

Rosângela B. Garcia e Cristina T. Andrade

Instituto de Macromoléculas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco J, C. P. 68.525, 20000 - Rio de Janeiro, RJ

Recebido em 10/2/91; cópia revisada em 10/9/91

A comparative study of the mechanical properties of gellified systems has been carried out through compression tests. Agarose and k-carrageenan were used in different concentrations in pure and mixed hydrogels. Although agarose has showed higher values for the elastic modulus, k-carrageenan gels were more resistant. No synergism was observed by the mixture of the two polysaccharides in different ratios. Although the increase of the agarose composition did not modify significantly the elastic modulus values, it caused a decrease on the resistance of the gels. When compared to pure agarose, agarose-guar gels showed mechanical properties expressively enhanced by a factor, dependent on the guar composition.

Keywords: hydrogels, agarose, k-carrageenan, polysaccharides.

INTRODUÇÃO

Assim como há grande interesse em sistemas poliméricos sintéticos multicomponentes, o emprego em potencial de diferentes polissacarídeos em solução e no estado gel tem levado alguns pesquisadores a direcionar sua atenção para o estudo das interações intermoleculares. Embora o mecanismo não esteja totalmente esclarecido, o resultado observado é que, algumas vezes, dois ou mais hidrocolóides são mais efetivos em certas aplicações específicas do que qualquer um deles sozinho. Este comportamento cooperativo tem-se revelado nas propriedades do gel¹⁻⁴ e a níveis mais baixos de concentração, em um aumento significativo da viscosidade da solução resultante^{1,2}. Assim sendo, produtos mais caros vêm sendo substituídos por formulações alternativas, enquanto determinados sistemas poliméricos poderiam vir a ser utilizados em novas aplicações, propiciando variações em textura e comportamento reológico⁴.

A agarose e a k-carragenana são galactanas extraídas de algas vermelhas (*Rhodophyceae*), bastante utilizadas na indústria alimentícia, como agentes gelificantes e estabilizantes. No Brasil, a agarose é extraída da alga *Gracilaria verrucosa* e a k-carragenana da alga *Hypnea musciformis*. A estrutura química da agarose constitui-se de unidades repetidas de (1 → 3)-β-D-galactopiranosila e de (1 → 4)-(3,6)-anidro-α-L-galactopiranosila (Figura 1a). A k-carragenana é composta de unidades repetidas alternadamente de (1 → 3)-β-D-galactopiranosila-4-sulfato e (1 → 4)-(3,6)-anidro-α-D-galactopiranosila (Figura 1b).

Um dos primeiros modelos propostos para a formação de géis termorreversíveis, como aqueles observados para soluções concentradas de agarose e de k-carragenana, supõe que, com o resfriamento, a macromolécula em conformação desordenada sofra uma transição conformacional para uma hélice dupla. A formação da rede tridimensional do gel seria devida à ligação dessas hélices duplas através de segmentos desordenados das cadeias. Em seguida, gradativamente, as hélices duplas se agregariam tornando ainda mais coesa a rede tridimensional. No caso da k-carragenana, essa agregação seria ainda mediada pelos cátions presentes no sistema⁵.

Em modelo mais recente, a diminuição da temperatura provocaria a agregação de hélices duplas; e a rede tridimensional do gel só então seria formada, pela interação entre esses agregados⁶.

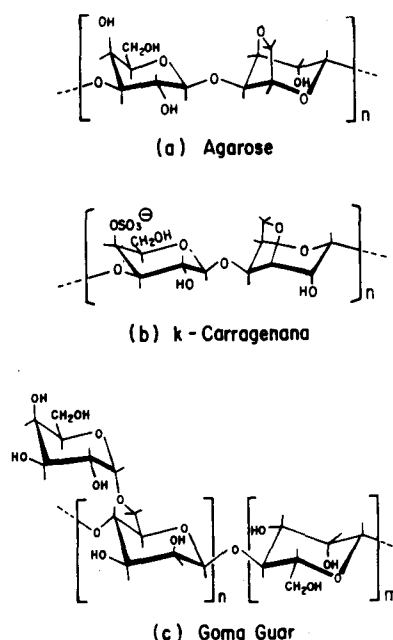


Figura 1: Estruturas químicas da (a) agarose, (b) k-carragenana e (c) goma guar.

A goma guar é uma galactomanana extraída do endosperma de sementes de certas leguminosas, como a *Cyamopsis tetragonolobus*. Sua estrutura (Figura 1c) consiste de um esqueleto com unidades repetidas de (1 → 4)-β-D-manopiranosila, com substituintes (1 → 6)-α-D-galactopiranosila. As galactomananas, mesmo em concentrações altas, não formam géis verdadeiros.

Quando duas soluções de polissacarídeos diferentes são misturadas, quatro tipos de rede tridimensional podem resultar dessa mistura. Se os dois polissacarídeos são gelificantes, a estrutura final do gel poderá ser de redes entrelaçadas, ou de redes isoladas, ou ainda de redes que contenham zonas de junção mistas. Neste último caso, os dois polímeros interagem entre si, dando origem a uma sinergia que pode ser observada

nas propriedades mecânicas das misturas resultantes^{4,7}. Se um dos polissacarídeos da mistura não é gelificante, mas interage bem com o polissacarídeo gelificante, a rede tridimensional do gel seria formada por zonas de junção mistas. Caso a interação não exista, o polissacarídeo não gelificante permanece dissolvido na rede formada pelo polissacarídeo gelificante⁴.

Em trabalho recentemente publicado sobre misturas agarose-k-carragenana, o modelo de redes entrelaçadas foi o sugerido⁸.

Dois modelos foram propostos para a representação de géis constituídos de agarose, ou k-carragenana e galactomananas. No primeiro modelo sugerido, as zonas de junção mistas seriam constituídas por segmentos da galactana (agarose ou k-carragenana) e da galactomanana. Os segmentos da galactana estariam ordenados em hélices duplas e seriam capazes de induzir uma transição conformacional na molécula desordenada da galactomanana⁹. Pelo segundo modelo, a representação mais adequada a esse tipo de sistema é a de uma rede tridimensional, formada apenas pelo polissacarídeo gelificante, e que contenha o outro, nos interstícios⁴. Esse segundo modelo foi proposto com base nos resultados obtidos através de difração de raios-X de géis puros e de misturas, que não apresentaram diferenças significativas, que pudessem ser atribuídas a interações específicas entre os dois componentes da mistura⁴.

Os trabalhos publicados sobre géis de mistura de agarose e algumas galactomananas geralmente apresentam resultados de medidas de rotação ótica a uma composição determinada⁹⁻¹³. Nenhum trabalho sistemático sobre géis de mistura agarose-guar foi encontrado na literatura.

Neste trabalho, as propriedades mecânicas de géis de misturas, de composições diversas, de agarose-k-carragenana e agarose-guar foram investigadas.

PARTE EXPERIMENTAL

A k-carragenana (CIALGAS-Companhia Industrial de Algas) foi dissolvida em solução aquosa 10^{-2} M de KCl a 78°C, durante aproximadamente 1 hora. A solução obtida foi filtrada através de membranas de diâmetro de poro 3,0µm. A solução límpida resultante foi saturada com 100g/l de KCl. A recuperação do k-carragenato de potássio foi feita por precipitação com álcool etílico¹⁴ a 80, 85, 90, 95 e 100%.

A agarose (CIALGAS-Companhia Industrial de Algas) foi usada como recebida.

A goma guar (The Dow Chemical Company) foi dissolvida em água a temperatura ambiente durante uma noite. A solução resultante foi filtrada através de membranas de diâmetro de poros iguais a 3,0 e 0,8µm. O polissacarídeo foi recuperado como precipitado pela adição de álcool etílico, lavado diversas vezes com o não solvente e seco sob pressão reduzida. A razão D-manose/D-galactose de goma guar foi determinada em 3:2, após hidrólise total em solução aquosa 1N de H₂SO₄ a 100°C por HPLC com colunas Aminex HPX-87P e água como eluente¹⁵.

Os teores de umidade da agarose, da k-carragenana e da goma guar foram considerados em todas as experiências. Estes teores, determinados segundo a norma ASTM-1439-72, foram de 13,4%, 8,8% e 9,2%, respectivamente.

As viscosidades intrínsecas dos três polissacarídeos foram determinadas em viscosímetro capilar do tipo Ostwald-Fenske (Riolab, capilar nº 75), sob as condições especificadas na Tabela 1.

Géis de agarose nas concentrações 0,3 a 1,0% (m/m), em água destilada e deionizada, foram preparados segundo a técnica descrita a seguir. Inicialmente, o polímero foi disperso a temperatura ambiente e sob agitação vigorosa. A agitação foi mantida por mais 30 minutos a 70°C e por 15 minutos a 100°C, para solubilização completa do polímero. As soluções gelificantes foram vertidas em tubos de vidro de 17 mm de

diâmetro de 150 mm de altura. Após gelificação, os géis foram subdivididos em 5 corpos de prova cilíndricos de 17 mm de altura e colocados em água a 25°C, durante uma noite. Técnica semelhante foi seguida para a preparação de corpos de prova de géis de k-carragenato de potássio, dissolvidos em solução aquosa $5,0 \times 10^{-2}$ M de KCl durante 30 minutos a 60°C e durante 30 minutos a 90°C.

Tabela 1: Condições experimentais e resultados viscosimétricos.

Polissacarídeo	Solvente	Temperatura (°C)	[η] (dl.g ⁻¹)	K ^(*)	a ^(*)	Mv. 10 ⁻⁵
k-carragenana	0,1M NaCl	25	5,05	$3,097 \cdot 10^{-3}$	0,95	3,07
agarose	0,75 NaSCN	35	3,24	0,07	0,72	1,23
guar	água	35	13,6	$3,8 \cdot 10^{-4}$	0,723	19,9

(*) As constantes K e a, para a k-carragenana¹⁶, agarose¹⁷ e goma guar¹⁸ foram obtidas da literatura.

As misturas gelificantes agarose-guar foram preparadas a 85°C, a partir da solução-mãe de cada polímero a 1,0% (m/m). Volumes diferentes de cada solução foram tomados mantendo-se sempre a concentração total da mistura igual a 1,0% (m/m). Para a obtenção dos géis de mistura agarose-k-carragenana, a técnica utilizada foi a mesma, diferenciando-se da descrita anteriormente quanto ao solvente usado, que nestes casos constitui-se numa solução aquosa $5,0 \times 10^{-2}$ M de KCl.

As amostras foram submetidas a testes de compressão em máquina Instron, modelo TM-M, com célula de compressão CTM, a 0,5 cm/min e a 25°C. O valor considerado como representante do comportamento de uma determinada composição gelificante foi o valor mediano, tomado entre os resultados obtidos para os cinco corpos de prova.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A propriedade reológica mais frequentemente medida é o módulo de elasticidade. Através de dados de módulo de elasticidade, e de concentração em polímero, é possível estimar-se vários parâmetros inerentes à estrutura do gel formado^{19,20}.

Os valores de módulo de elasticidade, E, são determinados através da Equação 1,

$$E = L_0/A \Delta F/\Delta L \quad (1)$$

na qual L₀ é o comprimento original do corpo de prova; ΔF/ΔL é a variação em força necessária para deformar o corpo de prova de um comprimento ΔL, reversivelmente. Essa razão é determinada pelo coeficiente angular da curva que relaciona tensão com deformação, na região de zero a 5% de deformação. A letra A representa a área da seção reta do corpo de prova, antes da compressão.

A Figura 2 mostra a variação logarítmica do módulo de elasticidade, E, com a concentração dos géis de k-carragenana e agarose, na faixa de concentração 0,4 a 1% (m/m).

O comportamento dos géis estudados segue a equação E = Kcⁿ, tendo sido obtidos os valores n = 2,05 e n = 1,96, para a k-carragenana e a agarose, respectivamente. Esta relação empírica, com valores de n próximos a 2, tem sido observada por diversos autores, para biopolímeros gelificantes^{16,21,22}. Seu fundamento pode ser encontrado na teoria proposta por Hermans²¹, que pressupôs a formação de ligações físicas intermoleculares como um equilíbrio de dimerização.

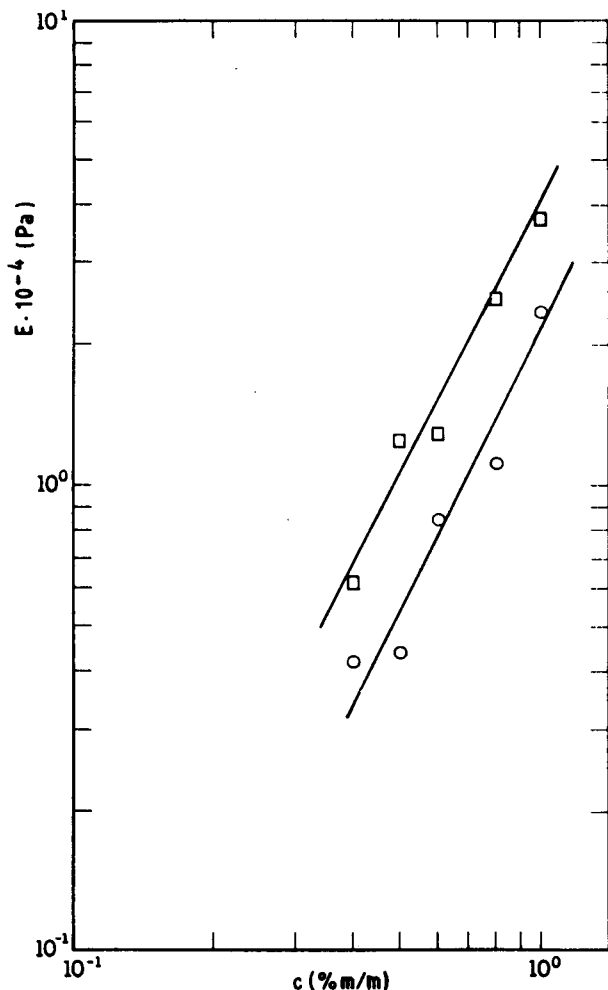


Figura 2: Variação do módulo de elasticidade com a concentração em polímero, para a (□) agarose e a (○) k-carragenana.

Comparando-se os valores de E obtidos para géis de agarose e de k-carragenana, pode-se verificar que, para uma determinada concentração em polímero, os valores obtidos para os géis de agarose são sempre maiores do que os de k-carragenana. As diferenças entre as duas estruturas químicas, principalmente o fato de a k-carragenana ser um polieletrólito, contribuem para que os dois polissacarídeos apresentem diferenças significativas.

Por outro lado, a teoria da elasticidade da borracha tem sido aplicada²¹ em parte, na avaliação de valores de E, dado pela Equação 2.

$$E = 3NRT \quad (2)$$

Nesta equação, R é a constante dos gases e T é a temperatura absoluta. N é a concentração molar de cadeias elasticamente ativas da rede, isto é, cadeias que unem duas zonas de junção. É fácil concluir-se que, quanto maior o número dessas cadeias, maior o número de segmentos ordenados agregados. A relação de E com a temperatura não é seguida para géis termorreversíveis, que têm características entálpicas. Porém, a relação de E com N pode ser analisada. Os dados da variação do módulo de elasticidade com a concentração (Figura 2), obtidos tanto para a k-carragenana como para a agarose, podem ser interpretados como resultantes da presença de uma rede mais coesa para os géis de agarose.

A Figura 3 apresenta resultados da variação de tensão de ruptura, τ_{max} , com a concentração dos géis de k-carragenana e de agarose. A tensão de ruptura aumentou com a concentração em polímero dos géis. Esse comportamento era esperado

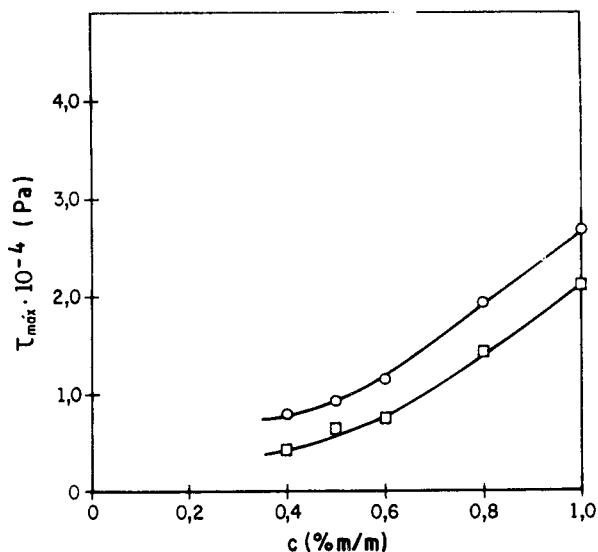


Figura 3: Variação da tensão de ruptura com a concentração em polímero, para a (□) agarose e a (○) k-carragenana.

visto que, com o aumento da concentração em polímero, o número de zonas de junção deve aumentar, o que contribui para uma resistência de gel mais elevada. Poder-se-ia também esperar que a agarose, por possuir uma rede tridimensional mais coesa, apresentasse resultados de tensão máxima superiores aos da k-carragenana. Entretanto, os resultados obtidos neste trabalho mostram tensões de ruptura mais elevadas para a k-carragenana. Em trabalho relativamente recente¹⁶, foi verificado que a tensão de ruptura aumenta com o peso molecular. A Tabela 1 apresenta dados viscosimétricos, que podem ser usados na avaliação dos resultados obtidos, isto é, os valores menores de τ_{max} obtidos para a agarose talvez possam ser atribuídos ao peso molecular médio da agarose, menor do que o determinado para a k-carragenana.

A Figura 4 apresenta os valores de deformação de ruptura, para os géis de k-carragenana e de agarose, a concentrações diferentes em polímero. Na faixa de concentração estudada, os resultados mostraram uma influência pequena da concentração em polímero na deformação final, para os géis de k-

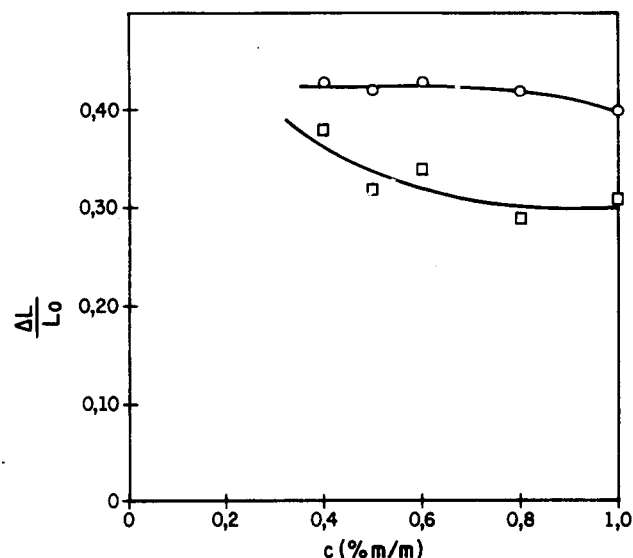


Figura 4: Variação da deformação de ruptura com a concentração em polímero, para a (□) agarose e a (○) k-carragenana.

carragenana. No caso dos géis de agarose, a deformação de ruptura sofreu uma diminuição com o aumento da concentração em polímero. Esse comportamento se deve ao fato de que a deformação de ruptura é menor para os géis que possuem maior densidade de zonas de junção. Nesses casos, as cadeias elasticamente ativas seriam menores e mais rígidas²³.

A Figura 5 apresenta os dados relativos à energia necessária para a quebra dos géis de k-carragenana e de agarose. Esses valores de energia foram obtidos através da medida das áreas compreendidas pelas curvas tensão-deformação²⁴ para os dois polímeros. A figura mostra que os géis de k-carragenana apresentaram um desempenho melhor que os géis de agarose, com relação à resistência global.

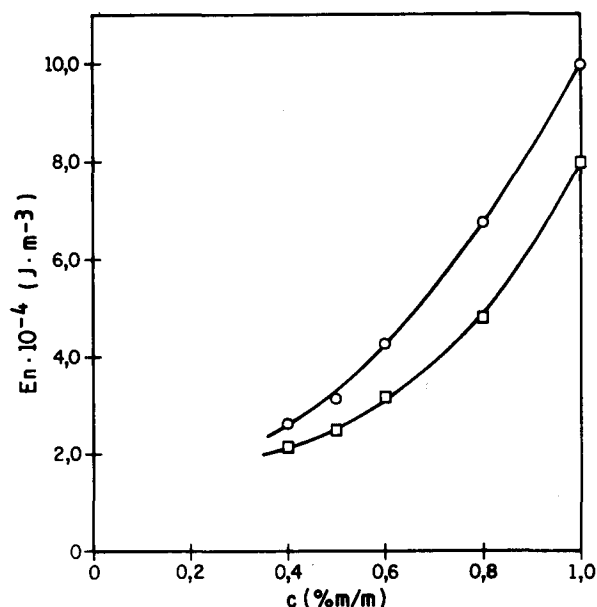


Figura 5: Variação da energia necessária para a quebra do gel com a concentração em polímero, para a (□) agarose e a (○) k-carragenana.

A Figura 6 apresenta os resultados de módulo de elasticidade dos géis de mistura agarose-k-carragenana, a concentração total de 1% (m/m), e de composições variadas. Com o objetivo de analisar a interação entre os dois polissacarídeos nos géis resultantes das misturas, os valores experimentais E_{mist} , obtidos para esses géis, foram comparados aos valores

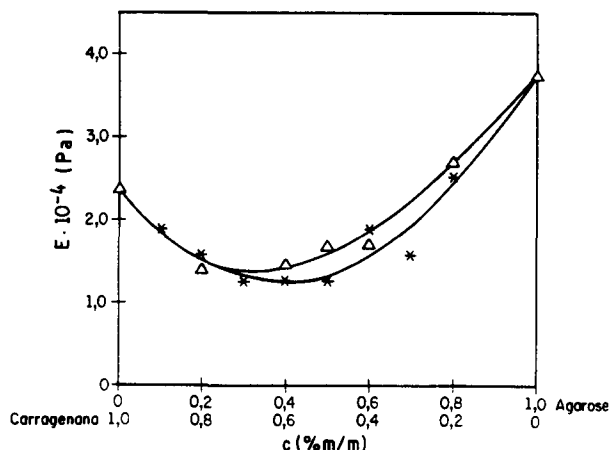


Figura 6: Variação do módulo de elasticidade com a composição de géis de misturas agarose-k-carragenana; (Δ) valores aditivos e (*) valores experimentais.

aditivos dos módulos, $E_c + E_A$, resultantes da adição dos módulos individuais. Observou-se que o aumento na composição em agarose provocou uma diminuição nos valores de E_{mist} , em relação aos valores aditivos.

A Figura 7 apresenta os resultados de tensão de ruptura para as várias composições de mistura agarose-k-carragenana. Esses resultados já apresentaram uma resposta diferente da que seria esperada, diante dos dados apresentados na Figura 6.

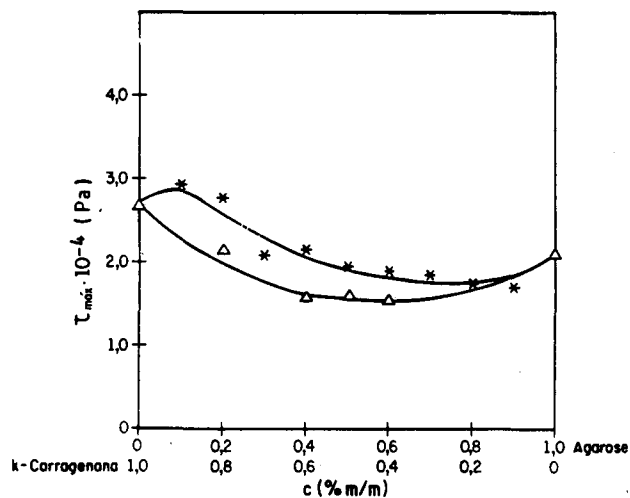


Figura 7: Variação da tensão de ruptura com a composição de géis de misturas agarose-k-carragenana; (Δ) valores aditivos e (*) valores experimentais.

A Figura 8 mostra os valores relativos à energia gasta para a quebra dos géis de misturas agarose-k-carragenana. Nesta figura, é possível visualizar-se o enfraquecimento do gel pela adição crescente de agarose na mistura, o que concorda com os resultados de módulo de elasticidade. Os dados das Figuras 6 e 8 não evidenciam interações entre os polissacarídeos agarose e k-carragenana; ao invés disso, indicam uma tendência à incompatibilidade.

Misturas agarose-guar também foram estudadas. Neste caso, seria conveniente lembrar que apenas a agarose é um polissacarídeo gelificante. Deste modo, os valores de E , τ_{max}

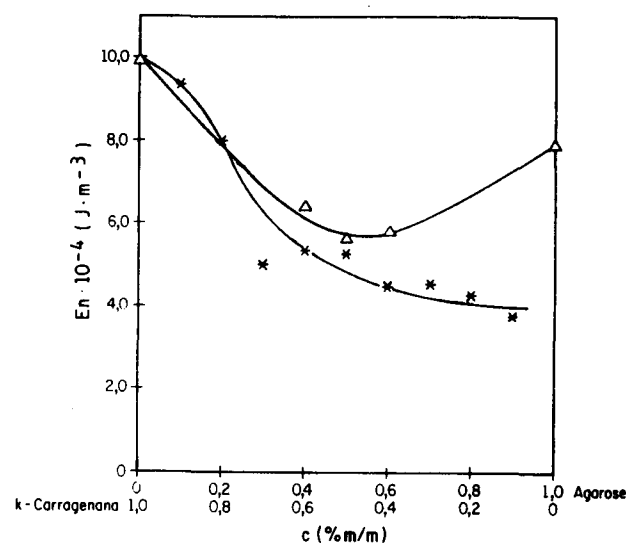


Figura 8: Variação da energia de ruptura com a composição de géis de misturas agarose-k-carragenana; (Δ) valores aditivos e (*) valores experimentais.

e En para os géis de misturas serão comparados aos valores respectivos, obtidos para os géis de agarose pura.

A Figura 9 apresenta os resultados de E_{mist} , obtidos para os géis de misturas agarose-guar e, para efeito de comparação, também os resultados obtidos para os géis de agarose pura.

O módulo de elasticidade dos géis de mistura apresentou, em todas as composições, um valor maior que o do gel de agarose de concentração igual. Porém, o valor maior do módulo de elasticidade obtido para o gel de agarose a 1% foi o maior, dentre os estudados. Os géis de misturas com composições agarose-guar 0,8:0,2 e 0,9:0,1 mantiveram o valor de E do gel de agarose a 1%. Para composições em agarose menores que 0,8%, a goma guar foi capaz de promover um aumento no módulo de elasticidade, em relação aos géis de agarose pura. Entretanto, nesses casos, apesar de a concentração total ser de 1%, os valores de E_{mist} não atingiram o de E_A a 1%.

A goma guar é uma galactomanana bastante substituída, de razão D-manose/D-galactose igual a 3:2, o que de certo modo dificultaria a interação com as moléculas ordenadas de agarose. Apesar disso, o aumento nos valores de módulo de elasticidade para os géis de misturas com relação aos géis de agarose indica a presença de um número maior de cadeias elasticamente ativas (Equação 2) na rede tridimensional do gel binário.

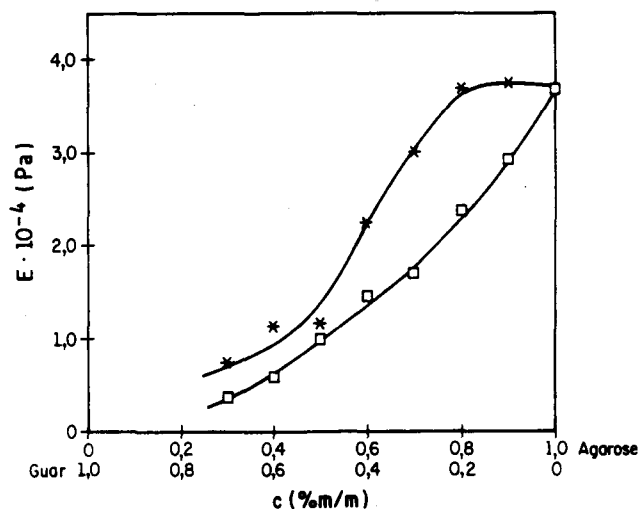


Figura 9: Variação do módulo de elasticidade com a (□) concentração em polímero para géis de agarose e com a (*) composição para géis de misturas agarose-guar.

As Figuras 10 e 11 mostram a variação da tensão de ruptura e da energia necessária para a quebra dos géis em função da composição, para géis de agarose e das misturas agarose-guar, respectivamente. Esses resultados confirmam a maior resistência mecânica dos géis de misturas agarose-guar em comparação aos géis de agarose.

Os fatores de aumento f , definidos pela razão entre o valor de uma determinada propriedade obtida para o gel de mistura agarose-guar e o valor obtido para o gel de agarose a mesma concentração que na mistura, P_{mist}/P_A , exprimem a contribuição da goma guar no desempenho dos géis de misturas. A Tabela 2 mostra uma série desses fatores obtidos a partir de resultados de E , τ_{max} e En . Observa-se que f varia de acordo com a composição da mistura e que o maior valor encontrado foi aquele para a composição mais rica em goma guar.

Tabela 2: Fator de aumento f para misturas agarose-guar a concentração total de 1,0%.

Composição agarose-guar (m/m)	Propriedade		
	$E \cdot 10^{-4}$ (Pa)	$\tau_{max} \cdot 10^{-4}$ (Pa)	$En \cdot 10^{-4}$ (Jm ⁻³)
0,3 : 0,7	1,87	3,78	4,08
0,4 : 0,6	1,67	3,00	3,20
0,5 : 0,5	1,35	2,52	3,14
0,6 : 0,4	1,63	2,13	2,54
0,7 : 0,3	1,76	1,81	1,66
0,8 : 0,2	1,59	1,52	1,21
0,9 : 0,1	1,29	1,23	1,07

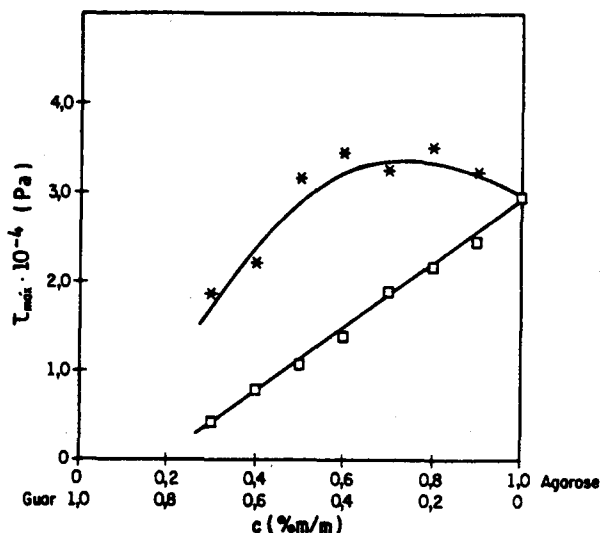


Figura 10: Variação da tensão de ruptura com a (□) concentração em polímero para géis de agarose e com a (*) composição para géis de misturas agarose-guar.

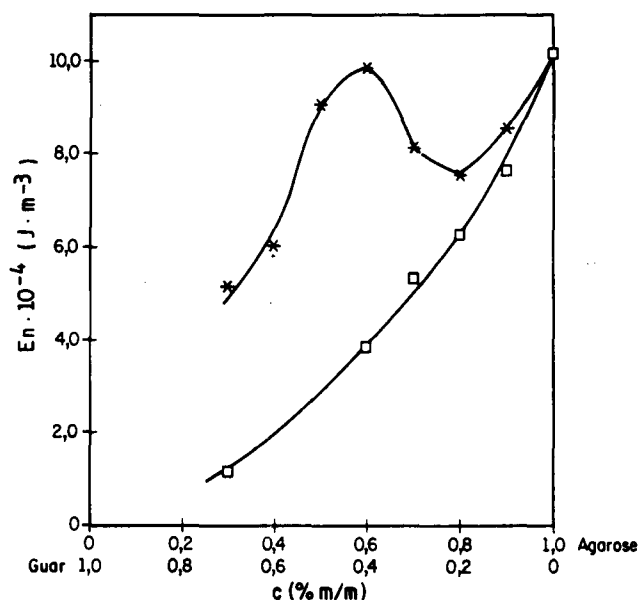


Figura 11: Variação da energia de ruptura com a (□) concentração em polímero para géis de agarose e com a (*) composição para géis de misturas agarose-guar.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados analisados neste trabalho para géis de misturas agarose-k-carragenana, a rede tridimensional poderia ser representada tanto pelo modelo no qual as moléculas se interpenetram, como também por aquele no qual as

moléculas de cada polissacarídeo formam redes isoladas. As informações não são suficientemente esclarecedoras, de modo a permitir uma seleção entre os dois modelos. Por outro lado, o modelo de zonas de junção mistas pode ser totalmente excluído neste caso específico de géis de mistura agarose-k-carragenana.

No caso de géis de misturas agarose-guar, uma conclusão definitiva não pode ser tomada, quanto ao tipo de zona de junção formada. Os resultados obtidos mostraram valores de E , τ_{max} e E_n mais elevados para os géis de misturas. Daí poder-se concluir que a interação entre os dois polímeros existe, e que ela é favorecida pelo aumento da participação de goma guar na composição do gel agarose-guar.

REFERÊNCIAS

1. Kovas, P.; *Food Technol.* (1973) 27, 26.
2. Dea, I. C. M.; Morris, E. R.; Rees, D. A.; Welsh, E. J.; Barnes, H. A.; Prince, J.; *Carbohydr. Res.* (1977) 57, 249.
3. Ainsworth, P. A.; Blanshard, J. M. V.; *J. Texture Stud.* (1980) 11, 149.
4. Cairns, P.; Morris, J. M.; Brwnsey, G. J.; *Carbohydr. Res.* (1987) 160, 411.
Rees, D. A.; Steele, I. W.; Williamson, F. B.; *J. Polym. Sci., Part C* (1969) 28, 261.
5. Rochas, C.; Rinaudo, M.; *Biopolymers* (1984) 23, 734.
6. Fox, D. W.; Allen, R. B.; "Compatibility", in: Mark, H. F.;
7. Bikales, N. M.; Overberger, C. G.; Menges, G.; Kroschwitz, I. (ed.), "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering", John Wiley & Sons, New York (1985) v.3, p. 758.
8. Zhang, J.; Rochas, C.; *Carbohydr. Polym.* (1990) 13, 257.
9. Dea, I. C. M.; McKinnon, A. A.; Rees, D. A.; *J. Mol. Biol.* (1972) 68, 153.
10. Dea, I. C. M.; Morrison, A.; *Advan. Carbohydr. Chem. Biochem.* (1957) 31, 241.
11. McCleary, B. V.; Dea, I. C. M.; Windust, J.; Cook, D.; *Carbohydr. Polym.* (1984) 4, 253.
12. Dea, I. C. M.; Clark, A. H.; McCleary, B. V.; *Carbohydr. Res.* (1986) 147, 275.
13. Dea, I. C. M.; Rees, D. A.; *Carbohydr. Polym.* (1987) 7, 183.
14. Rochas, C.; Rinaudo, M.; *Biopolymers* (1980) 19, 1675.
15. Bouffar-Roupe, C.; Heyraud, A.; *Food Hydrocolloids* (1987) 1, 559.
16. Landry, S.; "Relation entre la structure moleculaire et les propriétés mecaniques des gels de carragenanes", Tese de Doutorado, Université Scientifique Technologique et Médicale de Grenoble, France (1987).
17. Rochas, C.; Lahaye, M.; *Carbohydr. Polym.* (1989) 10, 289.
18. Clark, A. H.; Ross-Murphy, S. B.; *Brit. Polym. J.* (1985) 17, 164.
19. Baines, Z. V.; Morris, E. R.; *Food Hydrocolloids* (1987) 1, 197.
20. Watase, M.; Nishinari, K.; Clark, A. H.; Ross-Murphy, S. B.; *Macromolecules* (1989) 22, 1196.
21. Hermans Jr., J.; *J. Polym. Sci., Part A* (1965) 3, 1859.
22. Ward, A. G.; Saunders, P. R.; "The rheology of gelatin", in: Eirich, F. R.; (ed.), "Rheology", Academic Press, New York (1958), V.2, p. 313.
23. Mitchell, J. R.; "Rheology of gels", International Workshop on Plant Polysaccharides, Structure and Function, Mercier, C., Rinaudo, M. (ed.), July 9-11, Nantes, France (1984), p. 93.
24. Metodo ASTM D882-83, "Tensile properties of thin plastic sheeting", American Society for Testing and Materials, Philadelphia (1986), 08.01 (8).