

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

UNICAMP

**TROCA IÔNICA ENTRE PECTINATOS DE ALUMÍNIO COM
DIFERENTES GRAUS DE METILAÇÃO, OBTIDOS POR HIDRÓLISE
ENZIMÁTICA, E OS ÍONS DE Fe(III), Zn, Cu(II), Mn(II) e Ca EM
SOLUÇÃO AQUOSA.**

TESE DE DOUTORADO

CARLOS RAMÓN FRANCO

ORIENTADOR: PROF. DR. AÉCIO PEREIRA CHAGAS

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. RENATO ATÍLIO JORGE

JANEIRO - 1996



UNIDADE	F2	
N.º CHAMADA:		
V.	E.	
TOMBO BC	27234	
PROC.	627/36	
C	<input type="checkbox"/>	D
PREÇO	R\$ 11,20	
DATA	3/25/96	
N.º CPD		

CM-00086467-4

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

F848t Franco, Carlos Ramón
Troca iônica entre pectinatos de alumínio com diferentes graus de metilação, obtidos por hidrólise enzimática, e os íons de Fe(III), Zn, Cu(II), Mn(II) e Ca em solução aquosa / Carlos Ramón Franco -- Campinas, [SP : s.n.], 1995.

Orientador: Aécio Pereira Chagas.
Co-orientador: Renato Atilio Jorge.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química.

I. Pectina. 2. Troca iônica. 3. Demetilação enzimática.
I. Chagas, Aécio Pereira. II. Jorge, Renato Atilio. III.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.
IV. Título.



*A minha avó e minha mãe
com carinho e muito amor
dedico este trabalho.*

*Os que com lágrimas
semeiam com jubilo ceifarão.
Quem sai andando e
chorando enquanto semeia,
voltará com jubilo trazendo
os seu feixes.*

Salmos 126: 5,6.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aécio Pereira Chagas, pela sua orientação e apoio que contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Renato Atilio Jorge, pelas sugestões, discussão, e apoio referentes ao trabalho.

Ao Prof. Dr. Osvaldo A. Serra e o técnico Eduardo J. Nassar, do Depto de Química-USP Ribeirão Preto, pelas análises das amostras de pectinas e pectinatos de alumínio por fluorescência.

Aos Profs. Drs. Nivaldo Baccan e Solange Cadore, pelas análises das amostras de pectinatos de alumínio por absorção atômica.

Ao pessoal técnico do laboratório:

- A Neusa, pela colaboração e boa vontade demonstrada em todos os momentos em que foi necessária uma ajuda no trabalho, e fundamentalmente pela amizade.

- A Nadia e Paulo, pelos espectros infravermelhos de pectinas e pectinatos de alumínio.

- A Renata e Helena pelos espectros TGA e difratogramas de pectinas e pectinatos de alumínio, respectivamente.

Aos colegas do laboratório:

Geraldo, Edésio, Lauro, Júnior, Severino, Luis, Elsa, Margarida, Rita, Silvia, Lilian, Elvio, Akira, Carlos, Lindomar, Bira, Sirley, Reinaldo, Anísio, Euler, Cristiano, Toshio.

Ao CNPq e FAEP pelo suporte financeiro.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha esposa Esther, pelo apoio, estímulo e carinho.

Aos meus irmãos: Julio, Marta, Hugo e Marisa pela força e calor humano que sempre me ofereceram.

Ao meu amigo Mickel pela amizade e pela ajuda prestada.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

PAI	pectinato de alumínio
RMN	ressonância magnética nuclear
GM	grau de metilação
PE	pectinesterase
PG	poligalacturonase
CWP	pectinas solúveis em água fria
HWP	pectinas solúveis em água quente
CHP	pectinas solúveis em exametafosfato frio
HAP	pectinas solúveis em ácido quente
γ_{\pm}	coeficiente de atividade meio iônico
ψ	potencial eletrostático
r	distância determinada do poliion
b	distância entre cargas fixas
k_0	distância modificada de Bessel
K	blindagem de Debye
ϵ	constante dielétrica do solvente
ϵ	densidade de carga linear
e	carga elétrica elementar
k	constante de Boltzmann
T	temperatura
L	comprimento total do poliion
P	número de grupos carregados
ϕ_p	coeficiente osmótico do polieletrólito
K^0	constante de equilíbrio termodinâmica padrão
X_i	fração equivalente ou molar das espécies i hidrolisadas na fase sólida
g_i	coeficiente de atividade das espécies i hidrolisadas na fase sólida
K_e	constante de equilíbrio estequiométrico
z	carga do íon
A	constante de Debye e Hückel
a	diâmetro efetivo dos íons hidratados
I	força iônica
B	constante empírica
C,D,E	coeficientes numéricos
m	molalidade
μ	potencial químico
a_s	atividade do solvente

PM	pectinatos metálicos
PAIM	pectinatos de alumínio metálicos
$M(OH)_i^{(z-i)+}$	espécies hidrolisadas
λ	comprimento de onda
n_i	quantidade de substância i
δ	espessura de filme
r_o	raio das partículas
C_p	concentração de grupos iônicos fixos na macromolécula
D	coeficiente de difusão
m	coeficiente angular
χ	eletronegatividade
t	tempo de vida média
$M(OH)_i^+$	espécies hidrolisadas
CTC	capacidade de troca catiônica

ÍNDICE GERAL

RESUMO ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO	1 - 32
1.1	As pectinas, principais propriedades e algumas aplicações	1 - 14
1.2	A teoria sobre polieletrólitos	15 - 20
1.2.1	O modelo de Manning ou teoria de condensação de contraíó	16 - 17
1.2.2	Outras propriedades	18 - 20
1.3	A troca iônica e a constante de equilíbrio termodinâmica	21 - 25
1.3.1	Interações que podem influenciar no equilíbrio de troca iônica	26 - 28
1.4	A toxidez do alumínio nas plantas	29
1.4.1	O mecanismo de toxidez do alumínio	30 - 32
2	OBJETIVO DO TRABALHO	33
3	PARTE EXPERIMENTAL	34 - 41
3.1	Reagentes e aparelhos	34 - 35
3.2	Procedimentos	36 - 40
3.2.1	Purificação da pectina	36
3.2.2	Metilação da pectina	36
3.2.3	Demetilação da pectina	36 - 37
3.2.4	Preparação das amostras de pectinatos de alumínio (PAI)	37
3.2.5	Determinação dos grupos OH ⁻ ligados com os alumínios nos pectinatos	37 - 38
3.2.6	Troca iônica entre pectinatos de alumínio, com diferentes GM, e os íons zinco, ferro (III), cobre (II), cálcio e manganês (II)	38 - 40
3.2.7	Preparação e purificação do corante cromoazurol-S utilizado na determinação da concentração do alumínio	40
3.3	Estudo do contorno molecular dos sítios ativos dos pectinatos de alumínio	41
3.4	Análises Térmicas	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42 - 76
4.1	Análise das amostras de pectinas	42 - 45

4.2	Troca iônica entre pectinatos de alumínio, com diferentes graus de metilação e os íons de zinco, ferro (III), cálcio, cobre (II) e manganês	46
4.2.1	Determinação do tempo para se atingir o equilíbrio	46 - 50
4.2.2	Determinação da estequiometria na troca iônica	50 - 51
4.2.3	Determinação da constante de equilíbrio estequiométrico K_e na troca iônica dos pectinatos de alumínio, com os íons considerados	52
4.2.4	Interações que influenciam no valor da constante de equilíbrio estequiométrico K_e do processo de troca iônica	52 - 57
4.2.5	Estudo e comparação do contorno molecular dos pectinatos de alumínio obtidos pelos dois processos de demetilação	58 - 71
4.2.6	Análise Termica	71 - 76
5	CONCLUSÕES FINAIS	77 - 79
6	BIBLIOGRAFIA	80 - 84
7	APÊNDICE I	85 - 86
8	APÊNDICE II	87 - 107

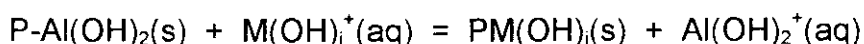
TABELAS

1	Composição de alguns açúcares neutros nas amostras de pectinas industriais não padronizadas	9
2	composição de alguns aminoácidos/proteínas nas amostras de pectinas industriais não padronizadas	10
3	Composição de alguns minerais nas amostras de pectinas industriais não padronizadas	10
4	Quantidade de grupos carboxilas livres, totais e grau de metilação, da amostra de pectina metilada	42
5	massa de pectinas e enzimas utilizadas no processo de demetilação, tempo de reação e grau de metilação, obtidas a partir da pectina metilada	42
6	Quantidade de grupos carboxilas livres, totais, e grau de metilação, das amostras de pectinas obtidas por demetilação com pectinesterase	43
7	Caracterização dos pectinatos de alumínio, obtidos de pectinas com diferentes graus de metilação (GM), e $AlCl_3$ 0,1M	44

8	Tempo para se alcançar o equilíbrio na troca iônica entre pectinatos de alumínio, obtidos nos dois processos de demetilação e os íons estudados	47
9	Valores da distância entre as cargas (b), e densidades de carga linear (ϵ) dos pectinatos de alumínio, com diferentes graus de metilação obtidos pelos dois processos de demetilação	48
10	Faixa de concentração de íons utilizados na troca iônica entre pectinatos de alumínio, com diferentes grau de metilação, obtidos nos dois processos de demetilação	49
11	Resultados da determinação estequiométrica na troca iônica entre as amostras de pectinatos de alumínio e os íons considerados	51
12	Valores da constante de equilíbrio K_e na troca iônica entre os pectinatos de alumínio com diferentes GM, obtidos nos dois métodos de demetilação e os íons considerados	56
13	Valores médios da constante de equilíbrio K_e	57
14	Resultados da determinação estequiométrica na troca iônica entre pectinatos de alumínio, e os íons de Eu (III), nos dois processos de demetilação	60
15	Resultados da troca iônica entre pectinatos de alumínio, e os íons de Eu(III) nos dois processos de demetilação	61
16	Número de ondas dos espectros de fluorescência de pectinatos de alumínio obtidos através de γ_{em} da figura 25	67
17	Tempo de vida média t e o recíproco t^{-1} em amostras de pectinatos de alumínio com europio, obtidos a partir da figura 26	68
18-37	Valores experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio e os íons de Fe (III), Zn, Mn (II), Cu (II) e Ca	87 - 106
38	Valores do coeficiente angular m , dos gráficos $\ln K$ em função da fração molar X dos íons metálicos	107

RESUMO

Pectinatos de alumínio sólidos (PAI) com vários grau de metilação (GM), obtidos através de demetilação enzimática com pectinesterase de origem vegetal , foram submetidos a um processo de troca iônica, em solução aquosa a 298 K, com os íons metálicos M =Fe(III), Mn(II), Cu(II), Zn(II) e Ca, que pode ser representada pela equação :



onde P representa o sítio ativo das pectinas e seu entorno molecular e $M(\text{OH})_i^+$ as espécies hidrolisadas Fe(OH)_2^+ , Cu(OH)^+ , Mn(OH)^+ , Zn(OH)^+ e Ca(OH)^+ .

Determinou-se as constantes de equilíbrio estequiométricos para todos os íons, e comparando-as com aquelas obtidas em um trabalho anterior, da troca iônica dos pectinatos de alumínio com diferentes graus de metilação obtidos por hidrólise alcalina com os mesmos íons já mencionados anteriormente, pode-se estabelecer uma ordem de preferência em ambos os casos:

Da Hidrólise alcalina (95, 99): $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Zn} > \text{Mn(II)} \approx \text{Ca}$
Da Hidrólise enzimática : $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Mn(II)} > \text{Zn} \approx \text{Ca}$

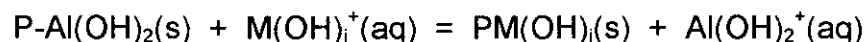
Observou-se um efeito cooperativo no processo de troca iônica em todos os casos, exceto para os íons de Zn e Ca na hidrólise enzimática que apresentam inversão de comportamento (efeito competitivo).

Através dos valores das constantes de equilíbrio tentou-se justificar as diferenças de comportamentos (força de ligação, inversão de comportamento, inversão na ordem de preferência, etc.) entre os íons considerados e a macromolécula nos dois processos de hidrólise.

Baseados nos espectros de fluorescência de európio, espectros infravermelhos e difratograma de raios-x, pode-se dizer que todas as amostras apresentam estruturas cristalográficas semelhantes.

Abstract

Solid aluminum pectinates with different degrees of methylation, obtained through enzymic demethylation with pectin esterase of vegetal origin were submitted to an ionic exchange process in aqueous solution at 298 K with the metal ions $M = \text{Fe(III)}$, Mn(II) , Cu(II) , Zn and Ca , that can be represented by the equation:



Where P is the active site of the pectins together with their molecular environment and M(OH)_i^+ are the hydrolysed ionic species.

The stoichiometric equilibrium constants were determined for all ions, and were compared with those obtained in a prior work from the ionic exchange process of aluminum pectinates with different degrees of methylation, obtained through alkaline demethylation, with the same ions previously mentioned. Thus, it can be established a preferential order in each case:

Alkaline hydrolyse (95,99) : $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Zn} > \text{Mn(II)} \approx \text{Ca}$
Enzymic hydrolyse : $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Mn(II)} > \text{Zn} \approx \text{Ca}$

A cooperative effect was observed in the ionic exchange process in all cases, except for the ions of Zn and Ca in the enzymic hydrolyses, which show inversion behaviour (competitive effect).

Analyzing the difference between the behaviour of the ions under consideration and the macromolecule (strength bond, inversion behaviour, inversion of order of preference, etc.) in enzymic and alkaline hydrolyses, an attempt was made to justify these difference based on the differing equilibrium constants values.

Based on the europium fluorescence spectra, infrared spectra, and x-ray diffractograms, it can be concluded that all the samples show similarity in the crystallographic structures.

1. INTRODUÇÃO

1.1 As pectinas, principais propriedades e algumas aplicações

As pectinas são uma família de polissacarídeos cujo esqueleto polimérico compreende principalmente resíduos de ácidos D-galacturônicos com ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4), com inserções covalentes periódicas de ramnose no esqueleto e resíduos de cadeias laterais de outros açúcares neutros como arabinose, galactose, glucose, xilose, etc. (1 - 5). São um dos principais constituintes das paredes celulares das plantas e são produzidos durante o estado inicial de crescimento dessas paredes (1,2).

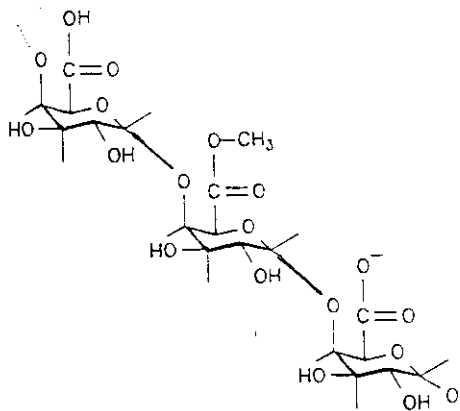


Fig.1 Um segmento repetitivo da molécula de pectina.

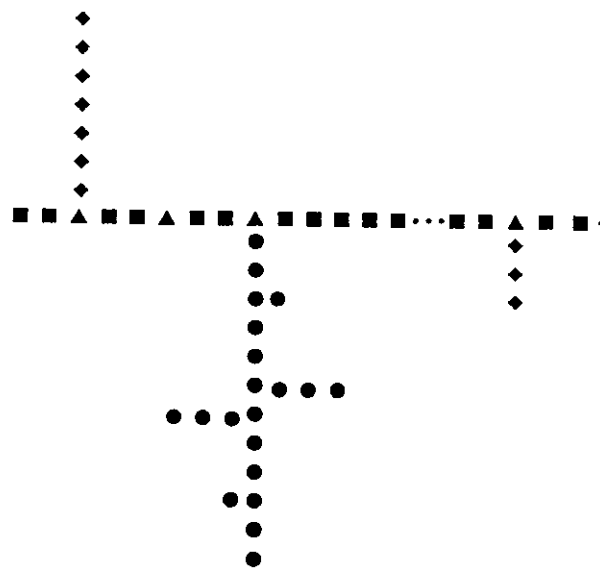


Fig.2 Estrutura tentativa de pectina de beterraba (■ ácido galacturônico, ▲ ramnose ● arabinose, ◆ galactose (5).

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio(RMN), os modelos de computação e os estudos de difração de raios-X, sugerem que as moléculas de pectinas em solução adotam uma configuração helicoidal com três unidades de monossacarídeos para um passo de 1,33 nm. A estrutura é estabilizada através de fatores estéricos e ligações de hidrogênio intramoleculares (1,2,5). No estado sólido as moléculas formam camadas paralelas com hélices adjacentes e simetrias opostas como pode-se observar na fig. 3.

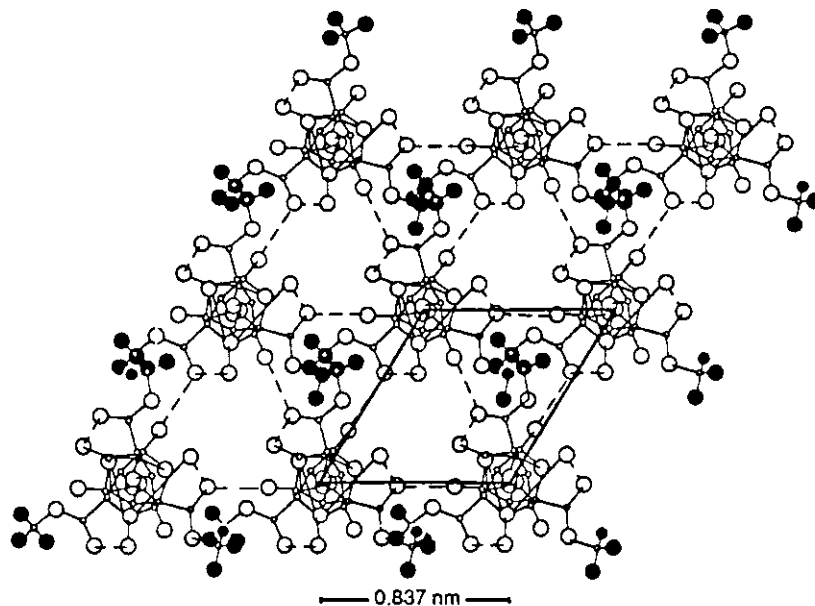


Fig 3. Ácido poligalacturônico (GM = 100) apresentando cadeias paralelas empacotadas em um retículo hexagonal. Os átomos de hidrogênio dos grupos metilas são indicados por círculos pretos (5).

Os grupos carboxilas na cadeia polimérica podem estar livres ou parcialmente metilados (6). No primeiro caso são denominados *ácidos pécticos* ou *ácidos poli D-galacturônicos* e no segundo *ácidos pectínicos* (pectinas) . Este último pode ter diferentes graus de metilação (GM), definido como a relação entre a quantidade de grupos carboxilas metil-esterificados e a quantidade total de grupos carboxilas na cadeia, expresso geralmente em porcentagem, ou seja:

$$GM = [(\text{números de carboxilas totais} - \text{números de carboxilas livres}) / \text{números de carboxilas totais}] \times 100.$$

O GM é um parâmetro de caracterização muito importante nas pectinas, e pode ser determinado por diversos métodos: titulações potenciométricas com um álcali, cromatografia, espectros infravermelhos, cromatografia de permeação de gel, seguido de medições de condutividade e refractometria em séries (7).

A demetilação das pectinas pode ser catalisada por ácidos, álcalis ou enzimas pectinesterase de origem microbiana ou vegetal. Nos primeiros três casos a demetilação é aleatória, e no último, a distribuição dos grupos carboxilas livres e metilados é em bloco, pois as enzimas hidrolizam os grupos metil-esterificados adjacentes aos grupos carboxilas livres e são limitadas pela presença de unidades ramnose (vide fig. 4)(8 - 10). Neste último caso, a densidade de cargas elétricas

será maior em certas regiões da macromolécula. O valor deste parâmetro pode variar dentro de uma faixa ampla de acordo com o grau de metilação (GM), da macromolécula.

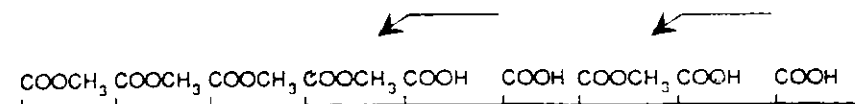


Fig. 4 Representação de demetilação por enzima pectinesterase (4).

A inserção de ramnose ao longo da cadeia de pectinas, acontece em aproximadamente cada 25 resíduos de ácidos poligalacturônicos (8). A presença de certos íons em solução induz estas macromoléculas a formar zonas de ligação (associação de cadeias internas através de dímeros). Com cátions divalentes (íons Ca^{2+} , por exemplo) através de um efeito cooperativo formam um arranjo estrutural chamado "caixa de ovos" entre duas cadeias. Mediante o arranjo existe uma série de cavidades contendo duas cargas negativas em cada uma delas, onde os íons multivalentes podem se adaptar, fazendo o papel de aglutinante. A força e seletividade dessas ligações cooperativas são determinadas pelo "conforto" com o qual os íons ("ovos") de determinado tamanho podem ser acomodados na "caixa" (11 - 13).

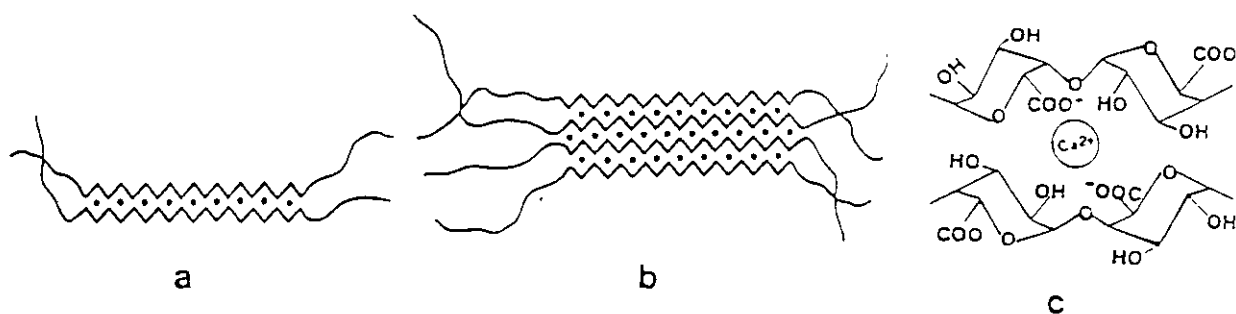


Fig. 5 Representação esquemática da ligação de íons cálcio nas seqüências poligalacturônicas(4).
a) dímero inicial. b) agregado "caixa de ovos". c) cavidade de uma "caixa de ovos".

De acordo com cálculos estatísticos e dados experimentais, para a formação de zonas de ligação nas macromoléculas, é preciso um mínimo de sete grupos carboxilas livres consecutivos ao longo da face participante da cadeia (quatorze resíduos para os dímeros) (8). O comprimento da associação de cadeias internas é restringida devido a resíduos de cadeias laterais dos açucares neutros já mencionados anteriormente, e pela inserção de ramnose no esqueleto polimérico que formam dobras ("kink").

Por outro lado, resíduos esterificados na cadeia presentes em certa quantidade podem ser acomodados dentro da estrutura dimérica, com a condição de que o correspondente resíduo da outra cadeia não esteja esterificado, em cujo caso a associação provavelmente ficará suspensa.

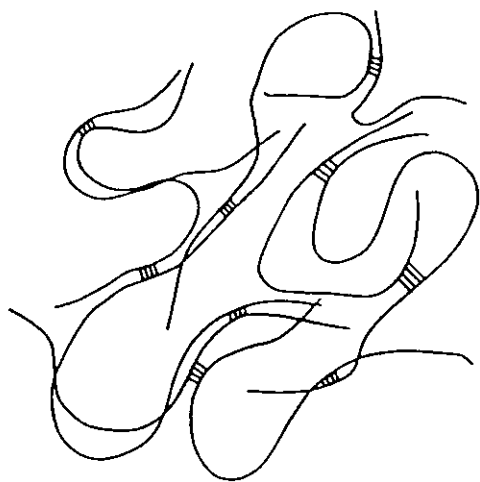


Fig.6 Representação esquemática de uma rede de gel. As áreas unidas com linhas representam zonas de ligação (5).

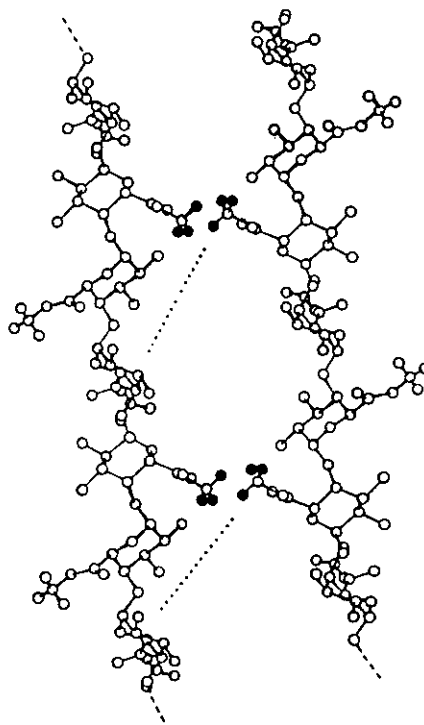


Fig.7 Estruturas de zonas de ligação em pectinas. Os átomos de hidrogênio dos grupos metilas são representados por círculos pretos e as ligações H-H indicadas por linhas de ponto

As pectinas tem sido utilizadas em Medicina, profilática e terapêuticamente com pessoas que se intoxicaram com chumbo. A sua eliminação do corpo humano procede predominantemente via tracto intestinal. Os íons de Pb^{2+} , firmemente ligados às pectinas através dos grupos carboxilas livres dos ácidos poli D-galacturônicos, são transportados através do tracto digestivo e eliminados em grande parte nos excrementos. Quando o envenenamento acontece por via respiratória (aerossóis de chumbo e vapores de mercúrio), uma aplicação de pectina via oral produz secreção dos metais tóxicos através da urina. O pectato de sódio tem o mesmo efeito na intoxicação com os íons Sr^{2+} e Ba^{2+} (14 -16). A utilização de pectinas para diminuição do índice de colesterol seres humanos tem sido também relatada (17).

Uma propriedade importante das pectinas é a sua capacidade de troca iônica, pois na absorção dos íons (nutrientes) pelas plantas, esta é parte importante do processo devido aos grupos carboxilas livres dos ácidos poligalacturônicos na macromolécula (18 - 20). A troca mútua de íons Ca^{2+} e K^+ , ligados a estes ácidos é importante para a fisiologia e patologia das plantas. Quanto menor o grau de metilação (GM) na cadeia, maior será o conteúdo de cátions divalentes nas plantas aumentando a firmeza de suas paredes celulares. Em maçãs foi observado que a perda da resistência contra alguns fungos patógenos era acompanhado de uma diminuição de concentração de cátions polivalentes ligados às pectinas, ou complexos pectinas-proteínas. Por outro lado, a presença de pectatos de cálcio nas folhas de tabaco evita a infecção por parte dos vírus de mosaico inibindo a atividade hidrolítica das enzimas pectolíticas (21).

A sua capacidade de formar géis com os íons é extensivamente aproveitado como agente "espessante" de produtos alimentícios. Em pectinas de baixo conteúdo de grupos metoxilas, a formação de géis depende de fatores intrínsecos e extrínsecos que incluem conteúdo de ácidos urônicos, massa molar, grau de metilação, distribuição dos grupos carboxilas (livres e metilados), acetilação, composição de açúcares neutros, amidação, pH, conteúdo de açúcares neutros, conteúdo de íons Ca^{2+} , força iônica e temperatura. Pectinas com alto conteúdo de metoxilas, geralmente não formam géis sem um alto conteúdo de açúcar (sacarose), e / ou acidez apropriada. Entretanto, as pectinas com baixo teor de metoxilas podem formar géis na presença de íons Ca^{2+} , sem a presença de açúcar. Estas pectinas podem ser utilizadas em produtos alimentícios, como produção de géis com baixo conteúdo de açúcar, como emulsão estabilizadora para iogurte congelado, como agentes espessantes em cremes com baixo teor energético, temperos, etc. As pectinas obtidas de girassóis possuem as propriedades funcionais adequadas mencionadas acima, e podem ser utilizadas nestas aplicações, especialmente quando é necessário um pH próximo do neutro (22, 23).

O amolecimento da maioria das frutas maduras (mangas, pêssegos, maçãs), é causada pela perda de coesão no gel das pectinas. No caso da berinjela e a banana observou-se que no período de desenvolvimento (amadurecimento), aumentavam as pectinas de baixo e alto grau de metilação solúveis em água, entretanto a fração de protopectinas, insolúveis neste meio, diminuía. Nas maçãs, isto acontece pela substituição de pectinas de baixo grau de metilação, por outras de maior valor deste parâmetro, e em peras e mangas devido à despolimerização das pectinas por parte da poligalacturonasa, auxiliada por pectinesterase, de tal maneira que os segmentos que sobram são muito curtos para uma ligação efetiva com os íons Ca^{2+} (24 - 26).

A atividade de pectinesterase (PE) pode influenciar muito sobre a carga total, devido aos ácidos poligalacturônicos, nas paredes celulares das plantas. Observou-se que a redução da atividade destas enzimas em tomates causa uma perda quase completa da integridade dos tecidos durante o envelhecimento destas frutas, mas apresentam pouco efeito durante o amadurecimento. A perda da atividade vem acompanhada de modificações na acumulação e distribuição de cátions como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ (os quatro principais cátions em tecidos de plantas), solúveis e ligados no pericarpo da fruta. Os primeiros três íons mencionados quando ligados, diminuíram em uma faixa de 30 - 70%, e na forma solúveis aumentaram entre 10 -60%. Os íons K^+ ligados estavam muito baixos, se comparados com as frações solúveis. A redução da habilidade, no pericarpo, para ligar cátions divalentes quando as frutas vão amadurecendo, deve-se provavelmente à solubilização de pectinas das paredes celulares. Embora a base bioquímica do amadurecimento e envelhecimento, associado ao amolecimento, não tem uma explicação clara, a dissolução da lamela, separação de paredes celulares devido à despolimerização de pectinas por poligalacturonase (PG) e perdas de íons Ca^{2+} , foram sugeridos que contribuem ao amolecimento das frutas. A redução da atividade de PE e PG exibem efeitos opostos sobre a “firmeza” durante o envelhecimento de tomates. Um aumento de integridade foi observado para frutas que tem PG com baixa atividade, e perda quase completa para frutas com PE também de baixa atividade (27,28).

A turbidez dos sucos cítricos é devido a uma fina suspensão de partículas denominados “nuvens”, cujo tamanho varia entre aproximadamente 0,4 - 5,0 μm . As propriedades sensoriais destes sucos (sabor, cor, textura e aroma), são atribuídas a estas nuvens, constituídos por materiais poliméricos de alta massa molar (pectinas, proteínas, celulose e hemicelulose). Considera-se que as nuvens devido às pectinas nestes sucos é de aproximadamente 4,5% do total, grande parte dela (perto dos 60%), existem como pectinas previamente solúveis que estão associadas com proteínas insolúveis através de interações iônicas, ligações hidrofóbicas dos grupos metilas com regiões hidrofóbicas das proteínas; 25 -30% formam agregados via íons polivalentes (Ca^{2+}), e aproximadamente 15% como protopectina (29). A qualidade destes sucos portanto, incluem a formação de nuvens, estabilidade e viscosidade que em certa forma são influenciadas pela presença das pectinas. Portanto, uma eventual demetilação e despolimerização destas macromoléculas podem causar variações nos parâmetros mencionados. A clarificação e estabilidade são prevenidas por aquecimento (as enzimas são desativadas). Os sucos recentemente preparados contem pectinesterase e poligalacturonase, e se não for feita a prevenção, a primeira demetilaria as macromoléculas, seguido de uma quebra hidrolítica das ligações glicosídicas α - D(1 \rightarrow 4) poligalacturonas na cadeia causada pela segunda. Foi comprovado que o grau de polimerização de pectinas em várias amostras de sucos

armazenadas por 1 semana a 5°C, diminuem indicando degradação enzimática e portanto clarificação dos sucos (30 - 32).

As ligações das peroxidases (enzimas glicosídicas que se encontram em tecidos de plantas e cujas funções principais são as ligações cruzadas de vários polímeros e formação de ligninas nas paredes celulares), às pectinas *in vivo* dependem da presença de íons Ca^{2+} , e do grau de metilação destas macromoléculas. É conhecido que as cadeias de pectinas na presença destes íons formam dímeros ou zonas de ligação, observando-se que sem estas estruturas a ligação desta enzima com a macromolécula não acontece. Por outro lado, pectinas altamente metiladas, aproximadamente 93% de grau de metilação, ainda em presença de íons Ca^{2+} , não se associam com a enzima devido à não formação das zonas de ligação (33).

Muitos vegetais preaquecidos a temperaturas moderadas (60 - 70°C), por um período de tempo determinado (20 - 30 min.), e logo postos em água fervendo durante 15 - 30 minutos, apresentam maior firmeza que aqueles mantidos na última condição diretamente, ou seja sem preaquecimento. A maior firmeza deve-se provavelmente à ação de pectinesterase sobre as paredes celulares, especialmente sobre as substâncias pécticas que são demetiladas com uma posterior formação de pontes de íons Ca^{2+} , com os grupos carboxilas livres adjacentes nas macromoléculas. Baseados em extrações com diversos solventes frios e quentes de pectinas de vegetais (raízes de rabanetes frescas, feijões jovens e maduras), insolúveis em álcool, foi proposto um modelo de ligações ou interações entre as cadeias longas de moléculas de pectinas e outros constituintes das paredes celulares, para explicar o mecanismo de firmeza no preaquecimento de textura de vegetais. Os tipos de interações propostas são:

Pectinas tipo P, unidas por ligações covalentes a outros constituintes das paredes celulares como celulose, hemicelulose, proteínas, etc. Extraíveis só com ácido quente diluído ou soluções alcalinas.

Pectinas tipo S, unidas por ligações fracas ou forças de Van der Waals a outras moléculas de pectinas ou outros constituintes das paredes celulares. Extraíveis com água fria.

Pectinas tipo A, ligadas por pontes de íons metálicos divalentes como Ca^{2+} ou Ba^{2+} , com outras moléculas de pectinas. Extraíveis com soluções frias ou quentes.

Pectinas tipo B, unidas por ligações fracas a quente (*) como as ligações de hidrogênio com moléculas de pectinas ou outros constituintes das paredes celulares. Extraíveis em água quente.

Pectinas tipo C, unidas por ligações fracas a quente e pontes de íons metálicos divalentes a outras moléculas de pectinas. Extraíveis por tratamento simultâneo a quente e por agentes quelantes.

Quando uma das amostras que contém pectinas é preaquecida, as pectinas solúveis em água fria diminuem, aumentando aquelas solúveis em hexametáfosfato e água quente. Portanto, parece razoável atribuir o efeito de firmeza de preaquecimento às seguintes mudanças químicas: as pectinas tipo B e S são convertidas a pectinas tipo C ou A, pela ação de pectinesterase e a formação de pontes de Ca^{2+} , que resulta numa maior firmeza dos tecidos como já foi mencionado acima (34). Na figura 8 é apresentado o modelo hipotético de interações entre cadeias longas de moléculas de pectinas em tecidos vegetais. As abreviações na legenda da figura significam:

- CWP → pectinas solúveis em água fria.
 HWP → " " " " quente.
 CHP → " " " hexametáfosfato frio.
 HAP → " " " ácido quente.

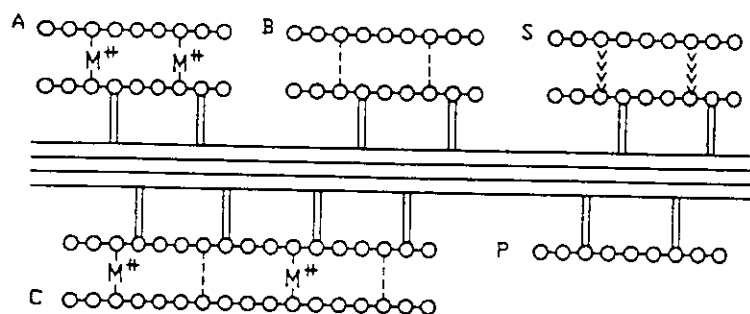


Fig.8 Modelo hipotético das ligações e interações entre moléculas de pectinas de cadeias compridas em tecidos vegetais. o-o-o polímero pectina; ≡≡≡ outros materiais nas paredes celulares; <<<<< forças de Van der Waals—CWP; - M^{2+} ponte de íon metálico—CHP; - - - - ligações fracas em quente—HWP; == ligação covalente—HAP (34).

(*) Aqui denominou-se "ligações fracas a quente", as ligações que se rompem à temperatura próxima do ponto de ebulição da água (34).

Análises de pectinas industriais de bagaço de maçãs e pele de limões, empiricamente conhecido por suas diferentes solubilidades e comportamento como gel, especialmente na presença de íons cálcio, apresentam resultados diferentes em muitos parâmetros considerados. As pectinas de maçãs contêm menos ácido galacturônico (60,8% de material seco), que dos limões (aproximadamente 77%), fundamentalmente devido à diferença nos conteúdos de açúcares neutros, muito maior nas pectinas de maçã, especialmente glucose, xilose, arabinose e ramnose (35). Na tabela 1 são apresentados a composição de açúcares neutros encontrados nestas amostras.

Tabela 1. Composição (% em massa de material seco) de alguns açúcares neutros nas amostras de pectinas industriais não padronizadas (35).

Açúcares neutros	Pectinas de limões	Pectinas de maçãs
Glucose	1,0	23,0
Xilose	0,2	2,1
Arabinose	3,1	12,8
Ramnose	1,6	2,9

Estas diferenças na composição de açúcares neutros nas pectinas, explicam algumas diferenças na conformação molecular e propriedades físicas. Por exemplo, a ramnose interrompe a regularidade do esqueleto galacturônico que é muito importante na formação de zonas de ligação, os outros açúcares constituem cadeias laterais que podem limitar a associação de cadeias internas. Todas as pectinas apresentam alto grau de metilação, sendo para as maçãs 74,3% e aproximadamente 72% para os limões. A composição de aminoácidos / proteínas nas amostra de pectinas industriais das duas frutas apresentam também composições diferentes. Na tabela 2 são apresentados a composição de alguns aminoácidos / proteínas mais importantes encontrados nestas amostras.

Tabela 2. composição (% de mol) de alguns aminoácidos/proteínas nas amostras de pectinas industriais não padronizadas (35).

Aminoácidos/proteínas	Pectinas de limões	Pectinas de maçãs
Aspargina	10,5	16,9
Treosina	6,7	7,2
Serina	5,3	6,4
Glutamina	12,7	15,2
Glicina	9,5	9,9
Alanina	7,3	8,9
Leucina	7,0	6,1
Tirosina	3,4	1,9
Lisina	6,6	4,1
Hidroxiprolina	4,7	4,4
Prolina	6,7	4,8
Valina	5,7	4,5

O alto conteúdo de hidroxiprolina, prolina, serina, valina, tirosina e lisina presentes nestas amostras sugerem que estes amino-ácidos podem ser fragmentos de uma das várias estruturas proteicas que ocorrem nas paredes celulares. Os conteúdos de minerais também diferem nestas amostras. Na tabela 3 são apresentados os valores de alguns deles.

Tabela 3. Composição (% em massa de material seco) de alguns minerais nas amostras de pectinas industriais não padronizadas (35).

Minerais	Pectinas de limões	Pectinas de maçãs
Potássio	0,20	0,62
Magnésio	0,05	0,06
Fosfatos	0,04	0,15
Sódio	0,15	0,04
Cálcio	0,36	0,31

As poliaminas se encontram nas paredes celulares das plantas e tem participação em processos de crescimento de muitas plantas. Formam ligações iônicas com varios materiais celulares como fosfolípidos, ácidos nucleicos, pectinas, e com moléculas pequenas como ácidos ferúlicos e cumáricos. Putrescina, espermidina e espermina foram localizadas em grãos de feijão e cenouras, nas paredes celulares em crescimento *in vitro*. Em grande parte as cargas negativas dos ácidos poligalacturônicos são responsáveis pelo potencial eletrostático dentro das paredes, e a ligação de poliaminas às macromoléculas diminue este potencial. Como este é importante na regulação do crescimento das paredes e é gerado pela atividade catalítica da enzima pectinesterase, com a presença das poliaminas essa atividade é então regulada. Por outro lado, a atividade de pectinesterase no processo de demetilação das pectinas neste ambiente é altamente dependente da presença de cátions pois neste meio de baixa força iônica, as enzimas ficam retidas nos sítios dos ácidos poligalacturônicos. Os cátions interatuam com os grupos carregados negativamente liberando as enzimas, que desta maneira voltam a ser ativas permitindo sua ligação de novo às partes metiladas das macromoléculas. É conhecido que as pectinesterases de origem vegetal demetilam os grupos carboxilas adjacentes aos grupos carboxilas livres, portanto, concentrações muito altas de cátions poderiam inibir as atividades destas enzimas, interatuando com todos os grupos livres. A moderadas concentrações, as poliaminas de moléculas grandes tem um importante efeito ativante na eficiência catalítica das pectinesterases, pois elas também interatuam com os sítios dos ácidos poligalacturônicos (como os cátions), diminuindo desta maneira o seu efeito inibidor. A idéia da possível função das poliaminas no modelo de crescimento das paredes celulares das plantas é que o mecanismo de crescimento destas paredes está (pelo menos parcialmente) controlado pelo potencial eletrostático, causado pelas cargas negativas dos resíduos poligalacturônicos. Um potencial eletrostático razoável e força iônica não muito alta, regula eficientemente a distribuição dos íons entre as paredes celulares e a mistura de reação externa ("fase bulk"). Nestas condições, os cátions serão atraídos e portanto estarão mais concentrados dentro das paredes celulares que no meio intercelular , sendo as densidades de cargas reguladas pelas enzimas pectinesterases e glicosidases. As atividades destas enzimas dependem do pH do meio e das variações de força iônica. Se este último parâmetro é variado, mudanças na distribuição iônica entre as duas fases terão efeitos contrários sobre as enzimas mencionadas. Se o pH estiver próximo de 7, a pectinesterase estará altamente ativada, a glicosidase não. Nestas condições, a pectina será demetilada e o potencial eletrostático aumentará de tal maneira que os prótons e outros cátions ficarão presos nas paredes celulares, diminuindo o pH neste meio e a atividade enzimática. Entretanto, a atividade da glicosidase aumentará induzindo à extensão das paredes, que resultará numa diminuição da densidade de

cargas negativas aumentando o pH e começando o ciclo novamente. Este ciclo *in vivo* é um processo dinâmico, portanto as pectinas metiladas são incorporadas continuamente dentro das paredes de tal maneira que nenhuma declinação ou oscilação do potencial eletrostático são observados (o sistema atinge um estado quase-estacionário). As poliaminas são produzidas pelas células que interatuam com as unidades acídicas liberando as moléculas de enzimas que serão ativadas de novo. O sistema é qualitativamente similar àquele mencionado para os íons metálicos e prótons (36).

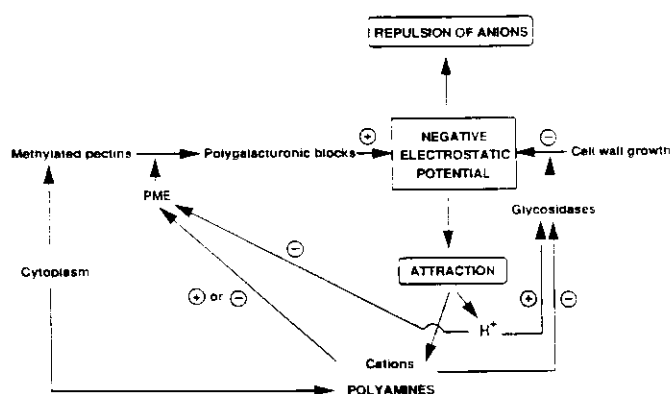


Fig.9 A função das poliaminas no controle iônico das atividades enzimáticas relacionadas ao crescimento das paredes celulares das plantas. Os sinais + e - estão relacionados a efeitos ativadores e inibidores respectivamente. PME = pectinesterase (36).

Um mecanismo proposto para a hidrólise de pectina por pectinesterase, envolve um ataque nucleofílico de um grupo básico da enzima sobre o grupo ester da macromolécula, formando um grupo intermediário EPX, seguido do desprendimento do metanol e posteriormente outro ataque nucleofílico de uma molécula de água sobre o intermediário ácido-enzima EP₂, resultando na regeneração de enzima livre e no aparecimento de ácidos carboxílicos P₃, P₄ como apresentado na figura 10 (37,38).

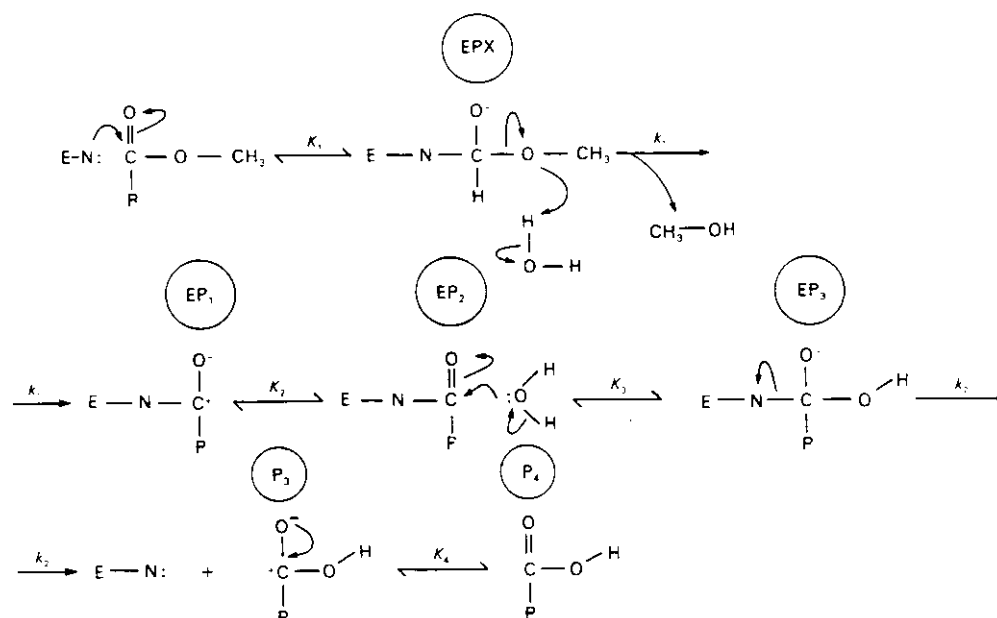


Fig. 10 Mecanismo tentativo de hidrólises de pectina na presença de pectinesterase

E representa a enzima e -N um grupo nucleofílico da mesma. PX é o ester. EP₁, EP₂ e EP₃ são intermediários. Os dois produtos são apresentados como XOH (metanol) e P₃, P₄ (ácidos carboxílicos). K₁, K₂, K₃ e K₄ são constantes de afinidades (unidades em M⁻¹ ou sem dimensão), onde k₁ e k₂ são constantes de velocidades (unidades em s⁻¹) (37,38)

O processo de metilação de pectinas *in vitro* geralmente é levado a cabo com metanol em presença de um ácido mineral como catalisador, a baixas temperaturas (aproximadamente 3°C) (39). O mecanismo de reação proposto (esterificação de Fisher), envolve várias etapas: na primeira, o ácido carboxílico da macromolécula é protonado, seguido de um ataque nucleofílico por parte do álcool sobre o ácido, formando um intermediário ácido-álcool carregado. Na segunda, através de ressonâncias dentro da molécula, há perda de molécula de água e próton, como mostrado na figura 11.

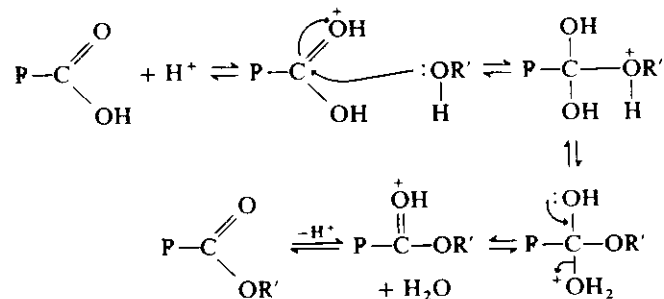


Fig 11. Esterificação de Fisher na metilação da pectina. P = sítio ativo da pectina e seu entorno molecular.

Devido a interação ácido-álcool ser altamente exotérmica, para evitar despolimerização ou quebra das moléculas de pectinas, o processo é levado a cabo a baixas temperaturas. Não é recomendável utilizar o ácido nítrico como catalisador devido à possibilidade de se formar um éster nítrico(estas substâncias são sempre perigosas). O metanol é o mais simples e mais reativo da família dos álcools, duas razões que justificam a sua escolha (40).

1.2 A teoria sobre polieletrólitos

Nos polieletrólitos encontram-se combinadas as propriedades dos polímeros e dos eletrólitos. Muitos deles estão envolvidos em fenômenos biológicos como as proteínas, ácido desoxiribonucleico, ácidos pectínicos, etc. Entre os polieletrólitos sintéticos mais investigados pode-se citar os sais de ácidos poliacrílicos, polifosfatos, poliestirenosulfonatos, sulfato de álcool polivinílico. Devido à proximidade das cargas, aparece um potencial eletrostático que atrai os íons de sinal contrário (contraíons), na vizinhança da cadeia. Portanto, uma fração de contraíons fica ligado às cargas da cadeia e os restantes ficam em uma *atmosfera iônica* que rodeia a cadeia. Demonstrou-se que o coeficiente de atividade meio iônico (γ_{\pm}), parâmetros de transporte (difusão, condutividade) e coeficientes de difusão de pequenos íons, geralmente são independentes da massa molar dos polieletrólitos, mas dependem da densidade de carga linear da cadeia e da distribuição dos contraíons que rodeiam o poliíon (41).

O complexo comportamento de sistemas de polieletrólitos é devido principalmente a interações coulômbicas de longa distância e ao efeito de contraíons que asseguram a eletroneutralidade (42).

Tem sido de contínuo interesse estudos computacionais de efeitos iônicos sobre biomoléculas carregadas, devido às interações solvente e meio ambiente iônico para a estabilização estrutural, como também interações intermoleculares e equilíbrios de ligações com substrato. Por exemplo, a um pH alto em meio aquoso, a cadeia poli (L - lisina) tem uma conformação α - helicoidal, e a pH baixo adota uma conformação em novelo aleatório, mas em metanol e outros álcoois é completamente helicoidal inclusive a pH neutro, onde este polímero está altamente carregado. A estabilidade desta macromolécula neste último solvente deve-se provavelmente às interações solvente/contraíons. Infelizmente os estudos computacionais são aparentemente proibitivos do ponto de vista econômico, tendendo a um desenvolvimento de modelos mais simples das macromoléculas (43).

Propriedades termodinâmicas e de transporte de contraíons em soluções de polieletrólitos geralmente são baixas quando comparadas às mesmas propriedades em soluções de eletrólitos simples. Isto deve-se fundamentalmente às interações eletrostáticas entre o poliíon e os contraíons. As interações podem aparecer de efeitos localizados de cada sítio carregado sobre a cadeia dos poliíons(44).

Existem vários modelos para os tratamentos teóricos dos polieletrólitos como o de Manning, o de Lifson e Katchalsky, o de Oosawa, etc. Sendo o primeiro mais utilizado e conhecido, vamos apresentar os principais conceitos deste modelo.

1.2.1 O modelo de Manning ou teoria de condensação de contraíons

Neste modelo os polieletrólitos são considerados como cilindros infinitamente longos com cargas elétricas distribuídas uniformemente ao longo da superfície. Os pontos básicos do modelo são:

i) Adota-se como “estado de referência”, a diluição infinita dos polieletrólitos e a lei limite de Debye-Hückel, ou seja, considera-se que todos os poliíons-poliíons, contraíons-contraíons, contraíons-poliíons, estão infinitamente separados.

ii) É introduzida a noção de “condensação de contraíons” para denotar que alguns íons tem maior interação com as cargas dos grupos funcionais fixos que outros, que são denominados “não condensados”.

iii) As interações entre os poliíons são consideradas desprezíveis.

iv) O valor da constante dielétrica é considerada como a do solvente puro.

v) Cada carga elementar do poliíon fornece um potencial coulômbico, que se adiciona ao potencial eletrostático $\psi(r)$ cuja expressão matemática é:

$$\psi(r) = (2 / \epsilon b) K_0 Kr \quad (\text{eq. 1})$$

sendo r = uma determinada distância do poliíon

b = distância entre as cargas fixas

k_0 = fração modificada de Bessel

K = blindagem de Debye

ϵ = constante dielétrica do solvente.

vi) A densidade de carga linear ϵ (número de grupos carregados por unidade de comprimento) é expressa matematicamente como:

$$\epsilon = e^2 / \epsilon k T b \quad (\text{eq. 2})$$

onde:

e = carga elétrica elementar

k = constante de Boltzmann

T = temperatura

b = distância média entre as cargas
 $b = L / P$
 L = comprimento total do poliion
 P = número total de grupos carregados

Esta expressão, bem como a do item v, foram desenvolvidas por Manning utilizando o antigo sistema CGS eletrostático, assim as utilizaremos.

Os valores de ϵ estão na faixa $1 \geq \epsilon \geq 1$. No caso particular em que $\epsilon = 1$ ela é chamada de ϵ crítico. Se for maior que 1 implica que o sistema é instável, e muitos contraíons “condensarão” sobre as cargas no cilindro para reduzir o valor de ϵ a igual ou menor que 1. Por outro lado, se a densidade de carga é menor que 1 não haverá condensação de íons e todos eles estarão sujeitos à densidade de carga total do poliion. Todos os desvios das soluções de polieletrólitos do comportamento Debye-Hückel, são atribuídos à condensação dos contraíons (em solução de eletrólitos simples, estes desvios são devidos a interações íon-solvente, íon-íon, etc) (45 - 51).

Para uma molécula rígida, linear (como a pectina), o valor de b pode ser calculado pela relação:

$$b = b_0 / [1 - (GM/100)] \quad (\text{eq.3})$$

Onde b_0 = distância entre os grupos carboxilas vizinhos e GM = grau de metilação. No caso do pectato de cálcio $GM = 0$ e o valor de $b = b_0 = 4,35 \text{ \AA}$, determinado por análise de raio-X do ácido pectico, pectato de sódio e de géis orientados de pectato de cálcio (52). Utilizando as eqs. 2 e 3 e este valor de b_0 calculou-se os valores da densidade de cargas ϵ nos dois tipos de pectinatos de alumínio com diferentes GM , para tentar justificar as diferenças de tempo de equilíbrio para cada íon nos dois processos de troca iônica, considerando a fração que atinge o equilíbrio $F(t)$ no modelo de difusão de filmes, e que:

$$e = 4,83 \times 10^{-10} \text{ uec (unidade eletrostática de cargas)}.$$

$$\epsilon = 78,5$$

$$K = 1,3805 \times 10^{-16} \text{ erg.K}^{-1}$$

$$T = 298 \text{ K}$$

$$b_0 \text{ (do pectato de cálcio)} = 4,35 \text{ \AA}$$

Os valores de ϵ estão apresentados na tabela 9 no cap.4 Resultados e Discussão.

1.2.2 Outras propriedades

Existem várias outras propriedades importantes que caracterizam os polieletrólitos como:

a) Capacidade iônica

É uma das propriedades mais características dos polieletrólitos, sendo definido como o número de grupos carregados numa quantidade especificada de material (53,54). Geralmente são determinados por métodos eletroquímicos simples como: potenciometria e condutivimetria. A titulação potenciométrica pode ser levada a cabo com soluções padrões de bases fortes, quando os polieletrólitos são ácidos, e soluções de ácidos fortes no caso contrário. Com a curva de titulação obtém-se o número de grupos fixos no polieletrólito, como também pode-se estudar o comportamento do pK aparente relacionado com o pH e o grau de ionização α através da expressão (55 - 57):

$$pK_{ap} = pH + \log [1 - \alpha / \alpha] \quad (\text{eq.4})$$

onde α é a relação entre os números totais de grupos titulados e os números totais de grupos tituláveis(47,51). O pK_{ap} está relacionado com o pK termodinâmico através da expressão:

$$pK_{ap} = pK + \Delta pK \quad (\text{eq.5})$$

o segundo membro da eq.5 compreende dois termos: o cambio de energia livre padrão intrínseco ΔG° e a variação de energia livre eletrostática adicional ΔG_{el} . Portanto a equação total se reduz a:

$$pH = pK - \log [(1 - \alpha) / \alpha] + \log(e)[\Delta G^\circ + \Delta G_{el} / RT] \quad (\text{eq.6})$$

sendo e a base dos logaritmos neperianos.

O último termo da equação corresponde ao trabalho elétrico adicional para remover o íon H^+ da superfície da macromolécula até ao baixo da solução. Portanto, através de dados de titulações potenciométricas pode-se obter a energia livre eletrostática de uma macromolécula, o que é importante no estudo de mudança conformacional. A curva de titulação do ácido poliglutâmico 0,0342N com NaOH em presença de NaCl 0,02M, é apresentada na fig. 12.

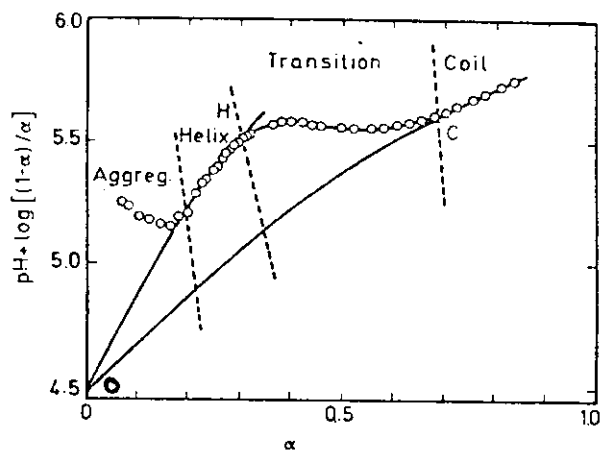


Fig.12 Curva de titulação potenciométrica de ácido poli L-glutâmico 0,0342 N com NaOH (57).

Antes do início da titulação a macromolécula tem uma conformação helicoidal, representada pelo ponto O no gráfico. Iniciada a titulação os dados seguem a trajetória OH (uma certa quantidade de energia livre eletrostática é acumulada sobre a molécula helicoidal). A seguir, parte dessa energia acumulada é consumida no momento da transição α hélice a novelo aleatório, denotada pela caída na zona HC, até que a conformação seja totalmente um novelo carregado, evitando a reformação da hélice. A área sobre OHC fornece o cambio de energia livre, $\Delta G / N$ na transição hélice-novel do ácido poli L - glutâmico carregado. N = números de monómeros na molécula.

b) O coeficiente osmótico ϕ_p

Este parâmetro mede o desvio do comportamento ideal do solvente de uma solução de polieletrólitos. Podem ser calculados considerando o valor da densidade de carga ε através das relações:

$$\phi_p = 2\varepsilon^{-1} \text{ quando } \varepsilon > 1$$

$\phi_p = 1 - 1/2\varepsilon^{-1}$ quando $\varepsilon < 1$, para a concentração do polieletrólito tendendo a zero, $C_p \rightarrow 0$. No laboratório este parâmetro geralmente é medido por osmometria de pressão de vapor. No gráfico da fig. 13 apresenta-se a variação de ϕ_p em função da concentração do ácido poliestirensulfônico e seus sais em solução aquosa.

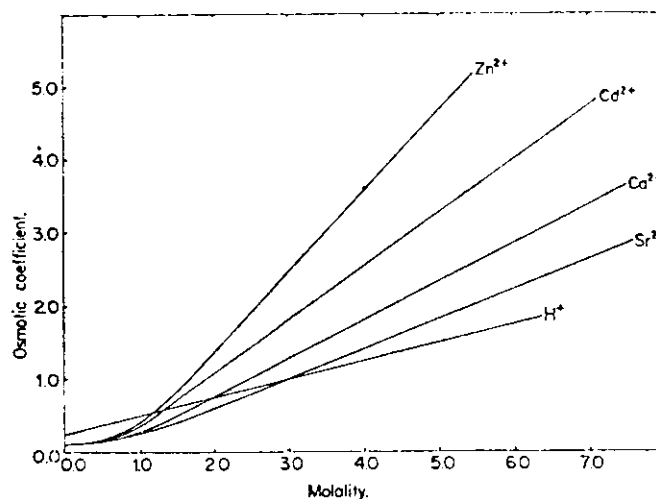


Fig. 13 Dependência de concentração do coeficiente osmótico molal, ϕ , do ácido poliestirensulfônico e alguns de seus sais metálicos em solução aquosa (58).

Para o caso dos íons monovalentes Na^+ , K^+ , Li^+ , observou-se o mesmo comportamento que os íons H^+ , e os íons divalentes Ni^{2+} e Co^{2+} apresentam comportamento similar aos sais de Zn^{2+} . Para os íons bivalentes observa-se a baixas concentrações que os coeficientes osmóticos praticamente permanecem constantes, aumentando logo rapidamente com o aumento da concentração. A variação do parâmetro é interpretada em termos de interações íons divalentes-polianions e íons divalentes-solventes. A baixas concentrações prevalece a primeira interação citada acima, entretanto a concentrações altas há domínio da segunda interação devido a que cada íon em solução liga-se a um certo número de moléculas de água do interior da solução para formar espécies hidratadas (58).

c) Existem outros parâmetros importantes que servem para caracterizar os polieletrólitos, como a condutividade elétrica, o coeficiente de difusão, o coeficiente de atividade iônica, etc., porém nos limitaremos aos expostos, que serão utilizados neste trabalho.

1.3 A troca iônica e a constante de equilíbrio termodinâmica

O processo de troca iônica em materiais como argila, polieletrólitos naturais e sintéticos, tem sido estudados desde há muito tempo (59 - 65). As resinas são consideradas como uma solução sólida com dois componentes, quando em equilíbrio com uma fase líquida. Devido aos grupos fixos carregados na matriz do polímero e seus contraíons móveis, aparece uma diferença de potencial elétrico entre as duas fases. As interações do gel com os íons simples são consideradas predominantemente de natureza puramente iônica (66,67).

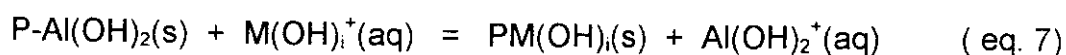
As variáveis que podem influenciar o equilíbrio de um sistema de troca iônica podem ser classificados em três grupos:

- i) Aquelas que dependem do trocador como grupo funcional, grau de ligações cruzadas, tamanho das partículas, distribuição das cargas, etc.
- ii) Aquelas que dependem da fase líquida da solução como tipo de solvente, os íons envolvidos (trocáveis e não trocáveis), concentração iônica total, etc.
- iii) Aquelas que dependem das condições de trabalho como pressão e temperatura.

Para sistematizar e reduzir no trabalho experimental a influência das variáveis mencionadas acima, algumas delas geralmente são mantidas constantes como tipo de trocador, solvente, coíons, pressão e temperatura (67).

A troca iônica é o resultado de um balanço entre processos de hidratação e desidratação na estrutura de polieletrólitos, da hidratação iônica de cargas sobre o políon e contraíons e da hidratação de grupos hidrofílicos, que pertencem às cadeias laterais ou às cadeias principais (68).

A reação de troca iônica entre os pectinatos de alumínio sólidos e um íon $M^{n+} = \text{Fe(III)}, \text{Cu(II)}, \text{Mn(II)}, \text{Ca}$ e Zn a 298 K, pode ser representada como:



onde P representa o sítio ativo das pectinas e o seu entorno molecular e M(OH)_i^+ são as espécies hidrolizadas Fe(OH)_2^+ , Cu(OH)^+ , Mn(OH)^+ , Ca(OH)^+ , Zn(OH)^+ em meio aquoso.

A constante de equilíbrio termodinâmica padrão K^θ , associada a este sistema pode ser representada pela equação: (69 - 72)

$$K^\theta = a_A^{(z-i)} \cdot X_B \cdot g_B / a_B \cdot X_A^{(z-i)} \cdot g_A = K_G g_B / g_A \quad (\text{eq. 8})$$

onde $A = \text{Al(OH)}_2^+$, $B = \text{M(OH)}_i(z-i)^+$, a_i = atividade das espécies i na fase aquosa.
 X_i = fração equivalente ou molar das espécies i hidrolisadas na fase sólida.
 g_i = coeficiente de atividade das espécies i hidrolisadas na fase sólida.

$$K_G = C_A \cdot (\gamma_{\pm A})^2 \cdot X_B / C_B \cdot (\gamma_{\pm B})^2 \cdot X_A \quad (\text{eq. 9})$$

C_i = concentração molar das espécies na fase líquida.

$\gamma_{\pm i}$ = coeficiente de atividades médios iônicos das espécies i hidrolisadas na fase líquida.

Os valores de K_G , e portanto de K^θ , não são possíveis de serem calculados, devido à dificuldade de se obter a relação entre os coeficientes de atividades médios iônicos das espécies hidrolisadas $[(\gamma_{\pm \text{Al(OH)}_2\text{NO}_3})^2 / (\gamma_{\pm \text{M(OH)}_i\text{NO}_3})^2]$. Conseqüentemente, foram utilizados os coeficientes de atividades médios iônicos estequiométricos dos nitratos metálicos e as concentrações estequiométricas dos íons metálicos em solução: $C_M = \sum \text{M(OH)}_i^{(z-i)+}$, e $C_{Al} = \sum \text{Al(OH)}_2^+$, para se determinar a constante de equilíbrio estequiométrica, definida como:

$$K_e = C_{Al} \cdot (\gamma_{\pm Al})^2 \cdot X_M \cdot g_M / C_M \cdot (\gamma_{\pm M})^2 \cdot X_{Al} \cdot g_{Al} \quad (\text{eq. 10})$$

$$K_e = K \cdot g_M / g_{Al} \quad (\text{eq. 11})$$

Devido as soluções utilizadas serem suficientemente diluídas, a relação estequiométrica dos coeficientes de atividades médios iônicos dos nitratos metálicos foram calculados da seguinte maneira:

a) Nos casos dos íons Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , utilizou-se a expressão para os coeficientes de atividades de eletrólitos simples, da teoria de Debye e Hückel estendida, para 298 K (73):

$$\ln \gamma_i = -z_i^2 A I^{1/2} / (1 + B a I^{1/2}) \quad (\text{eq. 12})$$

sendo : z = carga do íon

$$A = \text{constante de Debye e Hückel} = 1,174 (\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1})^{1/2}$$

a = diâmetro efetivo dos íons hidratados, sendo para Fe e Al $a = 9\text{Å}$, para o Mn 6Å , e para os NO_3^- 3Å (74).

$$I = \text{força iônica} = \frac{1}{2} \sum z^2 m \quad (\text{eq. 13})$$

$$B = \text{constante empírica} = 3,284 \times 10^9 (\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1})^{1/2} \cdot \text{m}^{-1}$$

b) Com os dados do item a, calculou-se o coeficiente de atividade médio iônico dos nitratos metálicos através da relação:

$$(\gamma_{\pm})^{v_+ + v_-} = (\gamma_+)^{v_+} (\gamma_-)^{v_-} \quad (\text{eq. 14})$$

c) Quando a relação estequiométrica na troca iônica for 1: 1:

$$(\gamma_{\pm \text{Al(OH)}_2 \text{NO}_3})^2 = [\gamma_{\text{Al(OH)}_2}] [\gamma_{\text{NO}_3^-}] \quad (\text{eq. 15})$$

Esta equação foi utilizada na equação 10, na determinação da constante de equilíbrio estequiométrico.

d) Para os íons Zn^{2+} , Cu^{2+} e Ca^{2+} , utilizou-se os valores dos coeficientes de atividades médios iônicos obtidos da literatura, a 298 K (75 - 77).

$$\ln \gamma_{\pm} M(\text{NO}_3)_2 = [-A_1 I^{1/2} / (1 + BI^{1/2})] + Cm + Dm^2 + Em^3 + \dots \quad (\text{eq. 16})$$

$$\text{sendo } A_1 = 2,3525 \text{ mol}^{-1/2} \cdot \text{kg}^{1/2}$$

$$\text{Para os íons } \text{Zn}^{2+} : B = 1,74; C = 0,32; D = 0,09; E = -0,01$$

$$\text{Para os íons } \text{Cu}^{2+} : B = 1,61; C = 0,22; D = 0,08; E = -0,01$$

Para os íons Ca^{2+} a função foi apresentada na forma gráfica.

m = molalidade.

Estes parâmetros também foram calculados considerando-se a teoria de interações específicas de Brönsted (78,79), não encontrando-se diferenças significativas entre os resultados dos dois métodos, optando-se portanto pelo primeiro.

Aplicando-se a equação de Gibbs-Duhem ao sistema, para todas as espécies na fase sólida em equilíbrio à pressão e temperatura constantes, temos:

$$n_{Al}d\mu_{Al} + n_M d\mu_M + n_s d\mu_s = 0 \quad (\text{eq. 17})$$

sendo $s =$ solvente. Esta expressão implica que os potenciais químicos das espécies consideradas não podem mudar independentemente (80,81). Para a integração definida da equação (eq. 17) é feita uma escolha de estado padrão de tal forma que:

- A atividade da água seja a mesma em cada fase e igual a unidade para o solvente puro.

- O sólido seja monoiónico e em equilíbrio com uma solução infinitamente diluída do mesmo íon, de tal forma que:

$$g_{Al} \rightarrow 1, \text{ quando } X_{Al} \rightarrow 1 \text{ e } a_s \rightarrow 1$$

$$g_M \rightarrow 1, \text{ quando } X_M \rightarrow 1 \text{ e } a_s \rightarrow 1$$

Tendo-se em conta estas considerações, segue-se então que: (69 - 72)

$$\ln K_e = (Z_M - Z_{Al}) + \int_0^1 \ln K dX_M + \Delta \quad (\text{eq. 18})$$

Z_M e Z_{Al} são as cargas das espécies hidrolisadas no equilíbrio.

$$\Delta = Z_M \cdot Z_{Al} \left[- \int_{a_s=1}^{a_s(AI)} n_s(AI) d \ln a_s + \int_{a_s=1}^{a_s(M)} n_s(M) d \ln a_s - \int_{a_s(AI)}^{a_s(M)} n_s(AIM) d \ln a_s \right] \quad (\text{eq. 19})$$

onde:

$a_s = 1$ é a atividade do solvente puro, $a_s(AI)$ e $a_s(M)$ são as atividades da água em uma solução contendo somente o sal de Al ou o sal de M em uma determinada concentração, de tal forma que: $X_{Al} = 1$ ou $X_M = 1$; $n_s(AI)$, $n_s(M)$ e $n_s(AIM)$ = conteúdo de água nos sólidos pectinatos de alumínio (PAI), pectinatos metálicos (PM) e pectinatos de alumínio-metálicos (PAIM), respectivamente.

O valor de Δ deve ser considerado em duas situações:

a) se a soma de $n_s(AI) + n_s(M) = n_s(AIM)$ então de acordo à equação (eq. 19) $\Delta = 0$.

b) Se os conteúdos de água em a são diferentes, como o processo é levado a cabo em soluções suficientemente diluídas, as atividades da água de soluções de eletrólitos puros de mesma concentração são aproximadamente iguais e quase independentes das frações molares dos cátions individuais em solução, portanto Δ

pode ser expressa pela equação:

$$\Delta = Z_{Al} \cdot Z_M [-n_s(Al) + n_s(M)] \ln a_s \quad (\text{eq. 20})$$

tendendo a zero para soluções idealmente diluídas ($a_s \rightarrow 1$).

Logo:

$$\ln K_e = \int_0^1 \ln K dX_M \quad (\text{eq. 21})$$

$\ln K_e = \ln K$ para $X_M = 0,5$ quando $\ln K$ é uma função linear de X_M .

A equação 10 foi utilizada para determinar os valores de K_e , na troca iônica entre os pectinatos de alumínio e os íons considerados, que são apresentados nas tabelas 13 e 14 na seção 4.2.4 do cap. 4 Resultados e Discussão.

A expressão:

$$k = C_{Al} \cdot X_M / C_M \cdot X_{Al} \quad (\text{eq.22})$$

é denominada coeficiente de seletividade da troca iônica e, pelos mesmos argumentos apresentados acima temos que:

$$\ln k_c = \int_0^1 \ln k dX_M \quad (\text{eq. 23}).$$

Logo, $\ln K_c = \ln k$, quando $\ln k$ é uma função linear de X_M . Os valores de K_c são apresentados nas tabelas 18 a 37 no apêndice II.

Os valores de g_M e g_{Al} podem ser calculados através das expressões:

$$\ln g_M = -(1 - X_M) \ln K + \int_{X(M)}^1 \ln K dX_M \quad (\text{eq. 24})$$

$$\ln g_{Al} = X_M \ln K - \int_0^{X(M)} \ln K dX_M \quad (\text{eq. 25})$$

1.3.1 Interações que podem influenciar no equilíbrio de troca iônica

Existem várias interações que podem influenciar o equilíbrio de troca iônica. Entre estas podemos citar (82):

a) Heterogeneidade dos sítios de troca.

As propriedades dos grupos funcionais num trocador podem não ser uniformes devido a efeito químico (a macromolécula tem mais de um grupo funcional trocador), meio ambiente que o rodeia, mistura das espécies químicas ligadas a estes grupos, etc.

b) Interações em solução.

As interações íon-solvente (hidratação iônica no caso em que o solvente seja água), é considerada em todas as teorias de troca iônica, embora difiram no ponto de vista analítico. A teoria de Gregor (82) por exemplo, considera o volume específico dos íons hidratados; Eisenman e Ling (82) consideram a perda ou ganho de energias de hidratação quando as espécies iônicas hidratadas são "transportadas" da solução externa à macromolécula, e da macromolécula à solução externa com perdas e ganhos de moléculas de água de hidratação, respectivamente.

c) Força de ligação entre as espécies iônicas e os grupos funcionais da macromolécula.

As espécies iônicas são considerados cargas pontuais dentro de uma partícula esférica não polarizável. A interação entre os íons é fundamentalmente de natureza coulômbica . A força de ligação é inversamente proporcional à distância entre as cargas consideradas.

d) Ligação em multissítios.

Estas ligações dos contraíons, e outras espécies dentro da macromolécula, podem ser inter ou intramoleculares. No primeiro caso poderia acontecer uma repulsão entre grupos ou átomos com as mesmas cargas. No segundo, ligações de hidrogênio, os contraíons ligados em mais de um sítio, etc.

e) proximidade entre sítios.

Este fator pode afetar as forças de ligações entre as espécies iônicas consideradas de duas maneiras. Em um primeiro caso, a proximidade pode aumentar a força de ligação, aumentando a constante de equilíbrio. Na outra situação, os sítios podem estar tão próximos, que a ocupação de um deles dificulta a ocupação do vizinho, por impedimento estérico ou por repulsão.

f) Adsorção de água pela fase sólida.

A magnitude da constante de equilíbrio diminui com o grau de entumescimento. Se o trocador está altamente entumescido, o número médio de moléculas de água por grupos fixos será grande, e em consequência, o volume configuracional onde os contraíons podem residir também grande, fazendo com que as interações destes com os grupos fixos diminuam, influenciando na seletividade e portanto na constante de equilíbrio.

g) Efeito cooperativo.

Este efeito ocorre em macromoléculas com vários sítios disponíveis para interagir com os ligantes. A ligação da primeira espécie com o sítio de troca favorece a ligação da espécie seguinte, e assim por diante na seqüência, de tal forma que cada constante de associação subsequente é maior que a constante anterior (aumento de $\ln K$ em função de X_M). Exemplos de efeitos cooperativos acontecem na ligação do oxigênio com a hemoglobina, a dos prótons com as proteínas, e a dos íons magnésio pelo DNA, (83). Nesta tese foram observados efeitos cooperativos no caso dos íons Fe(III), Mn(II), e Cu(II) conforme mostrado na figura 14 $\ln K$ em função de $X[\text{Mn(II)}]$.

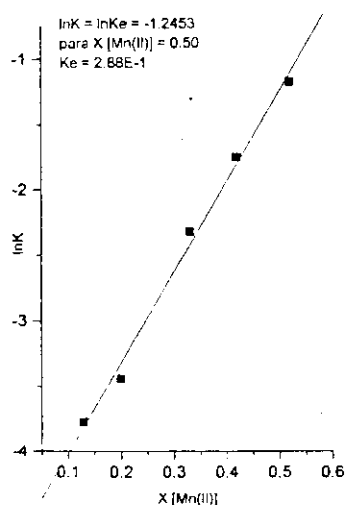


Fig.14 Dependência de $\ln K$ de $X[\text{Mn(II)}]$ na troca iônica com o pectinato de alumínio, com $GM = 37,5$

No caso dos íons Zn e Ca observou-se um efeito competitivo (diminuição de $\ln K$ em função de X_M , contrário ao efeito cooperativo), como pode-se observar na figura 15. Efeitos competitivos acontecem também na formação de complexos envolvendo íons metálicos e ligantes aniônicos, ou mesmo neutros (por exemplo Fe^{3+} e Cl^-).

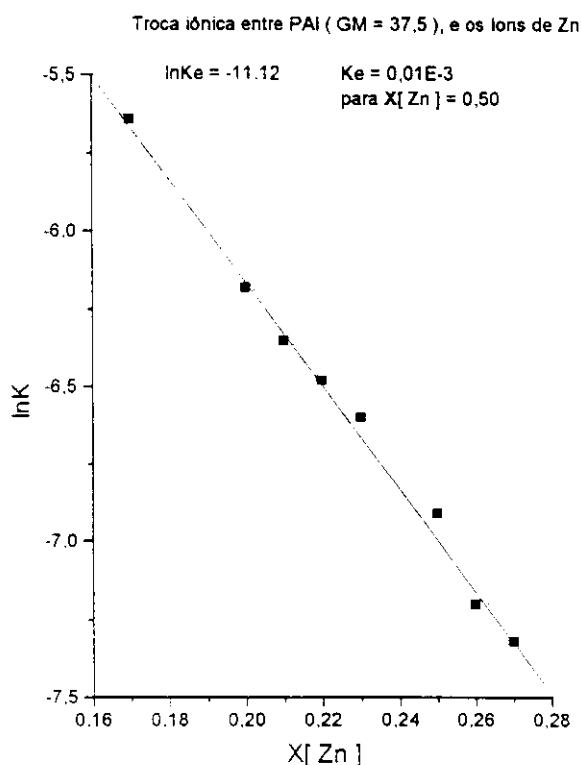


Fig 15. Dependência do $\ln K$ de $X[Zn]$, na troca iônica com o pectinato de alumínio, com $GM = 37,5$

Os íons $Fe(II)$ e $Fe(III)$ ligados aos ácidos poligalacturônicos, apresentam comportamentos diferentes nas plantas. Os primeiros, uma vez absorvidos pelas plantas são tamponados, mantendo a sua mobilidade que é fundamental para o deslocamento dentro das células da raiz. Entretanto, os íons $Fe(III)$, que formam complexos de esfera interna com os ácidos mencionados, são retidos devido à forte ligação causando imobilização e provável acumulação. Apesar da perda de mobilidade, estes compostos permanecem dispersos formando arranjos polinucleares nas superfícies externas, sendo provável que por esta razão as plantas precisam reduzir os íons Fe^{3+} a Fe^{2+} , tendo este último maior mobilidade devido a formação de complexos de esfera externa que tem força de ligação menor (84,85).

1.4 A toxidez do alumínio nas plantas

Como já se mencionou anteriormente, as pectinas são demetiladas constantemente nas plantas pelas enzimas pectinesterase, como parte do ciclo de crescimento das mesmas através de um processo dinâmico, quase estacionário, fazendo com que elas possam ter diferentes graus de metilação (GM). Além do mais na absorção dos nutrientes as pectinas desempenham importante papel.

Os solos ácidos constituem um problema sério para as plantas, devido a que geralmente apresentam deficiência de cálcio, magnésio, potássio, fosfato, e zinco. A elevada acidez provoca também um aumento da concentração de alumínio trocável, tóxico para as plantas, constituindo-se no fator determinante da baixa fertilidade destes solos, como acontece nos cerrados. Aproximadamente 25% do território brasileiro está constituído de cerrado, atingindo uma área de 205 milhões de hectares (86 - 89).

Foi sugerido que é melhor correlacionar a toxidez do Al, com a soma Al^{3+} , $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$. Foram apresentadas evidências que $Al(OH)^{2+}$ e $Al(OH)_2^+$, são as principais espécies tóxicas nas plantas dicotiledôneas, sendo que o Al^{3+} é a principal espécie tóxica em monocotiledôneas(90).

O principal sintoma da toxidez deste elemento nas plantas é a rápida inibição do crescimento, fundamentalmente na extremidade da raiz. Devido à presença das espécies mencionadas acima, foi observado redução de crescimento de raízes de abóboreiras jovens cultivadas em solução, inibindo o alongamento das células associadas com o metabolismo dos polissacarídeos das paredes celulares. A inibição aparece 1 hora depois do tratamento destas raízes com sais de alumínio, sendo significativo depois de 3 horas, e mais aparente ainda depois de 6 horas, como pode-se observar na fig.16 (91).

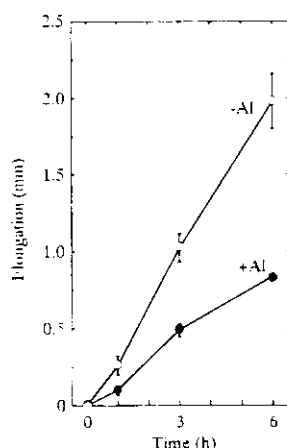


Fig. 16 Efeito do Al sobre crescimento de raízes de abóboreiras em um tempo de tratamento de 6 horas. Crescimento sem Al (○), crescimento com 1mM $AlCl_3$ (●) (91).

1.4.1 O mecanismo de toxidez do Al

Os mecanismos de toxidez de Al nas plantas incluem (90):

a) Transporte do íon através da membrana do plasma das células das raízes.

As espécies iônicas do Al ligados às proteínas, poderiam atravessar a membrana do plasma, bloqueando canais de sistemas de transporte de íons específicos dentro das células. Desta maneira é inibido fluxo de íons Ca, K e provavelmente Mg, importantes para o crescimento da raiz. Aparentemente o bloqueio do primeiro íon, impede importantes transformações no citoplasma, necessárias à divisão celular.

b) Interações com constituintes simplásmicos como a proteína calmodulina.

Uma das espécies iônicas do Al (provavelmente o Al^{3+}), substitui os íons Ca^{2+} nos sítios de ligação da proteína calmodulina, e produz mudanças conformacionais que inibem a sua habilidade para ativar as enzimas fosfodiesterase, a qual deve ter alguma relação com a divisão das células na raiz.

1.4.2 Tolerância das plantas ao alumínio

Existem muitas plantas que apresentam mecanismo de tolerância ao alumínio, como o caso do trigo, o milho, o arroz, abóbora, etc.

A tolerância das plantas ao Al pode ser classificada em (92):

a) Mecanismo de exclusão do Al na extremidade da raiz.

Neste mecanismo evita-se que o metal atravesse a membrana do plasma, entre no simplasma e alcance sítios intracelulares sensíveis, podendo ocorrer:

a-1) Imobilização de Al nas paredes celulares

Neste caso, especula-se que as propriedades químicas das pectinas, nestas paredes, principalmente o grau de metilação (GM), tem uma função importante na tolerância do metal pelas plantas. Na ausência de Al, as pectinas regulam o acesso de íons na membrana do plasma, atuando como uma "peneira iônica". Com a presença do Al, este ocuparia os sítios de troca catiônica da pectina, deslocando os cátions

essenciais, produzindo a precipitação da mesma e perda de sua função regulatória. Portanto, um grau de metilação alto nas pectinas conduziria a uma menor capacidade de troca catiônica (CTC), menor quantidade de Al ligado nas substâncias pécicas e em conseqüência reduzida toxicidade(90, 92).

a-2) Permeabilidade seletiva da membrana do plasma

Esta membrana pode atuar como uma barreira seletiva na captação de Al, pois as espécies carregadas deste metal poderiam atravessar a mesma. Portanto, as características de carga superficial, na membrana, tem a importante função de regular o transporte de Al através da mesma. Desta maneira, a sua carga negativa poderia variar entre as espécies tolerante e sensível ao Al. Foi sugerido que uma superfície fortemente negativa resultaria em uma ligação mais forte do Al, fazendo que a membrana seja mais sensível a estas espécies. Por outro lado, a captação de Al através de endocitosis na membrana, poderia ser limitada por uma carga negativa superficial baixa.

a-3) Liberação de ligantes queladores

A exclusão do Al do simplasma poderia ocorrer quando ligantes queladores como os citratos, malatos, succinatos, oxalatos, são liberados na rizosfera, formando complexos estáveis com as espécies do metal, que se tornam não tóxicos às plantas. Este tipo de resistência ao Al ocorre nos cultivares de trigo (93) e milho (94).

a-4) Desprendimento de fosfatos

Foi notado em cultivos de algumas espécies, beterraba por exemplo, que na presença de Al o fosfato forma complexos insolúveis, provavelmente $Al(OH)_2 \cdot H_2PO_4$, que precipitando no espaço livre das raízes, minimizam os efeitos tóxicos do metal na superfície da membrana(92).

b) Mecanismo de tolerância interna

Neste caso, o metal entra no simplasma e a tolerância é conseguida por:

b-1) Imobilização no citosol

A imobilização é conseguida através da formação de complexos estáveis com quelatos orgânicos como citratos, malatos, carboxilatos, com proteínas como fitoquelatinas ou outros ligantes, no citosol (92).

b-2) Compartição no vacúolo

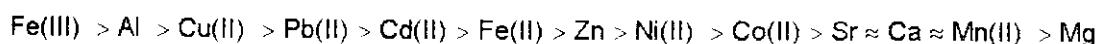
Uma hipótese alternativa é que a quantidade de Al, neste meio, é reduzida por precipitação com o fosfato, formando complexos insolúveis, como já foi mencionado, resultando em deficiência de fosfato, induzida por Al (92).

b-3) Desintoxicação por evolução de enzimas tolerantes ao Al

Se os mecanismos que prevêm a entrada de Al no simplasma, ou os mecanismos de desintoxicação não são efetivos, a tolerância de Al pelas plantas poderia ser alcançada através de enzimas com elevada atividade, que se encontram no citosol, como por exemplo a kinase NAD. Estas enzimas provavelmente ligadas ao Al, fazem com que as células, possam ter função normal na presença das espécies deste metal (92).

2. OBJETIVO DO TRABALHO

Com dados bibliográficos e de trabalhos anteriores efetuados em nosso laboratório, pode-se estabelecer uma ordem de preferência de íons nas pectinas (95 - 97):



Foi comprovado que os íons Fe(III) são reduzidos a íons Fe(II) pelas plantas, antes ou depois de serem absorvidos, e posteriormente deslocados através delas, onde em parte são eliminados por exudação nos galhos, folhas, etc. (98). Em conseqüência, nas raízes das plantas nas áreas dos cerrados ficam fundamentalmente os íons alumínio competindo com os nutrientes já bastante deficientes nestes solos. O alto conteúdo de alumínio nos solos torna-se então tóxico às plantas, com as seguintes conseqüências: deficiência no crescimento, casca muito espessa, caules lenhosos, folhas coriáceas e nervuradas, etc.

O objetivo deste trabalho é tentar interpretar as interações entre os pectinatos de alumínio com diferentes graus de metilação, obtidos por demetilação enzimática com pectinesterase de origem vegetal, e os íons de Fe(III), Cu(II), Mn(II), Zn(II) e Ca em solução aquosa a 298 K, em processos de troca iônica através da determinação das constantes de equilíbrio e, compará-las com as interações dos pectinatos de alumínio com diferentes graus de metilação obtidos por demetilação alcalina e os íons mencionados acima. O processo de troca iônica pode ser representado pela equação 7, como já foi mencionado.



Onde P representa o sítio ativo das pectinas e seu entorno molecular e M(OH)_i^+ as espécies hidrolisadas Fe(OH)_2^+ , Cu(OH)^+ , Mn(OH)^+ , Zn(OH)^+ e Ca(OH)^+ .

Espera-se que estes resultados possam contribuir para uma melhor compreensão destas questões relativas à intoxicação das plantas pelo alumínio.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Neste trabalho todas as soluções foram preparadas utilizando-se água bidestilada, com uma condutância específica de $18,2 \text{ M}\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ e $\text{pH} = 5,86$. Esta consideração é importante devido a que as faixas de concentrações dos íons metálicos no equilíbrio de troca iônica são baixas (10^{-3} a 10^{-4} M), e uma eventual presença de impurezas na água utilizada conduziria a resultados de análise não confiáveis.

Durante todo o trabalho foram utilizados frascos de vidro borossilicato, constatando-se que adsorvem através de suas paredes alguns íons como Al, Fe, etc. (99). Para evitar este problema, todos os materiais de transferência (pipetas, buretas, etc.) foram sempre lavados duas ou três vezes com a solução a ser transferida, permitindo-se desta maneira a saturação das paredes dos frascos com os íons mencionados. Os processos de troca iônica entre os pectinatos de alumínio e os íons metálicos considerados, foram feitos em frascos de polietileno, porque não adsorvem em suas paredes os íons já mencionados(99).

No equilíbrio de troca iônica, alguns íons foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica [Cu(II), Mn(II)]. Todas as soluções destes íons foram sempre diluídas em meio HNO_3 0,1M, pelas seguintes razões:(100).

- Evitar a adsorção dos íons pelas paredes dos recipientes de transferência.
- Evitar a hidrólise dos íons na solução.
- Neste meio, as soluções são estáveis por períodos mais longos de tempo para casos de adiamento de leitura no espectrofotômetro.

Na determinação espectrofotométrica na fase aquosa dos íons Fe^{3+} , com ortofenantrolina, e dos íons Ca^{2+} e Zn^{2+} através da determinação dos íons Al^{3+} com cromoazurol-s, procedeu-se da maneira seguinte:

A todas as soluções dos íons, adicionou-se $1,0 \text{ cm}^3$ de HNO_3 0,01M, o corante e a solução tampão ácido acético/acetato de sódio 0,2M de $\text{pH} = 5$. Desta maneira evita-se a adsorção dos íons a serem determinados nas paredes dos recipientes, pela competição dos íons H^+ e Na^+ pelos sítios ativos dos silicatos.

3.1 Reagentes e aparelhos

Todos os sais dos íons metálicos utilizados foram nitratos de pureza analítica (Merck ou Carlo Erba), pectina cítrica (Sigma artigo P 9135), pectinesterase vegetal, E.C. 3.1.1.11 (Sigma artigo P 6763).

Os aparelhos utilizados neste trabalho foram:

-Um pH-metro DMPH-2 Digimed, para caracterização das pectinas purificadas, metiladas ou demetiladas, através de titulações potenciométricas com um álcali.

-Um espectrofotômetro Micronal B 380 para titulações espectrofotométricas dos íons em solução.

-Um espectrofotômetro Beckman DU 640 para a determinação dos íons ferro e alumínio em solução aquosa.

-Um espectrofotômetro de absorção atômica Perkin Elmer modelo 5000, para a determinação da concentração de alguns íons no equilíbrio do processo de troca iônica.

-Um fluorímetro Spex Fluorolog II, para obtenção de espectros de excitação e emissão do európio imbuído nos pectinatos de alumínio obtidos por hidrólise alcalina e enzimática.

-Um espectrofotômetro FT-IR 16 PC Perkin Elmer acoplado a um microscópio ótico para obter espectros infravermelho dos pectinatos de alumínio obtidos nos dois processos já mencionados.

-Um difractômetro de raios X, XD3A Shimadzu para obter difratogramas de raios -X das amostras obtidas nos dois processos de hidrólise.

-Um analisador térmico Dupont Instruments modelo 951 para realizar as determinações termogravimétricas (TGA) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC).

-Um agitador mecânico adaptado dentro de um banho termostatizado, onde foram colocados as amostras para efetuar a troca iônica, em frascos de polietileno hermeticamente fechados com aproximadamente 30 cm³ de capacidades cada um (vide fig. 16).

3.2 Procedimentos

3.2.1 Purificação da pectina

A pectina original foi purificada lavando-a varias vezes com etanol 60% acidificado (5 cm³ de HCl concentrado em 100 cm³ de etanol 60%), etanol 60% e 96% respectivamente (39), até a solução ficar incolor e a eliminação total dos ions Cl⁻ comprovada pela não precipitação de AgCl, ao ser adicionada solução de AgNO₃ 0,1M a uma aliquota da parte sobrenadante. A amostra foi seca no vácuo a aproximadamente 40°C, e apresentou um resultado de grau de metilação GM igual a (48,1 ± 0,3) %, determinado por titulações potenciométricas.

3.2.2 Metilação da pectina

Uma certa massa de pectina (aprox. 30g) purificada e seca, foi colocada em um frasco de 500 cm³ com uma solução de metanol acidificada com H₂SO₄ 1M, mantido em agitação continua e a velocidade constante durante 4 semanas a uma temperatura aproximada de 3°C (39). Para se atingir a temperatura mencionada, foi colocado gelo ao redor do recipiente que contem a solução, dentro de uma caixa de Isopor, tampado e mantido durante todo o tempo na geladeira. Depois a amostra foi lavada, como no item anterior, até a eliminação dos ions SO₄²⁻ comprovada pela não precipitação de BaSO₄, quando foi adicionada uma solução de BaCl₂ aproximadamente 0,1M, a uma aliquota da parte sobrenadante. Depois de seca, foi caracterizada por titulações potenciométricas para a determinação dos grupos carboxilas livres, totais, e do grau de metilação (GM). Para tal, 30 mg de pectina foi dissolvida em 50 cm³ de água por agitação continua, adicionado-se uma camada de tolueno na solução para impedir a entrada de CO₂ do meio ambiente. Titulou-se a solução com NaOH 0,01M acompanhando a titulação com um pH-metro. Após atingir o ponto final da titulação adicionou-se um excesso de NaOH 0,01M agitando durante uma hora para que todos os grupos carboxilas da macromolécula reagissem com o hidróxido. A seguir o excesso de álcali foi titulado com HCl 0,01M. O volume de NaOH utilizado na primerira determinação de grupos COO⁻ foi de 0,81 cm³, sendo o excesso de álcali adicionado igual a 13 cm³ (para a determinação dos grupos carboxilas totais). O volume de HCl utilizado na titulação deste excesso foi de 1,96 cm³. Os resultados, em triplicata e os valores médios de cada resultado, são apresentados na tabela 4, no cap. 4 Resultados e Discussão.

3.2.3 Demetilação da pectina

A partir da amostra de pectina metilada (92,9 % GM), foram preparadas 4 amostras com diferentes graus de metilação GM, através do método de hidrólise enzimática com pectinesterase(39). Uma solução de 0,8% desta pectina altamente metilada, foi incubada a temperatura ambiente com a enzima pectinesterase. Durante a incubação, a solução foi mantida a pH = 7 por adição contínua de uma solução de NaOH 0,1M. Depois de obter o grau de metilação desejado, a enzima foi desativada colocando a solução em um banho de água quente durante aproximadamente 15 minutos. A seguir a amostra foi resfriada e precipitada com etanol 60% acidificado com HCl 0,33M, filtrada, lavada, seca e caracterizada como descrito em 3.2.1. A quantidade de massa de pectina e enzima utilizada, o tempo de incubação para cada amostra, e os resultados da caracterização são apresentados nas tabelas 5 e 6, no cap. 4 Resultados e Discussão.

3.2.4 Preparação das amostras de pectinatos de alumínio (PAI)

Com as amostras de pectinas, foram preparadas soluções aquosas entre (0,4 - 0,8)%. Mantendo-se as soluções em agitação contínua em uma faixa de pH 3,4 - 4,3 (adição de NaOH 0,1M), adicionou-se lentamente uma solução de $AlCl_3$ 0,1M, precipitando pectinatos de alumínio em estado gelatinoso(101). Durante este processo, o pH da solução diminui, pois os íons H^+ da macromolécula são substituídos pela espécie $Al(OH)_2^+$. Esta situação é contornada adicionando periodicamente uma solução de NaOH 0,1M, mantendo desta maneira o pH da solução dentro da faixa mencionada. A lavagem das amostras com água bidestilada foi feita várias vezes até eliminação total dos íons Cl^- , por centrifugação a velocidades de 1000 r.p.m., durante períodos de cinco minutos aproximadamente. A seguir foram secas a vácuo, com aquecimento em banho de água até 40°C, trituradas e secas novamente, foram caracterizadas determinando os íons alumínio nos pectinatos sólidos, através do método de titulação espectrofotométrica do excesso de EDTA, com solução de zinco padrão e xilenol orange, no comprimento de onda $\lambda = 440nm$ (102). Os resultados das determinações são apresentados na tabela 7, no cap. mencionado no item anterior.

3.2.5 Determinação dos grupos OH^- ligados com os alumínio nos pectinatos

Para conhecer a espécie de alumínio ligada aos grupos carboxilas livres nos pectinatos é importante determinar a relação $Al : OH^-$. A uma certa massa de amostra (25 mg), adicionou-se uma solução de fluoreto de sódio ou potássio acidulada com

um excesso de solução padronizada de HCl 0,01M, titulando-se o excesso potenciometricamente com uma solução padronizada de NaOH 0,01M. Os resultados das determinações são apresentados na tabela 7.

A reação pode ser representada como :(101)



3.2.6 Troca iônica entre os pectinatos de alumínio (PAI), com diferentes graus de metilação (GM), e os íons de zinco, ferro (III), cobre (II) cálcio e manganês(II).

Amostras de pectinato de alumínio de 20 a 50 mg, foram colocados em frascos de polietileno de aproximadamente 30 cm³ de capacidade, juntamente com as soluções de nitratos de um dos íons considerados, e mantidos herméticamente fechados. Estes frascos foram presos na mesa de um agitador mecânico através de ganchos de aço e de elástico, dentro de um banho de água termostaticado a (298 ± 1) K como apresentado na fig 17, onde foram realizados o processo de troca iônica, até atingirem o equilíbrio.

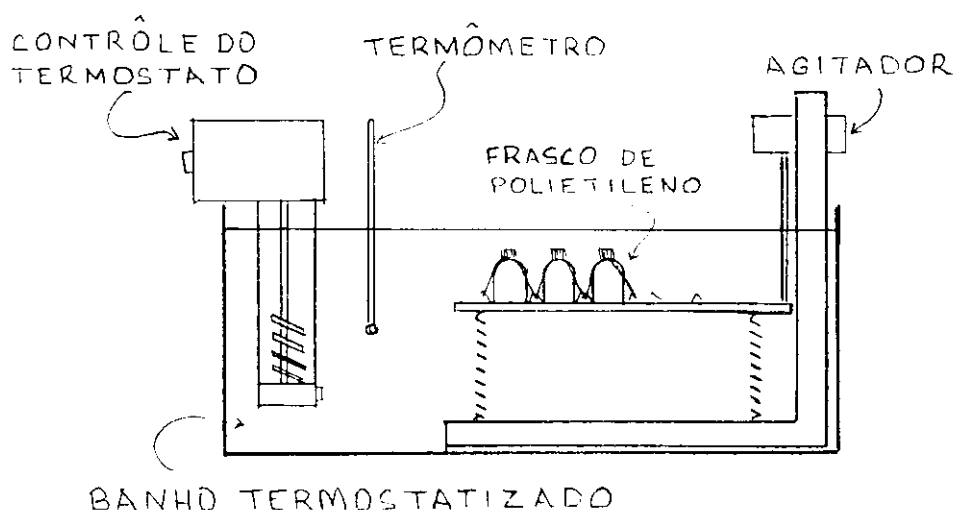


fig 17. Agitador mecânico dentro do banho termostaticado a 298 K.

Para cada amostra de pectinato de alumínio, com um determinado GM, preparou-se de seis a oito soluções de nitrato metálico com diferentes concentrações iniciais, perfazendo um total de 24 a 32 frascos na plataforma do agitador.

As determinações dos íons nas duas fases, líquida e sólida, foram feitas em duplicata perfazendo um total de aproximadamente 400 análises. Nas tabelas 15 até 34, no apêndice II, são apresentados os valores das concentrações dos íons no equilíbrio, após o processo de troca iônica.

A concentração inicial dos íons em solução (inclusive os íons Eu^{3+}), foram determinadas pelo método de titulação espectrofotométrica do excesso de EDTA com solução de zinco padrão (102).

De tempos em tempos determinou-se as concentrações dos íons ferro, cobre, manganês e alumínio (para os casos dos íons zinco, cálcio e európio), na fase líquida da solução, para se estabelecer o tempo em que cada processo atinge o equilíbrio.

Após o processo ter atingido o equilíbrio, os íons $\text{Fe} (\text{III})$ foram reduzidos a $\text{Fe} (\text{II})$, com cloridrato de hidroxilamina, e determinados pelo método espectrofotométrico com 1,10 fenantrolina, no comprimento de onda $\lambda = 510 \text{ nm}$ (103).

Os íons de $\text{Cu} (\text{II})$ e $\text{Mn} (\text{II})$, foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica no comprimento de onda $\lambda = 324,8 \text{ nm}$ e $\lambda = 280,1 \text{ nm}$ respectivamente (100). Os íons de Zn , Ca e $\text{Eu} (\text{III})$, foram determinados indiretamente através da determinação dos íons alumínio na solução, pelo método do cromoazurol S (CAS), no comprimento de onda $\lambda = 546 \text{ nm}$. (104 - 106). A concentração do íon alumínio na fase aquosa é igual à concentração dos íons mencionados na fase sólida pois a relação estequiométrica $|\text{Al} : \text{Zn}|$, $|\text{Al} : \text{Ca}|$ e $|\text{Al} : \text{Eu} (\text{III})|$ é 1 : 1, como apresentados na tabela 11 e 14 no cap. 4 de Resultados e Discussão.

Para se determinar a concentração dos íons [alumínio + metal] na fase sólida, separou-se as duas fases por filtração através de um funil de Büchner, lavando-se várias vezes com água para ter certeza que os íons da fase líquida foram totalmente eliminados da fase sólida. A seguir, dissolveu-se com um excesso de EDTA, sendo o excesso titulado com solução de zinco padrão (como já mencionado anteriormente). Se o resultado da titulação for igual à quantidade de íons alumínio inicial, conhecida através da pesagem do pectinato de alumínio, indicará uma estequiometria 1:1, como efetivamente acontece neste trabalho para todos os íons considerados.

Conhecendo-se a quantidade inicial de íons alumínio na fase sólida, a concentração inicial do metal considerado que irá trocar o alumínio no pectinato, a

concentração do alumínio na fase aquosa uma vez atingido o equilíbrio, e a estequiometria da reação, pode-se calcular a concentração dos metais em ambas as fases e a constante de equilíbrio do processo. Expressando em forma de equações temos:

$$\begin{aligned}n(\text{Al}) &= n_i(\text{Al}) - [\text{Al}] \cdot v \\n(\text{M}) &= (1 / z-i) \cdot [\text{Al}] \cdot v \\[\text{M}] &= [\text{M}]_i - (1 / z-i) \cdot [\text{Al}]\end{aligned}$$

Através destes parâmetros pode-se calcular também a fração molar X na fase sólida dos íons alumínio e o metal considerado.

$$\begin{aligned}X(\text{Al}) &= n(\text{Al}) / [n(\text{Al}) + (z-i) \cdot n(\text{M})] \\X(\text{M}) &= (z-i)n(\text{M}) / [(z-i)n(\text{M}) + n(\text{Al})]\end{aligned}$$

onde: $n(\text{Al})$ = quantidade de íons alumínio na fase sólida no equilíbrio do processo
 $n_i(\text{Al})$ = quantidade inicial de íons alumínio na fase sólida.
 $n(\text{M})$ = quantidade de íons metálicos na fase sólida no equilíbrio do processo.

[] = concentração.

v = volume da solução = 24,9 cm³ em todos os casos.

3.2.7 Preparação e purificação do corante cromoazurol-S utilizado na determinação da concentração do alumínio.

O cromoazurol-S tem sido amplamente utilizado na determinação de alumínio em ligas metálicas a materiais biológicos(104), porém, discrepâncias encontradas nos valores de constante de estabilidade e absorvidade molar tem sido atribuídas a impurezas (sulfatos, materiais insolúveis, água de cristalização, etc.), que em alguns casos excedem 40%, das distintas fontes do reagente utilizado (Merck, Chemapol, Fluka) (105). Em vista disto purificou-se o corante a ser utilizado preparando uma solução de 6% que posteriormente foi filtrado. A seguir, adicionou-se à solução uma determinada quantidade de HCl concentrado precipitando o corante, que foi novamente filtrado, lavado com HCl 2M, e seco a vácuo (104). A titulação potenciométrica do composto final mostrou um grau de pureza de 96,5%.

3.3 Estudo do contorno molecular dos sítios ativos dos pectinatos de alumínio

Para se ter alguma indicação do contorno molecular dos sítios ativos dos pectinatos de alumínio utilizados, obtidos pelos processos de demetilação enzimática e alcalina, foi feito um estudo de fluorescência, de absorção no infravermelho, e de difração de raios - X destas amostras. No caso da primeira técnica mencionada foram feitas trocas iônicas dos pectinatos com os ions de Eu(III) (solução de EuCl_3), a fim de aproveitar a propriedade de fluorescência deste elemento dentro da macromolécula, determinar o tempo necessário para se atingir o equilíbrio, e a estequiometria do processo. Para a obtenção dos espectros, as amostras foram colocadas em capilares de vidros borosilicatos em um espectrofluorímetro Spex fluorog II utilizando lâmpadas de Xe de 450 W contínua. Na determinação do tempo de relaxação das macromoléculas foi utilizado o acessório 193HD com lâmpadas de Xe de 150w pulsada ($\approx 3 \mu\text{s}$).

3.4 Análises Térmicas

Para se ter algumas informações sobre o comportamento térmico dos pectinatos de alumínio, foram feitas determinações termogravimétricas (TGA) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC), obtendo-se os respectivos termogramas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise das amostras de pectinas

A pectina metilada foi analisada através de titulações potenciométricas pelo método de Gran (107), determinando-se a quantidade de grupos carboxilas livres, totais e o grau de metilação. Na tabela 4 são apresentados os resultados em triplicata e os valores médios dessas determinações.

Tabela 4. Quantidades de grupos carboxilas livres (COO^-), totais ($\text{COO}_{\text{total}}$) e grau de metilação (GM), da amostra de pectina metilada.

mmol COO^- / g de pectina	mmol $\text{COO}_{\text{total}}$ / g de pectina	GM
0,27 ± 0,01	3,95 ± 0,01	93 ± 4
0,26 ± 0,02	3,96 ± 0,02	93 ± 7
0,31 ± 0,03	3,91 ± 0,03	92 ± 9
média 0,28 ± 0,02	3,94 ± 0,02	93 ± 7

As quatro amostras de pectinas demetiladas com pectinesterase foram também caracterizadas, obtendo-se os resultados das tabelas 5 e 6.

Tabela 5. massa de pectinas e de enzimas utilizadas no processo de demetilação, tempo de reação e grau de metilação, obtidas a partir da pectina metilada (GM = 93).

Amostra	massa pectina / g	massa enzima / mg	tempo / horas	GM
1	4,00	1,03	1,00	68 ± 1
2	3,00	1,50	1,83	54,1 ± 0,3
3	6,00	4,90	2,17	43,9 ± 0,2
4	12,80	6,43	3,00	37,5 ± 0,2

Tabela 6. Quantidade de grupos carboxilas livres (COO^-), totais ($\text{COO}_{\text{total}}$), e grau de metilação, das amostras de pectinas obtidas por demetilação com pectinesterase.

Amostra	mmol COO^- / g pectina	mmol $\text{COO}_{\text{total}}$ / g pectina	GM
1	$1,26 \pm 0,01$	$3,89 \pm 0,06$	68 ± 1
2	$1,75 \pm 0,01$	$3,81 \pm 0,01$	$54,1 \pm 0,3$
3	$2,31 \pm 0,01$	$4,12 \pm 0,01$	$43,9 \pm 0,2$
4	$2,47 \pm 0,01$	$3,95 \pm 0,01$	$37,5 \pm 0,2$

Como já foi mencionado, na demetilação enzimática com pectinesterase de origem vegetal, a distribuição dos grupos carboxilas livres e metiladas na macromolécula é em bloco, porque as enzimas hidrolizam os grupos metil ester adjacentes aos grupos carboxilas livres (9,108,39). Entretanto na demetilação alcalina, ácida ou com pectinesterase de origem microbiana, essa distribuição é aleatória(9, 39). Em consequência, no primeiro caso existem maiores densidades de cargas elétricas em certas regiões da macromolécula. O esquema de distribuição de cargas elétricas nos polielérolitos tem influência significativa nas propriedades fisicoquímicas como formação de gel, ligação de cátions, seletividade de troca iônica, coeficientes de atividades dos íons, coeficientes de difusão, etc. A força de interação entre os íons (contraíons), e os grupos carboxilas livres da macromolécula, será então maior no caso da demetilação por hidrólise enzimática de origem vegetal, como acontece com o pectinato de cálcio e que foi verificado pela determinação dos coeficientes de atividades dos íons cálcio nos casos mencionados(9). Além da densidade de carga elétrica, outro fator importante é o comprimento dos segmentos carregados. A constante de estabilidade do pectinato de cálcio, demetilado com pectinesterase, com alta densidade de carga ($\text{GM} = 0$), e do pectato de cálcio (os grupos carboxilas não estão metil-esterificados) foram medidos, sendo esta maior na segunda amostra pois as enzimas produzem segmentos mais curtos de grupos carboxilas livres dentro do pectinato, que no caso do pectato(9).

Os pectinatos de alumínio, obtidos a partir das pectinas demetiladas enzimaticamente, foram caracterizadas através da determinação de quantidades de íons de alumínio trocáveis por grama de amostra (capacidade específica de troca iônica), quantidades de OH^- , relação de Al : OH na macromolécula, e a quantidade de OH^- corrigidas (ver adiante) apresentados na tabela 7 embaixo.

Tabela 7. Caracterização dos pectinatos de alumínio (PAI), obtidos de pectinas com diferentes graus de metilação (GM), e AlCl_3 0,1M.

Amostras	mmol alumínio / / g de PAI	mmol OH^- / / g de PAI	mmol OH^- corr. / g PAI	Quant. OH^- corr. / quant.Al	GM
1	$1,00 \pm 0,01$	$1,49 \pm 0,01$	$1,68 \pm 0,01$	$1,68 \pm 0,02$	68 ± 1
2	$1,26 \pm 0,03$	$2,11 \pm 0,01$	$2,48 \pm 0,03$	$1,97 \pm 0,05$	$54,1 \pm 0,3$
3	$1,50 \pm 0,02$	$2,40 \pm 0,03$	$3,02 \pm 0,04$	$2,01 \pm 0,04$	$43,9 \pm 0,2$
4	$1,65 \pm 0,01$	$3,12 \pm 0,06$	$3,72 \pm 0,06$	$2,25 \pm 0,04$	$37,5 \pm 0,2$

Devido à substituição do hidrogênio dos grupos carboxilas livres na macromolécula pelos alumínio, elemento com massa atômica maior durante a formação dos pectinatos de alumínio, a amostra sofre um aumento de massa, em consequência, é necessário corrigir a quantidade de grupos carboxilas livres (COO^-) / g de pectinato de alumínio formado, com relação a um grama de pectina, para se determinar a quantidade de íons hidrogênio que não foram substituídos pelo íon metálico e o número de íons OH^- ligados aos íons mencionados.

As correções foram feitas da maneira seguinte:

a) Correção da massa e da quantidade de grupos carboxilas livres no pectinato de alumínio com relação a 1 grama de pectina:

massa de PAI corrigida = 1 g de pectina - massa de H que sai + massa de Al que entra. No caso da amostra 1 tem-se: massa do PAI corrigida = 1 g de pectina - $1,26 \times 10^{-3}$ g H^+ + $6,1 \times 10^{-2}$ g $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ = 1,06 g. Em 1,06 g de PAI tem-se 1,26 mmol de grupos carboxilas livres e em 1,00 g de PAI tem-se então 1,19 mmol de grupos carboxilas livres.

b) A quantidade de íons H^+ livres / g PAI será igual à diferença entre a quantidade de grupos carboxilas livres e a quantidade de espécies $Al(OH)_2^+$ ligados à macromolécula. Na amostra 1: $mmol H^+ / g PAI = 1,19 mmol COO^- - 1,00 mmol Al(OH)_2^+ = 0,19$

c) A quantidade de íons OH^- corrigido / g PAI será então: $mmol OH^- = mmol de OH^- obtido por titulação + mmol de H^+$. Na amostra 1: $mmol de OH^- = 1,49 mmol OH^- + 0,19 mmol H^+ = 1,68$.

d) A quantidade de íons OH^- corrigido / quantidade de espécie iônica $Al(OH)_2^+ = 1,68 / 1,00 = 1,68$, também na amostra 1.

Considerando-se a quantidade de grupos carboxilas livres corrigida e a quantidade da espécie de alumínio que substitue os íon H^+ na macromolécula durante a formação dos pectinatos de alumínio(ver tabelas 6 e 7), observa-se que a substituição não é total, sendo de 84,0% no caso da amostra 1, acontecendo o mesmo com as outras amostras. Isto deve-se provavelmente a impedimentos estéricos causados pela heterogeneidade na distância entre as cargas no polieletrólito. A relação $Al : OH^-$ sem correção é de 1 : 1,89 na amostra 4 (o maior resultado entre os quatro considerados), demonstrando que a espécie principal ligada aos grupos funcionais da macromolécula é $Al(OH)_2^+$ e confirmada pela faixa de pH 3,6 - 4,8 de trabalho (os íons de alumínio hidrolizam-se a partir de pH = 3, aproximadamente)(109). Pode-se notar também que quanto maior é o número de sítios disponíveis na macromolécula, maior é a quantidade de espécies $Al(OH)_2^+$ que substituem os íons de H^+ . Isto é verificado pela quantidade cada vez maior dos íons alumínio / g de macromolécula (aumento da capacidade específica de troca iônica) da amostra 1 à 4, ou seja com diminuição de GM.

Se consideramos a relação quantidade de íons alumínio / quantidade de grupos carboxilas livres, na macromolécula, por grama de amostra, o resultado é 0,84 para a amostra 1 (maior resultado), e 0,71 para a amostra 3 (menor resultado), entre todas as amostras consideradas. Estes resultados, que são menores que um, indicam que cada espécie $Al(OH)_2^+$ está ligada a cada grupo carboxila livre (COO^-) na macromolécula, sendo este o único grupo ativo, embora outras interações intra ou extramoleculares possam acontecer com os grupos OH^- da cadeia piranósica.

Se a substituição dos íons H^+ pelas espécies $Al(OH)_2^+$ fosse total, a relação na macromolécula entre os parâmetros mencionados seria unitária em todos os casos considerados.

4.2 Troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com diferentes graus de metilação (GM), e os íons de zinco, ferro (III), cálcio, cobre (II) e manganês (II).

O estudo da troca iônica envolve a determinação de uma série de parâmetros como o tempo necessário para se atingir o equilíbrio, estequiometria da reação no equilíbrio, etc., até chegar ao parâmetro fundamental do trabalho que é a determinação da constante de equilíbrio. A seguir são apresentados os valores destes parâmetros mencionados para sua posterior discussão.

4.2.1 Determinação do tempo para se atingir o equilíbrio.

Para se conhecer o tempo em que o sistema de troca iônica da macromolécula e os íons considerados atingem o equilíbrio, determinou-se as concentrações de cada íon na fase líquida em intervalos programados. Os tempos encontrados estão apresentados na tabela 8, onde estão também os tempos respectivos para os pectinatos da hidrólise alcalina (99).

Os tempos foram determinados através dos gráficos de concentração do íon na solução em função do tempo, mostradas na fig. 17.

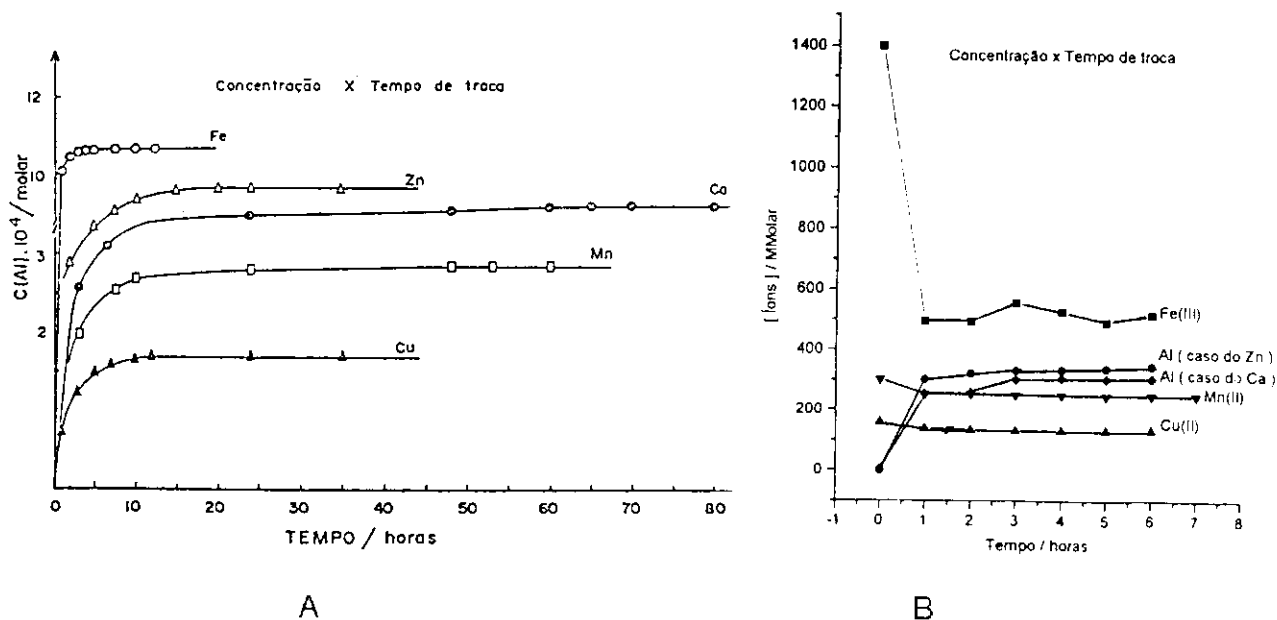


Fig 17 Concentração de íons em solução em função do tempo, no processo de troca iônica dos pectinatos de alumínio com diferentes graus de metilação. O gráfico A refere-se às amostras demetiladas através de hidrólise alcalina (99), e B por hidrólise enzimática.

Tabela 8. Tempo para se alcançar o equilíbrio na troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), obtidos nos dois processos de demetilação e os íons estudados.

Íons	tempo / horas	
	hidrólise alcalina (99)	hidrólise enzimática
Fe(III)	5	2
Cu(II)	12	2
Mn(II)	50	1
Zn	20	3
Ca	70	3

Observando os resultados dos dois casos, pode-se constatar que a troca iônica dos pectinatos do processo de demetilação enzimática, atingem o equilíbrio muito mais rapidamente que os da demetilação alcalina. Para explicar esta diferença, que para alguns íons é bastante significativa (cálcio e manganês), é preciso considerar os parâmetros que influenciam na cinética de troca iônica dos polieletrólitos com esses íons.

A densidade de carga elétrica linear ϵ , é fundamental no comportamento das macromoléculas (como já foi mencionado). Por outro lado, ela varia de forma proporcionalmente inversa à distância média b , entre as cargas dos grupos funcionais dos polieletrólitos, que por sua vez aumenta com o aumento do grau de metilação. Falando de outra maneira, quanto maior é o grau de metilação na macromolécula, maior é a distância média b entre as cargas dos grupos funcionais, e menor a densidade de carga linear ϵ . Na tabela 9 são apresentados os valores de b e ϵ , calculados nos dois processos de demetilação através da relação apresentada na introdução, com $b_0 = 4,35 \text{ \AA}$ (distância média entre os grupos fixos do pectato de cálcio).

Tabela 9. Valores da distância média entre as cargas (b), e densidades de carga linear (ϵ) dos pectinatos de alumínio, com diferentes graus de metilação (GM) obtidos pelos dois processos de demetilação.

Amostra	Demetilação alcalina (99)			Demetilação enzimática		
	GM	$b \cdot 10^8 / \text{cm}$	ϵ	GM	$b \cdot 10^8 / \text{cm}$	ϵ
1	0,73	16,11	0,44	0,68	13,59	0,53
2	0,64	12,08	0,59	0,54	9,46	0,75
3	0,50	8,70	0,82	0,44	7,77	0,92
4	0,41	7,37	0,97	0,38	7,02	1,02

Se comparamos os valores de ϵ de cada amostra nos dois processos, vemos que as amostras da demetilação enzimática tem ϵ maior porque os graus de metilação são menores em todos os casos. Neste caso trata-se de uma troca iônica ordinária (mera substituição de íons na macromolécula), e como todas as soluções são bastante diluídas o mais provável é que a troca iônica seja controlada por difusão de filmes. Aplicando o modelo Nernst Planck a este tipo de processo de troca iônica, a fração que atinge o equilíbrio $F(t)$, é expressa como (110):

$$F(t) = 1 - \exp(-3Dct / r_0 \delta c_p) \quad (\text{eq. 21})$$

c = concentração da solução.

δ = espessura do filme no contato entre a fase líquida e sólida da solução.

r_0 = raio das partículas.

c_p = concentração dos grupos iônicos fixados na partícula.

t = tempo em que o processo atinge o equilíbrio.

D = coeficiente de difusão das espécies iônicas consideradas.

Se t é explicitado na equação 21, poderá se observar que este depende diretamente de r_0 , de δ , de c_p ; e é inversamente proporcional à c e D . Observando cada parâmetro que influencia t pode-se expressar que: r_0 vai ter a mesma influência em todos os casos pois considera-se as mesmas espécies iônicas nos dois processos.

Embora o trabalho tenha sido levado a cabo em soluções suficientemente diluídas, as concentrações (c) poderiam ter influência razoável no caso dos íons cobre e manganês, pois são aproximadamente dez e cem vezes mais diluídas no caso das pectinas demetiladas enzimaticamente que na alcalina. Os outros íons tem mais ou menos a mesma faixa de concentração como pode-se observar na tabela 10, portanto a influência deste parâmetro pode ser aproximadamente a mesma.

Tabela 10. Faixa de concentração dos íons utilizados na troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com diferentes graus de metilação (GM), obtidos pelos dois processos de demetilação.

Íons	Intervalo de concentração / mmol.dm^{-3}	
	Demetilação alcalina(99)	Demetilação enzimática
Fe(III)	0,72 - 2,73	0,65 - 2,30
Zn	5,80 - 44,5	10,0 - 150,0
Cu(II)	4,10 - 37,20	0,15 - 2,80
Mn(II)	47,30 - 381,10	0,30 - 3,50
Ca	38,7 - 428,8	5,60 - 531,5

Como os dois trabalhos foram efetuados praticamente com as mesmas amostras, embora com grau de metilação ligeiramente diferentes, e os mesmos íons, é de se esperar que as espessuras do filme (δ) não sejam diferentes e tenham influenciado da mesma forma o tempo de equilíbrio nos dois processos. O último parâmetro, e provavelmente o que mais influência tem sobre o tempo (t), é o coeficiente de difusão (D). No parâmetro b (distância média entre as cargas fixas), não se considera a distribuição das cargas livres (distribuição aleatória ou em bloco). Portanto, como aparecem gradientes de potenciais elétricos devido às cargas na macromolécula, no caso das amostras submetidas à demetilação enzimática haverá sempre maiores gradientes de potenciais elétricos nas regiões onde se encontram as cargas livres em bloco ou, haverá maior densidades de cargas elétricas ϵ nessas regiões que nas outras regiões de menor carga. Sugere-se então que haverá uma distribuição não uniforme de ϵ locais na macromolécula que terão provavelmente maior influência sobre D , ainda que os ϵ totais fossem iguais nos dois processos, sendo portanto os

seus valores maiores em todos os casos das amostras da demetilação enzimática que na alcalina fazendo com que t seja menor no primeiro, como se observa na tabela 8.

4.2.2 Determinação da estequiometria na troca iônica.

É importante determinar a quantidade de íons da fase aquosa que substitue os íons de alumínio na fase sólida, quando o processo de troca iônica entre os pectinatos de alumínio e os íons considerados atingem o equilíbrio. A quantidade de íons alumínio na fase sólida, antes do início do processo de troca é conhecida, e se, no equilíbrio, essa quantidade inicial de alumínio é igual à quantidade de Al + íon trocado na mesma fase, a estequiometria do processo será então 1:1. Em caso contrário será diferente, que poderá ser estabelecido através das determinações dos íons na fase líquida ou sólida. As técnicas de determinação já foram mencionadas na parte experimental. Na tabela 11 são apresentados os resultados obtidos para cada íon considerado.

Pode-se observar que a estequiometria do processo foi praticamente 1:1 em todos os casos. No processo de troca iônica da hidrólise alcalina a estequiometria também foi 1:1 em todos os casos, exceto para a amostra 4 dos íons Fe(III) que apresenta estequiometria 2:1 (99).

Tabela 11. Resultados da determinação estequiométrica na troca iônica entre as amostras de pectinatos de alumínio (PAI) e os íons considerados.

massa PAI / g	mmol Al / g PAI	mmol Al.10 ² / massa PAI	Íons	[mmol(Al + íon)].10 ² em fase sol. no eq.	mmol (Al + íon) / mmol Al
0,04757	1,50	7,14	Fe(III)	7,19	1,01
0,06094	1,00	6,09	Zn	6,56	1,08
0,04506	1,00	4,81	Cu(II)	5,15	1,07
0,02297	1,00	2,30	Mn(II)	2,59	1,13
0,02400	1,00	2,40	Ca	2,20	0,92

4.2.3 Determinação da constante de equilíbrio estequiométrico K_e na troca iônica dos pectinatos de alumínio (PAI), com os íons considerados.

Nas tabelas 12 e 13 (pags. 56 e 57) são apresentados os valores da constante de equilíbrio estequiométrico K_e e os valores médios da troca iônica entre os pectinatos de alumínio e os íons considerados, determinados através da eq.21,

$\ln K_e = \int_0^1 \ln K \, dX(M)$, e considerando que $\ln K_e = \ln K$ para $X(M) = 0,5$, quando a função é linear (como já mencionado na introdução).

Nas tabelas 18 até 37 no apêndice II, são apresentados os dados referentes aos processos de troca iônica como massa de amostra utilizada, concentrações das espécies em solução no equilíbrio, frações molares, coeficientes de atividades médios iônicos, valores da constante de equilíbrio K para todas as concentrações de cada espécie considerada.

Na tabela 38, é apresentado para os dois processos de troca, os valores do coeficiente angular (m) dos gráficos de $\ln K$ em função da fração molar X dos íons entrantes no sólido.

4.2.4 Interações que influenciam no valor da constante de equilíbrio estequiométrico K_e do processo de troca iônica.

Como as soluções em todos os casos foram suficientemente diluídas, a adsorção de água pela fase sólida pode ser considerada desprezível, como foi mencionado na introdução. Por outro lado, as interações na fase líquida da solução foram corrigidas através dos valores dos coeficientes de atividades médios iônicos das espécies, e de acordo a resultados da tabela 11, as ligações foram de uma espécie iônica para cada sítio ativo do pectinato. Portanto as ligações em multisítios não afetaram os valores de K_e . Com os valores médios de K_e em ambos os processos, pode-se estabelecer uma ordem de preferência de ligação na macromolécula:

Da hidrólise alcalina (95,99) : Fe(III) > Al > Cu(II) > Zn > Mn(II) \approx Ca

Da hidrólise enzimática : Fe(III) > Al > Cu(II) > Mn(II) > Zn \approx Ca

Pode-se notar que as espécies trivalentes estão mais fortemente ligadas que as bivalentes nos dois processos.

Considerando os íons Mn(II) e Zn observa-se uma inversão na ordem de preferência com relação às pectinas da hidrólise enzimática com respeito às da hidrólise alcalina. Na tabela 38, pode-se notar que na da hidrólise alcalina o valor do coeficiente angular m , dos íons de zinco é maior que dos íons de Mn(II), em todos os casos, implicando isto em um maior efeito cooperativo (aumento de $\ln K$ em função de X_M). No caso das amostras da demetilação enzimática acontece uma mudança de comportamento dos íons Zn, que não apresentam um efeito cooperativo, mas sim um efeito competitivo, sendo estes provavelmente os fatores fundamentais que explicam essa inversão dos valores de K_e .

Os valores de K_e para os íons Fe(III), Zn e Ca (tabela 12), apresentam valores maiores em todos os casos (amostra 1 a 4), na da hidrólise alcalina que na enzimática. Considerando que a distribuição de cargas elétricas na macromolécula é em bloco nesta última, as forças de ligação entre as espécies $Al(OH)_2^+$ e os grupos funcionais serão maiores em certas regiões fazendo que a substituição pelas espécies $Fe(OH)_2^+$, $Zn(OH)^+$, $Ca(OH)^+$, sejam mais difíceis, sendo talvez este um dos fatores mais importantes que explicam as diferenças nos valores apresentados. No caso do Zn e Ca outro fator importante é a diferença de comportamento nos dois casos mencionados, pois no primeiro o efeito é cooperativo ($m > 0$ ver tab 38), e competitivo no segundo ($m < 0$).

Grande parte dos íons Zn^{2+} em plantas australianas estudadas, das espécies *Polycarpaea glabra* e *Crotalaria novae hollandiae*, demonstraram ser solúveis em água. Na primeira espécie citada 47% dos íons zinco dos galhos e flores são solúveis em água e o restante, que estão ligados às pectinas, podem ser quase completamente deslocados por ácidos implicando ligações fracas destes íons com as macromoléculas. Na segunda espécie, 60% dos íons zinco que se encontram nos galhos e 70% em folhas são solúveis em água. O comportamento deste íon contrasta com aqueles de ferro(III) e chumbo, por exemplo, que são muito pouco solúveis, implicando ligações fortes com as pectinas. No caso do ferro (III), somente 10% é solúvel permanecendo grandes quantidades no resíduo sólido (111 - 114).

Os íons Ca^{2+} , ligados com pectinas no organismo humano, tornam-se pontes na formação de complexos das pectinas com compostos orgânicos como os sais biliares, favorecidos por um pH ácido, segundo o esquema de reação apresentado na figura 18 (115):

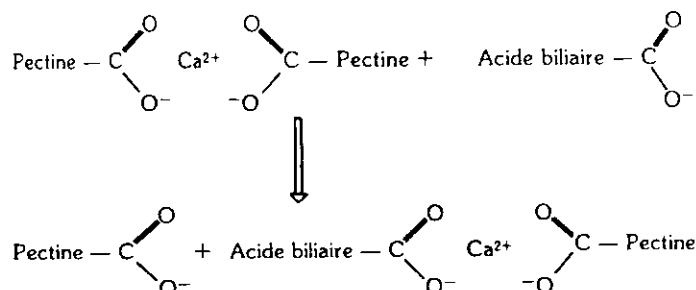


Fig18. Esquema de reação de pectinatos de cálcio com ácidos biliares no organismo humano(115).

Os sais biliares conjugados presentes no intestino delgado são facilmente absorvidos, mas após transformações químicas pelas bactérias do colon, estes compostos ficam fortemente ligados aos alimentos ricos em pectinas e excretados nas fezes.

Os valores de K_e dos íons Mn(II) são maiores na hidrólise enzimática onde apresenta um maior efeito cooperativo (valor de m maior), um fator preponderante que justifica a diferença entre os dois métodos.

Considerando íons Cu(II) , as diferenças nos valores de K_e são pequenas, indicando que os fatores que influenciam este parâmetro (força de ligação, efeito cooperativo, heterogeneidade dos sítios de troca, etc.) atuaram mais ou menos de igual forma nas amostras de pectinas, nos dois processos de demetilação já mencionados.

O valor de d , distância de máxima aproximação entre dímeros de macromoléculas poliurônicas com íons nas paredes celulares das plantas, são 12 e 14Å para os íons Cu^{2+} e Mn^{2+} respectivamente. Estes valores são muito próximos à distâncias intercatiônicas correspondentes aos modelos caixa de ovos e foram obtidos através da largura de banda em função da concentração de íons, na espectroscopia de ressonância de elétrons. A diferença nos valores de d entre os dois íons é devido à perda de água de hidratação do Cu^{2+} ao se ligar à macromolécula, diferentemente do íon Mn^{2+} e outros metais de transição, resultando em uma estrutura reticular mais compacta. É provável então que os íons de Cu^{2+} formem com estas moléculas complexos de esferas internas, e complexos de esferas externas com os íons Mn^{2+} (116, 117).

No caso dos íons Fe(III) e Al, a maior preferência na ordem de ligação na macromolécula pelo primeiro íon pode ser explicado fundamentalmente baseado na força de ligação entre estes íons e os sítios ativos da macromolécula. O primeiro íon mencionado é mais eletronegativo ($\chi = 1,96$) que o segundo ($\chi = 1,61$), sendo portanto a espécie $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_2^+$ mais forte como ácido, que a espécie $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_2^+$, e mais forte a sua ligação com os sítios ativos (118).

Os coeficientes de atividades médios iônicos γ_{\pm} em solução, de todas as espécies consideradas, diminuíram em todos os casos com o aumento das concentrações dessas espécies, como pode-se observar nas tabelas 18 até 37, denotando maior interação entre elas.

Os íons Fe(III) e Al apresentam coeficientes de atividades médios iônicos γ_{\pm} , iguais em todos os casos devido a que foram calculados considerando-se os diâmetros efetivos dos íons hidratados (que são iguais para os dois íons) e a mesma força iônica na solução (74).

Uma vez que as espécies iônicas apresentam concentrações relativamente baixas em todos os casos, o pH inicial das soluções diferem pouco do pH no equilíbrio final. O pH das soluções foram ácidos em todos os casos provavelmente devido a hidrólização das espécies iônicas(117).

Tabela 12. Valores da constante de equilíbrio K_e na troca iônica entre os pectinatos de alumínio com diferentes GM, obtidos nos dois métodos de demetilação, e os ions considerados.

Amostras	constante de equilíbrio $K_e \times 10^3$							
	hidrólise alcalina (99)				hidrólise enzimática			
	1	2	3	4	1	2	3	4
$Fe(III) \times 10^{-3}$	37 ± 2	44 ± 5	34 ± 2	$0,012 \pm 0,002$	$2,1 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,8$	$1,9 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,3$
Zn	31 ± 2	28 ± 3	20 ± 3	20 ± 3	$0,58 \pm 0,08$	$0,12 \pm 0,04$	$0,040 \pm 0,005$	$0,010 \pm 0,003$
Mn(II)	$3,0 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,1$	275 ± 48	234 ± 16	241 ± 25	288 ± 47
Cu(II)	120 ± 20	130 ± 10	110 ± 10	110 ± 30	370 ± 50	430 ± 20	270 ± 90	160 ± 40
Ca	$1,9 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,1$	$0,14 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,06$	$0,22 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,07$

Tabela 13 Valores médios da constante de equilíbrio K_e na troca iônica entre os pectinatos de alumínio com diferentes GM, obtidos nos dois métodos de demetilação, e os íons considerados.

Íons	Valores médios de $K_e \times 10^3$	
	hidrólise alcalina (99)	hidrólise enzimática
Fe (III) $\times 10^{-3}$	38 ± 6	$2,6 \pm 0,9$
Zn	25 ± 6	$0,19 \pm 0,07$
Mn (II)	$1,8 \pm 0,5$	260 ± 30
Cu (II)	120 ± 40	300 ± 10
Ca	$1,3 \pm 0,6$	$0,18 \pm 0,05$

4.2.5 Estudo e comparação do contorno molecular dos pectinatos de alumínio obtidos pelos dois processos de demetilação.

Para o estudo e comparação do contorno molecular dos pectinatos de alumínio foram obtidos espectros de fluorescência, infravermelhos e difratogramas raios - X destas amostras. A fluorescência estudada foi a do Eu(III), que no pectinato pode dar informações sobre números de moléculas de água coordenadas, a carga sobre os ligantes da primeira esfera de coordenação, etc (119).

Quando uma molécula de um complexo lantanídeo absorve um quantum de radiação, um elétron externo é excitado do estado fundamental (de um determinado orbital) a níveis superiores, sendo o processo de emissão denominado fluorescência ou fosforescência (a diferença entre os dois termos está no tempo em que ocorre a emissão e na energia). O primeiro passo envolve absorção de energia por parte do ligante conduzindo à sua excitação do estado singlete S_0 ao estado excitado S_1 . A molécula pode perder rapidamente este excesso de energia vibracional a níveis inferiores a S_1 . Nesta transição existem três alternativas. A molécula pode desativar por transição radiativa de S_1 a S_0 (fluorescência do ligante), ou passar a um estado triplete T_1 ou T_2 e voltar ao estado fundamental através da transição de spin proibido $T \rightarrow S_0$ (fosforescência molecular), ou a excitação pode ser transferido ao íon central de terra rara que pode sofrer a transição radiativa ($d \rightarrow S_0$), resultando na linha de emissão característica do íon (fluorescência) (120,121). A emissão de compostos de Sm^{3+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+} aparecem das transições radiativas entre níveis de energia das configurações $4f^n$ destes íons, sendo a de európio a mais estudada pela emissão excepcionalmente alta. Nas figuras 19 e 20 são apresentados os mecanismos de transferência de energia e o diagrama dos níveis energéticos dos íons mencionados respectivamente(120).

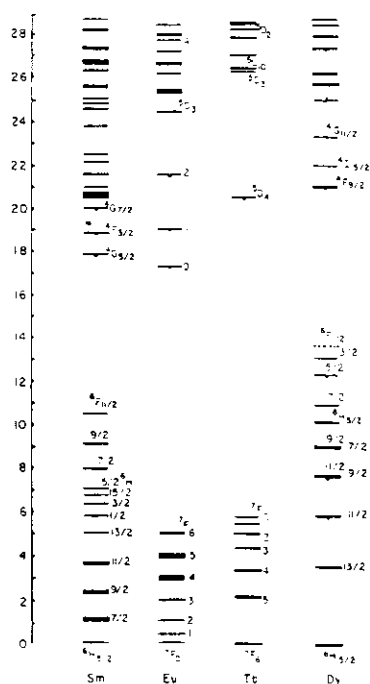
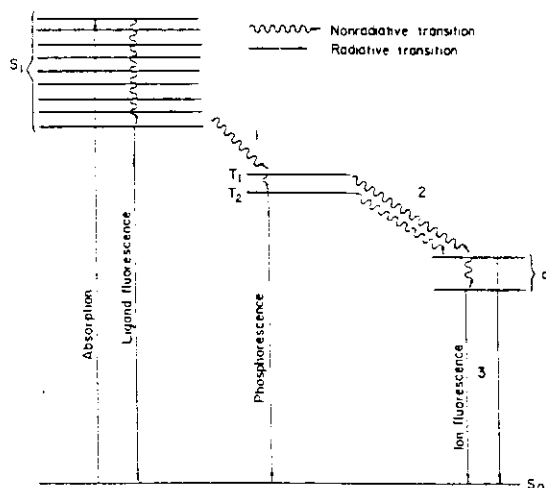


Fig. 19 Mecanismo de transferência de energia (120). Fig. 20 Diagrama de níveis energéticos dos íons terras raras (120).

Para estudo da fluorescência, fez-se a troca iônica entre pectinatos de alumínio e íons de Eu^{3+} , nas mesmas condições feitas anteriormente com os outros íons. Os resultados deste processo foram os seguintes:

O tempo de equilíbrio na hidrólise enzimática foi de 3 horas, e 4,5 para a hidrólise alcalina, como é apresentado na figura 21.

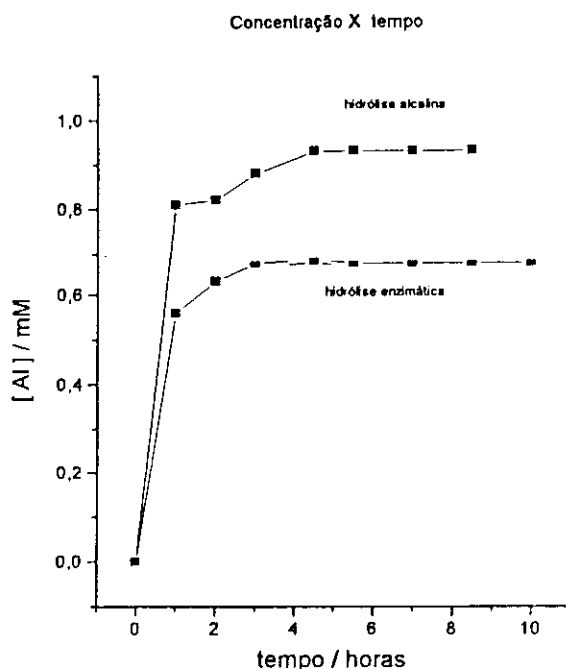


Fig. 21 Variação da conc. de íons Al / mM em função do tempo / horas, na fase líquida na troca iônica entre pectinatos de alumínio obtidos pelos dois processos de demetilação, e os íons de Eu(III),

A estequiometria do processo neste caso também foi de 1:1, como no caso dos outros íons considerados, como apresentado na tabela 14.

Tabela 14. Resultados da determinação estequiométrica na troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), e os íons Eu(III), nos dois processos de demetilação.

m PAI / g	Q Al / g PAI	Q Al.10 ² / mPAI	P.10 ² no sol.	P / Q
0,04985	1,00	4,99	4,54	0,91*
0,05071	0,70	3,55	3,58	1,01**

*hidrólise enzimática **hidrólise alcalina m = massa Q = quantidade de Al / mmol
P = quantidade de Al + Eu / mmol , na fase sólida no equilíbrio.

Na tabela 15 são apresentados os dados referentes às trocas iônicas dos materiais (pectinatos de alumínio + európio), com os quais foram obtidos os espectros de emissão.

Tabela 15. Resultados da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), e os íons de Eu(III) nos dois processos de demetilação.

m PAI / g	Q Al / g PAI	Q Al.10 ² / m PAI	Q Al.10 ² no liq.	% Al trocado	% GM
0,05310	1,50	7,97	1,42*	17,82	43,9
0,02205	1,65	3,64	1,14 *	31,32	37,5
0,05071	0,70	3,55	0,85**	23,94	44,9
0,04760	0,80	3,81	1,42**	37,27	35,0
0,04985	1,00	4,99	0,58 *	11,62	46,0

onde m, Q e os asteriscos tem os mesmos significados que na tabela 14.

Nas figuras 22 e 23 pode-se observar as bandas de excitação em λ próximo a 370 nm, e de emissão para λ próximo dos 500 nm respectivamente, dos pectinatos alumínio dos processos de hidrólise alcalina (linha vermelha GM = 44,9) e enzimática (linha verde de GM = 43,9), sem a presença de európio nas amostras. Pode-se notar que apresentam fluorescência devido provavelmente a transições de baixo nível de estado $\pi \rightarrow \pi^*$ do oxigênio (dos grupos COO⁻), com par de elétrons desemparelhados (120), ou devido a mudanças morfológicas na matriz dos pectinatos, razão provável de porque as bandas tanto de excitação como de emissão não são iguais.

A primeira amostra mencionada apresenta também uma pequena banda de excitação em λ próximo dos 310 nm, e de emissão para λ próximo dos 660 nm devido provavelmente a pequenas perturbações moleculares.

Nas figuras de 24 a 26 podem-se observar as bandas de excitação em $\lambda \approx 394$ nm (transição ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$), de emissão para $\lambda \approx 579, 590, 612, 650$ e 690 nm (transições ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_j$ onde $j = 0,1,2,3,4$), e tempos de vida média dos estados excitados respectivamente, dos pectinatos de alumínio com európio.

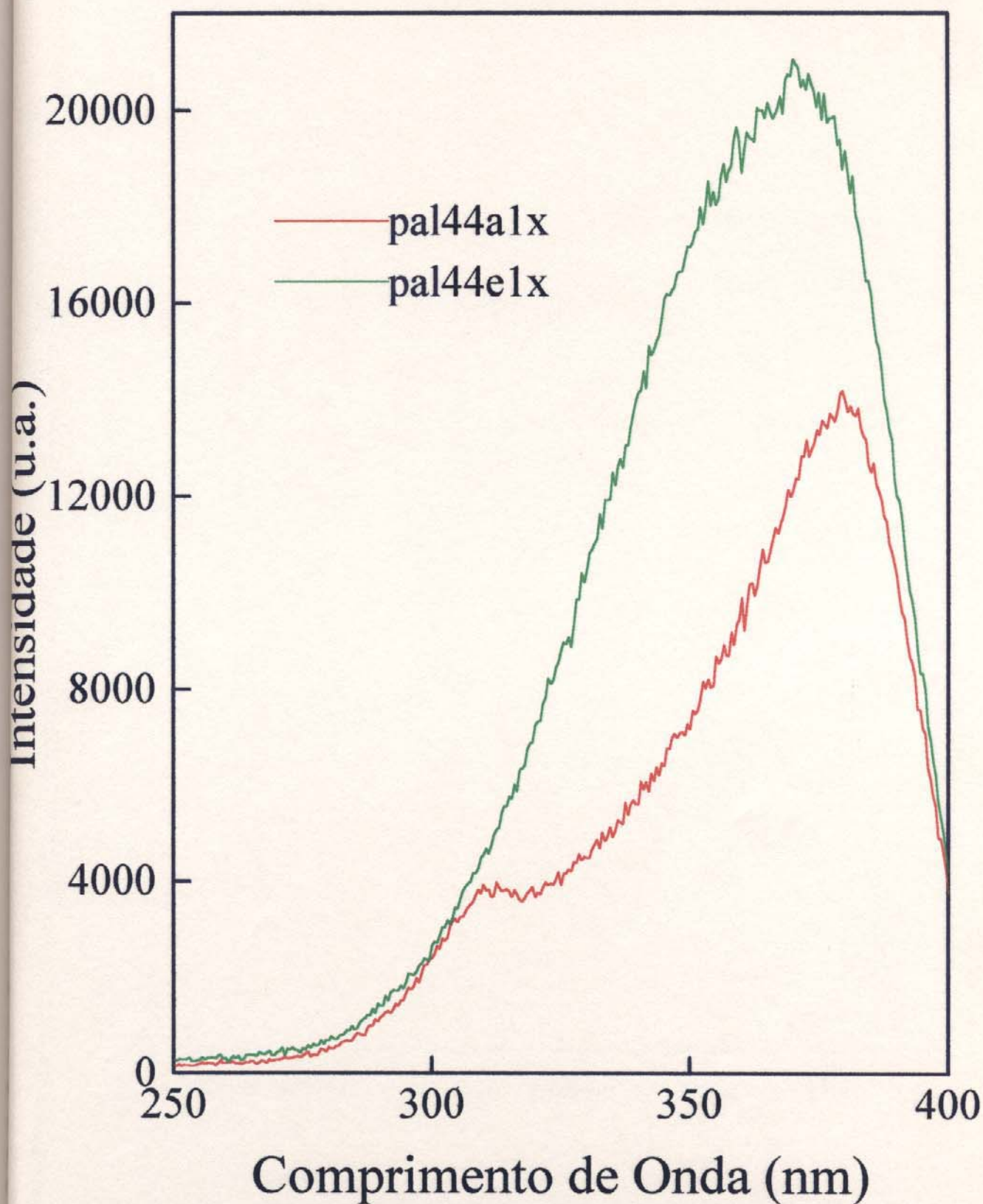


Fig. 22 Bandas de excitação dos PAI nos dois processos de demetilação.

- linha verde: PAI com GM = 44,9 (hidrólise alcalina).
- linha vermelha: PAI com GM = 43,9 (hidrólise enzimática).

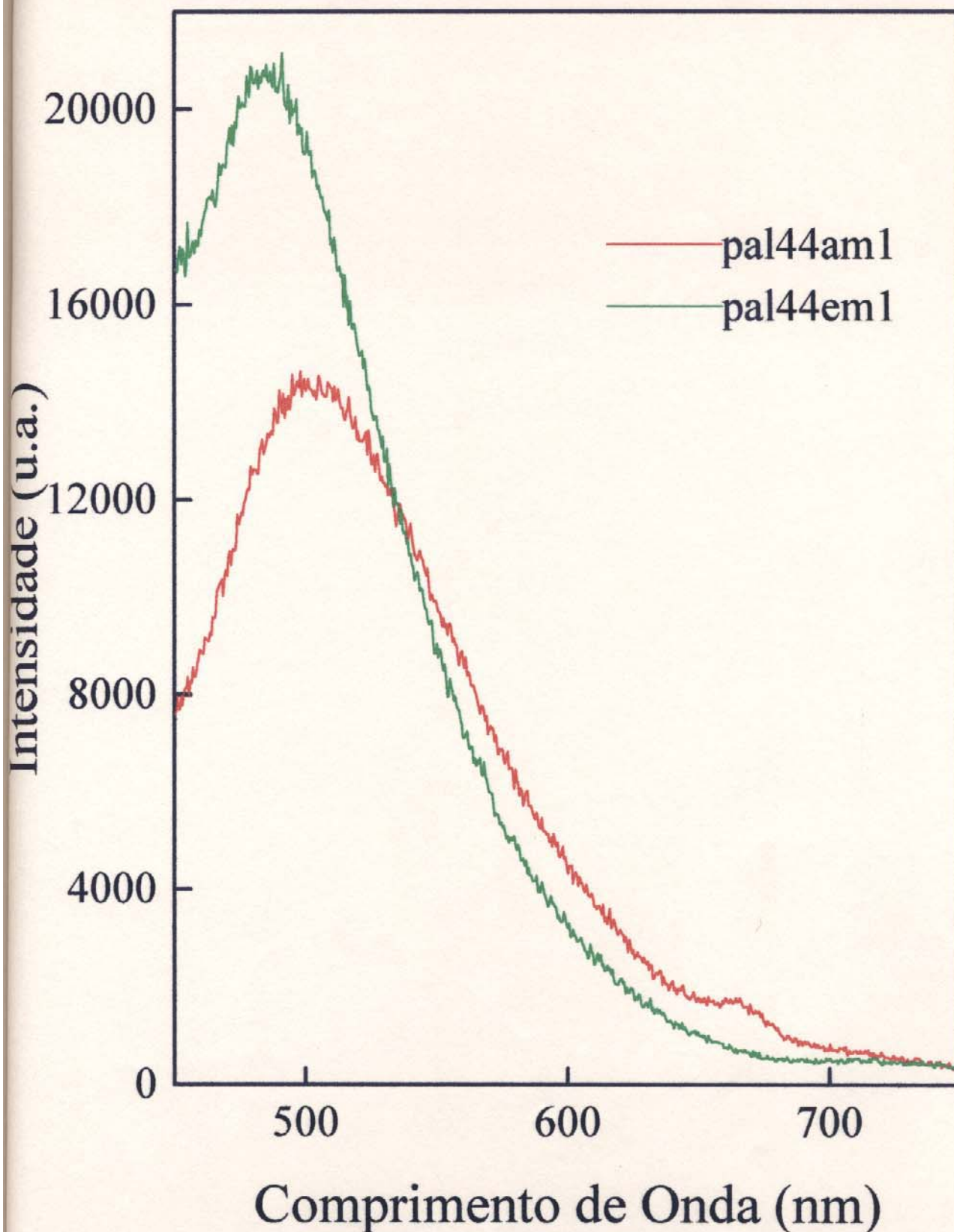


Fig. 23 Bandas de emissão dos PAI nos dois processos de demetilação

- linha verde: PAI com GM = 44,9 (hidrólise alcalina).
- linha vermelha: PAI com GM = 43,9 (hidrólise enzimática).

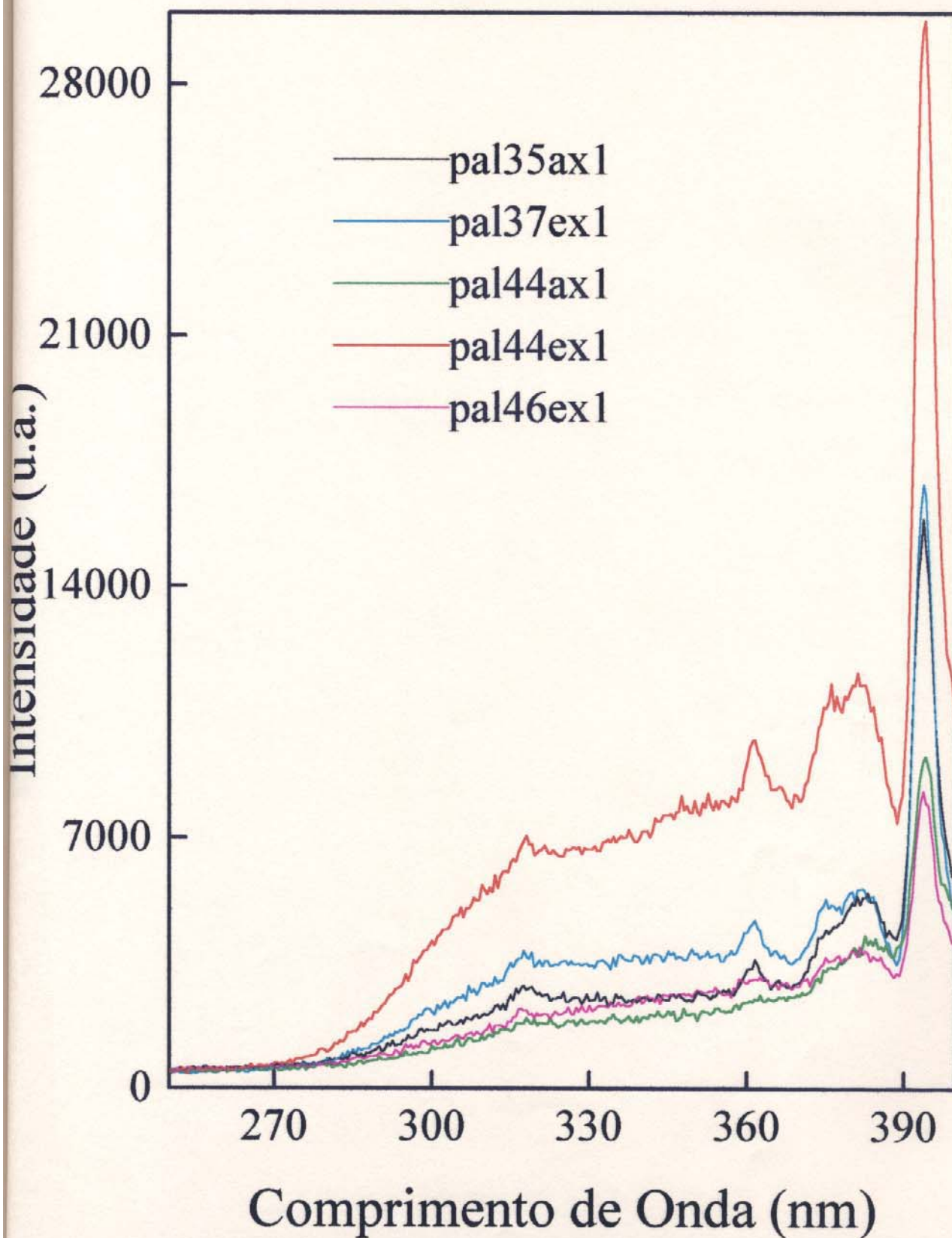


Fig. 24 Tempo de relaxação dos PAI e Eu com diferentes GM, obtidos nos dois processos de demetilação - linha preta: PAI com GM = 35 (hidrólise alcalina) - linha verde: PAI com GM = 44,9 (hidrólise alcalina) - linha azul: PAI com GM = 37,5 (hidrólise enzimática) - linha rosada: PAI com GM = 46 (hidrólise enzimática).

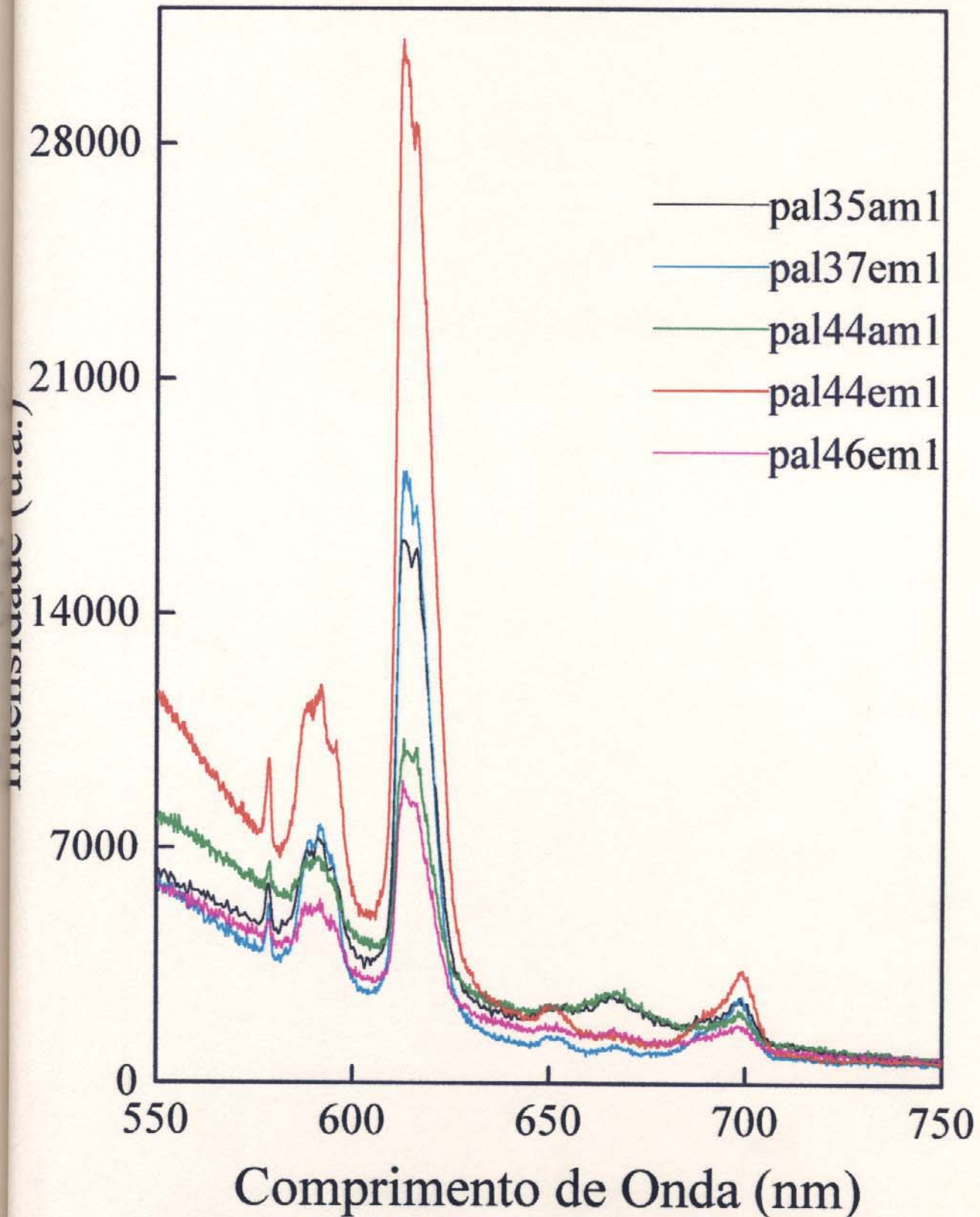


Fig. 25 Bandas de excitação dos PAI e Eu com diferentes GM, obtidos nos dois processos de demetilação - linha preta: PAI com GM = 35 (Hidrólise alcalina) - linha verde: PAI com GM = 44,9 (hidrólise alcalina) - linha azul: PAI com GM = 37,5 (hidrólise enzimática) - linha vermelha: PAI com GM = 43,9 (hidrólise enzimática) - linha rosada: PAI com GM = 46 (hidrólise enzimática)

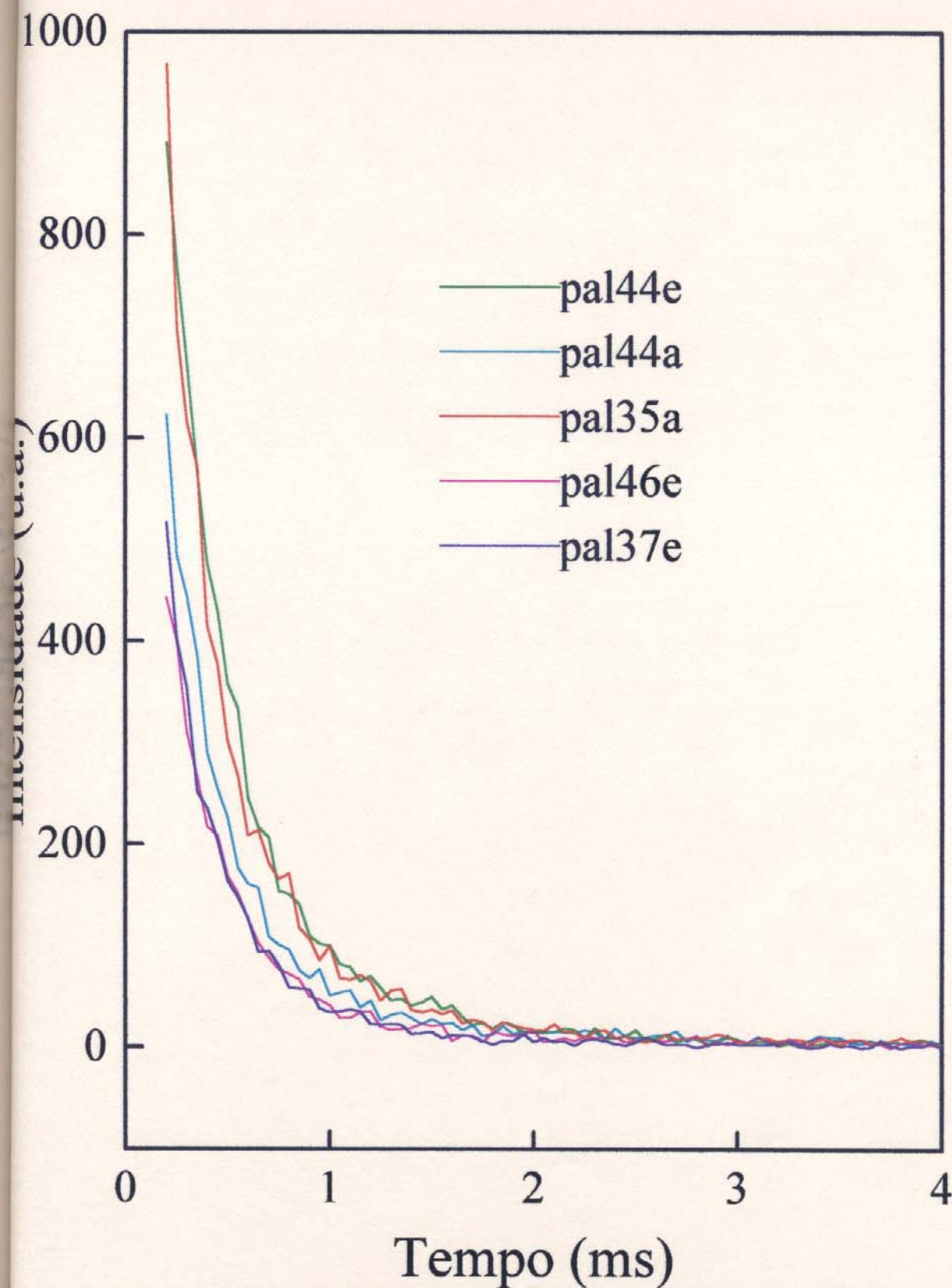


Fig. 26 Tempo de relaxação dos PAI e Eu com diferentes GM, obtidos nos dois processos de demetilação - linha verde: PAI com GM = 43,9 (hidrólise enzimática) - linha azul: PAI com GM = 44,9 (hidrólise alcalina) - linha vermelha: PAI com GM = 35 (hidrólise alcalina) - linha rosada: PAI com GM = 46 (hidrólise enzimática) - linha azul escuro: PAI com GM = 37,5 (hidrólise enzimática).

As características das amostras nos gráficos são:

PAI GM = 35 (hidrólise alcalina) : linha preta (amostra 1)
 PAI GM = 44,9 (" ") : linha verde (amostra 3)

PAI GM = 37,5 (hidrólise enzimática) : linha azul (amostra 2)
 PAI GM = 43,9 (" ") : linha vermelha (amostra 4)
 PAI GM = 46 (" ") : linha rosada (amostra 5)

As intensidades das bandas variam para cada amostra devido as concentrações dos íons de európio não serem iguais em todas as amostras (tabela 14). Observando a tabela pode-se notar que houve maior troca iônica nas amostras do processo de demetilação alcalina (considerando a quantidade de íons Al / g PAI).

Com os dados da figura 25 (emissão em aproximadamente 579 nm) obteve-se os números de ondas como apresentado na tabela 16.

Tabela 16. Números de ondas dos espectros de fluorescência de pectinatos de alumínio obtidos através de λ_{em} da figura 25.

Amostras	$\lambda_{em} \cdot 10^{-7} / \text{cm}$	Número de ondas / cm^{-1}
1	578,68	17281
2	578,30	17292
3	579,24	17264
4	578,30	17292
5	578,30	17292

Com os dados da figura 26 obteve-se os tempos de vida média t e o recíproco, t^{-1} , do estado excitado para as diferentes amostras, como apresentado na tabela 17.

Tabela 17. Tempo de vida média t e o recíproco t^{-1} em amostras de pectinatos de alumínio com európio, obtidos a partir da figura 26.

Amostras	t / ms	t^{-1} / ms^{-1}
1	0,38	2,63
2	0,33	3,03
3	0,36	2,78
4	0,36	2,78
5	0,35	2,86

O valor médio de número de ondas no caso da hidrólise alcalina é aproximadamente 17273, e 17292 para a enzimática. Com ajuda de dados bibliográficos (122), pode-se notar que na primeira hidrólise a carga sobre o ligante esta mais próxima de -1 (17270), que na segunda. Pode-se concluir então que não há grandes modificações nos espectros de emissão, exceto na transição ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, indicando que os íons de Eu^{3+} , no caso da hidrólise enzimática, estão rodeados de ligantes mais neutros, provavelmente devido a maior hidratação, o que está de acordo com a tendência de menor tempo de vida média (0,35 ms contra 0,37 ms da hidrólise alcalina), da transição mencionada (as diferenças são pequenas pois os tempos para ligantes do tipo OH^- ou H_2O são mais ou menos iguais).

Com o valor médio de todas as medições, $t^{-1} = 2,82 \text{ ms}^{-1}$, pode-se estimar a quantidade de moléculas de água (ou OH^-) coordenadas aos íons Eu^{3+} , baseado na correlação t^{-1} e o número de moléculas de água de coordenação, que em nosso caso corresponde a um valor aproximado de 3, que resulta ser um pouco baixo (123).

Na espectroscopia infravermelho, a radiação absorvida pode nos dar informações sobre a estrutura molecular das substâncias, através dos movimentos de átomos e grupos de átomos, associados às radiações absorvidas (122,124).

As amostras de pectinas e pectinatos de alumínio, dos dois métodos de hidrólises, com diferentes graus de metilação já mencionadas anteriormente, foram prensados (adquirindo uma forma de disco), obtendo-se daí o espectro.

Na fig. 27 são apresentados os espectros dessas amostras. Podem-se observar que aparecem bandas de absorção características dos grupos que compõem estas macromoléculas (125). Devido à deformação axial da ligação C=O dos grupos COO⁻ aparece uma banda de absorção a 1760 cm⁻¹. Outras bandas de deformação axial da ligação C-O dos grupos COO⁻ aparecem em 1660 (assimétrico) e 1460 cm⁻¹ (simétrico), aproximadamente.

Pode-se dizer que os espectros de todas as amostras nos dois processos (pectinas e pectinatos de alumínio) praticamente não apresentam variações. A banda de C-O assimétrico (1660 cm⁻¹) fica muito próximo da faixa de coordenação unidentada (1580 - 1650 cm⁻¹), e o simétrico (1460 cm⁻¹) dentro da faixa de quelatos (1400 - 1470 cm⁻¹), denotando aparentemente comportamento diferente entre as duas simetrias. Estas bandas tem leves deslocamentos comparados com os pectatos e pectinatos de Zn, Co, Ni, nas deformações axiais das ligações C-O assimétrico (1610 cm⁻¹) e simétrico (1410 cm⁻¹), e com os de pectatos e pectinatos de Cu (1620 cm⁻¹ assimétrico) e 1405 cm⁻¹ simétrico (126). Não se pode tirar nenhuma conclusão a respeito, pois as pectinas apresentam o mesmo comportamento que os pectinatos nas amostras deste trabalho. Se não fosse dessa maneira, poderia se afirmar que a presença do íon trivalente na macromolécula tem maior influência que os divalentes, pois as duas bandas mencionadas com a presença do íon trivalente aparecem na faixa de energia levemente maior que as outras bandas dos íons divalentes.

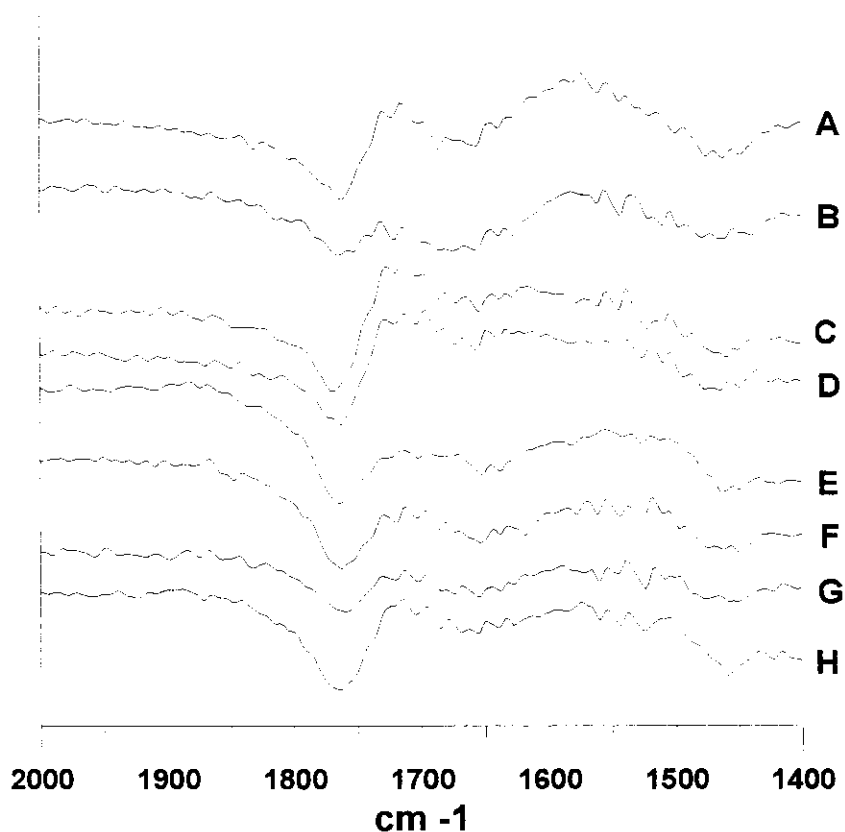


Fig. 27 Espectros infravermelhos de pectinas e pectinatos de alumínio com graus de metilação próximos, obtidos nos dois métodos de hidrólise.

onde :

A = pectinato de alumínio com GM = 37,5 obtido por hidrólise enzimática.

B = " " " " GM = 43,9 " " " "

C = pectina com GM = 43,9 obtido por hidrólise enzimática.

D = " " GM = 37,5 " " " "

E = " " GM = 44,9 " " " alcalina.

F = pectinato de alumínio com GM = 44,9 obtido por hidrólise alcalina.

G = " " " " GM = 35,0 " " " "

H = pectina com GM = 35,0 obtido por hidrólise alcalina.

Difratogramas de raios -X obtidos através das mesmas amostras consideradas (pectinas e pectinatos de alumínio), apresentam comportamentos muito semelhantes em todos os casos, como pode-se notar nos difratogramas da fig. 28 -. Baseados nos mesmos, pode-se dizer que estas amostras tem as mesmas estruturas cristalográficas, não se podendo chegar à conclusão se essas estruturas são cristalinas ou não, devido a que não apresentam picos de intensidades de raios difractados bem definidos ao longo dos valores de 2θ . Com a definição das estruturas (em caso da amostra ter estrutura cristalina),pode-se calcular a distância interplanar das amostras para determinados planos h k l considerando o valor de $\text{sen}^2\theta$ dos picos de difração e a relação entre o valor deste parâmetro com respeito a um valor menor através da equação 22 (127):

$$a^2 = (\lambda^2 / 4\text{sen}^2\theta)(h^2 + K^2 + l^2) \quad (\text{eq. 22})$$

onde: a = distância interplanar numa estrutura cristalina.

$\lambda = 1,542 \text{ \AA}$ (radiação Cu $K\alpha_1$).

hkl = índices de Miller.

4.2.6 Análise Térmica

O intervalo de amolecimento do pectinato de alumínio, GM = 43,9 proveniente da hidrólise enzimática, foi de 198 - 200°C, enquanto que o da alcalina (GM = 44,9), foi de 210 - 215°C. Em ambos os casos, a amostra carboniza-se com o aquecimento continuado.

A análise termogravimétrica (TGA), em atmosfera de argônio, a uma velocidade de aquecimento de 10°C / min, dos pectinatos de alumínio com GM aproximadamente 44 GM (dos dois processos de demetilação), apresentam curvas de decomposição semelhantes como pode-se observar nas figuras de 29 a 32.

Pode-se notar perdas de água a temperaturas entre 72-110°C, e que a partir de 214 -216°C começa a decomposição das amostras, com perdas de provavelmente CO, CO₂, matéria orgânica volátil, etc. Este processo continua até aproximadamente 550°C a partir do qual não se observa mais modificações. Os componentes finais dos pectinatos seriam Al₂O₃ e provavelmente carvão, pois as amostras (carboidratos) não foram totalmente queimados, em razão de que foi feita em atmosfera de argônio. Se o produto final fosse apenas Al₂O₃, o resíduo final seria 3,6% para o pectinato da hidrólise alcalina e 7,9% da outra amostra. Os termogramas mostram um resíduo em torno de 25 a 29 % aproximadamente.

Os termogramas de DSC , figs 30 e 32 , também apresentam comportamentos similares para as duas amostras já mencionadas, com um pico endotérmico à temperatura de 150°C que devido à largura corresponde provavelmente a reações de desidratação, e posterior fusão das amostras (128 - 130). As energias absorvidas são de 735,2 J / g (hidrólise alcalina) e 766,8 J / g (hidrólise enzimática).

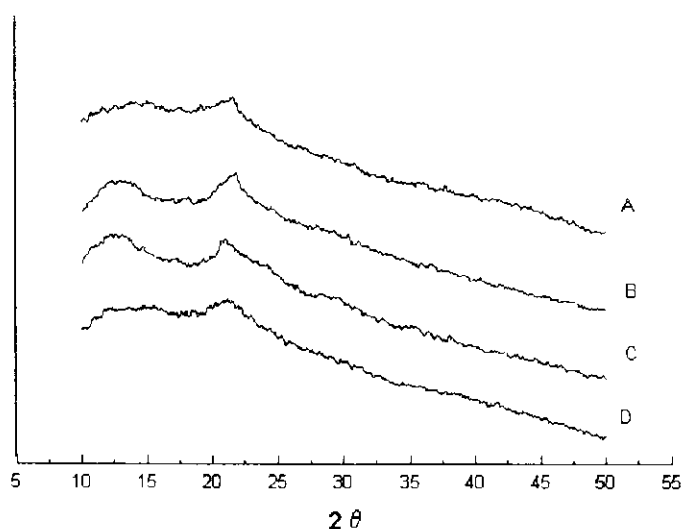


Fig. 28 Difratomogramas de raios-x de pectinas e pectinatos de alumínio com graus de metilação próximos, obtidos nos dois métodos de hidrólise

A = pectinato de alumínio com GM = 43,9 obtido por hidrólise enzimática.

B = pectina com GM = 43,9 obtido por hidrólise enzimática.

C = " " GM = 44,9 " " " alcalina.

D = pectinato de alumínio com GM = 44,9 obtido por hidrólise alcalina

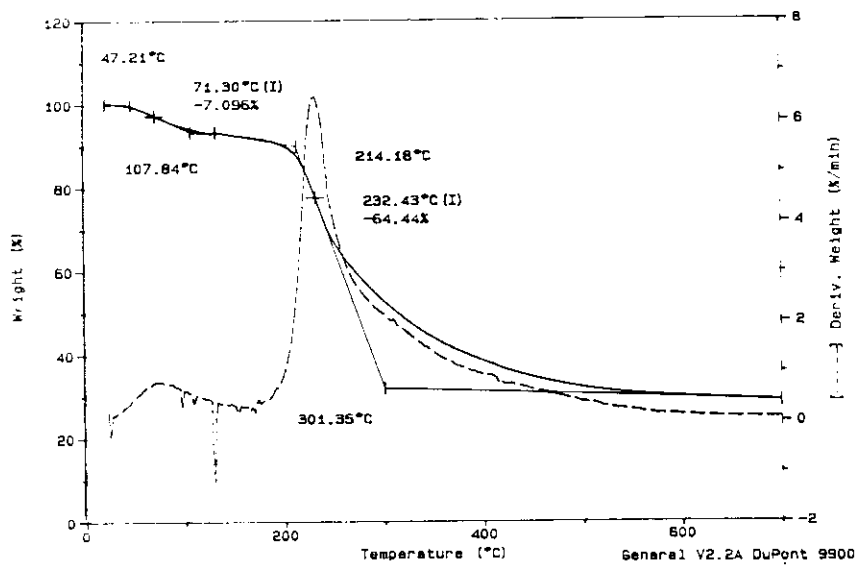


Fig.29 Curva termogravimétrica de pectinato de alumínio com GM = 44,9 obtido por hidrólise alcalina.

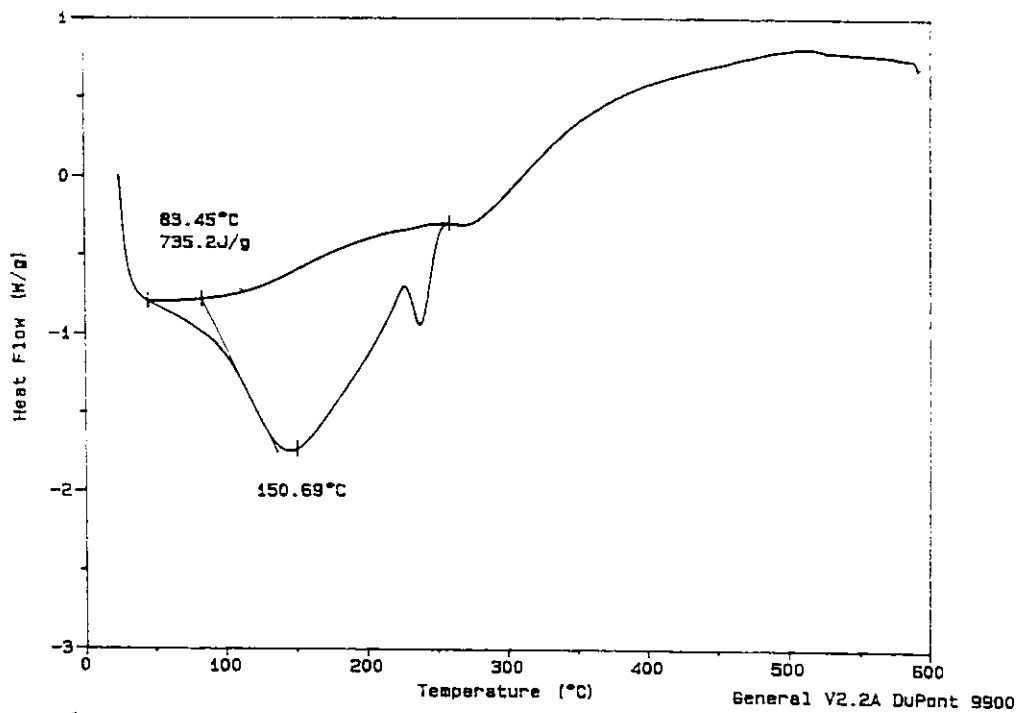


Fig. 30 Curva termogravimetrica de pectinato de alumínio com GM = 44,9 obtido por hidrólise alcalina.

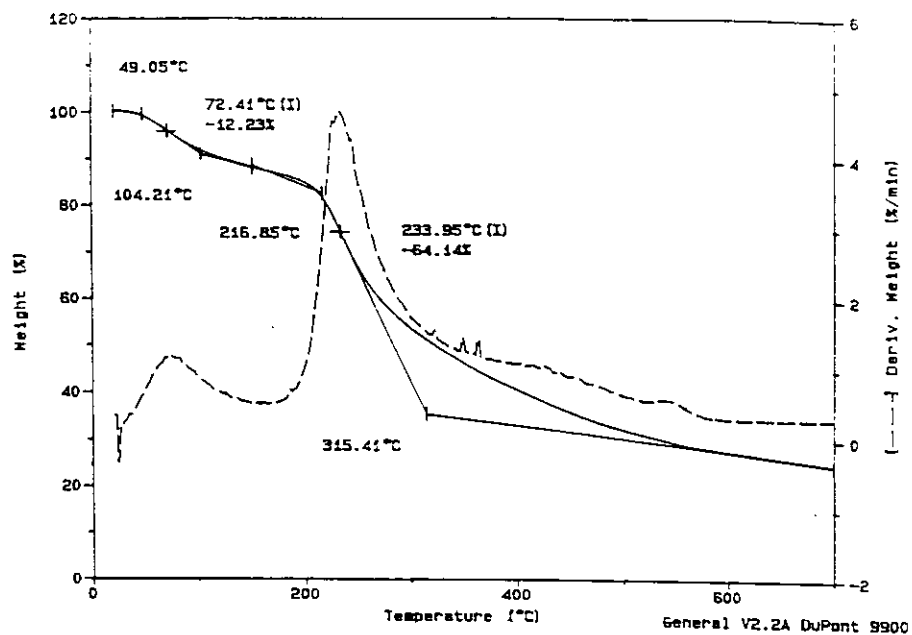


Fig. 31 Curva termogravimétrica de pectinato de alumínio com GM = 43,9 obtido por hidrólise enzimática.

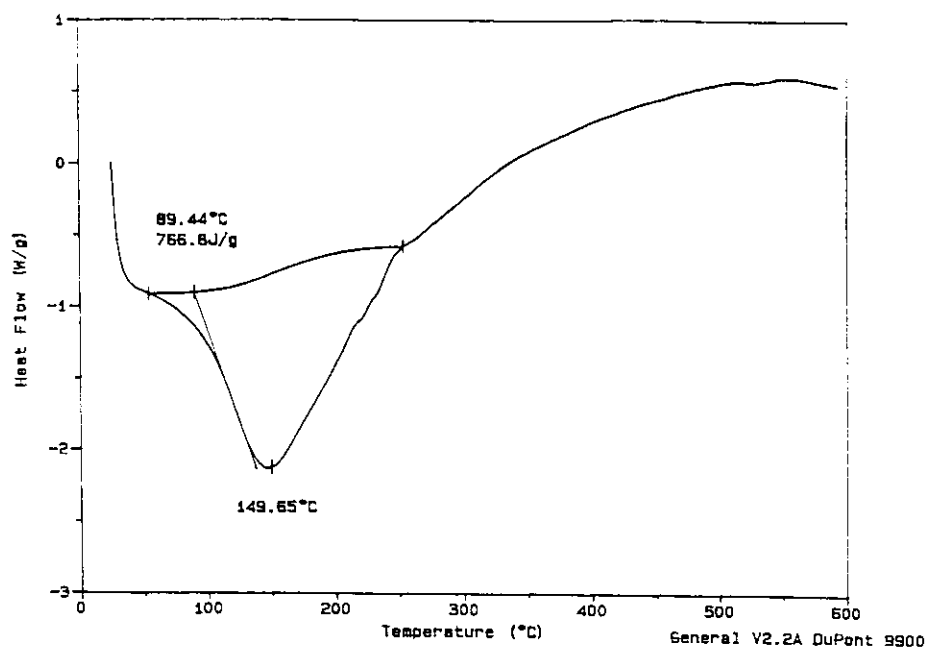


Fig. 32 Curva termogravimétrica de pectinato de alumínio com GM = 43,9 obtido por hidrólise enzimática.

5. Conclusões finais

Os resultados apresentados podem ser sumarizados e deles se tirar algumas conclusões:

1- O processo de troca iônica com pectinatos da demetilação enzimática, apresentam estequiometria 1:1 em todos os casos, inclusive com os íons Eu(III) .

2- Para os PAI da demetilação enzimática, os tempos em que os processos de troca iônica atingem o equilíbrio, foram sempre menores que na demetilação alcalina, sendo em alguns casos essa diferença bastante significativa, como nos íons Mn(II) , Zn e Ca .

3- A maioria dos processos de troca iônica apresentam efeito cooperativo, exceto com os íons de Zn e Ca e os PAI da hidrólise enzimática, que apresentam um efeito competitivo.

4- Nos dois tipos de pectinas demetiladas, os íons trivalentes estão mais fortemente ligados que os íons bivalentes.

5- As constantes de equilíbrio dos íons Fe(III) , das pectinas submetidas à demetilação enzimática, são menores que as da alcalina, devido provavelmente à diferença na distribuição de cargas nos dois processos, sendo em bloco no primeiro caso, fazendo que as espécies iônicas Al(OH)_2^+ fiquem mais fortemente ligadas aos grupos funcionais da macromolécula e portanto mais difícil de trocar que no segundo caso, onde a distribuição de cargas é aleatória, com ligações mais fracas nas espécies mencionadas.

6- Nos dois processos os íons Fe(III) estão mais fortemente ligados que os íons de Al , pois o primeiro é mais eletronegativo que o segundo, sendo portanto a espécie hidratada Fe(OH)_2^+ mais ácida que a espécie Al(OH)_2^+ .

7- Os íons de Ca também apresentam mudança de comportamento nas pectinas da hidrólise enzimática (efeito competitivo), sendo maior o valor de K_e no caso das alcalinas (efeito cooperativo).

8- Os valores de K_e dos íons Cu(II) nos dois processos, apresentam pouca diferença implicando que as interações que influenciam este parâmetro (efeito cooperativo, força de ligação, heterogeneidade dos sítios de troca, etc.) atuaram em mais ou menos igual intensidade, em todos os casos considerados, ou se compensaram.

9- Espectros de fluorescência de emissão dos pectinatos de alumínio contendo europio (PAIEu), nos dois processos de hidrólise, não apresentam modificações significativas. A transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ indica que os íons Eu(III) da hidrólise enzimática, estão rodeados de ligantes mais neutros, provavelmente devido à maior hidratação. Com valores médios de t^{-1} , o valor de números de moléculas de H_2O coordenado a estes íons é de aproximadamente 3, nos dois casos, valor um pouco baixo.

10- Os espectros infravermelhos de pectinas e pectinatos de alumínio, não apresentam variações significativas. As bandas a 1760 , 1660 (assimétrico) e 1460 cm^{-1} (simétrico) são características das ligações C=O dos grupos carboxilas. A banda assimétrica tem características de coordenação unidentada, enquanto a simétrica tem característica de quelatos, denotando uma aparente diferença de comportamento.

11- Baseados na semelhança dos difratogramas de raios - x de todas as amostras já mencionadas, pode-se dizer que elas tem praticamente as mesmas estruturas cristalográficas, possivelmente uma estrutura amorfa com pontos de cristalinidade.

12- A análise termogravimétrica (TGA), e a calorimetria exploratória diferencial (DSC), apresentam resultados semelhantes para as amostras consideradas.

13- Considerando a ordem na preferência de ligação da macromolécula obtida pelos dois processos de hidrólise com os íons estudados, ou seja:

Da hidrólise alcalina (95,99) : $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Zn} > \text{Mn(II)} \approx \text{Ca}$

Da hidrólise enzimática : $\text{Fe(III)} > \text{Al} > \text{Cu(II)} > \text{Mn(II)} > \text{Zn} \approx \text{Ca}$

há uma inversão dos íons Mn(II) com relação aos íons de Zn , provavelmente devido a dois fatores importantes:

a- Nas pectinas da hidrólise alcalina os íons de Zn apresentam maior efeito cooperativo que os íons Mn(II), e portanto maior preferência com respeito às pectinas.

b- Nas pectinas da hidrólise enzimática há uma inversão no comportamento dos íons Zn que apresentam efeito competitivo. Entretanto os íons Mn(II) apresentam efeito cooperativo ainda maior que na hidrólise alcalina, tendo portanto maior preferência de ligação que os íons Zn.

14- Foi mencionado na introdução a importância atribuída à capacidade de troca catiônica (CTC) nos mecanismos de tolerância das plantas ao alumínio.

Em nosso trabalho observou-se que as constantes de equilíbrio pouco dependem do grau de metilação , responsável pela CTC. Por outro lado, este termo, ou a variação de energia livre padrão ΔG^θ , estão relacionados com um fator entálpico ΔH^θ e um fator entrópico $T\Delta S^\theta$ através da conhecida equação $\Delta G^\theta = \Delta H^\theta - T\Delta S^\theta$.

Notou-se diversas evidências da variação do fator entrópico:

- Variação da constante de equilíbrio entre a pectina hidrolizada alcalina ou enzimaticamente.

- Efeitos cooperativos e competitivos.

- Constantes de equilíbrio praticamente independentes do grau de metilação.

De tudo isto, pode-se deduzir que o fator entálpico, associado com a força de ligação do cátion metálico com os grupos carboxilas da pectina, é o fator mais importante nos processos de troca iônica estudados. Por outro lado, não se pode esquecer que na planta só existe pectina demetilada enzimaticamente.

É sugerido então que a tolerância das plantas ao Al, depende de mecanismos que minimizam a atividade das espécies $Al(H_2O)_6^{3+}$, $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, na solução do solo adjacente às paredes celulares e dentro delas.

6. Bibliografia

- 1- Walkinshaw, M.D.; Arnott, S.; *J. Mol. Biol.*(1981)**153**, 105.
- 2- Walkinshaw, M.D.; Arnott, S.; *J. Mol. Biol.*(1981)**153**, 1075.
- 3- Zitko, V.; Rosík, J.; Kubala, J.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1965)**30**, 3902.
- 4- Sakai, T.; Sakamoto, T.; Hallaert, J.; Vandamme, E.; *Adv. Appl. Microbiol.* (1993)**39**, 213.
- 5- Oakenfull, D. G.; "The chemistry of high-methoxyl pectins" in "The chemistry and technology of pectin" (Ed. Walter, J.A.), Academic press, São Diego, California (1991).
- 6- Kertez, Z. I.; "The pectic substances". Interscience publishers, N. York (1951)5.
- 7- Plöger, A.; *J. Food Sci.*(1992)**57**(5).
- 8- Powell, D. A.; Morris, E. R.; Gidley, M. J.; Rees, D.A.; *J.Mol. Biol.*(1982)**155**, 517.
- 9- Kohn, R.; Furda, I.; Kopec, Z.; *Coll. Czech. Chem. Comm.* (1968)**33**, 264.
- 10- Rexova-Benkova, I.; Markovic, O.; *Adv. Carbohydr. Chem.* (1976)**33**, 323.
- 11- Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, A. D.; *FEBS lett.*(1973)**32**(1), 195.
- 12- Debongnie, P.; Mestdagh, M.; Rinaudo, M.; *Carbohydr. Res.* (1987)**170**, 137.
- 13- Kohn, R.; Furda, I.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1968)**33**, 2217.
- 14- Kohn, R.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1982)**47**, 3424.
- 15- Kohn, R.; Hromádková, Z.; Ebringerova, A.; *Coll. Czech. Chem. Comm.* (1986)**51**, 2250.
- 16- Kohn, R.; Tibensky, V.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1971)**36**, 92.
- 17- Cerda, J.J.; *Hortscience.*(1990)**25**(12), 1485.
- 18- Farago, M.E.; *Coord. Chem. Rev.*(1981)**36**, 155.
- 19- Epstein, E.; *Plant Physiol.*(1961)**36**, 437.
- 20- Van Stevenick, R.F.M.; *Physiol. Plant.*(1965)**18**, 54.
- 21- Kohn, R.; Furda, I.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1967)**32**, 4470.
- 22- Mort, J.A.; Qiu, F.; Maness, O.N.; *Carbohydr. Res.*(1993)**247**, 21.
- 23- Chang, K.C.; Mijamoto, A.; *J. Food Sci.*(1992)**57**(6), 1435.
- 24- Jarvis, M.C.; *Plant, Cell and Environm.*(1984)**7**, 153.
- 25- Cabrejas, M.M.; Waldron, K.W.; Sevendran, R.R.; *J. Plant Physiol.*(1994)**144**, 541.
- 26- Esteban, R. M.; Lopez-Andreu, F.J.; Martin-Cabrejas, M.A.; Molla, E.; *Food Chem.* (1993)**46**, 289.
- 27- Tieman, D.M.; Handa, A.K.; *Plant Physiol.*(1994)**106**, 429.
- 28- Stephenson, M.B.; Hawes, M.C.; *Plant Physiol.*(1994)**106**, 739.
- 29- Klavons, J.A.; Bennett, R.D.; Vannier, S.H.; *J. Food Sci.*(1994)**59**(2), 399.
- 30- Pitifer, L.A.; Mclellan, M.R.; Van Buren, J.P.; *Food Chem.*(1994)**50**, 29.

- 31- McMillan, G. P.; Jhonston, D. J.; Morel, J. B.; Pérombelon, M. C. M.; *Analyt. Biochem.*(1993)**209**, 377.
- 32- Rillo, L.; Castaldo, D.; Giovanne, A.; Servillo, L.; Baliestieri, C.; Quagliuolo, L.; *J. Agric. Food Chem.*(1992)**40**, 591.
- 33- Penel, C.; Greppin, H.; *FEBS lett.*(1994)**343**, 51.
- 34- Chang, C.Y.; Tsai, Y.R.; Chang, W.H.; *Food Chem.*(1993)**48**, 145.
- 35- Kratchenko, T. P.; Voragen, A. G.J.; Pilnik, W.; *Carbohyd. Polym.*(1992)**18**, 17.
- 36- Charnay, D.; Nari, J.; Noat, G.; *Eur. J. Biochem.*(1992)**205**, 711.
- 37- Moustacas, A.; Nari, J.; Borel, M.; Noat, G.; Ricard, J.; *Biochem. J.*(1991)**279**,351.
- 38- Nari, J.; Noat, G.; Ricard, J.; *Biochem. J.*(1991)**279**, 343.
- 39- Kohn, R.; Markovic, O.; Machová, E.; *Coll. Czech. Chem. comm.*(1983)**48**, 790.
- 40- Allinger, N.L.; Cava, M.P.; Jongh, D.C.; Johnson, C.R.; Lebel, N.A.; Stevens, C.L.; "Química Orgánica", Ed. Reverté, Barcelona (1976).
- 41- Ander, P.; *J. Chem. Ed.*(1979)**56**(7), 481.
- 42- Skouri, R.; Schosseler, F.; Munch, J.P.; Candau, S.J.; *Macromol.*(1995)**28**, 197.
- 43- Vorobjev, Y.N.; Scheraga, H.A.; *J. Phys. Chem.*(1993)**97**, 4855.
- 44- Prini, F.R.; Baumgartner, E.; Liberman, S.; Lagos, A.E.; *J. Phys. Chem.*(1969)**75** (5), 1420.
- 45- Manning, G.S.; *Ann. Rev. Phys. Chem.*(1972)**23**, 117.
- 46- Manning, G.S.; *J. Chem. Phys.*(1969)**51**(8), 3249.
- 47- Manning, G.S.; *J. Chem. Phys.*(1969)**51**(3), 924.
- 48- Manning, G.S.; *J. Chem. Phys.*(1967)**47**(6), 2010.
- 49- Manning, G.S.; *J. Chem. Phys.*(1965)**43**(12), 4260.
- 50- Manning, G.S.; Zim, B.H.; *J. Chem. Phys.*(1965)**43**(12), 4250.
- 51- Manning, G.S.; Holtzer, A.; *J. Phys. Chem.*(1973)**77**(18), 2206.
- 52- Kohn, R.; Luknar, O.; *Coll. Czech. Chem. Comm.*(1975)**40**, 959.
- 53- Helferich, F.; "Ion exchange", McGraw Hill, N. York(1962).
- 54- Milas, M.; "Polieletrólitos", (Ed. Groote, R.A.M.C. & Curvelo, A.A.S.), Instit. de Fis. e Quim.; São Carlos, Univ. São Paulo(1991).
- 55- Nagasawa, M.; Takashi, M.; Kondo, K.; *J. Phys. Chem.*(1965)**69**, 4005.
- 56- Katchalsky, A.; *Pure Appl. Chem.*(1971)**26**, 327.
- 57- Nagasawa, M.; *Pure Appl. Chem.*(1971)**26**, 519.
- 58- Reddy, M.; Marinsky, J.A.; Sakkar, A.; *J. Phys. Chem.*(1970)**74**(22), 3891.
- 59- Gregor, H.P.; *J. Am. Chem. Soc.*(1948)**70**, 1293.
- 60- Gregor, H.P.; *J. Am. Chem. Soc.*(1951)**73**(1), 642.
- 61- Frank, E.H.; Rice, S.A.; *J. Chem. Phys.*(1956)**24**, 1258.
- 62- Myers, G.E.; Boyd, G.E.; *J. Phys. Chem.*(1956)**60**, 521.
- 63- Bonner, O.D.; Frances, L.L.; *J. Phys. Chem.*(1956)**60**, 530.

- 64- Bonner, O.D.; Argersinger, Jr.; Davidson, A.W.; *J. Am. Chem. Soc.* (1952)**74**, 104.
- 65- Bokx, P.K.; Boots, H.M.J.; *J. Phys. Chem.* (1989)**93**, 8243.
- 66- Feitelson, J.; *J. Phys. Chem.* (1962)**66**, 1295.
- 67- Vázquez, G.; Arce, A.; Mendez, R.; Blázquez, R.; *J. Chem. Eng. Data*(1986)**31**, 466.
- 68- Ríos, H.E.; Ternero, G.A.; Barraza, R.G.; Gamboa, I.C.; *J. Polym. Sci. Polym. Phys.* (1994)**32**, 215.
- 69- Gaines, G.L., Jr.; Thomas, H.C.; *J. Chem. Phys.* (1953)**21**(4), 714.
- 70- Barrer, M.R.; Klinowski, J.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* (1974)**70**, 2080.
- 71- Barrer, M.R.; Townsend, P.R.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* (1984)**80**, 629.
- 72- Eisenman, G.; *Biophys. J. Suppl.* (1962)**2**(2), 259.
- 73- Levine, I.N.; "Physical Chemistry" (2nd ed.) McGraw-Hill, N. York, 1983.
- 74- Kielland, J.; *J. Am. Chem. Soc.* (1937)**59**, 1675.
- 75- Goldberg, R.N.; *J. Phys. Chem. Ref. Data* (1981)**10**(1), 1.
- 76- Goldberg, R.N.; *J. Phys. Chem. Ref. Data* (1979)**8**(4), 1005.
- 77- Wandell, M.L.; "The oxidation states of the elements and their potentials in aqueous solutions" (2nd ed.) Prentice-Hall, N. York (1952).
- 78- Brønsted, J.N.; *J. Am. Chem. Soc.* (1922)**44**(5), 877.
- 79- Lewis, G.N.; Randall, M.; "Thermodynamics", revised by Pitzer, K.S.; Brewer, L.; (2nd ed.), McGraw-Hill Book Co.; N. York (1961).
- 80- Atkins, P.W.; "Physical Chemistry", (4th ed.), Oxford Univ. Press; N. York (1990).
- 81- McGlashan, M.L.; "Chemical Thermodynamics", Academic Press; N. York (1979).
- 82- Reichenberg, D.; "Ion exchange", Ed. Marinsky, J.A.; Dekker, M. Inc.; N. York (1966).
- 83- Van Holde, K.E.; "Bioquímica Física", Ed. Blücher, E.; São Paulo (1975).
- 84- Lakatos, B.; Korecz, L.; Meisel, J.; *Geoderma* (1977)**19**, 149.
- 85- Micera, G.; Deiana, S.; Gessa, C.; Petreca, M.; *Inorg. Chim. Acta* (1981)**56**, 109.
- 86- Espinoza, W.; "Cerrado: uso e manejo", V simpósio sobre o cerrado, Ed. Editerra, Brasília (1980).
- 87- Goodland, R.; Ferri, M. G.; "Ecología do cerrado", Ed. Itatiaia, Belo Horizonte (1979).
- 88- Goodland, R.; "Oligotrofismo e alumínio no cerrado", III simpósio sobre o cerrado, Ed. Blücher, E.; São Paulo (1971).
- 89- Magnavaca, R.; Bahia Filho A. F. C. "Sucess in maize acid tolerance" In of workshop on adaptation of plants to soil stresses. Intormil publication; University of Nebraska, Lincoln (1993) 94(2).
- 90- Kochian, L.V.; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* (1995)**46**, 237.

- 91- Le Van, H.; Kuraishi, S.; Sakurai, N.; *Plant Physiol.*(1994)**106**, 971.
- 92- Taylor, G.J.; *Current Topics in Plant Biochem. Physiol.* (1991)**10**, 57.
- 93- Delhaize, E.; Craig, S.; Beaton, C.D.; Bennet, R.J.; Jagadish, V.C.; Randall, P.J.; *Plant Physiol.* (1993)**103**, 685.
- 94- Pellet, D.M.; Grunes, D.L.; Kochian, L.V.; *Planta* (1995)**196**, 788.
- 95- Jorge, R.A.; Chagas, A.P.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*(1988)**84**(4), 1065.
- 96- Franco, C.R.; Jorge, R.A.; Chagas, A.P.; *An. Acad. Bras. Ci.*(1993)**65**(3), 233.
- 97-Kohn, R.; Rexová-Benková, L.; Luknar, O.; Luknar, L.; *Coll. Czech. Chem. Comm.* (1976)**41**, 1879.
- 98- Chaney, R.L.; Brown, J.C.; Tiffin, L.O.; *Plant Physiol.*(1972)**50**, 208.
- 99- Jorge, R.A.; Tese de doutorado, Inst. de Química, Univ. Est. de Campinas(1985).
- 100- Welz, B.; "Atomic Absorption Spectrophotometry". (2th ed.)VCH, Weinheim(1985).
- 101- Joslyn, M.A.; Luca, G.; *J. Coll. Sci.*(1957)**12**, 108.
- 102- Schwarzenbach, G.; Flaska, H.; "Complexometric Titrations". (2th ed.) Methuen, London (1969).
- 103- Schilt, A. A.; "Analytical Applications of 1.10 Phenantroline and Related Compounds".Pergamon Press, N. York (1969).
- 104- Martynov, A. P.; Novak, V.P.; Reznik, B.E.; *J. Anal. Chem. USSR*(1978)**33**, 37.
- 105- Thikonov, V.N.; Marksimova, T.M.; *J. Anal. Chem. USSR*(1976)**31**, 243.
- 106- Martynov, A.P.; Novak, V.P.; Reznik, B.E.; *J. Anal. Chem. USSR*(1977)**32**, 416.
- 107- Rossotti, F.G.C.; Rossotti, H.; *J. Chem. Educ.*(1965)**42**(7), 375.
- 108- Sajjaanantakul, T.; Pitifer, L. A.; "Pectinesterase" in "The chemistry and technology of Pectin" (Ed. Walter, J.A.), Academic press, San Diego, California(1991).
- 109- Martin, B.R.; *J.Inorg. Biochem.*(1991)**44**, 141.
- 110- Helfferich, F.; "Ion-exchange Kinetics" in "Ion exchange" (Ed. Marinsky, J.A.) Dekker, M.; N. York(1966).
- 111- Farago, M.E.; Clark, A.J.; Pitt, M.J.; *Inorg. Chim. Acta* (1977)**24**, 53.
- 112- Farago, M.E.; Pitt, M.J.; *Inorg. Chim. Acta*(1977)**24**, 127.
- 113- Farago, M.E.; Pitt, M.J.; *Inorg. Chim. Acta*(1977)**24**, 211.
- 114- Farago, M.E.; Mullen, W.A.; *Inorg. Chim. Acta*(1979)**32**, L93.
- 115- Cun, C.; Lesgards, G.; *Cah. Nutr. Diét.*(1993)**28**(5), 292.
- 116- Irwin, P. L.; Sevilla, M. D.; Stoudt, C. I.; *Biochim. Biophys. Acta*(1985)**842**, 76.
- 117-Kohn, R.; Heinrichová, K.; Malovíková, A.; *Coll. Czech. Chemm. Comm.*(1983)**48**, 1922.
- 118- Crumbliss, A.L.; Garrison, J.M.; *Comments Inorg. Chem.*(1988)**8**(1,2), 1.
- 119- Albin, M.; Horrocks Jr., W.D.; *Inorg. Chem.*(1985)**24**, 895.
- 120- Sinha, A.P.B.; "Spectroscopy in Inorganic Chemistry". Vol. II, Ed. acad. press, N. York(1971).

- 121- Strobel, H.A.; Heineman, W.R.; "Chemical Instrumentation: A systematic approach (3rd ed.) Wiley, J. & sons, N. York(1989).
- 122- Silverstein, R. M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C.; "Identificação espectrométrica de compostos orgânicos " Trad. Alencastro, R.B.; Ed. Guanabara, Rio de Janeiro (1987).
- 123- Horrocks, Jr., W.D.; Sudnick, D.R.; *Acc. Chem. Res.*(1981)**14**, 384.
- 124- Nakamoto, K.; "Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds" Ed. Wiley, J. & sons, N. York(1970).
- 125- Deiana, S.; Erre, L.; Micera, G.; Piu, P.; Gessa, C.; *Inorg. Chim. Acta*(1980)**46**, 249.
- 126- Farago, M.E.; Mahmoud, I.E.D.A.W.; *Inorg. Chim. Acta*(1983)**80**, 273.
- 127- Whiston, C.; "X - Ray methods". Ed. Wiley, J. & sons, N. York(1987)135.
- 128- Vogel, A.; "Quantitative inorganic analysis". Revised by Bassett, J.; Denney, R.C.; Jeffery, G. H.; Mendham, J.(4th ed.), Ed. Wiley, J. & sons, N. York (1978).
- 129- Kolthoff, I .M.; Sandell, E.B.; "Treatise on Analytical Chemistry". Ed. Wiley, J. & sons, N. York(1968).
- 130- Keatch, C.J.; Dollimore, D.; "An introduction to thermogravimetry".(2nd ed.) Ed Heyden, N. York(1975).
- 131- Squires, G.L; "Practical Physics"(3rd ed.), Cambridge, Univ. press, N.York(1991).
- 132- Marczenko, Z.; "Spectrophotometric determination of elements"(1st ed.) Wiley, J.; & sons, N. York(1976).

7. Apêndice - I

Desvios

7.1 Desvio padrão das constantes de equilíbrio estequiométrico K_e , nas trocas iônicas entre os pectinatos de alumínio e os íons considerados.

Os valores da constante de equilíbrio estequiométrico K_e , dos gráficos de $\ln K$ em função de X_M , foram obtidos através dos métodos dos mínimos quadrados em uma série de medições ($x_1, y_1; x_2, y_2, \dots, x_n, y_n$), aplicado na relação linear geral:

$$y = mx + c \quad (\text{eq. 23})$$

Desta maneira são obtidos os melhores valores de m (coeficiente angular) e de c (coeficiente linear) da função.

Assumindo que os erros das medições se encontram nos valores de y , podem ser calculados os desvios padrões do coeficiente angular Δm e do coeficiente linear Δc através das expressões (131):

$$(\Delta m)^2 \approx (1/D) (\sum d_i^2 / n-2) \quad (\text{eq. 24})$$

$$(\Delta c)^2 \approx [(1/n) + (\bar{x}^2/D)] (\sum d_i^2 / n-2) \quad (\text{eq. 25})$$

$$D = \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad (\text{eq. 26})$$

$$d_i = y_i - mx_i - c \quad (\text{eq. 27})$$

$$\bar{x} = (1/n) \sum x_i \quad (\text{eq. 28})$$

Diferenciando-se a equação 23 e igualando-se $\partial y = \Delta y$, temos:

$$\Delta y = x \Delta m + m \Delta x \quad (\text{eq. 29}), \quad \text{para } \Delta x = 0$$

$$\Delta y = x \Delta m \quad (\text{eq. 30})$$

Para $x = 0,5$ pode-se calcular $\Delta \ln K$ das trocas iônicas das espécies consideradas.

$$\Delta \ln k = x \Delta m \quad (\text{eq. 31})$$

$$\Delta \ln K = (1 / K) \Delta K \quad (\text{eq. 32})$$

$$\Delta K = K x \Delta m \quad (\text{eq. 33})$$

7.2 Desvios nas concentrações de ferro e alumínio em solução aquosa no equilíbrio de troca iônica.

Através da relação entre a absorvância A , e transmitância T (lei de Lambert - Beer), e para um desvio experimental máximo de $T = 1\%$, pode-se determinar o desvio em A :

$$A = -\log T \quad (\text{eq. 34})$$

$$\Delta A = \log(e) [(1 / T) \Delta T]. \quad (\text{eq. 35})$$

Com o cálculo de ΔA pode-se determinar os desvios das concentrações dos íons metálicos $M =$ ferro ou alumínio, determinados espectrofotometricamente (132).

$$C(M) \pm \Delta C(M) = A / m \pm A / m [(\Delta A / A)^2 + (\Delta m / m)^2]^{1/2} \quad (\text{eq. 36})$$

sendo m o coeficiente angular da função $A = f [C(M)]$. Os desvios percentuais relativos das medições experimentais dos íons metálicos mencionados, em solução aquosa, atingiram no máximo 3,0%.

8. Apêndice II

Tabela 18. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,00 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Fe (III).

*mPAI / mg	** C.10 ⁴ / M		***X		◆◆γ _±		◆K.10	lnK	pH
	Fe	Al	Fe	Al	Fe	Al			
48,58	3,70	3,28	0,17	0,83	1,82	0,82	1,82	-1,70	3,85
45,80	4,30	4,69	0,26	0,74	3,83	0,80	3,83	-0,96	3,78
45,86	5,30	7,71	0,42	0,58	10,53	0,77	10,53	0,05	3,70
46,36	4,60	9,41	0,51	0,49	21,29	0,77	21,29	0,76	3,66
46,72	3,90	11,12	0,59	0,41	41,03	0,76	41,03	1,41	3,64
46,90	3,50	12,52	0,66	0,34	69,44	0,76	69,44	1,94	3,65

*m = massa **C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ_± = coeficiente de atividade médio iônico
 ◆K = constante de equilíbrio

Tabela 19. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,26 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Fe (III).

*mPAI / mg	** C.10 ⁴ / M		***X		◆◆γ±		◆K.10	lnK	pH
	Fe	Al	Fe	Al	Fe	Al			
48,95	2,97	3,53	0,14	0,86	1,94	0,83	1,94	-1,94	3,95
45,70	3,39	5,62	0,24	0,76	5,24	0,80	5,24	-0,65	3,86
46,20	3,32	7,68	0,33	0,67	11,39	0,79	11,39	0,13	3,80
45,67	3,58	8,42	0,36	0,64	13,23	0,78	13,23	0,28	3,79
46,80	2,88	11,13	0,47	0,53	34,27	0,77	34,27	1,23	3,77
45,15	3,12	12,90	0,56	0,44	52,62	0,76	52,62	1,66	3,75

*m = massa **C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ◆K = constante de equilíbrio

Tabela 20. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,50 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Fe (III).

*mPAI / mg	** C. 10^4 / M		***X		◆ λ_{\pm}		◆ K.10	lnK	pH
	Fe	Al	Fe	Al	Fe	Al			
47,85	3,30	5,69	0,20	0,80	4,31	0,80	4,31	-0,84	4,00
47,57	3,90	7,10	0,25	0,75	6,07	0,79	6,07	-0,50	3,95
47,60	4,90	8,11	0,28	0,72	6,44	0,77	6,44	-0,44	3,91
46,90	5,50	9,51	0,34	0,66	8,91	0,76	8,91	-0,12	3,88
46,59	6,90	11,08	0,40	0,60	10,71	0,75	10,71	0,07	3,81
50,54	7,30	14,70	0,48	0,52	18,59	0,73	18,59	0,62	3,78

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ λ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 ● K = constante de equilíbrio

Tabela 21. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,65 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Fe (III).

*mPAI / mg	** C. 10^4 / M		***X		◆ γ_{\pm}			InK	pH
	Fe	Al	Fe	Al	◆ k_c .10	Al	◆ K.10		
47,28	2,28	5,71	0,18	0,82	5,50	0,81	5,50	-0,60	3,97
46,15	2,63	6,37	0,21	0,79	6,44	0,80	6,44	-0,44	3,84
47,30	3,40	8,60	0,27	0,73	9,36	0,78	9,36	-0,07	3,81
46,58	5,07	10,95	0,36	0,64	12,15	0,76	12,15	0,20	3,72
45,05	5,14	12,84	0,43	0,57	18,85	0,75	18,85	0,63	3,67
47,63	5,63	14,36	0,46	0,54	21,73	0,74	21,73	0,78	3,63
45,18	7,01	15,99	0,53	0,47	25,72	0,72	25,72	0,94	3,59

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 •K = constante de equilíbrio

Tabela 22. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,00 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Zn.

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M		***X		◆ γ_{\pm}		◆K. 10^3	lnK	pH	
	Zn	Al	Zn	Al	Zn	Al				
48,04	19,53	0,46	0,24	0,76	7,44	0,67	0,52	4,48	-5,41	4,47
48,94	39,41	0,57	0,29	0,71	5,91	0,61	0,43	2,94	-5,83	4,45
48,06	49,41	0,61	0,31	0,69	5,55	0,59	0,40	2,55	-5,97	4,44
49,54	59,37	0,65	0,33	0,67	5,39	0,56	0,36	2,23	-6,11	4,43
48,85	79,33	0,68	0,35	0,65	4,62	0,55	0,35	1,87	-6,28	4,41

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 •K = constante de equilíbrio

Tabela 23. Dados experimentais da troca entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,26 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Zn.

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M		***X		♦♦ γ_{\pm}		♦K. 10^3	lnK	pH	
	Zn	Al	Zn	Al	Zn	Al				
48,75	9,61	0,39	0,16	0,84	7,73	0,73	0,60	5,22	-5,25	4,48
47,16	19,53	0,46	0,19	0,81	5,52	0,67	0,52	3,33	-5,71	4,47
49,30	29,44	0,55	0,22	0,78	5,27	0,63	0,46	2,81	-5,87	4,46
47,70	69,36	0,65	0,27	0,73	3,47	0,56	0,36	1,43	-6,55	4,42
48,60	79,32	0,69	0,28	0,72	3,38	0,55	0,35	1,37	-6,59	4,41

*m = massa ** C = concentração, M = mol. dm⁻³ ***X = fração molar
♦♦ γ_{\pm} = coeficiente de seletividade ♦♦ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
♦K = constante de equilíbrio

Tabela 24. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,50 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Zn.

*mPAI mg	** C.10 ³ / M		***X		◆♦γ±		●K.10 ³	lnK	pH	
	Zn	Al	Zn	Al	Zn	Al				
48,20	9,58	0,41	0,14	0,86	7,03	0,73	0,60	4,75	-5,35	4,48
52,99	19,44	0,55	0,17	0,83	5,79	0,67	0,52	3,49	-5,66	4,47
55,46	27,38	0,60	0,18	0,82	4,81	0,64	0,47	2,59	-5,95	4,46
57,21	35,36	0,65	0,19	0,81	4,31	0,62	0,44	2,17	-6,13	4,46
47,90	59,32	0,65	0,23	0,77	3,28	0,57	0,38	1,46	-6,53	4,43
47,79	99,25	0,75	0,26	0,74	2,66	0,53	0,32	0,97	-6,94	4,39

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆♦γ± = coeficiente de seletividade ◆♦γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 25. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,65 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Zn.

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ _±		◆K.10 ³	lnK	pH	
	Zn	Al	Zn	Al	Zn	Al				
51,09	19,42	0,57	0,17	0,83	6,01	0,67	0,52	3,62	-5,62	4,47
51,91	41,21	0,70	0,20	0,80	4,25	0,60	0,42	2,08	-6,17	4,45
49,59	49,33	0,69	0,21	0,79	3,72	0,59	0,40	1,71	-6,37	4,44
51,19	59,28	0,73	0,22	0,78	3,47	0,57	0,38	1,54	-6,47	4,43
50,48	69,26	0,75	0,23	0,77	3,24	0,56	0,36	1,34	-6,62	4,42
48,85	99,19	0,81	0,25	0,75	2,72	0,53	0,32	0,99	-6,92	4,39
48,10	129,15	0,84	0,26	0,74	2,29	0,51	0,30	0,79	-7,14	4,38
48,00	149,16	0,86	0,27	0,73	2,13	0,51	0,28	0,64	-7,35	4,37

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar ◆K = constante de equilíbrio
 ◆◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ_± = coeficiente de atividade médio iônico

Tabela 26. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,00 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os ions Mn (II).

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		●k.10	lnK	pH
	Mn	Al	Mn	Al	Mn	Al			
22,45	0,42	0,18	0,20	0,42	1,07	0,93	1,07	-2,23	4,70
22,40	0,90	0,30	0,33	0,67	1,64	0,91	1,60	-1,83	4,69
22,30	1,60	0,40	0,45	0,55	2,05	0,89	2,00	-1,61	4,68
22,35	1,71	0,49	0,55	0,45	3,50	0,88	3,42	-1,07	4,68
22,20	2,40	0,60	0,67	0,33	5,08	0,87	4,96	-0,70	4,65

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 27. Dados experimentais da troca iônica entre pectinados de alumínio (PAI), com $1,26 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Mn (II).

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M		***X		◆ γ_{\pm}		●K.10	lnK	pH
	Mn	Al	Mn	Al	Mn	Al			
22,50	0,33	0,17	0,15	0,85	0,91	0,93	0,89	-2,42	4,68
22,72	0,90	0,30	0,26	0,74	1,17	0,89	1,14	-2,17	4,69
23,00	1,60	0,40	0,35	0,65	1,35	0,88	1,32	-2,02	4,68
22,40	2,40	0,60	0,53	0,47	2,82	0,86	2,76	-1,29	4,65
22,65	3,75	0,75	0,65	0,35	3,71	0,84	3,62	-1,02	4,67

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 28. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,50 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Mn(II).

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		InK	pH	
	Mn	Al	Mn	Al	Mn	Al			
22,54	1,28	0,22	0,16	0,84	0,33	0,90	0,32	-3,43	4,69
22,32	2,23	0,30	0,22	0,78	0,38	0,88	0,37	-3,29	4,62
22,50	2,48	0,50	0,37	0,63	1,18	0,87	1,15	-2,16	4,65
22,46	2,65	0,65	0,48	0,53	2,26	0,86	2,21	-1,51	4,68
22,30	2,70	0,80	0,60	0,40	4,44	0,86	4,33	-0,84	4,68

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 •K = constante de equilíbrio

Tabela 29. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,65 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Mn (II).

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		◆K.10	lnK	pH
	Mn	Al	Mn	Al	Mn	Al			
23,00	1,30	0,20	0,13	0,87	0,23	0,90	0,23	-3,77	4,69
22,20	2,25	0,30	0,20	0,80	0,33	0,88	0,32	-3,43	4,65
22,40	2,41	0,49	0,33	0,67	1,00	0,87	0,98	-2,33	4,65
22,48	2,57	0,63	0,42	0,58	1,78	0,86	1,74	-1,75	4,68
23,15	2,73	0,80	0,52	0,48	3,17	0,86	3,10	-1,17	4,68

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ◆k = constante de equilíbrio

Tabela 30. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,00 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Cu (II).

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M		***X		◆ γ_{\pm}		lnK	pH		
	Cu	Al	Cu	Al	Cu	Al				
23,05	0,11	0,14	0,15	0,85	2,25	0,93	0,89	2,06	-1,58	4,59
23,47	0,27	0,23	0,25	0,75	2,84	0,90	0,86	2,59	-1,35	4,57
22,78	0,47	0,28	0,31	0,69	2,68	0,89	0,83	2,33	-1,46	4,57
23,00	0,88	0,42	0,45	0,55	3,91	0,86	0,79	3,30	-1,11	4,54
22,98	1,21	0,49	0,55	0,45	4,95	0,84	0,77	4,16	-0,88	4,48

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar

◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico

●K = constante de equilíbrio

Tabela 31. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,26 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Cu (II)

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		●k.10	lnK	pH
	Cu	Al	Cu	Al	Cu	Al			
22,56	0,14	0,11	0,10	0,90	0,87	0,90	0,81	-2,51	4,58
22,55	0,31	0,19	0,17	0,83	1,26	0,86	1,15	-2,16	4,57
22,36	0,49	0,26	0,23	0,77	1,58	0,84	1,41	-1,96	4,57
22,35	0,85	0,45	0,40	0,60	3,53	0,79	2,98	-1,21	4,54
22,54	1,05	0,55	0,48	0,52	4,84	0,76	3,87	-0,95	4,47

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 32. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,50 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Cu (II).

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		◆K.10	lnK	pH
	Cu	Al	Cu	Al	Cu	Al			
22,95	0,65	0,21	0,15	0,85	0,57	0,83	0,50	-3,00	4,56
22,02	1,16	0,34	0,26	0,74	1,03	0,79	0,87	-2,44	4,47
24,85	1,97	0,53	0,35	0,65	1,45	0,74	1,18	-2,14	4,49
22,80	1,50	0,50	0,37	0,63	1,96	0,76	1,60	-1,83	4,52
22,90	2,11	0,69	0,50	0,50	3,27	0,73	2,66	-1,33	4,52

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ◆K = constante de equilíbrio

Tabela 33. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,65 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Cu (II).

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		◆K.10	lnK	pH	
	Cu	Al	Cu	Al	Cu	Al				
22,00	0,21	0,15	0,10	0,90	0,79	0,92	0,88	0,72	-2,63	4,57
21,70	0,71	0,29	0,20	0,80	1,02	0,88	0,82	0,89	-2,42	4,56
22,30	1,09	0,41	0,28	0,72	1,46	0,85	0,79	1,26	-2,07	4,47
21,80	1,53	0,47	0,33	0,67	1,51	0,84	0,76	1,24	-2,09	4,52
22,05	3,24	0,66	0,45	0,55	1,67	0,79	0	1,31	-2,03	4,53

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆K = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 constante de equilíbrio

Tabela 34. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,00 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Ca

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ _±		●K.10 ³	lnK	pH	
	Ca	Al	Ca	Al	Ca	Al				
24,53	5,50	0,10	0,10	0,90	2,03	0,78	0,70	1,63	-6,42	4,45
24,58	10,80	0,12	0,13	0,87	1,66	0,72	0,64	1,31	-6,64	4,46
24,72	45,10	0,20	0,20	0,80	1,11	0,58	0,50	0,82	-7,10	4,48
24,54	99,30	0,26	0,26	0,74	0,92	0,50	0,42	0,65	-7,34	4,47
24,54	182,77	0,29	0,30	0,70	0,68	0,45	0,37	0,46	-7,68	4,45
24,70	246,87	0,32	0,32	0,68	0,61	0,42	0,35	0,42	-7,77	4,45

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 coeficiente de seletividade ◆◆γ_± = coeficiente de atividade médio iônico
 constante de equilíbrio

Tabela 35. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,26 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Ca.

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M			***X			◆ γ_{\pm}			pH
	Ca	Al		Ca	Al		Ca	Al		
24,03	10,88	0,12	0,10	0,90	1,23	0,72	0,64	0,97	-6,94	4,46
24,50	43,48	0,22	0,18	0,82	1,11	0,58	0,50	0,82	-7,10	4,47
24,56	99,73	0,27	0,22	0,78	0,83	0,50	0,42	0,59	-7,44	4,47
24,42	132,49	0,31	0,25	0,75	0,80	0,48	0,40	0,56	-7,50	4,45
24,30	181,45	0,35	0,28	0,72	0,75	0,45	0,37	0,51	-7,59	4,45

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 36. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,50 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Ca.

*mPAI / mg	** C.10 ³ / M		***X		◆◆γ±		◆K.10 ³	lnK	pH
	Ca	Al	Ca	Al	Ca	Al			
24,82	4,87	0,13	0,09	0,91	2,64	0,78	0,71	-6,13	4,45
24,15	9,84	0,16	0,11	0,89	2,01	0,73	0,65	-6,44	4,46
24,50	50,00	0,30	0,20	0,80	1,50	0,57	0,48	-6,85	4,49
24,67	139,60	0,40	0,27	0,73	1,06	0,47	0,39	-7,22	4,44
24,15	199,56	0,44	0,30	0,70	0,94	0,44	0,37	-7,32	4,44

*m = massa ** C = concentração , M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆◆k_c = coeficiente de seletividade ◆◆γ± = coeficiente de atividade médio iônico
 ◆K = constante de equilíbrio

Tabela 37. Dados experimentais da troca iônica entre pectinatos de alumínio (PAI), com $1,65 \times 10^{-3}$ mol de alumínio / g PAI, e os íons de Ca.

*mPAI / mg	** C. 10^3 / M		***X		◆ γ_{\pm}		lnK	pH		
	Ca	Al	Ca	Al	Ca	Al				
24,23	29,81	0,19	0,12	0,88	0,87	0,62	0,54	0,66	-7,32	4,50
24,15	52,94	0,24	0,15	0,85	0,80	0,56	0,48	0,59	-7,44	4,50
24,35	84,91	0,29	0,18	0,82	0,75	0,52	0,44	0,54	-7,53	4,48
24,86	121,32	0,33	0,20	0,80	0,68	0,48	0,40	0,47	-7,66	4,48
24,21	229,89	0,40	0,25	0,75	0,58	0,43	0,36	0,41	-7,81	4,45

*m = massa ** C = concentração, M = mol.dm⁻³ ***X = fração molar
 ◆ k_c = coeficiente de seletividade ◆ γ_{\pm} = coeficiente de atividade médio iônico
 ●K = constante de equilíbrio

Tabela 38. Valores do coeficiente angular m, dos gráficos de lnK em função da fração molar X dos ions metálicos que substituem a espécie $Al(OH)_2^+$, nos pectinatos de alumínio com diferentes GM, obtidos na demetilação alcalina e enzimática durante a troca iônica.

Amostras	m							
	Demetilação alcalina(99)				Demetilação enzimática			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Fe(III)	5,22	4,47	4,78	9,52	7,35	7,96	4,93	4,54
Zn	2,94	3,29	3,09	3,75	-7,82	-11,10	-13,26	-16,65
Mn(II)	1,79	1,67	2,09	3,25	3,28	2,94	6,16	6,91
Cu(II)	3,09	2,93	2,16	3,01	1,69	4,12	4,78	1,82
Ca	1,12	2,44	2,18	2,80	-6,03	-3,87	-5,36	-3,83