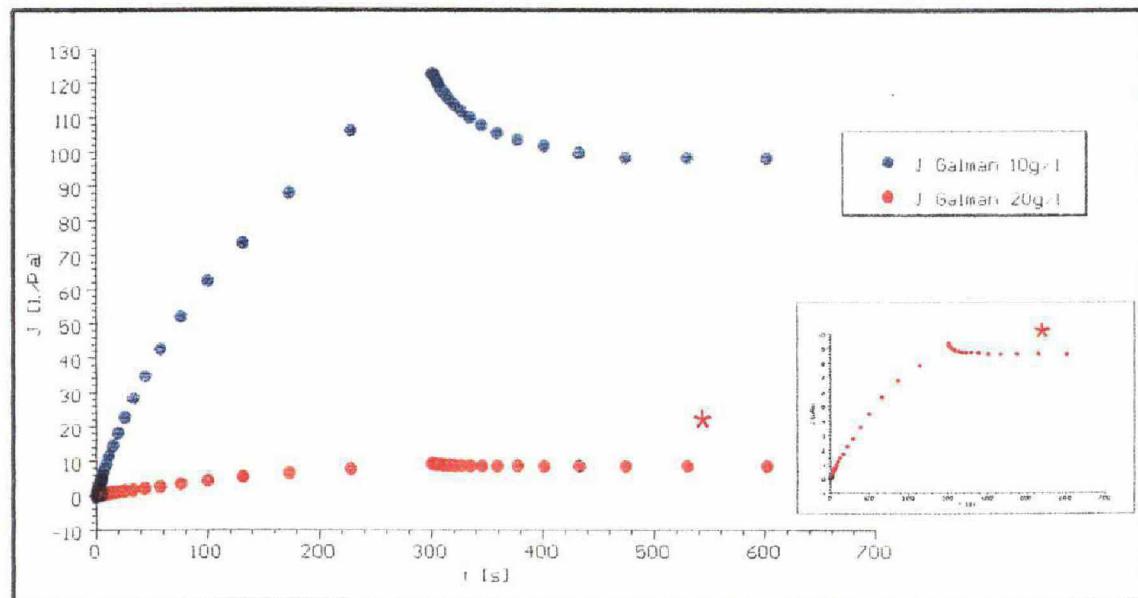
Para avaliar o comportamento viscoelástico das misturas entre galactomananas e leites desnatado ou integral, estas foram analisadas em medidas de tensão transitória, com concentrações de galactomanana 10 e 20 g/l, conforme a figura 21.

Na figura 21a observa-se uma diminuição significativa do parâmetro de complacência das amostras da mistura entre galactomanana e leite desnatado e uma maior recuperação das amostras após a retirada da tensão, em comparação com os valores obtidos para as galactomananas em solução aquosa nas mesmas concentrações, com valores de 124 e 10 Pa<sup>-1</sup>, respectivamente, para as concentrações 10 e 20 g/l. A mistura contendo galactomanana na concentração 20 g/l apresenta um caráter mais viscoelástico que na 10 g/l, devido ao valor menor de complacência.

Na figura 21b observa-se o mesmo perfil, com valores de 33 e 1 Pa<sup>-1</sup>, respectivamente, para as concentrações 10 e 20 g/l. A mistura contendo galactomanana na concentração 20 g/l e leite integral apresenta um caráter mais viscoelástico que na 10 g/l, devido ao menor valor de complacência.

Quanto maior a inclinação da curva de tensão transitória, maior o caráter viscoelástico da amostra. As inclinações das curvas de tensão transitória dos sistemas G : LD e LI são mais acentuadas que as galactomanana em solução aquosa nas mesmas concentrações, indicando uma viscoelasticidade maior.

a)



b)

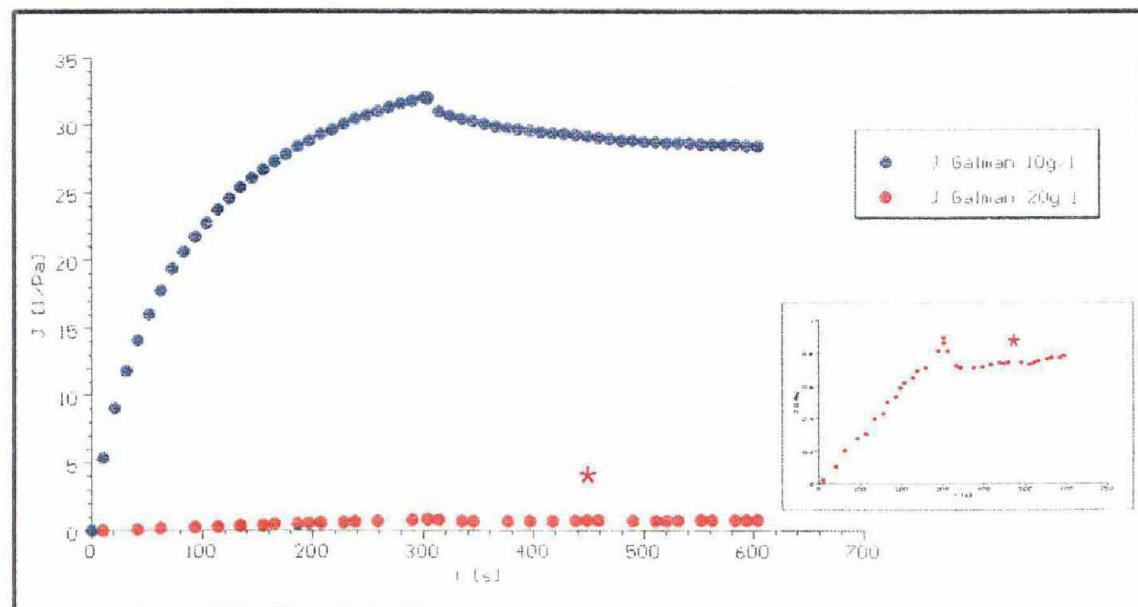


Figura 21: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite. a) mistura contendo leite desnatado, e b) mistura contendo leite integral

### 4.3.3. Análise do comportamento viscoelástico

Os polímeros em elevadas concentrações enovelam-se ao acaso, devido ao longo comprimento de suas cadeias e atuam como redes elásticas quando submetidos a pressões por um curto intervalo de tempo. As medidas reológicas no sistema dinâmico não são destrutivas como as medidas no sistema estático, que deformam linearmente a molécula com o aumento da tensão de cisalhamento empregada, e quando feitas em amplitudes de oscilação suficientemente pequenas, situam-se dentro do limite viscoelástico da amostra, onde experimentos podem ser realizados sem que haja uma perturbação significativa no sistema sob investigação.

Para polissacarídeos, cujo comportamento situa-se entre o caráter sólido e líquido (viscoelásticos), pode-se, através do sistema dinâmico, determinar os módulos de cisalhamento elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ), que representam o grau de caráter sólido e líquido, respectivamente, quantificando a predominância de um módulo sobre o outro.

Neste contexto, antes de determinarmos os módulos  $G'$  e  $G''$  em relação a freqüência, torna-se importante a investigação da região de comportamento viscoelástico linear da amostra, isto é, as condições nas quais existe uma relação linear entre a deformação sofrida e a tensão imposta ao material. A partir destes resultados é definida uma deformação apropriada para análise dos módulos de cisalhamento.

Todos os materiais apresentam um comportamento linear, desde que as deformações sofridas sejam suficientemente pequenas, não havendo modificação de sua estrutura microscópica.

A transição para um regime não linear, a partir de um determinado valor de deformação, é acompanhada por uma modificação estrutural (COURRAZE e GROSSIORD, 1991), o que levaria a uma análise incorreta dos parâmetros viscoelásticos.

#### 4.3.3.1. Determinação da região de comportamento viscoelástico linear

As análises reológicas para a determinação da região viscoelástica linear das amostras de galactomanana em solução aquosa e de suas misturas em leite desnatado ou integral

foram realizadas no sistema dinâmico oscilatório. As vantagens particulares das medidas oscilatórias são os deslocamentos (amplitudes) usados, que são muito pequenos, onde elementos estruturais não são destruídos e as medidas podem ser feitas rapidamente (The pharmaceutical codex, 1994).

Tendo em vista que a partir das análises no sistema estático foram observados aumentos significativos nas viscosidades absolutas, sugerindo uma possível interação entre misturas de galactomanana nas concentrações 5, 10 e 20 g/l e leite desnatado ou integral em relação às galactomananas em solução aquosa, as mesmas foram escolhidas para análise em sistema dinâmico.

Varreduras de tensão foram realizadas para verificar as tensões nas quais as amostras comportavam-se dentro de uma faixa viscoelástica linear, relacionando com os módulos de cisalhamento elástico e viscoso ( $G'$  e  $G''$ ) das amostras, na freqüência 1 Hz, conforme demonstrado na figura 22.

Verifica-se que para as amostras de galactomanana na concentração 5 g/l, não há uma região linear, devido à amostra apresentar um comportamento que situa-se fora do limite de sensibilidade do equipamento. Para as concentrações 10 e 20 g/l observam-se regiões lineares em uma ampla faixa de tensão, que variou de  $10^{-2}$  a  $10^2$  Pa.

As varreduras de tensão feitas para as misturas entre galactomanana nas concentrações 5, 10 e 20 g/l e leite desnatado ou integral apresentaram um perfil diferente das soluções de galactomanana em solução aquosa nas mesmas concentrações, conforme demonstra a figura 23.

Nas figuras 23a e 23b, para as concentrações 5, 10 e 20 g/l, observa-se que os módulos de cisalhamento  $G'$  e  $G''$  apresentam valores maiores, e mais próximos entre si, quando comparados a soluções de galactomanana em solução aquosa nas mesmas concentrações.

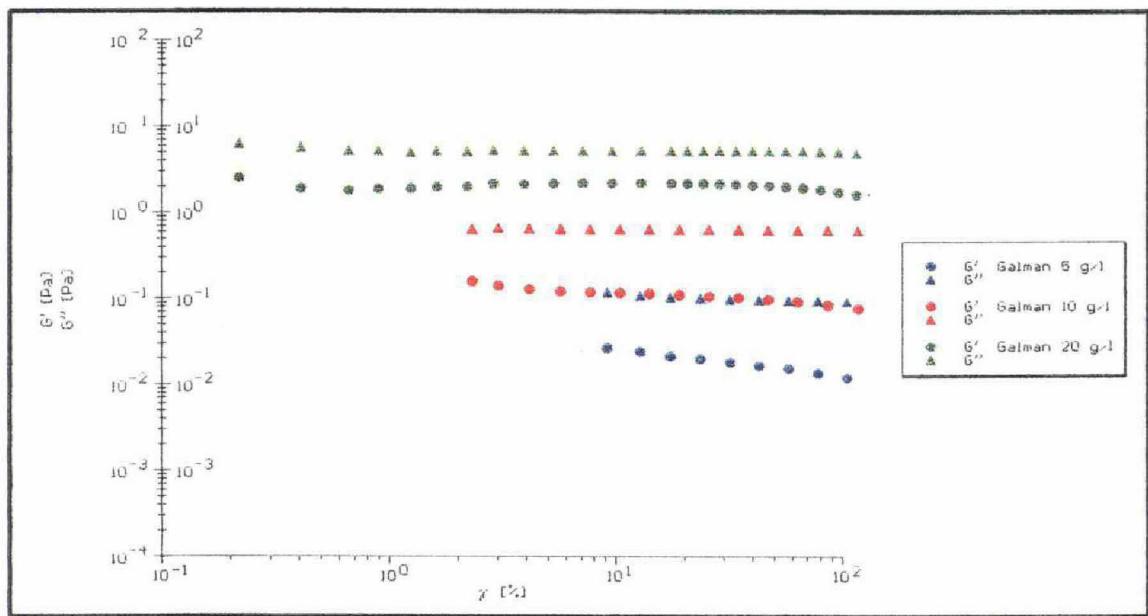
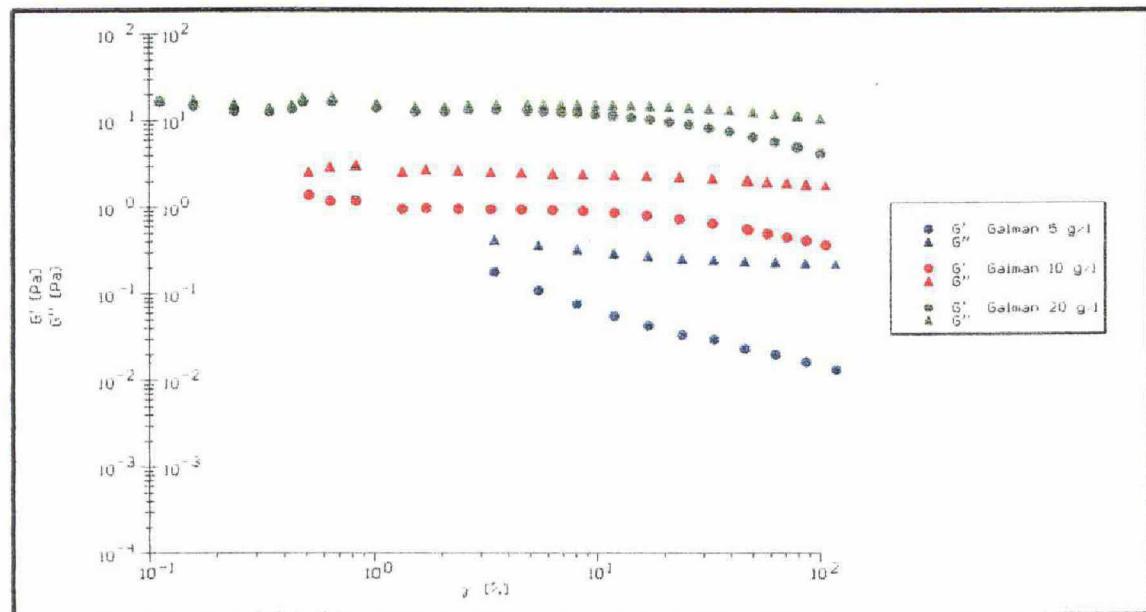


Figura 22: Análise do comportamento viscoelástico linear para as amostras de galactomanana em solução aquosa nas concentrações 5, 10 e 20 g/l

Com o aumento da tensão imposta às amostras, ocorre um progressivo aumento na deformação apresentada, e consequentemente uma diminuição nos valores  $G'$  e  $G''$ . Os valores de deformação não devem exceder a 10%, para garantir a integridade da amostra e a validade das análises. Com base no que foi citado, foi escolhido o valor de deformação 7% para dar continuidade aos experimentos, tendo em vista a maioria das amostras apresentaram um valor constante dos módulos  $G'$  e  $G''$ , dentro do comportamento viscoelástico linear da amostra. Os valores de deformação utilizados em análises reológicas de polissacarídeos geralmente variam entre 1 e 10% (Chronakis e Kasapis, 1993; Hember e Morris, 1995; Chronakis *et al.*, 1996; Bresolin *et al.*, 1996 e 1998; Schorsch *et al.*, 1997; Ridout *et al.*, 1998).

a)



b)

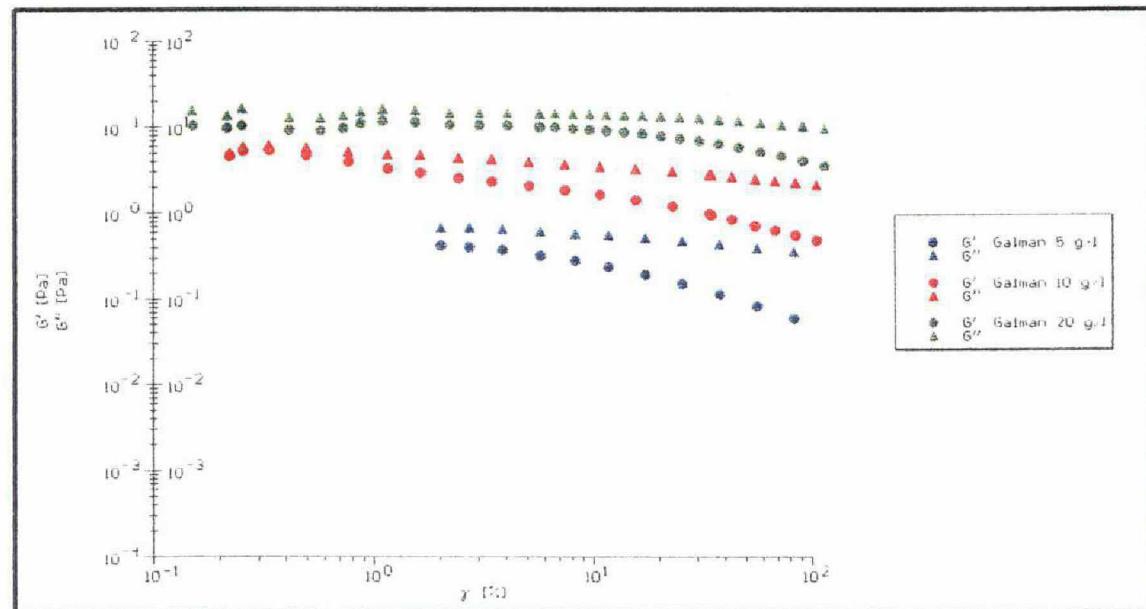


Figura 23: Análise do comportamento viscoelástico linear para a mistura entre galactomanana nas concentrações 5, 10 e 20 g/l e leite. a) leite desnatado, e b) leite integral

#### 4.3.3.2. Análise do comportamento viscoelástico da galactomanana em solução aquosa

Para analisar o comportamento viscoelástico das amostras de galactomananas de *Mimosa scabrella* em solução aquosa, através dos módulos de cisalhamento elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ), foram escolhidas as concentrações 10 e 20 g/l. As soluções na concentração 5 g/l não foram utilizadas devido aos baixos valores de viscosidade, o que é justificado pela falta de linearidade dos módulos  $G'$  e  $G''$  representados nas figuras 22 e 23. As análises dinâmicas por varreduras de freqüência foram feitas numa amplitude de  $10^{-2}$  a 10 Hz na deformação 7%. Os resultados obtidos estão demonstrados na figura 24.

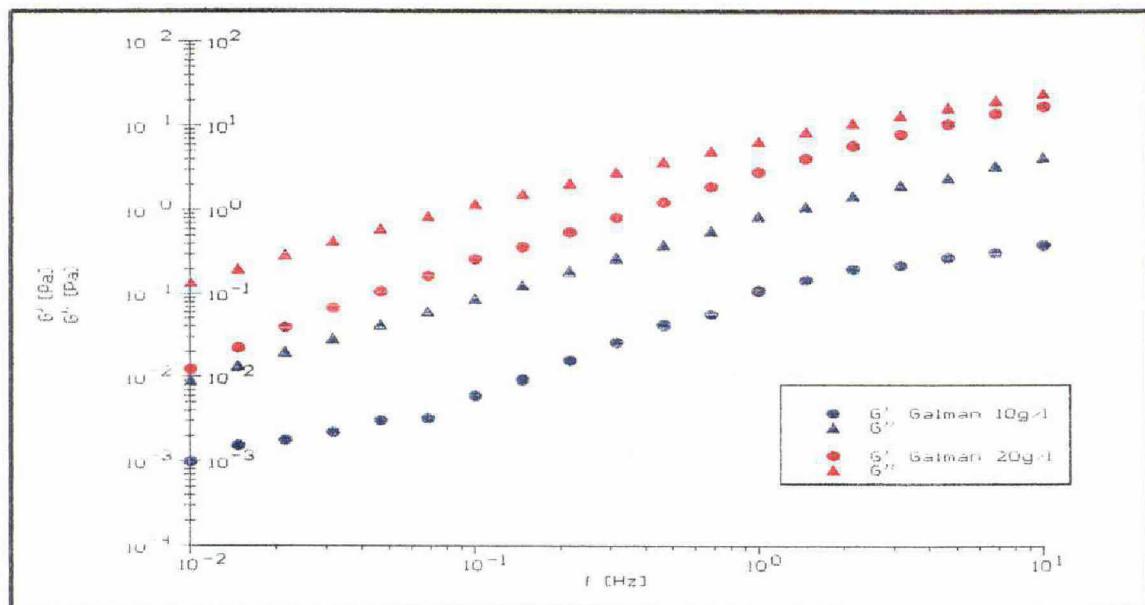


Figura 24: Análise do comportamento viscoelástico das amostras de galactomanana em solução aquosa nas concentrações 10 e 20 g/l

A partir a análise da figura 24 observa-se que os valores do módulo viscoso ( $G''$ ) são maiores que os valores do módulo elástico ( $G'$ ) na escala de freqüência referida, demonstrando um comportamento viscoso, para ambas as concentrações de galactomanana de *Mimosa scabrella*. Para a concentração 20 g/l, os módulos elástico e viscoso apresentam-se mais próximos, com tendência à inversão dos valores de  $G'$  e  $G''$  em freqüências acima de 10 Hz, demonstrando um caráter mais viscoelástico que na concentração 10 g/l, em concordância

com os experimentos de comportamento de fluxo e de tensão transitória.

Ganter *et al.* (1992) em estudos sobre as propriedades em solução aquosa de galactomananas de *Mimosa scabrella*, observaram que na concentração 27 g/l ocorre uma tendência de inversão dos módulos G' e G'' em freqüência de aproximadamente 3 rad.s<sup>-1</sup>. Em galactomananas de guar na concentração 30 g/l, Robinson *et al.* (1982), e Richardson e Ross-Murphy (1987), no entanto, observaram o fenômeno de inversão dos módulos G' e G'' nas freqüências 0,5 e 2 rad.s<sup>-1</sup>, respectivamente, com valores de G' no ponto de inversão de 150 e 70 Pa.

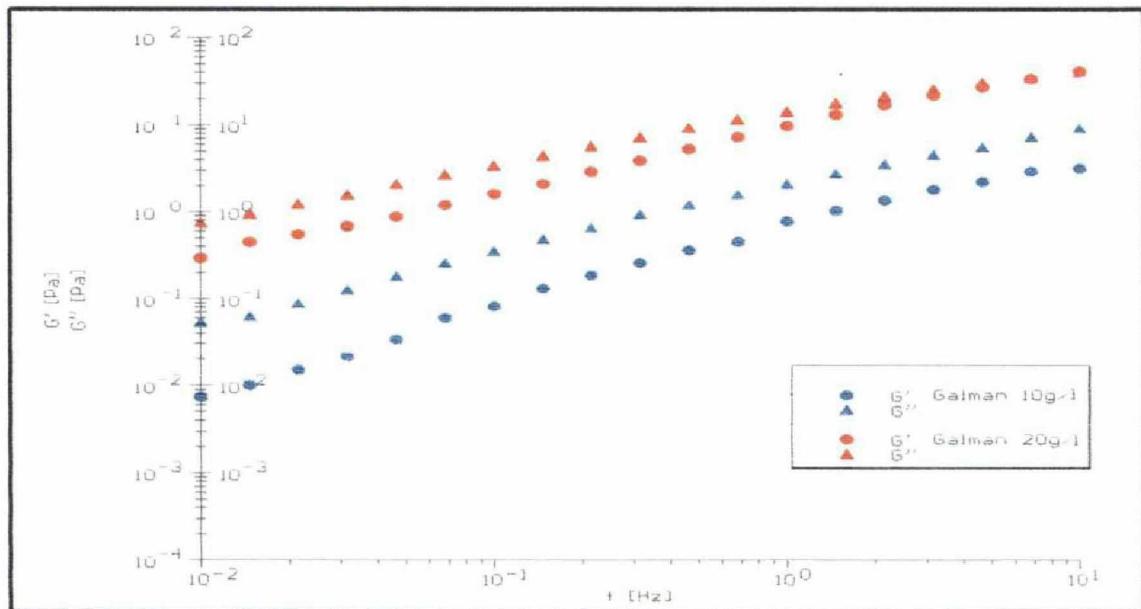
#### **4.3.3.3. Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite desnatado ou integral**

Com a finalidade de avaliar a possível interação entre proteínas do leite e galactomanana, através do sistema dinâmico; foram realizadas análises do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite desnatado ou integral, nas mesmas condições do sistema galactomanana em solução aquosa, conforme demonstrado na figura 25 e tabela 3.

Através figura 25a observa-se que os valores do módulo viscoso (G'') são maiores que os valores do módulo elástico (G') em freqüências variando de 10<sup>-2</sup> a 10 Hz, demonstrando um comportamento viscoso, para a concentração 10 g/l. Na concentração 20 g/l, os módulos elástico e viscoso apresentam-se bem próximos, demonstrando um caráter mais viscoelástico, com comportamento de gel fraco, ocorrendo inversão dos módulos na freqüência 7 Hz, onde G' apresentou valor de 30 Pa.

Na figura 25b, apesar dos módulos G' e G'' apresentam valores superiores aos da mistura contendo leite desnatado, observa-se um perfil dinâmico semelhante. Na concentração 20 g/l, os módulos elástico e viscoso apresentam-se ainda mais próximos, com um caráter mais viscoelástico que na concentração 10 g/l (gel fraco), ocorrendo inversão dos módulos na freqüência 5 Hz, onde o módulo de cisalhamento elástico apresentou valor de 50 Pa.

a)



b)

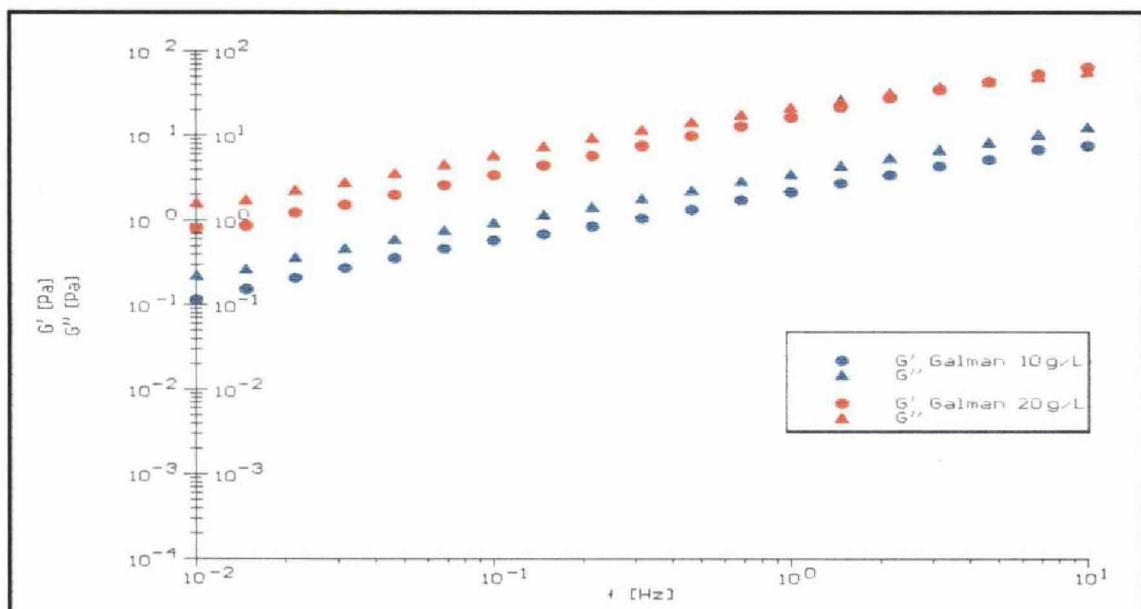


Figura 25: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l. a) mistura contendo leite desnatado, e b) mistura contendo leite integral

Observa-se através de experimentos no sistema dinâmico a ocorrência de interação sinérgica entre galactomanana e leites desnatado ou integral, se comparados com as amostras de galactomananas em solução aquosa nas mesmas concentrações, sendo a interação entre galactomanana e leite integral mais efetiva que a interação com o leite desnatado.

Tabela 3: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e leite desnatado e integral

G (g/l)	$G'$ (Pa)		Freqüência (Hz)	
	LD	LI	LD	LI
10	-	-	-	-
20	30	50	7	5

De acordo com a tabela 3 é possível evidenciar este fato, pois o ponto de inversão entre os sistemas a 20 g/l são bastante característicos, tanto para o leite desnatado quanto para o integral, com valores de  $G'$  de 30 e 50 Pa, em freqüências de 7 e 5 Hz, respectivamente.

A adição de leite no sistema faz com que ocorra uma modificação nas propriedades em solução da galactomanana de *Mimosa scabrella*, ocorrendo a inversão dos módulos  $G'$  e  $G''$ , que caracteriza um comportamento de gel fraco, em uma concentração de 20 g/l em galactomanana. Este fenômeno não é observado em solução aquosa, nem mesmo para concentrações mais elevadas (Ganter, 1992), sendo somente observado em galactomananas de guar na concentração 30 g/l (Robinson *et al.*, 1982; Richardson e Ross-Murphy, 1987).

#### 4.3.4. Misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado

##### 4.3.4.1. Análise do comportamento de fluxo

A fim de investigar a interação polissacarídeo-proteína com menor interferência de outros componentes no sistema, tais como lipídeos, optou-se pela mistura galactomanana e leite desnatado para dar continuidade aos experimentos, utilizando-se leite em pó desnatado (LPD), em diferentes concentrações, para avaliar a influência do leite nas misturas entre galactomanana e proteína. As concentrações de galactomanana utilizadas para as análises foram 10 e 20 g/l, e as de leite em pó desnatado variaram de 25 a 200 g/l.

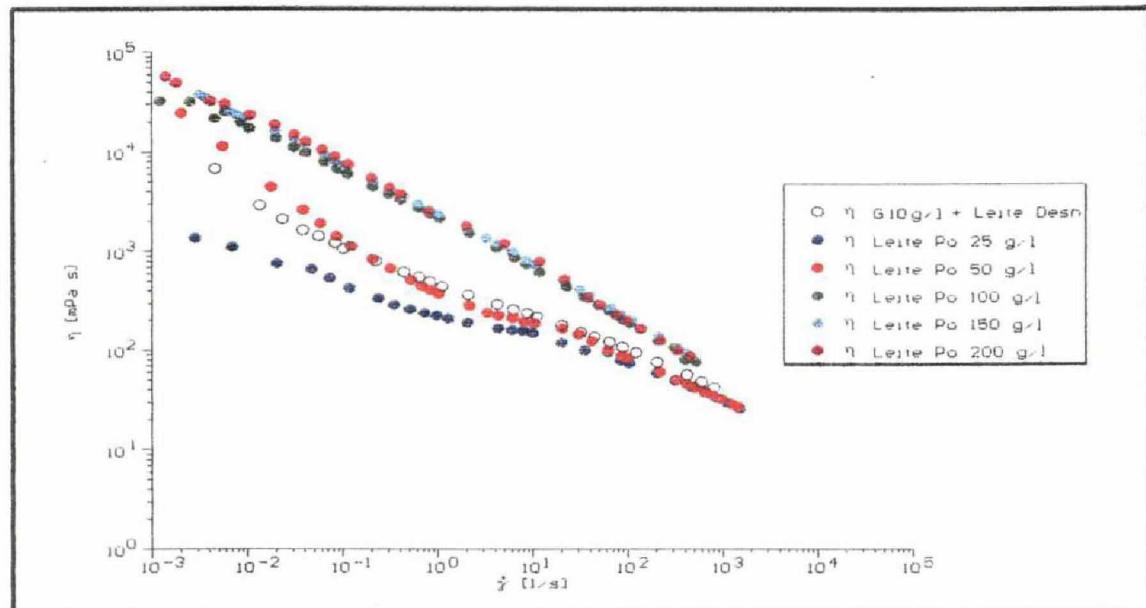
É importante ressaltar que o LPD na concentração 100g/l representa qualitativamente e quantitativamente aproximadamente a mesma concentração do leite desnatado ultrapasteurizado *in natura*, conforme indicado pelo fabricante e confirmado por análises de comportamentos de fluxo e viscoelástico.

A análise do comportamento de fluxo da mistura entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado em diferentes concentrações está ilustrada na figura 26, e tabela 4.

Através da figura 26a observa-se que com o aumento da concentração de LPD ocorre um aumento da viscosidade absoluta das misturas, com valores de viscosidade de 150, 200, 700, 800 e 900 mPa.s, para as concentrações 25, 50, 100 e 150 e 200 g/l, respectivamente, em velocidade de cisalhamento de  $10\text{ s}^{-1}$ . As viscosidades absolutas das soluções contendo leite em pó nas mesmas concentrações são, respectivamente, 1,5, 1,5, 2, 3, e 4 mPa.s, enquanto que a da galactomanana em solução aquosa na concentração 10 g/l, é de 100 mPa.s, na mesma velocidade de cisalhamento.

Na figura 26b, observa-se um aumento na viscosidade absoluta das misturas com o aumento da concentração de leite em pó, exceto para as concentrações 150 e 200 g/l em LPD, com valores de viscosidade, para as concentrações 25, 50, 100, 150 e 200 g/l, de 1500, 2000, 2500, 1500 e 1500 mPa.s, respectivamente, em velocidade de cisalhamento de  $10\text{ s}^{-1}$ .

a)



b)

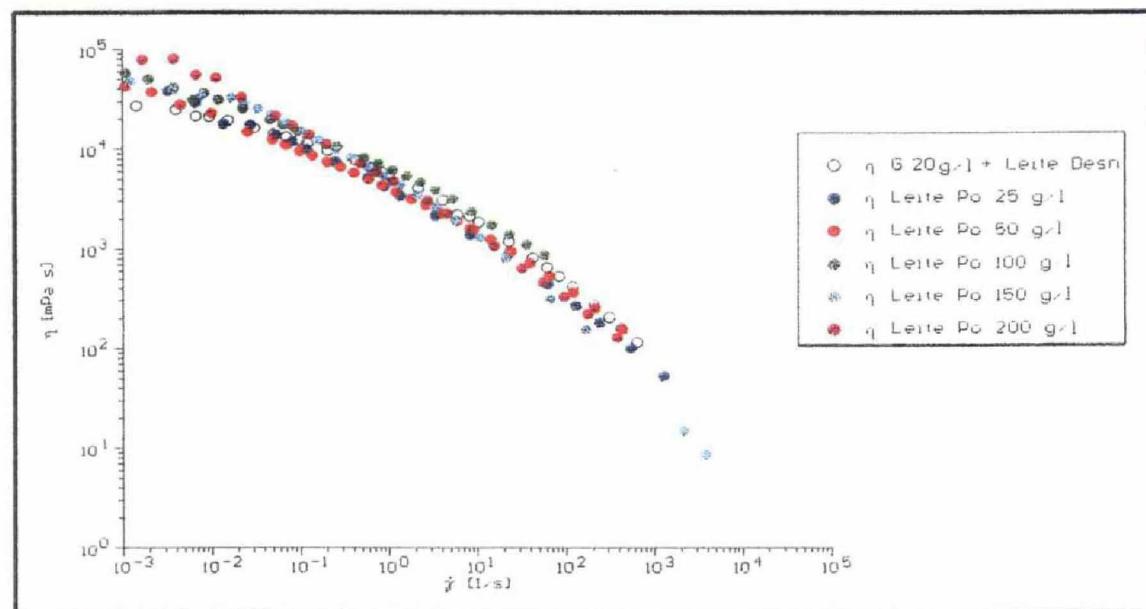


Figura 26: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado, em diferentes concentrações de leite. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

Deve-se levar em consideração que no valor de velocidade de cisalhamento escolhido, as viscosidades das misturas G : LPD nas concentrações 150 e 200 g/l apresentam menores valores em comparação com as outras concentrações em leite em pó, mas observa-se em menores velocidades de cisalhamento que as viscosidades aumentam juntamente com o aumento da concentração em LPD.

Tabela 4: Influência das diferentes concentrações de leite em pó desnatado nos valores de viscosidade absoluta das misturas entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado

LPD (g/l)	G : LPD <sup>a</sup> (mPa.s) <sup>c</sup>	G: LPD <sup>b</sup> (mPa.s) <sup>c</sup>
25	150	1500
50	200	2000
100	700	2500
150	800	1500
200	900	1500

<sup>a</sup> Galactomanana 10 g/l, <sup>b</sup> Galactomanana 20 g/l, <sup>c</sup>  $\gamma = 10 \text{ s}^{-1}$

Podemos observar na tabela 4 que a mistura G : LPD 100 g/l (qualitativamente e quantitativamente semelhante ao leite *in natura*), apresentou viscosidades superiores (700 e 2500 mPa.s) às dos sistemas G : LD (300 e 2000 mPa.s), para ambas as concentrações em galactomanana analisadas, respectivamente, em velocidade de cisalhamento de  $10 \text{ s}^{-1}$ . Este efeito de interação sinérgica pode ser atribuído ao sistema reconstituído para o LPD, com utilização das amostras na forma de pó, seguida de dispersão em solução aquosa, fazendo com que a interação fosse preferencial em relação ao sistema contendo leite desnatado *in natura*. É importante ressaltar que o acréscimo da concentração de leite em pó (150 e 200 g/l) no sistema contendo galactomanana 10 g/l ocasionou um aumento de somente 14 e 30 %, respectivamente, nas viscosidades, enquanto que para a galactomanana 20 g/l observou-se uma diminuição das viscosidades na ordem de 60%, para ambas as concentrações em LPD.

#### 4.3.4.2. Análise de tensão transitória

O comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado, foi avaliado através de medidas de tensão transitória, com concentrações de galactomanana 10 e 20 g/l, e escolhendo-se as concentrações de leite em pó 100, 150 e 200 g/l, conforme a figura 27.

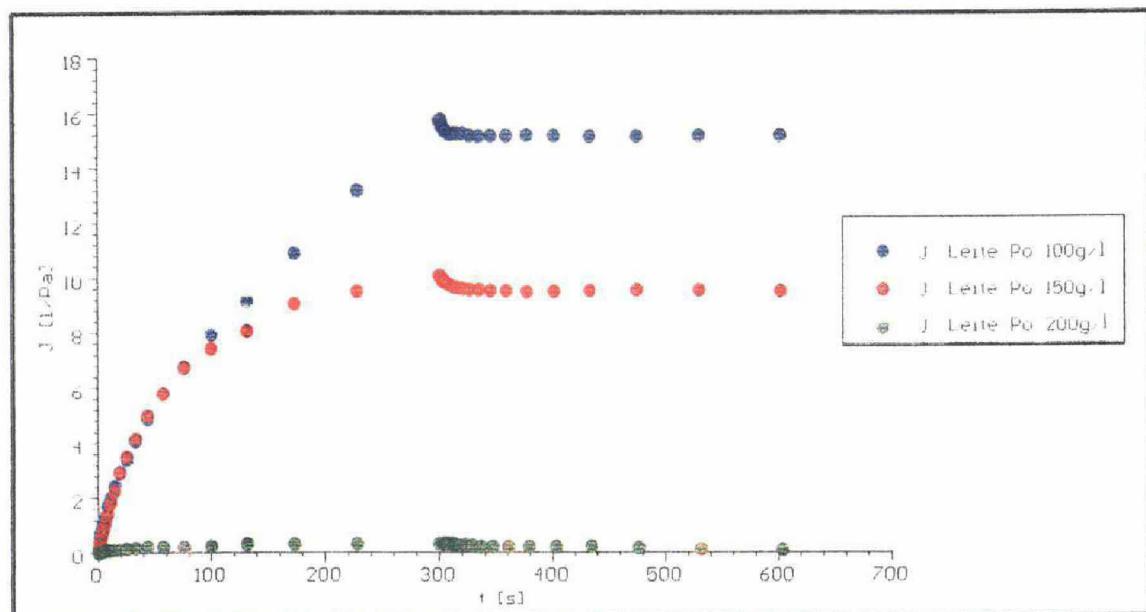
Pode-se observar, através da figura 27a, uma diminuição significativa do parâmetro de complacência das amostras com o aumento da concentração de leite em pó e uma maior recuperação após a retirada da tensão, em comparação com os valores obtidos para as galactomananas em leite desnatado na mesma concentração, com valores de 16, 11 e 1 Pa<sup>-1</sup>, respectivamente, para as concentrações em leite em pó de 100, 150 e 200 g/l, respectivamente. A mistura contendo leite em pó na concentração 200 g/l apresenta um caráter mais viscoelástico que os das outras concentrações, devido ao valor menor de complacência.

Na figura 27b observa-se o mesmo perfil, com valores de 6,8, 1 e 0,4 Pa<sup>-1</sup>, para as concentrações em leite em pó de 100, 150 e 200 g/l, respectivamente.

Comparando-se estes resultados com as curvas de tensão transitória das misturas G : LD (figura 21a), observa-se que o parâmetro de complacência é menor para ambas as concentrações em galactomanana, sugerindo mais uma vez uma melhor interação no sistema G : LPD.

As concentrações 150 e 200 g/l em LPD, apesar de apresentarem uma maior viscoelasticidade, não é possível atribuir esta melhora à interação galactomanana-proteína, mas sim à elevada concentração em sólidos nas misturas.

a)



b)

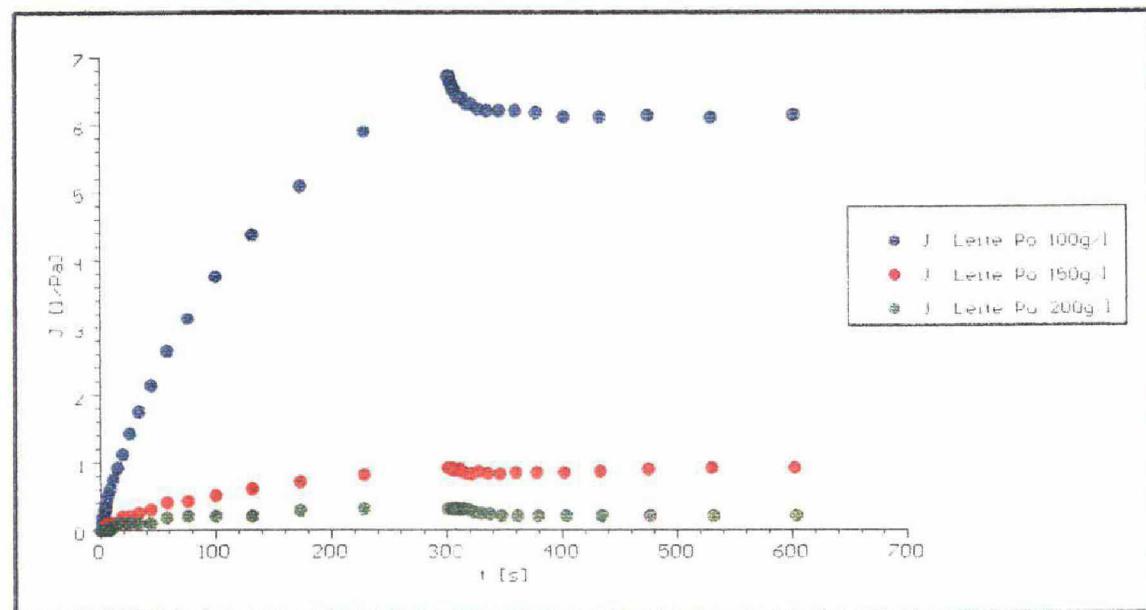


Figura 27: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado nas concentrações 100, 150 e 200 g/l. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

#### 4.3.4.3. Análise do comportamento viscoelástico

O comportamento viscoelástico das misturas entre galactomananas nas concentrações 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado, na concentração 100 g/l, foi avaliado através de varreduras de freqüência, em amplitude de  $10^{-2}$  a 10 Hz, e deformação de 7%, com monitoramento dos módulos de cisalhamento  $G'$  e  $G''$ , conforme a figura 28.

Os valores do módulo viscoso, na figura 28a, são maiores que os valores do módulo elástico em toda a escala de freqüência ( $10^{-2}$  a 10 Hz), para as misturas contendo leite em pó na concentração 100 g/l, demonstrando um comportamento viscoso, mas tanto  $G'$  quanto  $G''$  para o sistema G : LPD são maiores que os do sistema G : LD, mostrando uma maior interação.

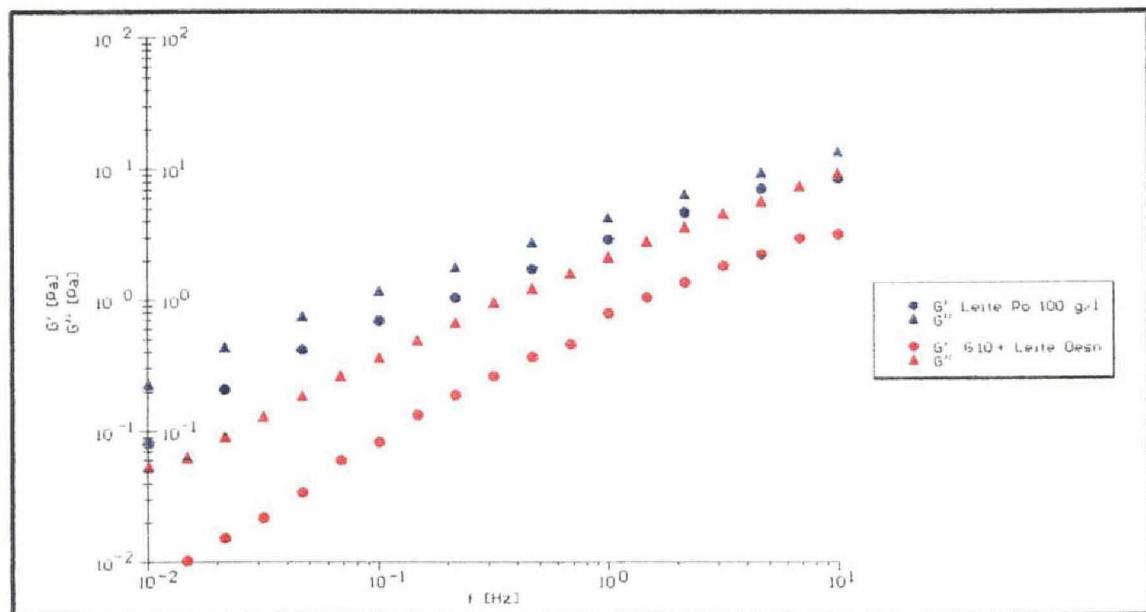
Na figura 28b ocorre uma mudança no perfil dinâmico das misturas, onde os módulos  $G'$  e  $G''$  apresentam valores superiores aos da figura 28a. Os módulos elástico e viscoso apresentam-se muito próximos, mostrando um caráter mais viscoelástico que no sistema G : LD na mesma concentração, e comportamento de gel fraco, ocorrendo inversão dos módulos na freqüência 2 Hz, com valor de  $G'$  de 35 Pa, no ponto de inversão.

Comparando-se estes dados com os da tabela 4 sobre o sistema G : LD, pode-se observar que a mistura G : LPD com concentração 20 g/l em galactomanana apresenta inversão dos módulos  $G'$  e  $G''$  em uma freqüência menor, com um valor maior de  $G'$  no ponto de inversão.

Observa-se através de experimentos no sistema dinâmico a ocorrência de interação sinérgica entre galactomanana e leite em pó desnatado, comparado-se com os sistemas G : LD nas mesmas concentrações, sendo a interação entre galactomanana na concentração 20 g/l e LPD mais efetiva que a na concentração 10 g/l, com melhor perfil dos módulos de cisalhamento ( $G'$  e  $G''$ ), caracterizando o sistema como um gel fraco. Os parâmetros de análise através de análises no sistema estático por curvas de comportamento de fluxo e experimentos de tensão transitória, e sistema dinâmico são concordantes com uma melhora significativa no sistema quando a mistura é processada com leite em pó desnatado.

A concentração de leite em pó desnatado 100g/l foi escolhida para dar continuidade aos experimentos por conveniência experimental, para padronizar as amostras com um menor número de variáveis possíveis.

a)



b)

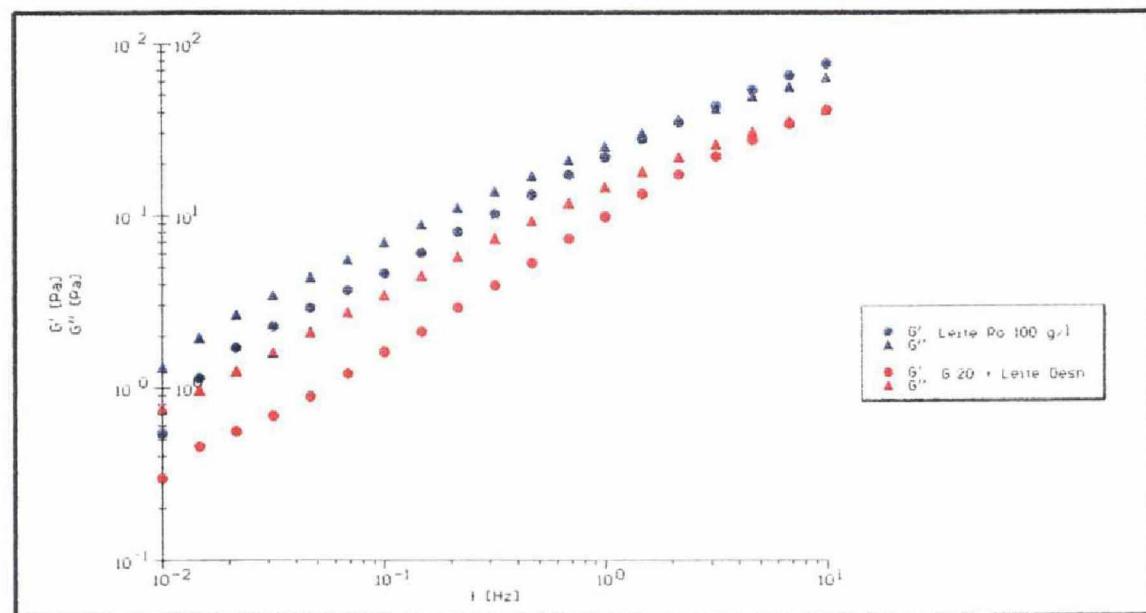


Figura 28: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

#### 4.3.5. Influência da adição de sais sobre o sistema galactomanana : leite

A interação dos sistemas polissacarídeo-proteína podem ser afetadas por mudanças na temperatura, solvente, pH e força iônica (Dickinson, 1993), podendo apresentar um efeito positivo ou uma contribuição à interação, não afetar o sistema ou causar um efeito negativo.

O sistema galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e LPD na concentração 100 g/l foi investigado, para avaliar a influência de sais mono e divalentes NaCl e CaCl<sub>2</sub>, respectivamente, nas concentrações 0,01 e 0,1M.

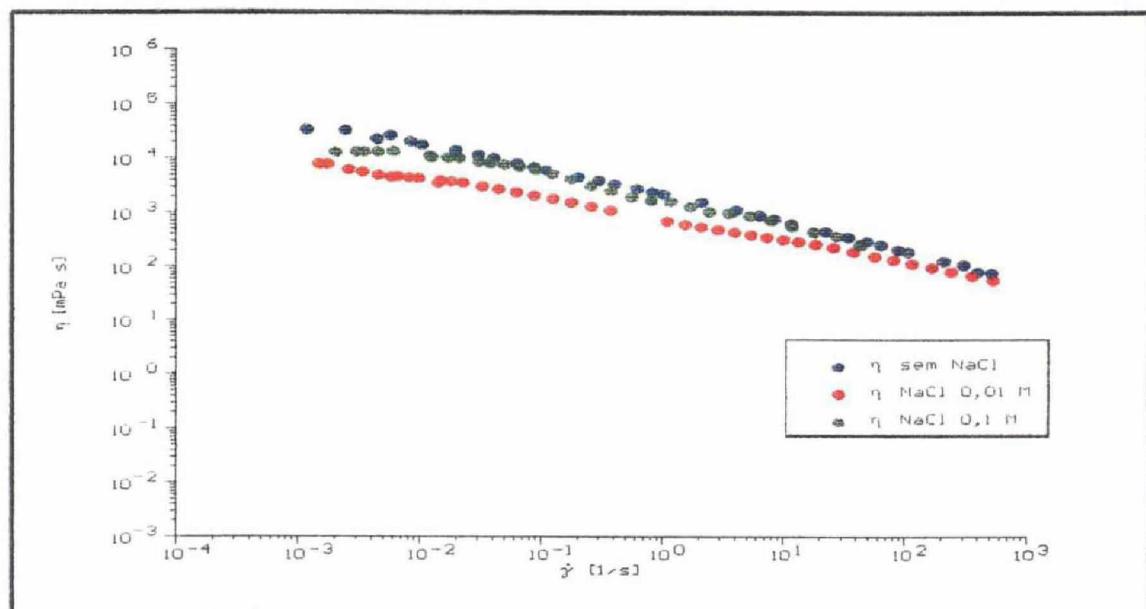
Na figura 29a, a mistura G : LPD em NaCl 0,01 M, na concentração em galactomanana de 10 g/l, apresentou uma menor viscosidade (400 mPa.s), em comparação com as misturas sem a adição de sal e a mistura em NaCl 0,1 M, com viscosidades de 700 mPa.s para ambos os sistemas, na velocidade de cisalhamento 10 s<sup>-1</sup>.

Na figura 29b, as misturas contendo NaCl 0,01 e 0,1 M, apresentaram viscosidades de 1000 e 1500 mPa.s, respectivamente, em relação à mistura sem a adição de NaCl ( $\eta = 2500$  mPa.s), na mesma velocidade de cisalhamento.

Através das figuras 29a e 29b observa-se que com o aumento da concentração em sal ocorre um aumento nas viscosidades dos sistemas, em toda a faixa de cisalhamento em análise. No entanto ao comparar com o sistema G : LPD em solução aquosa, este apresenta um valor de viscosidade maior, na mesma faixa de cisalhamento. Pode-se sugerir que como a galactomanana é um polímero neutro, a presença de sal deve ter uma ação sobre a proteína do sistema, interferindo na interação entre a proteína e a galactomanana de *Mimosa scabrella*.

Estes mesmos resultados foram observados em experimentos de tensão transitória e em experimentos oscilatórios, caracterizando os sistemas como líquidos viscoelásticos. Os sistemas G : LPD em solução aquosa apresentam caráter mais viscoelástico comparados aos sistemas contendo NaCl. A análise do comportamento viscoelástico em sistema dinâmico das amostras está ilustrado na tabela 5.

a)



b)

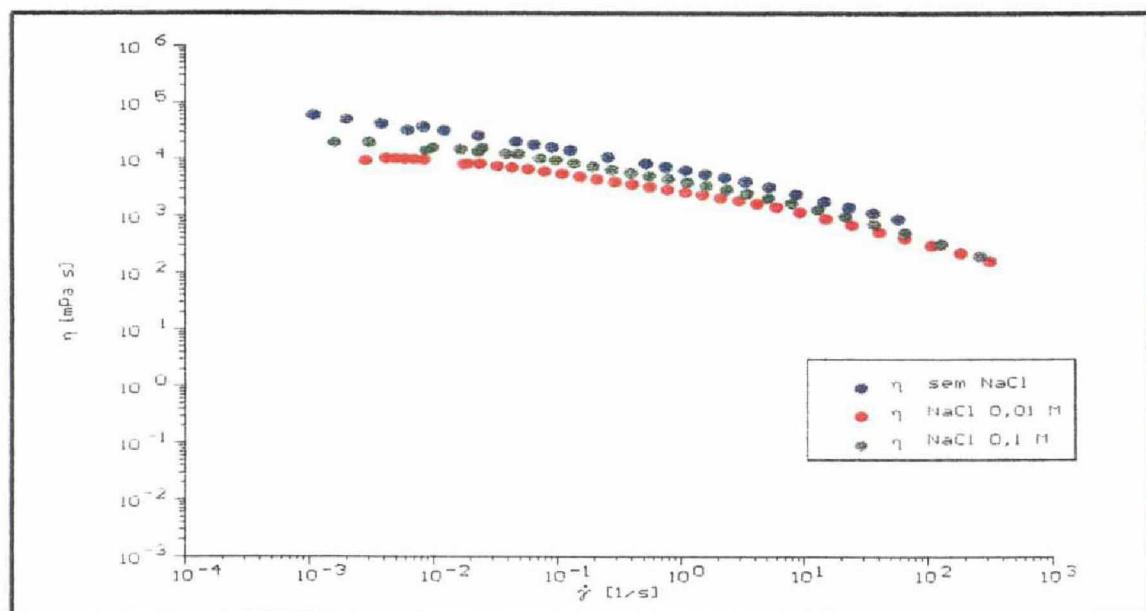


Figura 29: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana, leite em pó desnatado 100 g/l e NaCl nas concentrações 0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

Tabela 5: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado 100 g/l na presença de NaCl 0,01 e 0,1 M

G : LPD (g/l)	NaCl (M)			
	0,01	0,1	0,01	0,1
	G' (Pa) (ponto inversão)	Freqüência (Hz)		
10	-	-	-	-
20	30	25	5	1,5

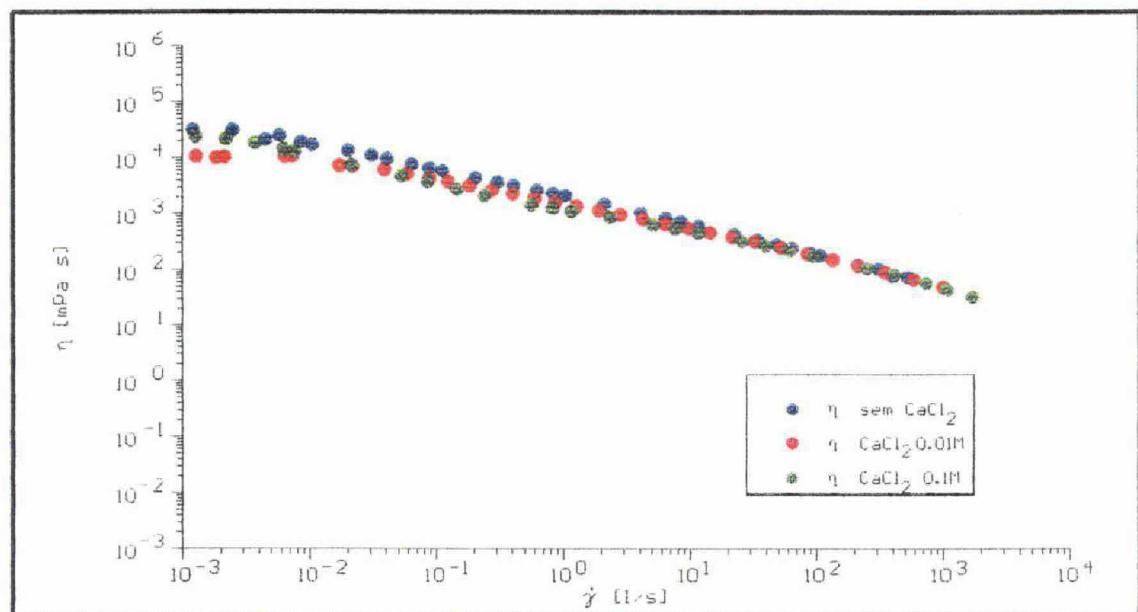
Na tabela 5 observa-se que no sistema G 10 g/l e LPD em NaCl o módulo  $G''$  é superior ao  $G'$  em freqüências de  $10^{-2}$  a 10 Hz, demonstrando um comportamento viscoso. Na mistura G 20 g/l e LPD com NaCl nas concentrações 0,01 e 0,1 M, ocorre inversão dos módulos elástico e viscoso nas freqüências 5 e 1,5 Hz, respectivamente, com valores no ponto de inversão de 30 e 25 Pa. Os sistemas G : LPD em solução aquosa nas mesmas concentrações apresentam perfis mais viscoelásticos que os contendo sal, para ambas as concentrações em galactomanana, devido aos valores  $G'$  e  $G''$  apresentarem-se maiores, e na concentração 20 g/l em galactomanana, ocorre inversão dos módulos na freqüência 2 Hz, com valor de  $G'$  no ponto de inversão de 35 Pa.

A influência de cloreto de cálcio foi analisada nas misturas contendo galactomanana e leite através de medidas no sistema estático e dinâmico ou oscilatório, conforme a figura 30.

Através da análise das curvas de comportamento de fluxo da figura 30a não foi possível verificar a influência do  $\text{CaCl}_2$ , devido às amostras apresentarem uma viscosidade muito semelhante à da mistura G : LPD em solução aquosa, com viscosidades de 700 mPa.s, na velocidade de cisalhamento  $10 \text{ s}^{-1}$ .

Na figura 30b observar-se que, a mistura G : LPD sem adição de  $\text{CaCl}_2$ , apresentou uma viscosidade superior às misturas contendo  $\text{CaCl}_2$ , nas concentrações 0,01 e 0,1 M, com valor de 2500 mPa.s, em relação aos valores de viscosidade 2000 e 1500 mPa.s, respectivamente, na mesma velocidade de cisalhamento.

a)



b)

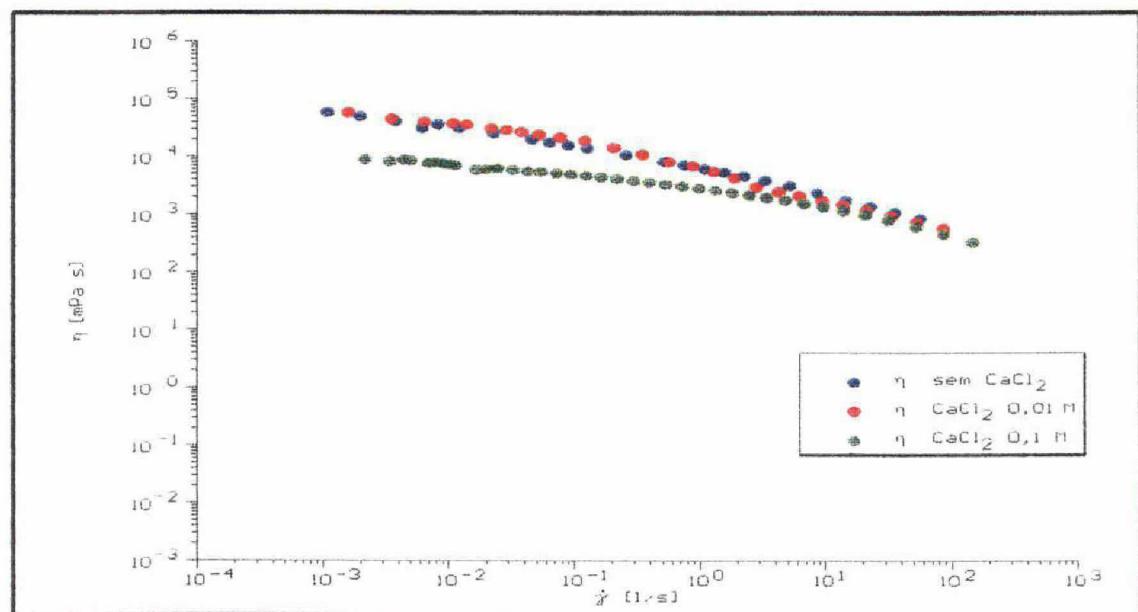


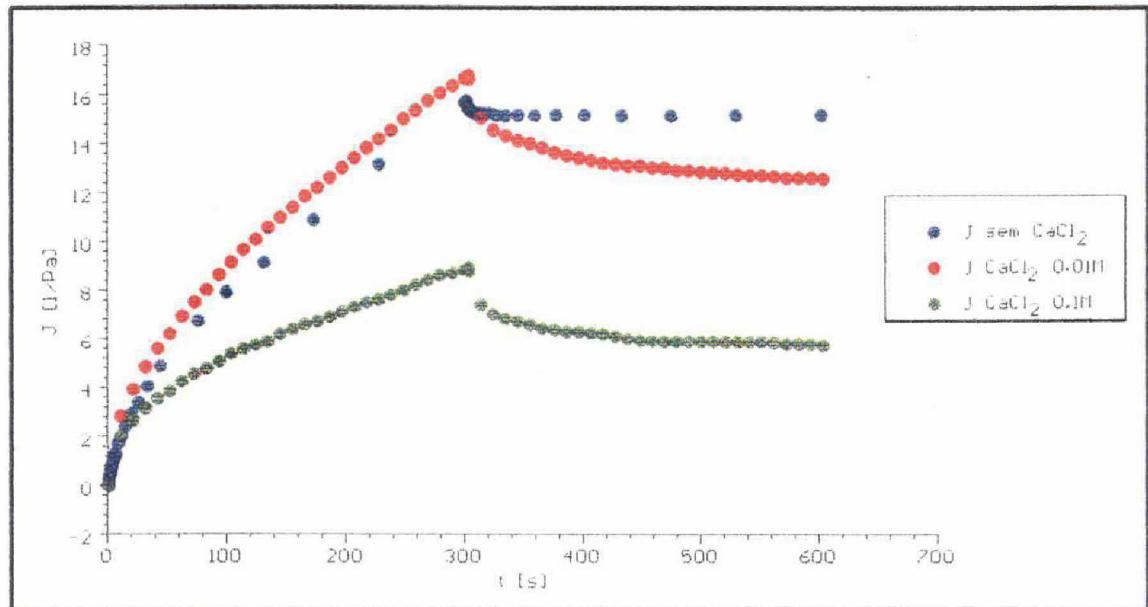
Figura 30: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana, leite em pó desnatado 100 g/l e  $\text{CaCl}_2$  nas concentrações 0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

O comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na presença de  $\text{CaCl}_2$ , foi avaliado através de medidas de tensão transitória, utilizando-se as mesmas concentrações de galactomanana e leite em pó, conforme a figura 31.

Observa-se a partir da figura 31a, uma diminuição do parâmetro de complacência das amostras e uma maior recuperação após a retirada da tensão, com o aumento da concentração de sal, com valores de  $17$  e  $9 \text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente, para as concentrações de  $\text{CaCl}_2 0,01$  e  $0,1 \text{ M}$ . A mistura G : LPD sem a adição de  $\text{CaCl}_2$  apresentou um valor intermediário aos das misturas contendo sal, com valor de complacência de  $16 \text{ Pa}^{-1}$ . Apesar das análises de comportamento de fluxo destas amostras não mostrarem uma diferença significativa de viscosidade, após a análise de tensão transitória, que é uma técnica mais sensível, por utilizar valores muito baixos de tensão em um curto intervalo de tempo, e não alterar as propriedades em solução das amostras, foi possível observar a diminuição do parâmetro de complacência na concentração  $0,1 \text{ M}$  em  $\text{CaCl}_2$ , em comparação com o sistema G : LPD na ausência de sal, na mesma concentração. Para a mistura em  $\text{CaCl}_2 0,01\text{M}$  não ocorreu influência significativa sobre o sistema, com a adição de sal.

Pode-se observar através da figura 31b que ocorre uma diminuição do parâmetro de complacência das amostras, com maior recuperação após a retirada da tensão, com a diminuição da concentração de sal, com valores de  $10,6$  e  $1 \text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente, para as concentrações de  $\text{CaCl}_2 0,1$  e  $0,01 \text{ M}$ , respectivamente, e a mistura sem a adição de  $\text{CaCl}_2$  apresenta um caráter intermediário aos das misturas contendo sal, com valor de complacência de  $7 \text{ Pa}^{-1}$ . Comparando-se as figuras 31a e 31b pode ser observado que no sistema G 20g/l : LPD e  $\text{CaCl}_2$ , uma menor concentração de sal ( $0,01\text{M}$ ) é necessária para oferecer uma mudança no perfil viscoelástico da mistura, aumentando este caráter, enquanto que no sistema G 10g/l : LPD e  $\text{CaCl}_2$  necessita-se de uma maior concentração de sal ( $0,1\text{M}$ ) para que ocorra tal mudança de perfil.

a)



b)

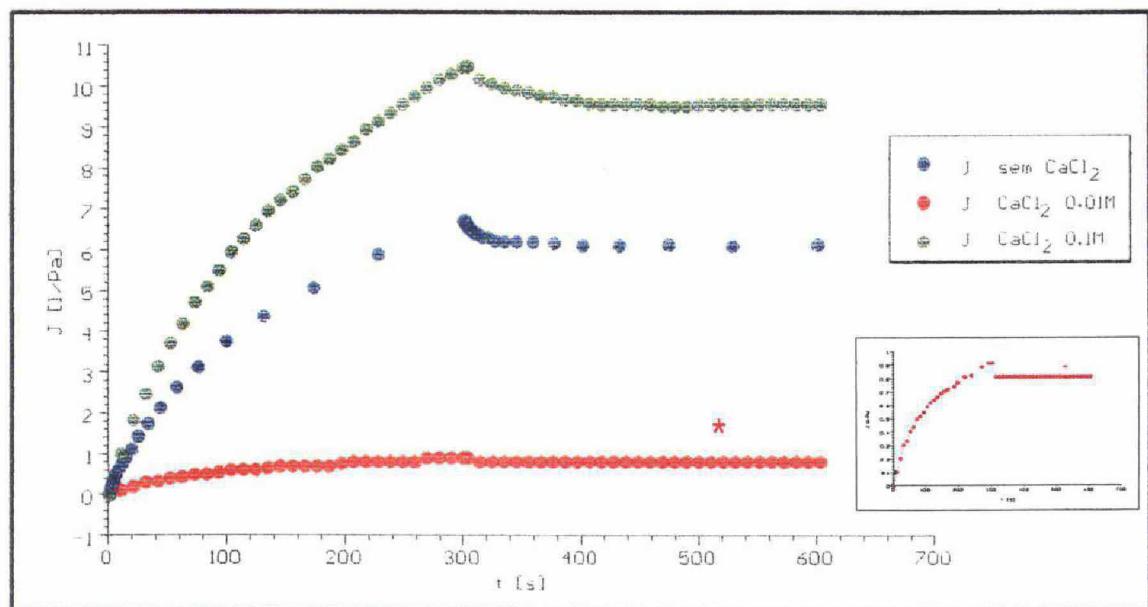
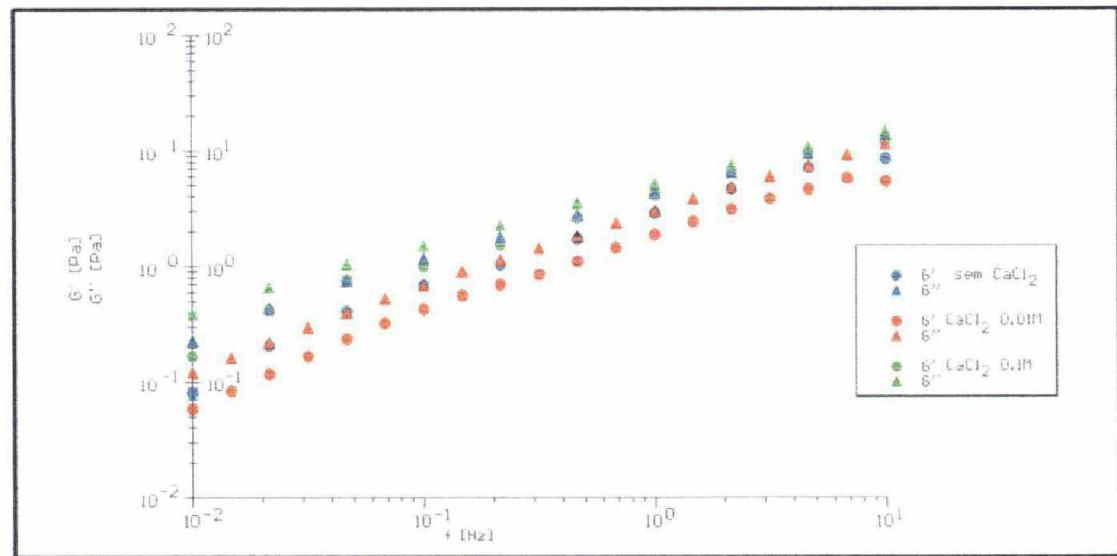


Figura 31: Análise de tensão transitória das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l, na presença de  $\text{CaCl}_2$  0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

O comportamento viscoelástico das misturas entre galactomananas e LPD em CaCl<sub>2</sub> em concentrações estabelecidas, foi avaliado por varreduras de freqüência como já descrito anteriormente, conforme a figura 32 e tabela 6.

a)



b)

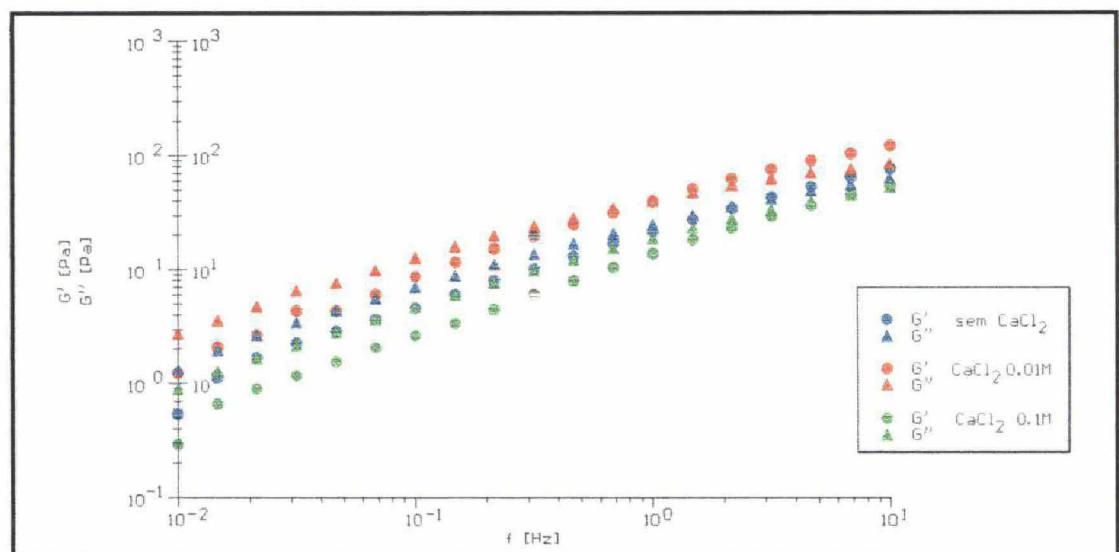


Figura 32: Análise do comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana e leite em pó desnatado na concentração 100 g/l na presença de CaCl<sub>2</sub> 0,01 e 0,1 M. a) galactomanana 10 g/l, e b) galactomanana 20 g/l

Através da figura 32a observa-se que os valores do módulo viscoso são maiores que os valores do módulo elástico em toda a faixa de freqüência analisada, para todas as misturas, demonstrando um comportamento viscoso, com a mistura contendo  $\text{CaCl}_2$  0,1 M, com perfil mais viscoelástico que as outras amostras, de acordo com as análises de tensão transitória realizadas.

Já na figura 32b uma mudança significativa no perfil dinâmico das misturas ocorreu, onde os módulos  $G'$  e  $G''$  apresentam valores superiores aos das misturas da figura 32a. Em todas as amostras analisadas, os módulos elástico e viscoso apresentam-se muito próximos, mostrando um caráter mais viscoelástico, com comportamento de gel fraco. A inversão dos módulos ocorre nas freqüências 1 e 7 Hz, respectivamente, para as concentrações de  $\text{CaCl}_2$  0,01 e 0,1 M. Os valores do módulo  $G'$  são de 40 e 45 Pa, respectivamente, nos pontos de inversão, demonstrando que o sistema G 20g/l : LPD em  $\text{CaCl}_2$  0,01M apresenta uma interação mais efetiva devido ao perfil mais viscoelástico em concordância com os experimentos de comportamento de fluxo e de tensão transitória realizados.

Tabela 6: Valores do módulo de cisalhamento elástico ( $G'$ ) no ponto de inversão entre os módulos dinâmicos para as misturas entre galactomanana 10 e 20 g/l e leite em pó desnatado 100 g/l na presença de  $\text{CaCl}_2$  0,01 e 0,1 M

G : LPD (g/l)	$\text{CaCl}_2$ (M)			
	0,01	0,1	0,01	0,1
	$G'$ (Pa) (ponto inversão)		Freqüência (Hz)	
10	-	-	-	-
20	40	45	1	7

A adição de CaCl<sub>2</sub> na concentração 0,01 M, influencia o comportamento viscoelástico das misturas entre galactomanana na concentração 20 g/l e leite em pó desnatado, ocorrendo inversão dos módulos em freqüências menores ( $f = 1$  Hz) que na mistura sem a adição deste sal, levando a um comportamento mais viscoelástico (gel fraco).

Comparando-se os dados das tabelas 5 e 6 e as análises em sistema estático e dinâmico pode-se observar que o NaCl apresentou um efeito negativo sobre o sistema G : LPD, ao passo que o CaCl<sub>2</sub> apresentou um efeito positivo em relação à mistura G : LPD em solução aquosa. Este efeito pode ser atribuído à influência do CaCl<sub>2</sub> sobre a caseína do leite (proteína predominante no sistema), tendo em vista que a galactomanana de *Mimosa scabrella* é um polissacarídeo neutro.

Em sistemas contendo caseína e alguns polissacarídeos, como por exemplo, carragenana, alginato entre outros, a presença de pequenas concentrações de cálcio induz a formação de gel através de ligações específicas entre polissacarídeos e proteínas (Dickinson, 1993).

Clark (1991), em sua revisão, comenta que a adição de novos componentes em uma mistura entre biopolímeros pode levar a um comportamento de formação de gel, como por exemplo pequenas quantidades de ácido, álcali, uréia, polímeros de alto peso molecular, como enzimas, e sais, que podem levar a uma mudança conformacional da mistura de biopolímeros, por alterar a força das interações dentro e entre as moléculas. Em outras situações, é conhecido que o aditivo torna-se diretamente envolvido no processo de associação, como por exemplo os íons cálcio na formação de gel em alguns polissacarídeos.

Os resultados apresentados estão de acordo com as observações realizadas por estes autores sobre a influência de alguns sais sobre a interação entre polissacarídeos e proteínas, onde os íons cálcio podem estar envolvidos em mudanças conformacionais das proteínas do leite, favorecendo sua interação com a galactomanana.

#### **4.3.6. Análise da interação nos sistemas contendo galactomanana e proteína do soro do leite ou caseinato de sódio**

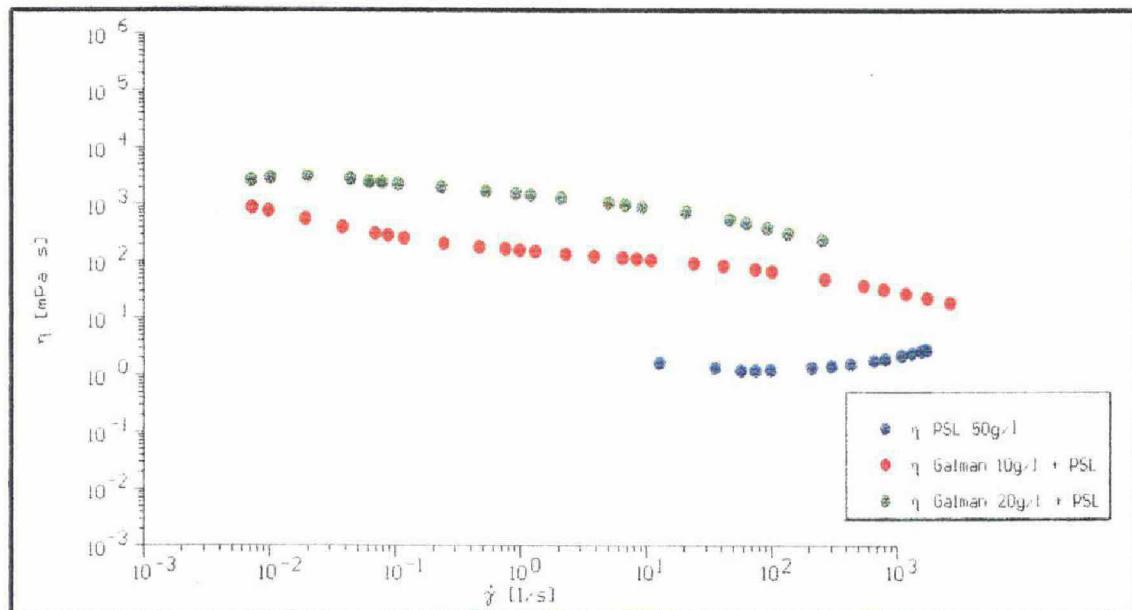
Tendo em vista que as proteínas do soro do leite, constituídas por  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, e caseinato de sódio podem interagir com biopolímeros (Grindrod e Nickerson, 1968; Aguilera e Kessler, 1989; Aguilera e Kinsella, 1991; Hart *et al.*, 1992; Ju *et al.*, 1995; Manoj *et al.*, 1996; Drohan *et al.*, 1997), o leite em pó desnatado foi fracionado em caseína e proteínas do soro do leite (PSL), para avaliar a interação entre estas frações e a galactomanana.

As concentrações de galactomanana utilizadas para as análises foram 10 e 20 g/l, e as de proteína do soro do leite 50 e 100 g/l. A análise do comportamento de fluxo das misturas galactomanana-proteína do soro está ilustrada na figura 33.

Conforme as figuras 33a e 33b, observou-se que as viscosidades das misturas contendo galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l são 100 e 1000 mPa.s, respectivamente, na velocidade de cisalhamento  $10\text{ s}^{-1}$ . A fração isolada proteína do soro apresenta uma viscosidade absoluta igual à dos leites desnatado e integral ( $\eta = 2\text{ mPa.s}$ ). As misturas G : PSL em ambas as concentrações de soro do leite apresentaram o mesmo perfil que as soluções de galactomanana em solução aquosa nas mesmas concentrações. Estas misturas foram também submetidas à análise de tensão transitória, e observou-se que os parâmetros de complacência para os sistemas G : PSL foram semelhantes aos da galactomanana em solução aquosa (figura 20), nas mesmas concentrações.

As análises no sistema oscilatório confirmaram os resultados obtidos pelos experimentos no sistema estático, onde os sistemas G : PSL, em ambas as concentrações em galactomanana e proteína do soro, mostraram que os valores de  $G''$  são maiores que os de  $G'$ , na faixa de freqüência analisada, demonstrando um comportamento viscoso, semelhante ao das misturas de galactomanana em solução aquosa, sugerindo-se então por estas análises que a interação sugerida para o sistema galactomanana-leite não é resultante das proteínas do soro.

a)



b)

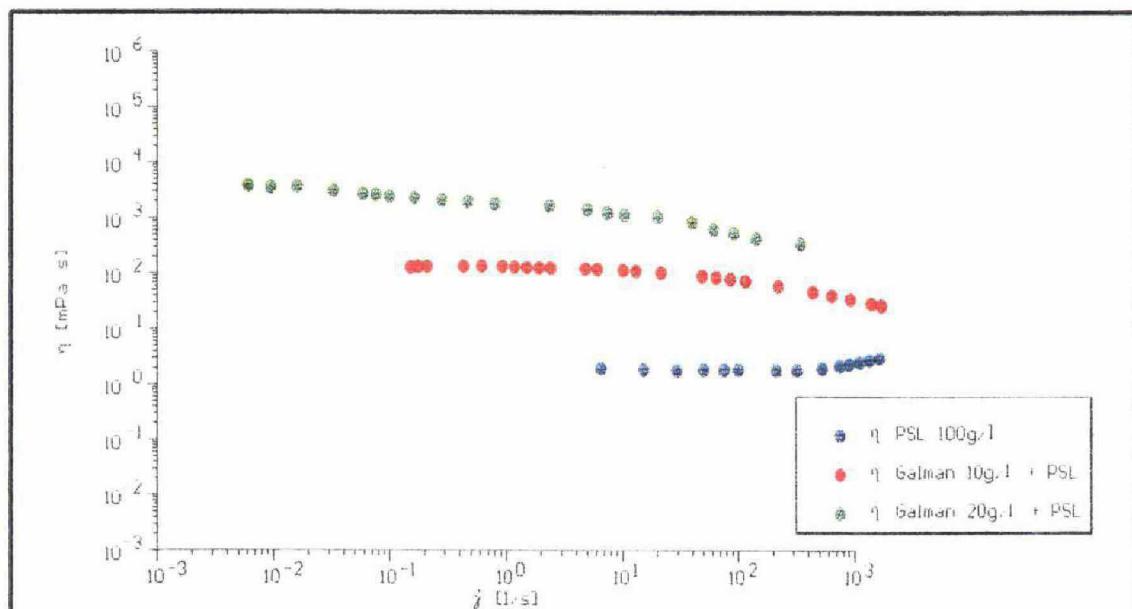


Figura 33: Comportamento de fluxo das misturas entre galactomanana nas concentrações 10 e 20 g/l e proteína do soro do leite. a) proteína do soro na concentração 50 g/l, e b) proteína do soro na concentração 100 g/l

Em seguida, foram realizados experimentos para a investigação da interação entre galactomanana e caseína. Devido à insolubilidade da caseína em solução aquosa, procedeu-se a neutralização desta em caseinato de sódio (NaC), completamente solúvel. A análise do comportamento de fluxo das misturas G : NaC foram realizadas nas seguintes condições: galactomanana 10 e 20 g/l, e caseinato de sódio em concentrações que variaram entre 10 e 100 g/l, de acordo com a figura 34.

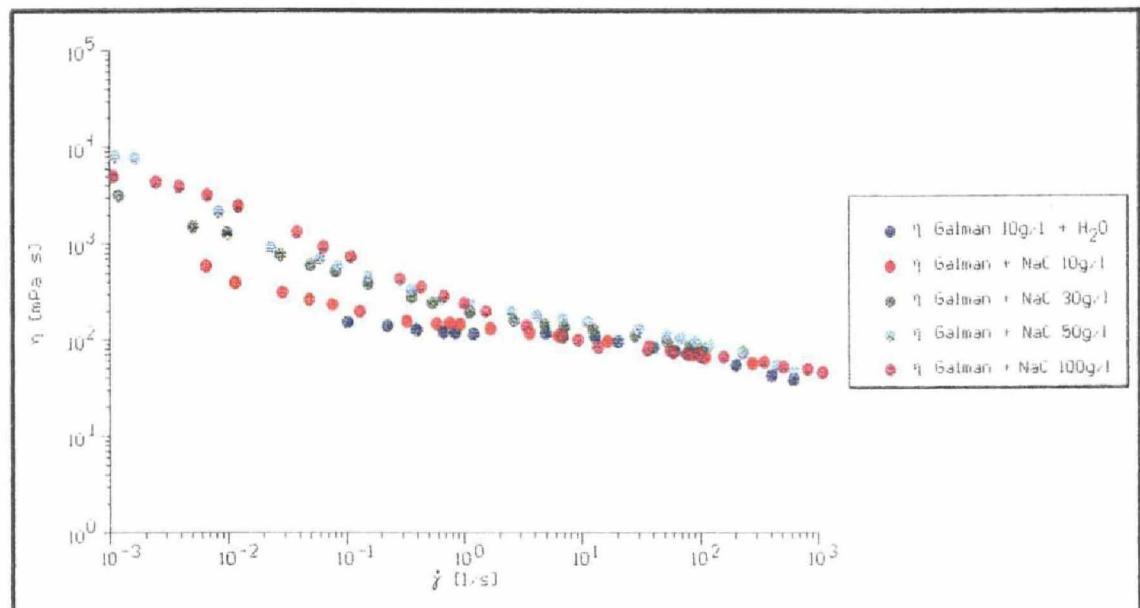
Na figura 34a as viscosidades das misturas G : NaC nas concentrações 10, 30, 50 e 100 g/l foram 100, 150, 200 e 100 mPa.s, respectivamente, na velocidade de cisalhamento  $10\text{ s}^{-1}$ . A fração isolada NaC apresentou viscosidade de 2, 3, 3 e 10 mPa.s, respectivamente.

A figura 34b mostra que as viscosidades dos sistemas G : NaC nas concentrações 10, 30, 50 e 100 g/l foram de 1000, 1000, 1000 e 500 mPa.s, respectivamente, em  $10\text{ s}^{-1}$ . Os valores encontrados para as viscosidades dos sistemas representados nas figuras 34a e 34b apresentam-se semelhantes aos das galactomananas em solução aquosa nas mesmas concentrações. Para o sistema G : NaC com concentração 10 g/l em galactomanana, em menores valores de velocidade de cisalhamento ( $10^{-3}$  a  $1\text{ s}^{-1}$ ) ocorreu uma variação significativa de viscosidade absoluta das amostras, sugerindo-se uma possível interação entre a galactomanana e caseinato de sódio com aumento das concentrações deste último.

Partiu-se então para a análise de tensão transitória, onde apesar de não apresentar os mesmos valores de complacência do sistema G : LPD (figura 27), foi possível evidenciar uma diferença significativa entre os valores de complacência do sistema G : NaC em relação às soluções de galactomanana em água (figura 20) e ao sistema G : LD (figura 21), com valores de 60 e  $54\text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente, para as concentrações 10 e 20 g/l em galactomanana e NaC 50 g/l. Para o NaC na concentração 100 g/l observou-se o mesmo perfil, com valores de complacência de 52 e  $36\text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente, para as concentrações 10 e 20 g/l, demonstrando um caráter mais viscoelástico.

A análise em sistema dinâmico confirmou os resultados obtidos pelas análises em sistema estático, com módulos  $G''$  superiores aos  $G'$ , demonstrando um comportamento viscoso, onde a viscoelasticidade aumenta juntamente com a concentração em galactomanana e NaC.

a)



b)

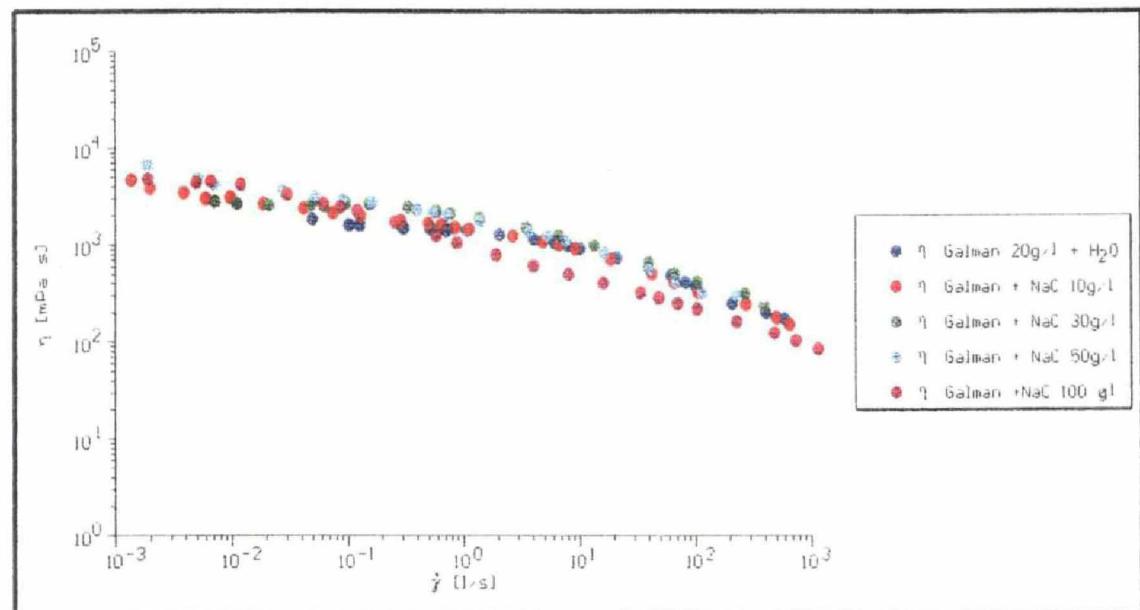


Figura 34: Comportamento de fluxo das misturas galactomanana e caseinato de sódio nas concentrações 10, 30, 50 e 100 g/l. a) galactomanana na concentração 10 g/l, e b) galactomanana na concentração 20 g/l

Estes resultados podem indicar uma real interação entre galactomanana e caseína do leite, tendo em vista que os valores de viscosidade absoluta, parâmetros de complacência e módulos de cisalhamento elástico e viscoso são superiores aos valores para as soluções aquosas de galactomananas, nas mesmas concentrações.

Sabendo-se que a caseína é composta por três frações  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ -caseína, foram investigados os sistemas galactomanana e frações purificadas da caseína (FPC) ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ), escolhendo-se as concentrações 10 g/l para galactomanana e 5 g/l para as FPC. Os teores de proteínas totais no leite variam entre 2 e 4,5% (Meyer, 1960), sendo que destes, aproximadamente 80% é representado pela caseína. Convém ressaltar que a concentração de caseína utilizada nestes experimentos é inferior, pelo menos 5 vezes, em relação à sua concentração no leite.

Foram realizadas análises de comportamento de fluxo destes sistemas, e observou-se que as viscosidades absolutas eram muito semelhantes à galactomanana em solução aquosa, com valor de 100 mPa.s, na velocidade de cisalhamento  $10\text{ s}^{-1}$ .

Considerando que não foi observada variação entre as viscosidades dos sistemas G : FPC, partiu-se para a análise do comportamento viscoelástico das misturas através de medidas de tensão transitória, conforme a figura 35.

As amostras apresentaram uma diminuição do parâmetro de complacência na ordem  $\alpha$ ,  $\kappa$  e  $\beta$ -caseína, com valores de  $230$ ,  $216$  e  $190\text{ Pa}^{-1}$ , respectivamente, indicando um caráter mais viscoelástico para a mistura entre galactomanana e  $\beta$ -caseína, em relação à galactomanana em solução aquosa ( $J = 320\text{ s}^{-1}$ ).

Através das análises do comportamento viscoelástico não foi possível identificar uma diferença significativa entre os sistemas contendo galactomanana e frações  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ -caseína, onde para todas as misturas "G" foi superior a "G'", demonstrando um comportamento viscoso. Apesar deste fato, estes sistemas apresentaram um comportamento mais viscoelástico que o da galactomanana em solução aquosa em mesma concentração.

Alguns autores estudaram sistemas constituídos por caseína ou proteínas do soro do leite e polissacarídeos como carragenana, galactomananas (guar e alfarroba), alginato e CMC (Grindrod e Nickerson, 1968; Xu *et al.*, 1992), observando interação entre estes biopolímeros sob diferentes condições. Isto é importante, pois novos produtos lácteos podem ser desenvolvidos se as interações entre estes componentes forem compreendidas e controladas durante a manufatura.

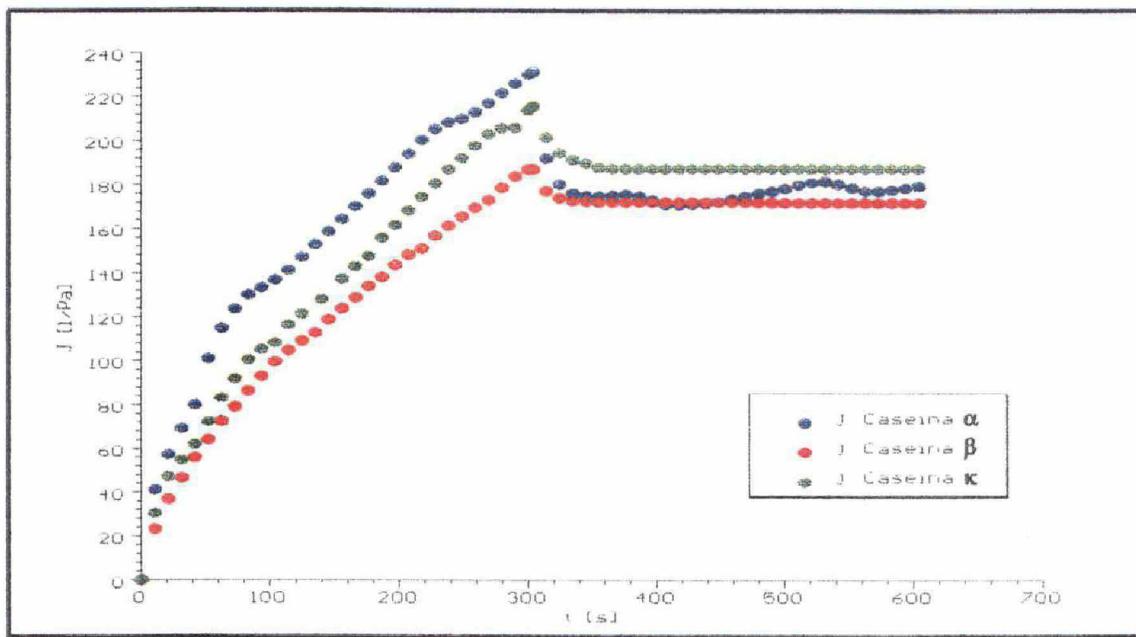


Figura 35: Análise de tensão transitória das misturas galactomanana na concentração 10 g/l e frações purificadas da caseína ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ) na concentração 5 g/l

Sabe-se através da literatura que a caseína pode apresentar interações atrativas com polissacáideos como por exemplo com galactomanana (Ambrose, 1935; Grindrod e Nickerson, 1968; Mitchell *et al.*, 1992) e carragenana (Pilnik e Rombouts, 1985; Morris, 1991; Hart *et al.*, 1992; Xu *et al.*, 1992; Drohan *et al.*, 1997), e interações repulsivas (fases separadas) com polissacáideos como amilopectina, dextrana, pectina, carboximetilcelulose, alginato de sódio, goma arábica, xantana, maltodextrina, succinoglicana e dextrana sulfato (Dickinson e Euston, 1991; Tolstoguzov, 1993; Manoj *et al.*, 1996; Grinberg e Tolstoguzov, 1997).

Grindrod e Nickerson (1968) em misturas entre galactomananas e caseínas purificadas ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ), através de técnicas de eletroforese e centrifugação, verificaram a ocorrência de um sedimento de caseína quando o sistema foi mantido a 4° C “overnight”, sugerindo que a ligação entre galactomanana e caseína deve ser muito fraca, possivelmente por co-precipitação.

De acordo com os resultados obtidos e os dados da literatura, pode-se sugerir uma possível interação entre galactomananas de *Mimosa scabrella* e frações purificadas da caseína, devido a mudanças nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à galactomanana em solução aquosa, mesmo com concentrações muito baixas de caseína.

## *Conclusões*

---

## 5. Conclusões

- o processo de inativação enzimática das sementes de *Mimosa scabrella*, realizado por microondas no tempo de 2 minutos, mostrou ser tão efetivo quanto o processo convencional por ebulação, apresentando como vantagens uma diminuição no tempo de inativação e maior praticidade para o processo.
- as análises das propriedades reológicas no sistema estático, através de comportamento de fluxo mostraram que as misturas entre galactomanana de *Mimosa scabrella* e leite desnatado ou integral apresentam comportamento pseudoplástico em concentrações menores que das galactomananas em solução aquosa.
- as análises das propriedades reológicas no sistema estático, através de comportamento de fluxo, mostraram que as galactomananas apresentam interação sinérgica com as proteínas do leite desnatado e integral, devido ao aumento da viscosidade absoluta ( $\eta$ ), em comparação com as soluções isoladas de leite e galactomanana em solução aquosa, sendo a interação mais efetiva para as misturas contendo leite integral.
- as análises das propriedades reológicas no sistema estático, através de medidas de tensão transitória, sugerem uma interação entre as misturas galactomanana e leite desnatado ou integral, devido a uma diminuição do parâmetro de complacência das amostras ( $J$ ), se comparadas com as soluções isoladas de leite e galactomanana em solução aquosa.
- as análises das propriedades reológicas no sistema dinâmico mostraram uma interação sinérgica entre galactomananas e proteínas do leite, pelo aumento dos módulos  $G'$  e  $G''$ , em comparação com as soluções isoladas de leite e galactomanana em solução aquosa, apresentando um comportamento de gel fraco em freqüências mais elevadas.

- através de análises das propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico das misturas galactomanana e leite em pó desnatado, observou-se que estas apresentaram maiores valores de viscosidade, e comportamento mais viscoelástico que as misturas contendo galactomanana e leite desnatado *in natura* em concentrações semelhantes, demonstrando uma interação sinérgica mais efetiva em sistema reconstituído.
- as misturas contendo galactomananas e leite em pó desnatado na presença de NaCl, são influenciadas pela adição deste sal, tendo um efeito negativo sobre a interação galactomanana-leite, devido a mudanças nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à mistura sem a adição de sal.
- as misturas contendo galactomananas e leite em pó desnatado na presença de CaCl<sub>2</sub>, são influenciadas pela adição deste sal, tendo um efeito positivo sobre a interação galactomanana-leite, devido a mudanças nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à mistura sem a adição de sal.
- as misturas contendo galactomananas e proteínas do soro do leite não apresentam interação, devido à ausência de alterações nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à galactomanana em solução aquosa.
- as misturas contendo galactomananas e caseinato de sódio apresentam uma interação sinérgica com o aumento da concentração de caseinato de sódio, devido a mudanças nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à galactomanana em solução aquosa.
- nas misturas contendo galactomananas e frações purificadas da caseína pode-se sugerir uma possível interação, devido a mudanças nas propriedades reológicas no sistema estático e dinâmico, em relação à galactomanana em solução aquosa, mesmo em concentrações de caseína cinco vezes menor em relação a sua concentração no leite. O sistema galactomanana e β-caseína apresenta um perfil mais viscoelástico que os sistemas contendo as frações α e κ-caseína.

## *Referências Bibliográficas*

---

## 6. Referências bibliográficas

- ADAMS, G. A. Acid hydrolysis of weak linkages. **Meth. Carbohydr. Chem.**, v. 01, p. 21-31, 1965.
- AGUILERA, J. M.; KESSLER, H. G. Properties of mixed and filled-type dairy gels. **J. Food Sci.**, v. 54, n. 5, p. 1213-1217, 1989.
- \_\_\_\_\_, KINSELLA, J. E. Compression strength of dairy gels and microstructural interpretation. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 5, p. 1224-1228, 1991.
- AKIYOSHI, K.; DEGUCHI, S.; MORIGUCHI, N.; YAMAGUCHI, S.; SUNAMOTO, J. Self-aggregates of hydrophobized polysaccharides in water. Formation and characteristics of nanoparticles. **Macromolecules**, v. 26, p. 3062-3068, 1993.
- AMBROSE, A. S. (to Kraft-Phenix Cheese Corp.). Extracting casein from milk. U. S. 1,991,189 **Chem. Abstract**, v. 29, p. 2255, 1935.
- ASHTON, W. R.; JEFFERIES, M.; MORLEY, R. G.; PASS, G.; PHILLIPS, G. O.; POWER, D. M. Physical properties and applications of aqueous solutions of *Albizia zygia* gum. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 26, p. 697-704, 1975.
- ASPINALL, G. O. Structural chemistry of the hemicelluloses. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 14, p. 429-468, 1959.
- \_\_\_\_\_, WHYTE, J. N. C.; Polysaccharides of soy-beans. Part I: Galactomannans from the hulls. **J. Chem. Soc.**, p. 5058-5063, 1964.
- \_\_\_\_\_. Gums and mucilages. **Adv. Carbohydr. Chem.**, v. 24, p. 333-379, 1969.

- BAINES, Z. V.; MORRIS, E. R. Effect of polysaccharide tickeners on organoleptic attributes. In: PHILLIPS, G. O.; WEDLOCK, D. J.; WILLIAMS, P.A. **Gums and stabilizers for the food industry 4.** Oxford: IRL Press, 1988, p. 193-201.
- BAIRD, J. K. Analysis of gums in foods. In: WHISTLER, R. L. e BeMILLER, J. N. **Industrial gums, polysaccharides and their derivates.** 3. ed., San Diego: Academic Press, 1993, p. 605-618.
- BIANCHETTI, A. Comparação de tratamentos para superar a dormência de sementes de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). **Boletim de pesquisa florestal**, 1981, v. 2, p. 57-66.
- BRESOLIN, T. M. B.; BELTRAMINI, L. M.; SANDER, P. C.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. S. Physiochemical aspects of intermolecular interaction of the galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella* Bentham. **Latin American Applied Research**, v. 26, p. 5-7, 1996.
- \_\_\_\_ ; SANDER, P. C.; REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M. R.; RINAUDO, M.; GANTER, J. L. M. S. Viscometric studies on xanthan and galactomannan systems. **Carbohydr. Polym.**, v. 33, p. 131-138, 1997.
- \_\_\_\_ . **Propriedades físico-químicas de biopolímeros: xantana/galactomananas.** Curitiba, 1998. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- \_\_\_\_ ; MILAS, M.; RINAUDO, M.; GANTER, J. L. M. S. Xanthan-galactomannan interactions as related to xanthan conformations. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 263-275, 1998.

BULPIN, P. V.; GIDLEY, M. J.; JEFFCOAT, R. Development of a biotechnological process for the modification of galactomannan polymers with plant - galactosidase. **Carbohydr. Polym.**, v. 12, p. 155-168, 1990.

CARDOSO, A. T. M. **Desenvolvimento do processo de obtenção de galactomanana em escala piloto a partir de semente de bracatinga**. Curitiba, 1995. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

CARLSON, W. A.; ZIEGENFUSS, E. M.; OVERTON, J. D. Food technology feature: compatibility and manipulation of guar gum. **Food Technology**, v. 19, p. 50-54, 1962.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras. recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro Nacional de Pesquisas Florestais (CNPF). Colombo: EMBRAPA/CNPF; Brasília: EMBRAPA/SPI, 1994, p. 337-343.

CHRONAKIS, I. S.; KASAPIS, S. Structural properties of single and mixed milk/soya protein system. **Food Hydrocolloids**, v. 7, n. 6, p. 459-478, 1993.

\_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ ; RICHARDSON, R. K. Small deformation rheological properties of maltodextrin-milk protein systems. **Carbohydr. Polym.**, v. 29, p. 137-148, 1996.

CHUDZIKOWSKI, R. J. Guar gum and its applications. **J. Soc. Cosmet. Chem.**, n. 22, p. 43-60, 1971.

CLARK, A. H. ROSS-MURPHY, S. B. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. **Adv. Polym. Sci.**, v. 83, p. 59-192, 1987.

- \_\_\_\_\_. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. In: DICKINSON, E. **Food polymers, gels and colloids**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, n. 82, 1991, p. 322-338.
- CLEGG, S. M. The use of hydrocolloids gums as fat mimetics. In: ROLLER, S.; JONES, S.A. **Handbook of fat replacers**. Boca Raton: CRC Press, 1996, p. 191-212.
- COTTRELL, J. I. L.; PASS, G.; PHILLIPS, G. O. Assessment of polysaccharides as ice cream stabilizers. **J. Sci. Food Agric.**, v. 30, p. 1085-1088, 1979.
- COUARRAZE, G.; GROSSIORD, J. L. **Initiation à la rhéologie**. 2. ed. Paris: Lavoisier, 1991, 272p.
- DEA, I. C. M.; Mc KINNON, A. A.; REES, D. A. Tertiary and quaternary structure in aqueous polysaccharide systems which model cell wall cohesion: reversible changes in conformation and association of agarose, carrageenan and galactomannans. **J. Mol. Biol.**, v. 68, p. 153-172, 1972.
- \_\_\_\_\_; MORRISON, A. Chemistry and interaction of seed galactomannans **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 31, p. 241-312, 1975.
- \_\_\_\_\_. The role of structural modification in controlling polysaccharide functionality. In: YALPANI, M. **Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/properties, relations and applications**. Amsterdam: Elsevier, 1987, p. 207-216.
- DEY, P. M. Biochemistry of plant galactomannans. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 35, p. 341-376, 1978.
- DICKINSON, E.; EUSTON, S. R. Stability of food emulsions containing both protein and polysaccharide. In: DICKINSON, E. **Food polymers, gels and colloids**. Cambridge: RSC Special Publication, n. 82, 1991, p. 132- 146.

- \_\_\_\_ ; GALAZKA, V. B. Emulsion stabilization by protein-polysaccharide complexes. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.; WEDLOCK, D. J. **Gums and stabilizers for the food industry 6.** Oxford: IRL Press, 1992, p. 351-362.
- \_\_\_\_ . Protein-polysaccharide interactions in food colloids. In: DICKINSON, E.; WALSTRA, P. **Food colloids and polymers: stability and mechanical properties.** [S.l. : s.n.], 1993, p. 77- 93.
- \_\_\_\_ . Emulsion stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharide complexes. In: STEPHEN, A. M. **Food polysaccharides and their applications.** New York: DEKKER, M. Inc., 1995, p. 501-515.
- DROHAN, D. D.; TZIBOULA, A.; Mc NULLI, D.; HORNE, D. S. Milk protein- carrageenan interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 1, p.101-107, 1997.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chem.**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- DZIEZAK, J. D. Associate editor. A focus on gums. **Food Technology**, v. 45, p. 116-132, 1991.
- ELFAK, A. M.; PASS, G; PHILLIPS, G. O.; MORLEY, R. G. The viscosity of dilute solutions of guar gum and locust bean gum with and without added sugars. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 28, p. 895-899, 1977.
- \_\_\_\_ ; PASS, G; PHILLIPS, G. O. The effect of shear rate on the viscosity of solutions of guar gum and locust bean gum. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 30, p. 439-444, 1979.

- ENRIQUEZ, L. G.; HWANG, J. W.; HONG, G. P.; BATI, N. A.; FLICK, G. J. Plant and microbial food gums. In: CHARALAMBOUS, G.; DOXASTAKIS, G. **Food emulsifiers: chemistry, technology, functional properties and applications.** Amsterdam: Elsevier, 1989, p. 335-361.
- FARKAS, E.; GLICKSMAN, M. Hydrocolloid rheology in the formulation of convenience foods. **Food Technology**, v. 21, p. 49-52, 1967.
- FERNANDES, P. B.; GONÇALVES, M. P.; DOUBLIER, J. L. Influence of locust bean gum on the rheological properties of kappa-carrageenan systems in the vicinity of the gel point. **Carbohydr. Polym.**, v. 22, n. 2, p. 99-106, 1993.
- FERRY, J. D. Illustration of viscoelastic behavior of polymeric systems. In: **Viscoelastic properties of polymers**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1980, p. 33-55.
- GALLEGOS, C.; MADIEDO, J. M.; BOWER, C.; MACKLEY, M. R. **Reología de emulsiones estabilizadas por biopolímeros.** In: WORKSHOP SOBRE BIOPOLÍMEROS (1997 : Pirassununga). Anais. Pirassununga : FZEA-USP, p. 70-73, 1997.
- GANTER, J. L. M. S. **Galactomanana de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga).** Curitiba, 1988. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- \_\_\_\_\_. **Estudos de carboidratos de sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga). Análise estrutural dos oligossacarídeos e propriedades reológicas da galactomanana.** Curitiba, 1991. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

- \_\_\_\_ ; CORRÊA, J. B. C.; REICHER, F.; HEYRAUD, A; RINAUDO, M. Low molecular weight carbohydrates from *Mimosa scabrella* seeds. **Plant Phisiol. Biochem.**, v. 29, n. 2, p. 139-146, 1991.
- \_\_\_\_ ; MILLAS, M. ; RINAUDO, M. On the viscosity of sodium poly (styrene sulphonate), a flexible polyelectrolyte. **Polymers:**, v. 33, n. 1, p. 113-116, 1992a.
- \_\_\_\_ ; \_\_\_\_ ; CORRÊA, J. B. C.; REICHER, F.; RINAUDO, M. Study of solution properties of galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella*. **Carbohydr. Polym.**, v. 17, p. 171-175, 1992b.
- \_\_\_\_ ; ZAWADZKI-BAGGIO, S. F.; LEITNER, S. C. S.; SIERAKOWSKI, M. R.; REICHER, F. Structural studies on galactomannans from brazilian seeds. **Carbohydr. Chem.**, v. 12, n. 6, p. 753-767, 1993.
- \_\_\_\_ ; HEYRALD, A.; PETKOWICZ, C. L. O.; RINAUDO, M.; REICHER, F. Galactomannans from brazilian seeds: characterization of the oligosaccharides produced by mild acid hydrolysis. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 17, p. 13-19, 1995.
- \_\_\_\_ ; CARDOSO, A. T. M.; KAMINSKI, M.; REICHER, F. Galactomannan from the seeds of *Mimosa scabrella*: a scale-up process. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 21, p. 137-140, 1997.
- \_\_\_\_ ; REICHER, F. Water-soluble galactomannan from seeds of *Mimosaceae spp.* **Bioresearch Technol.**, v. 68, p. 55-62, 1999.
- GARCIA-OCHOA, F.; CASAS, J. A. viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. **J. Sci. Food Agric.**, v. 59, p. 97-100, 1992.
- GARDINER, D. S. (to General Foods LTD.). Yogurt type dessert. U. S. 3,917,875., 4 nov. 1975, Natural gums for edible purposes.

- GARTI, N.; REICHMAN, D. Surface properties and emulsification activity of galactomannans. **Food Hydrocolloids**, v. 8, n. 2, p. 155-173, 1994.
- GLICKSMAN, M. Hydrocolloids and the search for the "oily grail". **Food Technol.**, p. 94-103, 1991.
- GOFF, H. D. Interactions and contributions of stabilizers to development of structure in ice-cream. In: DICKINSON, E.; WALSTRA, P. **Food colloids and polymers: stability and mechanical properties**. [S.l. : s.n.], 1993, p. 71-74.
- GORDON, I. R. Food applications of hydrocolloids in Western Europe in the 90s. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.; WEDLOCK, D. J. **Gums and stabilizers for the food industry 6**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 29-42.
- GORIN, P. A. J.; SPENCER, J. F. T. Structural chemistry of fungal polysaccharides. **Adv. Carbohydr. Chem.**, v. 23, p. 367-417, 1968.
- \_\_\_\_\_ ; IACOMINI, M. Polysaccharides of the lichens *Atraria islandica* and *Ramalina usnea*. **Carbohydr. Res.**, v. 128, p. 119-132, 1984.
- \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_. Structural diversity of D-galacto-D-mannan components isolated from lichens having *Ascomycetos mycosymbionts*. **Carbohydr. Res.**, v. 142, p. 253-267, 1985.
- GOYCOOLEA, F. M.; MORRIS, E. R.; GIDLEY, M. J. Viscosity of galactomannans at alkaline and neutral pH: evidence of "hyperentanglement" in solution. **Carbohydr. Polym.**, v. 27, p. 69-71, 1995.
- GRINBERG, V. Y. A.; TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 2, p. 145-158, 1997.

- GRINDROD, J.; NICKERSON, T. A. Effect of various gums on skim milk and purified milk proteins. **J. Dairy Sci.**, v. 51, n. 6, p. 834-841, 1968.
- HART, R. J.; LYNCH, G.; DEA, I. C. M.; MORRIS, E. R. Manipulation and control of mixed polysaccharide/milk protein gels. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.; WEDLOCK, D. J. **Gums and stabilizers for the food industry 6**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 173-179.
- HARTREE, E. F. Determination of protein a modification as the Lowry method that gives a linear photometric response. **Anal. Biochem.**, v. 48, p. 422-427, 1972.
- EMBER, M. W. N.; MORRIS, E. R. Solubility, solution rheology and salt-induced gelation of welan polysaccharide in organic solvents. **Carbohydr. Polym.**, v. 27, p. 23-36, 1995.
- HERALD, C. T. Locust/carob bean gum. In: GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**, Boca Raton: CRC Press, 1986a, v. 3, p. 161.
- \_\_\_\_\_. Guar gum. In: GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**, Boca Raton: CRC Press, 1986b, v. 3, p. 171-184.
- HORNE, D. S. Light scattering studies of milk gel systems. In: DICKINSON, E. **Food polymers, gels and colloids**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1991, p. 404-414.
- INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto madeira do paraná**. Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, (IBDF/SUDESUL/ Gov. Est. do Paraná, SEPL). Curitiba, 1984, p. 38-44.

- JARJIS, H. A.; BLACK BURN, N. A.; REDFERN, J. S. READ, N. W. The effect of ispaghula (fybogel and metamucil) and guar gum on glucose tolerance in man. **British J. of Nutrition**, v. 51, p. 371-378, 1984.
- JENKINS, D. J. A.; LEEDS, A. R.; GASSUL, M. A.; COCHET, B.; ALBERTI, G. M. M. Decrease in postprandial insulin and glucose concentrations by guar and pectin. **Annals of Internal Medicine**, v. 86, p. 20-23, 1977.
- \_\_\_\_\_. Dietary fiber and ketone bodies: reduced primary 3-hydroxybutyrate excretion in diabetics on guar. **British Medicai J.**, v. 2, p. 1555, 1979a.
- \_\_\_\_\_; LEEDS, A. R.; SLAVIN, B.; MANN, J.; JEPSON, E.M. Dietary fiber and blood lipids: reduction of serum cholesterol in type II hiperlipidemia by guar. **The Am. J. Clin. Nutr.**, v. 32, p. 16-18, 1979b.
- JU, Z.Y.; OTTE, J.; MADSEN, J. S.; QVIST, K. B. Effects of limited proteolysis on gelation and gel properties of whey protein isolate. **J. Dairy Sci**, v. 78, p. 2119-2128, 1995.
- KALAB, M.; EMMONS, D. B. Milk-gel structure. IV. Microstructure of yogurts in relation to the presence of thickening agents. **J. Dairy Res.**, v. 42, p. 453-458, 1975.
- \_\_\_\_\_. Microstructure of dairy foods. II. Milk products based on fat. **J. Dairy Sci.**, v. 68, p. 3234-3248, 1985.
- KAPOOR, V. P.; TARAVEL, F.R.; JOSELEAU, J.P.; MILAS, M.; CHANZY, H.; RINAUDO, M. *Cassia spectabilis* DC seed galactomannan: structural, crystallographical and rheological studies. **Carbohydr. Res.**, v. 306, p. 231-241, 1998.
- KASAPIS, S.; MORRIS, E. R. Phase equilibria and gelation in gelatin/maltodextrin systems. part 1: Gelation of individual components. **Carbohydr. Polym.**, v.21, p. 243-248, 1993.

- KAUP, S. M.; GREGUER, J. L.; LEE, K. Nutritional evolution with an animal model of cottage cheese fortified with calcium and guar gum. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 3, p. 692-695, 1991.
- KINEKAWA, Y; KITABATAKE, N. Turbidity and rheological properties of gels and sols prepared by heating process whey protein. **Biosci. Biotech. Biochem.**, v. 59, n. 5, p. 834-840, 1995.
- KROEGER, G.; BUSH, S. M.; WILHELM, I. Thermal stability of guar gum as a function of granule size. **Z. Lebensm Unter Forsch.**, v. 196, n. 6, p. 540-546, 1993.
- KROGER, M. Quality of yogurt. **J. Dairy Sci.**, v. 52, n. 2, p. 344-350, 1976.
- KRUMEL, K. L.; SARKAR, N. Flow properties of gums useful to the food industry. **Food Technol.**, p. 36-44, apr. 1975.
- LABROPOULOS, A. E.; COLLINS, W. F.; STORE, W. K. Effects of ultra-high temperature and vat processes on heat-induced rheological properties of yogurt. **J. Dairy Sci.**, v. 67, n. 2, p. 405-409, 1984.
- LEITNER, S. C. S. *Estudo de polissacarídeos da semente de *Stryphnodendron barbatimam* (barbatimão)*. Curitiba, 1991. Tese (Mestrado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- LILLFORD, P. J.; NORTON, I. T. Food hydrocolloids: an end user's viewpoint. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.; WEDLOCK, D. J. **Gums and stabilizers for the food industry 6**. Oxford: IRL Press, 1993, p. 3-15.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras. manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do brasil*. Nova Odessa-SP: Plantarum, 1992, p. 180.

LUCYSZYN, N. **Galactomananas: novas fontes do biopolímero e aplicações na indústria alimentícia.** Curitiba, 1994. Tese (Mestrado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

LUNDIN, L.; HERMANSSON, A. M. Influence of locust bean gum on the rheological behavior and microstructure of  $\kappa$ -carrageenan. **Carbohydr. Polym.**, v. 28, p. 91-99, 1995.

MAIER, H.; ANDERSON, M.; KARL, C.; MAGNUSON, K. E WHISTLER, R. L. Guar, locust bean, tara and fenugreek gums. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N. **Industrial gums, polysaccharides and their derivates.** San Diego: Academic Press, 3. ed., 1993, p.181-226.

MANNION, R.; MELIA, C. D.; LAUNAY, B.; CUVELIER, G.; HILLS, S. E.; HARDING, S. E.; MITG\CHELL, J. R. Xanthan/locust bean gum interactions at room temperature. **Carbohydr. Polym.**, v. 19, p. 91-97, 1992.

MANOJ, P.; KASAPIS, S.; CHRONAKIS, I. S. Gelation and phase separation in maltodextrin-caseinate systems. **Food Hydrocolloids**, v. 10, n. 4, p. 407-420, 1996.

MAZZA, M. C. M. **Análise de *Mimosa falcata* Burkart e *Mimosa taibensis* Burkart (Mimosae) visando a produção de galactomanana.** Curitiba, 1995. Monografia (Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná/ Pontifícia Universidade Católica-PR.

McCLEARY, B. V. Enzymic hydrolysis fine structure and gelling interaction of legume seed D-galactose-D-mannans. **Carbohydr. Res.**, v. 71, p. 205-230, 1979.

\_\_\_\_\_ ; AMADO, R.; WAIBEL, R.; NEUKON, H. Effect of galactose content on the solution and interaction properties of guar and carob galactomannans. **Carbohydr. Res.**, v. 92, p. 269-285, 1981.

- \_\_\_\_ ; CLARK, A. H.; DEA, I. C. M.; REES, D. A. The fine structure of carob and guar galactomannans. **Carbohydr. Res.**, v. 139, p. 237-269, 1985.
- MENJIVAR, J. A. Use of gelation theory to characterize metal cross-linked polymer gels. In: **Water soluble polymers**. ACS Advances in Chemistry Series, 213, 1986, p. 209.
- MEYER, L. H. **Food chemistry**. Reinhold organic chemistry and biochemistry textbook series. New York: Reinhold Publishing Corporation, chap. 8, 1960, p. 293-315.
- MITCHELL, J. R. Rheological techniques. In: GRUENWEDEL, D. W.; WHITAKEN, J. R. **Food analysis: principles and techniques**. [S.l.] : Marcel-Dekker, Inc., 1984, p. 151-220.
- \_\_\_\_ ; HILL, S. E.; JUMEL, K.; HARDING, S. E.; AIDOO, M. The use of anti-oxidants to control viscosity and gel strength loss on heating of galactomannan systems. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A.; WEDLOCK, D. J. **Gums and stabilizers for the food industry 6**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 303-310.
- MORRIS, E. R; REES, D. A; ROBINSON, G; YOUNG, G. A. Competitive inhibition of interchain interactions in polysaccharide systems. **J. Mol. Biol.**, v. 138, p. 363-380, 1980.
- \_\_\_\_ . Polysaccharide rheology and in-mouth perception. In: STEPHEN, A.M. **Food polysaccharide and their applications**. New York: DEKKER, M. Inc., 1995, p. 517-546.
- MORRIS, V. J. Food gels - roles played by polysaccharides. **Chem. Ind.**, v. 5, p. 159-164, 1985.
- \_\_\_\_ . Weak and strong polysaccharide gels. In: DICKINSON, E. **Food polymers, gels and colloids**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1991, p. 310-321.

- NEUKON, H. Galactomannans: properties and applications. *Lebensm Wiss Technol.*, v. 22, p. 41-45, 1989.
- NEWMAN, R. H.; HEMMINGSON, J. A. Interactions between locust bean gum and cellulose characterized by <sup>13</sup>C- n.m.r. spectroscopy. *Carbohydr. Polym.*, v. 36, p. 167-172, 1998.
- NOBLE, O.; TURQUOIS, T.; TARAVEL, F. R. Rheological properties of galactomannan-based gels. Part 1 – Guar and hydroxipropylguar gels in alkaline media. *Carbohydr. Polym.*, v. 12, p. 203-217, 1990.
- \_\_\_\_\_ ; TARAVEL, F. R. Rheological properties of galactomannan-based gels. Part 2 – Ion cross-linked galactomannan gels. *Carbohydr. Polym.*, v. 12, p. 279-293, 1990.
- NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. Influence of polysaccharide composition in foam stability of espresso coffee. *Carbohydr. Polym.*, v. 37, p. 283-285, 1998.
- OAKENFULL, D. **Gelling systems**. In: XIX <sup>th</sup> INTERNATIONAL CARBOHYDRATE SYMPOSIUM, (1998 : San Diego). Anais. San Diego, 1998.
- O'NEIL, J. M.; KLEYN, D. H.; HARE, L. B. Consistency and compositional characteristics of commercial yogurts. *J. Dairy Sci.*, v. 62, p. 1032-1036, 1979.
- OVEREEM, A. Legislation and toxicology and food hydrocolloids. In: PHILLIPS, G. O.; WEDLOCK, D. J.; WILLIAMS, P. A. **Gums and stabilizers for the food industry 2**. Oxford: Pergamon Press, 1983, p. 369-377.
- PAYENS, T. A. J. Light scattering of protein reactivity of polysaccharides especially of carrageenans. *J. Dairy Sci.*, v. 55, n. 2, p. 141-150, 1971.

PEDERSEN, J. K.; Carrageenan, pectin and xanthan: locust bean gum gels, trends, in their food use. **Food Chem.**, v. 6, p. 77- 88, 1980.

PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry *et al.* which is more generally applicable. **Anal. Biochem.**, v. 83, p. 346-356, 1977.

PETKOWICZ, C. L. O. **Biopolímeros da semente de *Schizolobium amazonicum* (pinho cuiabano): galactomananas e arabinanas.** Curitiba, 1993. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas – Universidade Federal do Paraná.

\_\_\_\_\_ ; REICHER, F.; MAZEAU, K. Conformation analysis of galactomannans: from oligomeric segments to polymeric chains. **Carbohydr. Polym.**, v. 37, p. 25-39, 1998.

PILNIK, W.; ROMBOUTS, M. Polysaccharides and food processing. **Carbohydr. Res.**, v. 142, p. 93-105, 1985.

PINTADO, M. E.; SILVA, J. A. L. da; MALTACA, F. X. Rheological characterization under shear a fraction of polymer produced via fermentation of whey-related media by *Rahnella aquatilis*. **Carbohydr. Polym.**, v. 37, p. 1- 6, 1998.

POLYAKOV, V. I.; GRIMBERG, V. Y. A.; TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic incompatibility of proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 2, p. 171-180, 1997.

RAYMENT, P.; ROSS-MURPHY, S. B.; ELLIS, P. R. Rheological properties of guar galactomannan and rice starch mixtures. II. Creep measurements. **Carbohydr. Polym.**, v. 35, p. 55-63, 1998.

RECHIA, C. V. G. **Estudo de polissacarídeos da semente de *Senna multijuga*.** Curitiba, 1992. Tese (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

REES, D. A. Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 24, p. 267- 332, 1969.

\_\_\_\_\_. **Polysaccharide shapes.** London: Chapman Hall Ltd., 1977, 80p.

REICHMAN, D. Galactomannans as emulsifiers. In: DICKINSON, E. **Food polymers, gels and colloids.** Cambridge: RSC Special Publications, n. 82, 1991, p. 549-556.

RICHARDSON, R. K.; ROSS-MURPHY, S. B. Non-linear viscoelasticity of polysaccharide solutions. 1: Guar galactomannan solutions. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 9, p. 250-256, 1987.

RIDOUT, M. J.; BROWNSEY, G. J.; MORRIS, V. J. Synergistic interactions of acutan with carob or konjac mannan. **Macromolecules**, v. 31, p. 2539-2544, 1998.

RINAUDO, M. Polysaccharides characterization in relation with some original properties. **Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium** v. 52, p. 11-17, 1993.

ROBINSON, G.; ROSS-MURPHY, S. B.; MORRIS, E. R. Viscosity-molecular weight relationships, intrinsic chain flexibility, and dynamic solution properties of guar galactomannan. **Carbohydr. Res.**, v. 107, p. 17-32, 1982.

ROCKS, J. K. Xanthan gum. **Food Technol.**, v. 25, p. 476-483, 1971.

ROLLER, S.; DEA, I. C. M. Biotechnology in the production and modification of biopolymers for foods. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 12, n. 3, p. 261-277, 1992.

ROTA, E.; OLIVEIRA, Y. M. M. Área de distribuição natural de bracatinga (*Mimosa scabrella*). In: Seminário sobre atualidades e perspectivas florestais, 4, "bracatinga: uma alternativa para reflorestamento". Anais. Curitiba : EMBRAPA/URPFCS, 1981, p. 1-24.

SAJJAN, S. U.; RAO, M. R. R. Functional properties of native and carboxymethyl guar gum. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 48, p. 377-380, 1989.

SANDERSON, G. R. Polysaccharides in foods. **Food Technol.**, v. 35, p. 50-57, 1981.

\_\_\_\_\_. **The rationale behind the applications of food polysaccharides.** XIX<sup>th</sup> INTERNATIONAL CARBOHYDRATE SYMPOSIUM, (1998 : San Diego). Anais. San Diego, 1998.

SCHORSCH, C.; GARNIER, C.; DOUBLIER, J. L. Viscoelastic properties of xanthan/galactomannan mixtures: comparison of guar gum with locust bean gum. **Carbohydr. Polym.**, v. 34, p. 165-175, 1997.

SCHOTT, H. Reología. In: GENNARO, A. R. **Remington: Farmacia**. Buenos Aires: Panamericana:, 1992, v. 2, p. 461-482.

SCHRAMM, G. **A Practical approach to rheology and rheometry**. Karlsruhe, Federal Republic of Germany: Gebrueder HAAKE GmbH, 1994, 290p.

SONI, S. K.; BOSE, S. Seed galactomannans and their structures. **J. Scient. Indust. Res.**, v. 44, p. 544-547, 1985.

STAUB, H. W.; ALI, R. Nutritional and physiological value of gums. In: GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press, 1982, v. 1, p. 101-121.

SUGUI, J. A. Aplicação de galactomanana de *Mimosa scabrella* (bracatinga): interação com surfactantes e proteínas. Curitiba, 1994. Tese (Mestrado em Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

TAGER, A. A. **Physical chemistry of polymers**. 2. ed. Moscow: Mir Publishers, 1978, 652 p.

**THE PHARMACEUTICAL CODEX. Principles and practice of pharmaceuticals.**  
WALTER, L., 12. ed., London: The Pharmaceutical Press, 1994, 1117p.

TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic incompatibility of food macromolecules. In: DICKINSON, E.; WALSTRA, P. **Food colloids, gels and polymers: stability and mechanical properties**. [S.l.] : Royal Society of Chemistry, 1993, p. 94-102.

VÉLEZ-RUIZ, J. F.; CÁNOVAS, G. V. B. Rheological properties of selected dairy products. **Crit. Rev. Fd. Sci. Nutr.**, v. 37, n. 4, p. 311-359, 1997.

XU, S. Y.; STANLEY, D. W.; GOFF, H. D.; DAVIDSON, V. J.; MAGUER, M. L. E. Hydrocolloid/milk gel formation and properties. **J. Food Sci.**, v. 57, n. 1, p. 96-102, 1992.

WALTER, R. H. **Polysaccharide dispersions. Chemistry and technology in food**. San Diego: Academic Press, 1998, 236p.

WHISTLER, R. L.; SMART, C. L. **Polysaccharide chemistry**. New York: Academic Press, 1953, p. 292-301.

\_\_\_\_\_ ; SAARNIO, J. Galactomannan from soy bean hulls. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 79, p. 6055-6057, 1957.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. **Meth. Carbohydr. Chem.**, v. 2, p. 65, 1963a.

\_\_\_\_ ; \_\_\_\_ . Acetilation. **Meth. Carbohydr. Chem.**, v. 2, p. 211, 1963b.

ZASYPKIN, D. V.; BRAUDO, E. E.; TOLSTOGUZOV, V. B. Multicomponent biopolymer gels. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 2, p. 159-170, 1997.

ZAWADZKI-BAGGIO, S. F. **Arabinana e galactomanana de *Schizolobium parahybae*; estudo da biossíntese de galactomananas.** Curitiba, 1994. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

ZHAN, D. F.; RIDOUT, M. J.; BROWNSEY, G. J.; MORRIS, V. J. Xanthan-locust bean gum interactions and gelation. **Carbohydr. Polym.**, v. 21, p. 53-58, 1993.