

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

INFLUÊNCIA DE CÁTIONS  
NA REAÇÃO DE MAILLARD

SIN-HUEI WANG  
BACHAREL EM FARMÁCIA-BIOQUÍMICA

ORIENTADORA:  
PROF.<sup>a</sup> DR.<sup>a</sup> FLORINDA O. BOBBIO

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS.

- 1975 -

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

*Dedico a*

*meus pais: Wang Shiung  
Wang Hwa*

*meus irmãos: Wang Sin-Ai  
Wang Sin-Fu  
Wang Sin-Mei*

*"O temor do Senhor é o princípio da sabedoria, e conhecimento do Santo é prudência." - (Provêrbios 9:10)*

## ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	11
3.1 Material .....	11
3.2 Métodos .....	11
4. RESULTADOS .....	13
4.1 Efeito de íons de cobre a pH 6,20 em água desionizada..	13
4.2 Efeito de íons de cobre a pH 3,00 em água desionizada ..	15
4.3 Efeito de íons de cobre a pH 6,20 em solução tampão de citrato .....	16
4.4 Efeito de íons de cobre a pH 3,00 em solução tampão de citrato .....	18
4.5 Efeito de íons de cálcio a pH 6,20 em água desionizada .	20
4.6 Efeito de íons de cálcio a pH 3,00 em água desionizada .	22
4.7 Efeito de íons de cálcio a pH 6,20 em solução tampão de citrato .....	23
4.8 Efeito de íons de cálcio a pH 3,00 em solução tampão de citrato .....	25
4.9 Efeito de íons de zinco a pH 6,20 em água desionizada ..	26
4.10 Efeito de íons de zinco a pH 3,00 em água desionizada ..	28
4.11 Efeito de íons de zinco a pH 6,20 em solução tampão de citrato .....	29
4.12 Efeito de íons de zinco a pH 3,00 em solução tampão de citrato .....	31
4.13 Efeito de íons de manganês a pH 6,20 em água desionizada.	32
4.14 Efeito de íons de manganês a pH 3,00 em água desionizada.	34
4.15 Efeito de íons de manganês a pH 6,20 em solução tampão de citrato .....	35
4.16 Efeito de íons de manganês a pH 3,00 em solução tampão de citrato .....	37
5. DISCUSSÃO .....	38
5.1 Métodos .....	38
5.2 Resultados .....	39
6. CONCLUSÕES .....	43

	Página
7. SUMÁRIO .....	46
8. SUMMARY .....	47
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
10. GRÁFICOS .....	54
11. APÊNDICE .....	71
12. AGRADECIMENTOS .....	76

## 1. INTRODUÇÃO

Os produtos que se formam na reação entre aminoácidos e carboidratos redutores, chamada reação de Maillard, causam transformações na aparência, aroma e sabor dos alimentos.

Essas transformações, embora altamente desejáveis em alguns casos, em outros conferem aos alimentos propriedades organolépticas indesejáveis além da diminuição do valor nutritivo desses alimentos.

Embora o mecanismo da reação de Maillard tenha sido estudado, as condições de reação empregadas pelos diversos autores têm sido diferentes, dando resultados muitas vezes conflitantes que também mostram a complexidade dessa reação.

Uma vez que cátions e ânions, sempre presentes em sistemas naturais, podem reagir com carboidratos e aminoácidos, seria natural que esses ions influíssem na velocidade da reação de Maillard. Entretanto, a cinética e a ação de catalisadores na velocidade da reação de Maillard, têm sido menos estudadas, e entre os catalisadores, a ação de cátions, se bem que conhecida, tem sido pouco pesquisada pelos diferentes autores.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

MAILLARD (1 e 2) foi o primeiro autor que estudou a reação entre aminoácidos e açúcares, da qual resulta a formação de produtos escuros, hoje chamados melanoidinas. Fazendo reagir a quente, diferentes mono e dissacarídeos com vários aminoácidos em soluções aquosas, MAILLARD observou que a capacidade de produzir melanoidinas variava de acordo com o açúcar e o aminoácido empregados e que a reação dependia da existência de grupos carbonila livres nos açúcares.

BORSOOK e WASTENEYS (3) estudaram o efeito do pH na reação de Maillard, determinando a diminuição do nitrogênio amínico livre na reação entre glicose e glicina em solução de tampão fosfato. Os autores prepararam soluções a 13,2% de glicose e 1% de glicina em solução de tampão fosfato 0,5M e a pH variando de 7,8 a 11,0. Foram empregadas também soluções a 1% de glicina, nas mesmas condições. As soluções foram aquecidas a 37°C, e o nitrogênio amínico livre foi determinado em vários períodos de tempo durante 48 horas. Os resultados mostraram que em ausência de glicose, não houve variação do teor de nitrogênio amínico livre e que em presença de glicose a perda de nitrogênio amínico livre aumentou com o aumento do pH das soluções.

Usando titulação potenciométrica, FRANKEL e KATCHALSKY (4) em 1937, estudaram a reatividade de diferentes açúcares e aminoácidos a pH constante. Os autores observaram que a reação foi mais rápida quando o pH inicial foi entre 7,0 e 8,5; havendo diminuição da velocidade da reação a pH 4,5 ou 11,0. Neste último caso, segundo os autores, houve degradação alcalina dos açúcares. Em 1938, os mesmos autores (5) ainda estudando a reação de Maillard, concluíram que a reação dependia da existência de  $\alpha$ -amino grupos e de grupos aldeídos (aldoses). Quando cetoses foram empregadas em lugar de aldoses, não houve diminuição do pH inicial, mesmo após 3 horas de reação.

OLCOTT e DUTTON (6) interessados no efeito do teor de água na

conservação de ovos desidratados, trabalharam com sistemas-modelo contendo diferentes teores de umidade. Os autores empregaram soluções de glicina e glicose aquecidas a 50<sup>o</sup>C, contendo 0; 2; 5; e 10% de umidade. Após 24 horas o escurecimento foi mais intenso na amostra com 10% de umidade; a amostra com 0% de umidade não sofreu alteração.

O escurecimento e a diminuição do nitrogênio amínico livre da caseína na presença de glicose, em função da atividade da água e do pH dos sistemas usados, foram estudados por HANNAN e LEA (7) a pH 6,3 e a 37<sup>o</sup>C; houve perda máxima de nitrogênio amínico livre, quando a umidade relativa permaneceu entre 65 e 70%. Usando pH entre 3,0 e 8,0 e variando a temperatura, os autores verificaram que houve uma perda maior de nitrogênio amínico livre, quando a umidade relativa foi de 70%; à medida que a temperatura e o pH foram aumentados, houve maior perda de nitrogênio amínico livre. Em outro trabalho, HANNAN e LEA (8) usando misturas de glicose e  $\alpha$ -N-acetil-L-lisina, aquecidas a 37<sup>o</sup>C e com umidade relativa variando de 20 a 60%, demonstraram que a perda do nitrogênio amínico livre foi maior quando a umidade relativa foi de 40%. A diminuição do pH durante a reação, e o escurecimento foram maiores quando a umidade relativas foi de 60%.

Um estudo sistemático da influência da água no escurecimento de uma mistura de D-xilose e glicina na proporção de 1:5 à 65<sup>o</sup>C foi feito por WOLFROM e ROONEY (9). Foram preparadas misturas de açúcares e aminoácidos contendo diferentes proporções de água e a cor foi determinada pela medida de densidade ótica a 490nm após 4, 6 e 8 horas de aquecimento a 65<sup>o</sup>C. Foi observado que o escurecimento máximo foi atingido quando a concentração da água foi de aproximadamente 30%. Na ausência de água ou em concentrações acima de 90%, o escurecimento não foi observado.

WILLITS *et al.* (10) estudaram o efeito do pH e de diferentes tipos de aminoácidos em soluções diluídas de glicose. Os autores observaram que as soluções de glicose não contendo aminoácidos apresentavam cor somente quando o pH dessas soluções era maior

que 7,0. A presença de alanina ou ácido glutâmico na solução de glicose não causou aumento significativo na intensidade da cor, ao passo que a presença de lisina aumentou o escurecimento a pH 7,0. No entanto, segundo os autores, esse efeito da lisina não foi devido à sua basicidade, pois arginina e histidina não apresentaram o mesmo efeito. Foi comprovado estatisticamente que a lisina e o pH alcalino tinham um efeito sinérgico na intensidade da cor.

NAGAYAMA (11) interessado no estudo do escurecimento não enzimático, em carne de peixe, trabalhou com diferentes sistemas-modelo. O autor usou soluções de glicose ou ribose, contendo como aminoácidos, arginina, lisina, histidina e glicina em soluções de tampão fosfato a pH 6,8. As soluções foram aquecidas em tubos fechados a 115<sup>o</sup>C por uma hora. Foi observado que com lisina o escurecimento foi mais intenso do que com os outros aminoácidos e a formação de produtos fluorescentes se deu em maior quantidade com histidina. O autor verificou que a velocidade de escurecimento foi proporcional à concentração de glicose e de lisina, e proporcional à raiz quadrada da concentração do fosfato. Foi observado também que o fosfato aparentemente não se combinava com os reagentes nem com os produtos da reação, embora na presença de fosfato, o escurecimento tenha sido mais intenso.

EICHNER e KAREL (12) investigaram a ação do teor de água na velocidade da reação de escurecimento. Os autores prepararam sistemas-modelo contendo soluções de açúcar-aminoácido-glicerol, em quantidades variáveis de água. A atividade da água foi mantida constante pela variação da concentração de glicerol. Foi observado que a velocidade de escurecimento decrescia com o aumento da quantidade de água.

O efeito de ânions na reação de Maillard tem sido muito pouco estudado. Entre os trabalhos existentes, podemos citar os de SAUNDERS e JERVIS (13), que estudaram o efeito de fosfato e citrato na reação entre glicose e glicina. Foram feitas soluções de glicose e glicina à 0,25; 0,4 e 0,5M em água a pH 3,0 e 8,0;



em tampão citrato de sódio a pH 3,0 e 8,0 e em tampão fosfato de sódio a pH 7,5. As soluções foram aquecidas a 120°C sob pressão de vapor de 15 lb/pol<sup>2</sup>, durante 2 horas. A velocidade da reação foi seguida pela medida da densidade ótica a 490 e 285nm, desprendimento de CO<sub>2</sub> e variação de pH. Pelos resultados obtidos, os autores concluíram que fosfato e citrato tem efeito catalítico a pH básico e ácido, e que a reação se dá mais rapidamente em soluções moderadamente alcalinas. Os efeitos de citrato e fosfato mostraram-se aditivos.

BOBBIO *et al.* (14 e 15) estudaram sistematica e comparativamente o efeito de diferentes carboidratos, pH, temperaturas e ânions na reação de Maillard. Os sistemas-modelo empregados pelo autor, consistiram de soluções 0,66M de glicina e 1,25M de um dos seguintes carboidratos: xilose, fructose, glicose, maltose e sacarose, em água ou em tampão fosfato, citrato ou ftalato. Em cada caso, os pH iniciais foram de 6,2 e 2,2. As soluções foram aquecidas a 47°C e 57°C. O andamento da reação foi seguido pela medida da densidade ótica das soluções a 450nm. Os resultados obtidos mostraram que a presença de ânions acelera a reação e entre os ânions estudados o fosfato mostrou ser o catalisador mais eficiente para qualquer dos carboidratos empregados. Tanto a 47°C como a 57°C a ordem decrescente de reatividade dos carboidratos com glicina a pH 6,2 foi: xilose, glicose e fructose.

REYES e BOBBIO (16) estudaram a influência de ânions na reação de glicina e  $\beta$ -lactose, tanto em água como em soluções tampão. Pelos resultados obtidos, os autores observaram que na formação de cor do sistema lactose-glicina, há efeito catalítico específico dos ânions citrato ou fosfato.

A influência de cátions na reação de Maillard tem sido pouco estudada, embora existam vários trabalhos sobre a reação de carboidratos e cátions, entre outros, o de RENDLEMAN (17). Nesse trabalho, o autor cita a formação de complexos entre carboidratos e cátions; também são discutidas a estabilidade, solubilidade e estrutura dos complexos formados.

ANGYAL (18) estudou os espectros de ressonância nuclear magnética de complexos formados entre carboidratos e metais. O autor concluiu que os complexos são mais estáveis, quando os carboidratos apresentam três grupos hidroxilas nas posições ax-eq-ax na forma piranosídica ou três grupos hidroxilas vicinais na posição cis, quando na forma furanosídica.

A formação de complexos entre aminoácidos e cátions tem sido objeto de diversos trabalhos entre os quais: MOLDOBAEV et al.(19), FARAGLIA et al. (20) e NYILASI (21).

A influência de íons metálicos na reação de Maillard foi estudada por WEBB (22) em 1935, em um trabalho sobre a cor do leite evaporado. O autor observou que o escurecimento de uma solução a 5% de lactose, aquecida a 120°C durante 20 minutos, era catalizado por íons de  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ; no entanto, esse escurecimento foi retardado por íons de estanho. O mesmo autor observou também que a presença de fosfato, oxigênio, aminoácidos e sais de amônio na solução de lactose acelerava o escurecimento.

THOMPSON (23) fazendo reagir óxido de  $\text{Cu}^{2+}$  com proteínas, verificou que proteínas em geral tem grande afinidade pelo cobre, e se tornam saturadas quando em contacto com óxido de  $\text{Cu}^{2+}$  a pH entre 6,5 e 7,0. O autor observou também que o complexo de proteína-cobre reage com compostos que contém duplas ligações em estruturas cíclicas, dando uma reação de escurecimento não enzimático.

DESCHREIDER (24) estudou o escurecimento de xarope de D-glicose com diferentes aminoácidos: glicina, DL-alanina e ácido aspártico em presença de íons de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ou  $\text{Zn}^{2+}$ . As quantidades de aminoácidos empregadas pelo autor variaram de 75 a 225ppm que são quantidades pouco empregadas para o estudo da reação de Maillard. Íons de  $\text{Cu}^{2+}$  foram empregados em quantidades que variaram de 10 a 40ppm na forma de sulfato cúprico. Os resultados mostraram que a concentração ótima de íons de  $\text{Cu}^{2+}$  foi entre 10 a 20ppm. O autor chegou à conclusão que o escurecimento e o de-

desaparecimento do nitrogênio amínico livre foram inibidos a pH 3,25 ou 5,20, por traços de cobre, ferro ou zinco.

BOHART e CARSON (25) observaram que, sob certas condições, o escurecimento de uma solução de glicose-glicina era fortemente influenciado por traços de manganês ou ferro. Os autores prepararam soluções 0,448M de D-glicose e 0,458M de glicina, em solução de tampão fosfato, e adicionaram à essas soluções quantidades variáveis de íons de  $Mn^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  na forma de cloreto. As soluções foram aquecidas a  $50^{\circ}C$  em ausência de luz. A velocidade das reações foi seguida pelo aumento da densidade ótica das soluções a 420nm em diferentes intervalos de tempo. Os resultados mostraram que íons de  $Mn^{2+}$  na concentração de 0,4ppm reduziram a intensidade da cor de 17 a 24%. A quantidade de 0,003ppm de íons de  $Mn^{2+}$  já retardou o escurecimento de maneira significativa. Quando íons de  $Mn^{2+}$  foram adicionados na proporção de 2ppm, a intensidade da cor foi diminuída de 30 a 40%. Os autores observaram também que os íons de  $Mn^{2+}$  inibiram o escurecimento na presença de ar ou oxigênio, não apresentando nenhum efeito na presença de nitrogênio. Por outro lado, os autores observaram que íons de  $Fe^{3+}$  aceleraram a reação de escurecimento. Em sistema semelhante, porém sob oxigênio, amostras contendo 2ppm de íons de  $Fe^{3+}$  na forma de cloreto, apresentaram coloração 4 ou 5 vezes mais intensa, que as soluções que não continham  $Fe^{3+}$ .

PETIT (26) estudando o desaparecimento de glicina pela reação de Maillard através da formação do complexo formado por íons de  $Cu^{2+}$  com glicina, verificou que os íons de  $Cu^{2+}$  reagiam não só com glicina, mas também, com um produto intermediário formado durante a reação de Maillard e que o autor considerou ser um N-glicosídeo.

Comparando o efeito de  $K_2HPO_4$  e  $Na_2HPO_4$ , SPIVEY e MICKELSEN (27) observaram que  $K_2HPO_4$  causou maior escurecimento mesmo em ausência de umidade, ao passo que  $Na_2HPO_4$  somente causou escurecimento em presença de água. A maior atividade do  $K_2HPO_4$  na formação de melanoidinas foi atribuída a sua higroscopicidade.  $Na_2HPO_4$ ,

embora tenha a mesma basicidade que  $K_2HPO_4$ , devido a sua pouca higroscopicidade, somente apresentou escurecimento na presença de água.  $Na_2HPO_4$  em presença de água e especialmente em presença de água e aquecimento, acelerou o escurecimento.

O efeito de traços de metais no escurecimento de uma solução de glicose e lisina foi estudado por MARKUZE (28). O autor empregou soluções 0,4M de glicose e 0,01 ou 0,02M de lisina, em tampão fosfato a pH 6,5 ou 7,0; contendo íons de  $Cu^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ ,  $Sn^{4+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Mn^{2+}$  (em quantidades de 1, 10 e 20mg/l). As soluções foram aquecidas a  $60^{\circ}C$ . O aumento da cor das soluções foi medido pelo aumento da densidade ótica das soluções, a 420nm. Foi observado que os íons de  $Fe^{3+}$  e  $Cu^{2+}$  aceleraram o escurecimento em presença de ar ou de nitrogênio; no entanto, íons de  $Sn^{2+}$ ,  $Sn^{4+}$  e  $Mn^{2+}$  diminuíram o escurecimento. Íons de  $Pb^{2+}$  não influíram no escurecimento.

KATO e SAKURAI (29) estudaram o efeito de cátions no sistema ácido cítrico-sacarose, e constataram que íons de  $Sn^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Sn^{2+}$  e  $Al^{3+}$  aceleraram consideravelmente o escurecimento; íons de  $Fe^{2+}$  e  $Cu^{2+}$  causaram pouca aceleração na velocidade de escurecimento; íons de  $Ca^{2+}$  mostraram ação inibidora pouco significativa; íons de  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  não apresentaram efeito sobre o escurecimento.

OTU (30) estudando o efeito de  $AlCl_3$  na cor do sakê, observou que quando  $AlCl_3$  foi adicionado ao sakê, o produto perdeu a cor inicial, e o aparecimento da cor durante o armazenamento foi ligeiramente retardado. Quando  $AlCl_3$  foi adicionado a uma solução de açúcar e aminoácido já escura devido a reação de Maillard, a solução não perdeu a cor inicial, mas um escurecimento maior durante o armazenamento foi inibido. Segundo o autor, há provavelmente no sakê, pelo menos duas reações de escurecimento, sendo uma delas a reação de Maillard, que é retardada pela adição de  $AlCl_3$ . A inibição da cor de sakê foi produzida principalmente pelo baixamento de pH causado pela dissociação dos sais de alumínio adicionados.

UMEMOTO *et al.* (31) estudando o efeito de traços de íons de  $Fe^{3+}$  no escurecimento do sistema-modelo formado por glicose e  $\beta$ -alanina, observaram que o efeito foi maior quando os íons foram adicionados em um estágio mais adiantado da reação. Segundo os autores, o principal intermediário formado na reação de Maillard é a fructoseamína. Na presença de íons de  $Fe^{3+}$ , foi observado uma diminuição considerável na formação de fructoseamína e aumento na formação de 3-desoxi-glicosulose, com aumento do escurecimento da solução. Quando a reação foi feita em água a temperatura de ebulição, a ação dos íons de  $Fe^{3+}$  foi praticamente nula.

UMEMOTO *et al.* (32) em outro trabalho, estudaram o efeito de íons de  $Fe^{3+}$  na reação de Maillard, empregando como produto inicial a 1-desoxi-1- $\beta$ -alanino-D-fructose, e observaram que a adição de íons de  $Fe^{3+}$ , causou imediato escurecimento, com degradação da 1-desoxi-1- $\beta$ -alanina-fructose, e um aumento considerável na formação de 3-desoxi-glicosulose e aparecimento de outros compostos contendo grupos carbonila.

ADACHI *et al.* (33) estudando os fatores que afetam o escurecimento de suco de tomate observaram que a velocidade de escurecimento foi aumentada pelo aumento da temperatura, do pH e da concentração de suco de tomate. Os autores observaram também que a adição de íons de  $Cu^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  aceleraram o escurecimento.

Segundo POWELL e SPARK (34) que estudaram o efeito de sais de alumínio e zircônio na reação de Maillard, o efeito desses sais é principalmente devido à mudança de pH, pois a adição dos sais de alumínio e zircônio causou inicialmente um abaixamento do pH do sistema de 5,3 para 4,0. Os referidos autores prepararam soluções 2,5M de glicose e 1,0M de glicina em água destilada. Os íons de metais foram adicionados diretamente às soluções na forma de nitrato ou sulfato. O pH foi corrigido pela adição de ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio. As soluções foram aquecidas a 50°C e 60°C. A velocidade da reação foi seguida pela medida do aumento da densidade ótica das soluções a 450nm. O efeito cau

sado pelos compostos de alumínio e zircônio somente foi observado quando 200ppm de alumínio e zircônio eram adicionados, na forma de sulfato.

HEYDENREICH (35) estudou o efeito de cátions e ácidos na reação de Maillard usando soluções de diferentes açúcares com diferentes aminoácidos ou aminas com diferentes graus de alquilação, e também compostos com diferentes grupos funcionais, entre os quais ácido ascórbico. O autor não observou diferenças significativas em soluções contendo diferentes aminoácidos e diferentes carboidratos. No entanto, ácido ascórbico ou ácido dihidroxifumárico aumentaram o escurecimento. O autor concluiu que esse aumento de escurecimento era devido aos grupos dienólicos existentes nesses compostos. Por outro lado, ácido tartárico e ácido succínico retardaram o escurecimento. Foi estudado também o efeito catalítico de diferentes íons metálicos na presença dos compostos citados. O autor chegou à conclusão de que na ausência de ácido ascórbico, os íons de  $\text{Sn}^{2+}$  podem inibir o escurecimento entre açúcares e aminoácidos, pois na reação de Maillard podem se formar compostos de estrutura semelhante ao ácido ascórbico que poderiam formar complexos de estanho e isso faria com que o escurecimento seja retardado.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

Tanto a glicose como a glicina foram produtos quimicamente puros da marca Merck, empregados sem posterior purificação.

Os sais empregados: cloreto de cobre, cloreto de cálcio, cloreto de zinco, cloreto de manganês, foram produtos puros para análise, sem necessidade de purificação posterior, das marcas Carlo Erba ou Merck.

Todos os demais reagentes como ácido clorídrico, hidróxido de sódio, ácido cítrico, citrato de sódio, foram produtos puros para análise, das marcas Merck, Baker ou Fisher.

Em todas as experiências feitas por nós, a água empregada foi destilada e desionizada sendo sua condutividade inferior a  $1 \text{ Meg Ohms}^{-1} \text{-cm}^{-1}$ .

A balança empregada para a pesagem das amostras foi da marca METTLER, modelo H-34.

Foi usado desionizador CORNING, modelo LD-2a para a obtenção da água desionizada.

A medida de pH foi feita em potenciômetro ORION RESEARCH, modelo digital 701 com microeletrodo combinado.

As reações foram feitas em banho de temperatura constante a  $50^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , com agitador e termostato com sensibilidade  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

As densidades óticas foram medidas em espectrofotômetro ultravioleta-visível PYE UNICAM, modelo SP 8000, ligado a um registrador WEYFRINGE, modelo ADCP-2.

#### 3.2 Métodos

Os sistemas-modelo consistiram de soluções 1,25M de glicose, 0,66M de glicina e quantidades variáveis de íons metálicos.

Os íons metálicos foram adicionados diretamente às soluções de

glicose e glicina na forma de cloreto.

O pH das soluções em água desionizada ou em tampão citrato, foi corrigido para 6,20 ou 3,00 pela adição de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio, conforme o caso.

As soluções foram aquecidas em banho de temperatura constante a  $50^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ , durante um período máximo de 240 horas.

A velocidade das reações foi seguida pelo aumento da densidade ótica das soluções a 450nm.

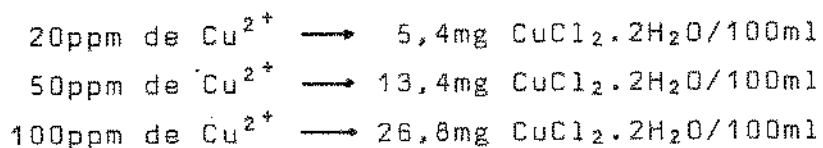


#### 4. RESULTADOS

##### 4.1 Efeito de íons de cobre a pH 6,20 em água desionizada

Foram preparadas soluções contendo glicina e glicose, em água desionizada a pH 6,20, contendo zero, 20, 50 e 100ppm de íons de cobre na forma de cloreto.

Nessas soluções as concentrações de íons de cobre correspondem à:



As soluções preparadas foram distribuídas em tubos de vidro Pyrex com tampa de rosca contendo cada tubo 10ml de solução. Os tubos foram colocados em banho de água à temperatura constante de  $50^{\circ} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

A densidade ótica foi medida à zero hora e em diferentes intervalos de tempo durante 236 horas.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 1 e gráfico 1.

TABELA 1

H	glicose+glicina + 0 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 20 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 50 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 100 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O 0.0
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,001	0,002	0,003
4	0,001	0,002	0,005	0,010
6	0,001	0,003	0,009	0,013
8	0,001	0,005	0,016	0,018
10	0,001	0,010	0,021	0,023
13	0,003	0,014	0,024	0,026
14	0,004	0,017	0,030	0,034
16	0,009	0,022	0,036	0,040
18	0,010	0,027	0,042	0,047
20	0,013	0,034	0,046	0,051
24	0,018	0,044	0,064	0,068
49	0,114	0,174	0,224	0,235
68	0,245	0,336	0,406	0,410
96	0,525	0,630	0,733	0,764
120	0,833	0,944	1,079	1,094
144	1,197	1,296	1,425	1,486
168	1,560	1,694	1,794	1,850
192	1,957	2,086	2,186	2,246
216	2,329	2,543	2,683	2,728
236	2,730	2,899	3,094	3,129

#### 4.2 Efeito de íons de cobre a pH 3,00 em água desionizada

Foram feitas soluções contendo glicina e glicose, em água desionizada a pH 3,00 contendo zero, 20, 50 e 100ppm de íons de cobre na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito no item 4.1, e os resultados, média de três determinações, estão representadas na tabela 2 e gráfico 2.

TABELA 2

H	glicose+glicina + 0 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 3,00 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 20 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 3,00 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 50 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 3,00 - H <sub>2</sub> O 0.0	glicose+glicina + 100 ppm Cu <sup>2+</sup> pH 3,00 - H <sub>2</sub> O 0.0
0	0,000	0,000	0,000	0,000
20	0,001	0,006	0,008	0,010
24	0,002	0,007	0,010	0,014
48	0,004	0,017	0,030	0,043
72	0,008	0,036	0,059	0,081
98	0,016	0,064	0,099	0,138
117	0,024	0,091	0,140	0,188
145	0,041	0,135	0,215	0,290
168	0,058	0,176	0,292	0,402
192	0,078	0,229	0,371	0,500
216	0,104	0,296	0,479	0,619
240	0,128	0,364	0,567	0,720

#### 4.3 Efeito de íons de cobre a pH 6,20 em solução tampão de citrato

##### 4.3.1 Preparação da solução tampão de citrato a pH 6,20. (COLDWICK e KAPLAN (36))

A 72ml de uma solução 0,1M de ácido cítrico foram adicionados 428ml de uma solução 0,1M de citrato de sódio e o volume elevado à 1000ml com água desionizada.

4.3.2 Foram preparadas soluções de glicose e glicina em tampão citrato a pH 6,20, contendo zero, 20, 50 e 100ppm de íons de cobre na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito no item 4.1.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 3 e gráfico 3.

TABELA 3

H	glicose+glicina + 0 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 20 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 50 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 100 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 6,20 - tampão citrato D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,002
5	0,002	0,005	0,015	0,022
8	0,004	0,016	0,026	0,031
12	0,009	0,032	0,037	0,044
19	0,029	0,089	0,077	0,091
24	0,056	0,114	0,137	0,155
48	0,348	0,498	0,524	0,565
66	0,780	0,965	1,020	1,030
96	1,980	2,195	2,290	2,385
120	3,200	3,465	3,460	3,468
144	4,650	4,840	4,830	4,825
168	6,400	6,620	6,625	6,630
192	8,243	8,441	8,391	8,411
216	9,891	10,100	10,103	10,101
235	11,500	11,591	11,580	11,585

#### 4.4 Efeito de íons de cobre a pH 3,00 em solução tampão de citrato

##### 4.4.1 Preparação da solução tampão de citrato a pH 3,00 (COLLOWICK e KAPLAN (36))

Para a preparação da solução tampão de citrato a pH 3,00 foram misturados 465ml de uma solução 0,1M de ácido cítrico e 35ml de uma solução 0,1M de citrato de sódio e o volume elevado a 1000 ml com água desionizada.

4.4.2 Foram feitas soluções contendo glicose e glicina em tampão citrato a pH 3,00, contendo zero, 20, 50 e 100ppm de íons de cobre na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.1.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 4 e gráfico 4.

TABELA 4

H	glicose+glicina + 0 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 20 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 50 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 100 ppm $\text{Cu}^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000
20	0,001	0,008	0,010	0,013
24	0,002	0,009	0,012	0,016
48	0,005	0,024	0,032	0,049
72	0,011	0,048	0,070	0,100
98	0,021	0,084	0,127	0,175
117	0,032	0,123	0,179	0,253
145	0,052	0,185	0,262	0,381
168	0,076	0,240	0,360	0,481
192	0,099	0,307	0,454	0,582
216	0,131	0,394	0,560	0,720
240	0,159	0,470	0,675	0,839

#### 4.5 Efeito de íons de cálcio a pH 6,20 em água desionizada

Foram preparadas soluções de glicose e glicina em água desionizada a pH 6,20, contendo zero, 20, 100, 200 e 500ppm de íons de cálcio na forma de cloreto.

Nessas soluções as concentrações de íons de cálcio correspondem à:

20ppm de $\text{Ca}^{2+}$	→	7,4mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/100\text{ml}$
100ppm de $\text{Ca}^{2+}$	→	36,8mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/100\text{ml}$
200ppm de $\text{Ca}^{2+}$	→	73,5mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/100\text{ml}$
500ppm de $\text{Ca}^{2+}$	→	183,7mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/100\text{ml}$

As soluções preparadas foram distribuídas em tubos de vidro Pyrex com tampa de rosca contendo cada tubo 10ml de solução. Os tubos foram aquecidos em banho de água a temperatura constante de  $50^{\circ} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

A densidade ótica das soluções foi medida a zero hora e em intervalos de tempo durante 232 horas.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 5 e gráfico 5.



TABELA 5

H	glucose+glicina + 0 ppm Ca <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 20 ppm Ca <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 100 ppm Ca <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 200 ppm Ca <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 500 ppm Ca <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
8	0,001	0,001	0,001	0,000	0,000
13	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
16	0,008	0,009	0,008	0,006	0,005
18	0,010	0,010	0,009	0,008	0,006
20	0,013	0,013	0,012	0,010	0,009
24	0,018	0,018	0,017	0,015	0,013
48	0,114	0,113	0,103	0,093	0,076
65	0,235	0,230	0,205	0,188	0,160
97	0,550	0,543	0,485	0,455	0,380
120	0,833	0,830	0,745	0,698	0,596
144	1,197	1,180	1,072	1,000	0,860
169	1,598	1,592	1,445	1,360	1,180
190	1,904	1,898	1,770	1,670	1,460
217	2,410	2,402	2,220	2,050	1,850
232	2,720	2,714	2,450	2,300	2,025

#### 4.6 Efeito de íons de cálcio a pH 3,00 em água desionizada

Foram feitas soluções de glicina e glicose em água desionizada a pH 3,00, contendo zero, 200 e 500 ppm de íons de cálcio na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.5.

A densidade ótica das soluções foi lida a zero hora e em intervalos de tempo até 240 horas.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 6 e gráfico 6.

TABELA 6

H	glicose+glicina + 0 ppm $\text{Ca}^{2+}$ pH 3,00 - $\text{H}_2\text{O}$ D.O	glicose+glicina + 200 ppm $\text{Ca}^{2+}$ pH 3,00 - $\text{H}_2\text{O}$ D.O	glicose+glicina + 500 ppm $\text{Ca}^{2+}$ pH 3,00 - $\text{H}_2\text{O}$ D.O
0	0,000	0,000	0,000
20	0,001	0,001	0,001
48	0,004	0,004	0,004
72	0,008	0,008	0,008
92	0,014	0,014	0,014
120	0,025	0,024	0,024
144	0,040	0,039	0,039
168	0,058	0,057	0,056
192	0,078	0,076	0,074
216	0,104	0,099	0,096
240	0,128	0,126	0,120

#### 4.7 Efeito de íons de cálcio a pH 6,20 em solução tampão de citrato

Foram feitas soluções de glicina e glicose em tampão citrato a pH 6,20, contendo zero, 200, 500 e 1000ppm de íons de cálcio na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.5.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 7 e gráfico 7.

TABELA 7

H	glicose+glicina + 0 ppm Ca + pH 6,20 - tampão citrato D.0	glicose+glicina + 200 ppm Ca + pH 6,20 - tampão citrato D.0	glicose+glicina + 500 ppm Ca + pH 6,20 - tampão citrato D.0	glicose+glicina + 1000ppm Ca + pH 6,20 - tampão citrato D.0
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,002	0,002	0,002	0,002
8	0,004	0,003	0,003	0,003
12	0,009	0,008	0,006	0,006
19	0,032	0,029	0,023	0,021
24	0,059	0,054	0,045	0,043
54	0,460	0,429	0,372	0,295
71	0,940	0,870	0,774	0,620
98	2,100	1,896	1,706	1,370
120	3,200	3,000	2,596	2,111
144	4,650	4,390	3,740	3,002
170	6,500	6,100	5,200	4,105
192	8,243	7,644	6,544	5,064
222	10,364	9,695	8,295	6,450
238	11,800	10,895	9,295	7,035

#### 4.8 Efeito de íons de cálcio a pH 3,00 em solução tampão de citrato

Foram preparadas soluções de glicose e glicina em tampão citrato a pH 3,00, contendo zero, 200 e 500 ppm de íons de cálcio na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.5.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 8 e gráfico 8.

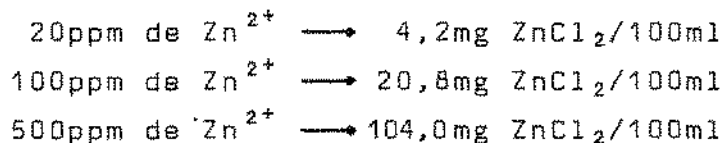
TABELA 8

H	glicose+glicina + 0 ppm $Ca^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 200 ppm $Ca^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 500 ppm $Ca^{2+}$ pH 3,00 - tampão citrato D.O
0	0,000	0,000	0,000
24	0,002	0,002	0,001
48	0,005	0,004	0,005
67	0,009	0,008	0,008
96	0,020	0,020	0,019
120	0,034	0,035	0,035
144	0,052	0,050	0,051
168	0,076	0,074	0,073
192	0,100	0,104	0,102
218	0,133	0,136	0,134
234	0,150	0,153	0,152

#### 4.9 Efeito de íons de zinco a pH 6,20 em água desionizada

Foram feitas soluções de glicose e glicina em água desionizada a pH 6,20, contendo zero, 20, 100 e 500ppm de íons de zinco na forma de cloreto.

Nessas soluções as concentrações de íons de zinco correspondem a:



As soluções preparadas foram distribuídas em tubos de vidro com tampa de rosca, contendo cada tubo 10ml da solução. Foram colocados os tubos em banho de água a temperatura constante de  $50^{\circ} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ .

A densidade ótica, a 450nm, de cada solução foi medida a zero hora e em vários intervalos de tempo durante 240 horas.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 9 e gráfico 9.

TABELA 9

H	glucose+glicina + 0 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 20 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 100 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 500 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,000	0,000
8	0,001	0,000	0,000	0,000
13	0,003	0,003	0,003	0,003
16	0,009	0,009	0,007	0,004
18	0,010	0,010	0,008	0,005
20	0,012	0,013	0,012	0,007
24	0,018	0,018	0,016	0,010
48	0,114	0,113	0,096	0,068
73	0,294	0,289	0,262	0,181
92	0,498	0,490	0,431	0,323
122	0,869	0,857	0,768	0,580
144	1,197	1,182	1,032	0,842
168	1,560	1,550	1,410	1,170
192	1,957	1,957	1,767	1,502
216	2,389	2,319	2,169	1,889
240	2,820	2,710	2,495	2,270

#### 4.10 Efeito de íons de zinco a pH 3,00 em água desionizada

Foram preparadas soluções contendo glicina e glicose, de maneira idêntica e descrita em 4.9. As quantidades de íons de zinco adicionadas foram de zero, 200 e 500ppm, na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.9.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 10 e gráfico 10.

TABELA 10

H	glicose+glicina + 0 ppm $Zn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0,0	glicose+glicina + 200 ppm $Zn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0,0	glicose+glicina + 500 ppm $Zn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0,0
0	0,000	0,000	0,000
20	0,001	0,001	0,001
48	0,004	0,003	0,003
72	0,008	0,008	0,008
96	0,015	0,015	0,015
120	0,025	0,023	0,024
144	0,040	0,036	0,034
168	0,058	0,056	0,054
192	0,078	0,074	0,072
211	0,096	0,094	0,092
240	0,128	0,126	0,123



#### 4.11 Efeito de íons de zinco a pH 6,20 em solução tampão de citrato

A solução de glicina e glicose em tampão citrato a pH 6,20, foram adicionadas zero, 100, 500 e 1000ppm de íons de zinco na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.9.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 11 e gráfico 11.

TABELA 11

H	glicose+glicina + 0 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 100 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 500 ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 1000ppm Zn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,002	0,001	0,001	0,001
8	0,004	0,003	0,003	0,003
13	0,009	0,007	0,007	0,007
16	0,016	0,015	0,014	0,013
19	0,028	0,026	0,022	0,020
24	0,059	0,054	0,048	0,036
48	0,348	0,328	0,274	0,204
72	0,959	0,920	0,758	0,600
88	1,595	1,525	1,245	0,940
120	3,200	3,045	2,490	1,880
144	4,650	4,495	3,780	2,790
168	6,400	6,020	5,050	3,900
192	8,243	7,783	6,493	4,910
214	9,730	9,380	7,930	6,010
240	12,000	11,300	9,550	7,150

#### 4.12 Efeito de íons de zinco a pH 3,00 em solução tampão de citrato

Foram feitas soluções de glicose e glicina em tampão citrato a pH 3,00, contendo zero, 200 e 500ppm de íons de zinco na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.9.

Os resultados, média de três determinações estão representados na tabela 12 e gráfico 12.

TABELA 12

H	glicose+glicina + 0 ppm Zn + pH 3,00 - tampão citrato 0.0	glicose+glicina + 200 ppm Zn + pH 3,00 - tampão citrato 0.0	glicose+glicina + 500 ppm Zn + pH 3,00 - tampão citrato 0.0
0	0,000	0,000	0,000
2	0,002	0,001	0,001
44	0,004	0,003	0,003
72	0,011	0,010	0,011
96	0,020	0,019	0,020
120	0,034	0,035	0,034
144	0,052	0,051	0,052
168	0,076	0,074	0,073
192	0,099	0,100	0,092
212	0,122	0,126	0,123
240	0,159	0,157	0,158

#### 4.13 Efeito de íons de manganês a pH 6,20 em água desionizada

Foram preparadas soluções de glicose e glicina, em água desionizada a pH 6,20, contendo zero, 10, 100, 200 e 500ppm de íons de manganês na forma de cloreto.

Nessas soluções as concentrações de íons de manganês correspondem a:

10ppm de $Mn^{2+}$	→	3,6mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O/100ml$
100ppm de $Mn^{2+}$	→	36,0mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O/100ml$
200ppm de $Mn^{2+}$	→	72,0mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O/100ml$
500ppm de $Mn^{2+}$	→	180,0mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O/100ml$

As soluções preparadas foram distribuídas em tubos de vidro Pyrex com tampa de rosca, contendo cada tubo 10ml de solução. Os tubos foram aquecidos em banho de água a temperatura constante de  $50 \pm 0,1^\circ C$ .

A densidade ótica foi lida a zero hora e em diferentes intervalos de tempo durante 240 horas.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 13 e gráfico 13.

TABELA 13

H	glucose+glicina + 0 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 10 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 100 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 200 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O	glucose+glicina + 500 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - H <sub>2</sub> O D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
8	0,001	0,001	0,003	0,003	0,003
13	0,003	0,003	0,008	0,008	0,008
16	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
18	0,010	0,010	0,012	0,011	0,011
20	0,013	0,013	0,016	0,015	0,015
24	0,018	0,017	0,084	0,078	0,077
48	0,114	0,107	0,225	0,215	0,210
72	0,295	0,271	0,410	0,388	0,378
96	0,528	0,492	0,671	0,629	0,649
120	0,633	0,784	0,989	0,930	0,944
144	1,197	1,117	1,302	1,245	1,247
168	1,560	1,480	1,685	1,600	1,580
192	1,957	1,840	2,010	1,985	1,996
216	2,359	2,270	2,474	2,393	2,373
240	2,820	2,690			

4 Efeito de íons de manganês a pH 3,00 em água destilada

Foram feitas soluções contendo glicina e glicose, em água destilada a pH 3,00, contendo zero, 200 e 500ppm de íons de manganês na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.13 e, os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 14 e gráfico 14.

TABELA 14

H	glicose+glicina + 0 ppm $Mn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0.0	glicose+glicina + 200 ppm $Mn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0.0	glicose+glicina + 500 ppm $Mn^{2+}$ pH 3,00 - $H_2O$ 0.0
0	0,000	0,000	0,000
20	0,001	0,001	0,001
54	0,005	0,010	0,014
72	0,008	0,017	0,022
96	0,015	0,027	0,032
120	0,025	0,037	0,043
144	0,040	0,050	0,057
168	0,058	0,067	0,071
190	0,076	0,086	0,091
221	0,108	0,119	0,123
240	0,128	0,140	0,147

#### 4.15 Efeito de íons de manganês a pH 6,20 em solução tampão de citrato

Foram preparadas soluções de glicina e glicose em tampão citrato a pH 6,20, contendo zero, 200, 500 e 1000ppm de íons de manganês na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.13.

Os resultados, média de três determinações, estão representados na tabela 15 e gráfico 15.

TABELA 15

H	glicose+glicina + 0 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 200 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 500 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O	glicose+glicina + 1000ppm Mn <sup>2+</sup> pH 6,20 - tampão citrato D.O
0	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,002	0,002	0,001	0,002
8	0,004	0,004	0,003	0,003
12	0,009	0,009	0,008	0,007
19	0,029	0,028	0,027	0,025
24	0,057	0,060	0,047	0,043
48	0,348	0,340	0,275	0,226
72	0,959	0,858	0,716	0,594
96	1,980	1,700	1,400	1,190
120	3,200	2,900	2,300	1,930
144	4,650	4,235	3,430	2,902
168	6,400	5,800	4,860	4,000
192	8,243	7,500	6,300	5,250
216	9,891	9,140	7,750	6,500
240	12,000	10,800	9,200	7,650



4.16 Efeito de íons de manganês a pH 3,00 em solução tampão citrato

Foram feitas soluções de glicose e glicina em tampão citrato a pH 3,00, contendo zero, 200 e 500ppm de íons de manganês na forma de cloreto.

O procedimento foi o mesmo descrito em 4.13.

Os resultados, média de duas experiências, estão representados na tabela 16 e gráfico 16.

TABELA 16

H	glicose+glicina + 0 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 3,00 - tampão citrato 0.0	glicose+glicina + 200 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 3,00 - tampão citrato 0.0	glicose+glicina + 500 ppm Mn <sup>2+</sup> pH 3,00 - tampão citrato 0.0
0	0,000	0,000	0,000
24	0,002	0,002	0,002
48	0,005	0,008	0,009
72	0,011	0,017	0,018
96	0,020	0,031	0,033
120	0,034	0,048	0,051
144	0,052	0,070	0,074
168	0,076	0,095	0,099
192	0,099	0,126	0,128
216	0,132	0,156	0,159
240	0,159	0,178	0,180

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Métodos

Neste trabalho foram usados, a glicina principalmente por ser um aminoácido de estrutura simples e pela facilidade de ser encontrada em alimentos, e glicose por ser uma aldohexose também comum em alimentos.

Os sistemas-modelo consistiram de soluções 1,25M de glicose, 0,66M de glicina e quantidades variáveis de íons metálicos. As concentrações de glicose e de glicina foram baseadas em trabalhos anteriores (entre outros, BOBBIO *et al.* (14 e 15)). As quantidades de cátions adicionados foram escolhidas, após vários ensaios prévios, embora em alguns casos coincidisse com quantidades empregadas por autores anteriores (DESCHREIDER (24), BOHART e CARSON (25), MARKUZE (28), KATO e SAKURAI (29)).

Todas as experiências foram feitas a temperatura constante de 50°C, por ser uma temperatura na qual a velocidade de escurecimento, pode ser facilmente observada, e por ter sido empregada por outros autores anteriores (POWELL e SPARK (34), REYES e BOBBIO (16)).

O uso de água desionizada com condutividade inferior a 1Meg Ohms<sup>-1</sup>-cm<sup>-1</sup> e de reagentes analíticos sempre do mesmo lote e com teor de cátions com ordem de grandeza menor do que a quantidade mínima empregada nas reações, permitiu eliminar a possibilidade do efeito de doses imprecisas de cátions na reação.

A medida da densidade ótica a 450nm foi o método escolhido para a avaliação do andamento da reação de Maillard, por ser de fácil execução e ter sido empregada em trabalhos anteriores (entre outros, BOBBIO *et al.* (14 e 15)).

O tempo máximo de aquecimento de 240 horas permitiu leituras de densidade ótica com diluição das amostras não superior a 1:100, diluição na qual ainda é obedecida a lei de Lambert-Beer para a reação de Maillard (POWELL e SPARK (34)).

As condições de reação foram escolhidas, tendo em vista representarem condições semelhantes às encontradas no processamento ou armazenamento de alimentos. Procurou-se evitar no presente trabalho, condições extremas de reação, isto é: pH acima de 7,00 onde a reação de Maillard sofre a competição da degradação alcalina dos açúcares, ou temperaturas elevadas onde a caramelização pode ser a reação mais importante. Tanto as concentrações dos reagentes como pH e temperaturas usadas permitiram a obtenção de resultados extrapoláveis para as condições de processamento.

## 5.2 Resultados

As experiências descritas em 4, mostram que diferentes cátions influem de maneira diversa na reação de Maillard, e que essa influência varia com o pH das soluções.

Pelos resultados das tabelas 1 e 3, e pelos gráficos 1 e 3, observa-se que íons de  $\text{Cu}^{2+}$  não tiveram praticamente influência sobre o escurecimento das soluções de glicose e glicina a pH 6,20, em presença ou não de íons citrato, enquanto MARKUZE (28) e KATO e SAKURAI (29) consideram que íons de  $\text{Cu}^{2+}$ , influem no escurecimento com maior ou menor intensidade, dependendo dos autores. Estas diferenças podem ser devidas a diferenças de pH, uma vez que MARKUZE (28) emprega pH mais altos e KATO e SAKURAI (29) não indicam o pH em que as reações foram feitas. Essa influência do  $\text{Cu}^{2+}$  também foi observada por WEBB (22) na caramelização da lactose.

Os dados das tabelas 2 e 4 e os gráficos 2 e 4 mostram que a pH 3,00 íons de  $\text{Cu}^{2+}$  aceleraram consideravelmente o escurecimento do sistema glicose-glicina tanto na presença como na ausência de íons citrato.

Íons de  $\text{Mn}^{2+}$  retardaram a reação de escurecimento a pH 6,20, mas o efeito foi menor em solução aquosa do que em solução tampão de citrato, como pode ser observado nas tabelas 13 e 15 e gráfi

cos 13 e 15. A pH 3,00 os íons de  $Mn^{2+}$  aceleraram o escurecimento, com efeito menor em solução aquosa (tabela 14 e 16 e gráficos 14 e 16). Possivelmente o efeito de íons citrato e do pH sejam responsáveis pela divergência entre os resultados de MARKUZE (28), e BOHART e CARSON (25) e pelas divergências entre os resultados obtidos por esses autores e os resultados do presente trabalho.

Os resultados das experiências com íons de  $Ca^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  a pH 6,20 estão resumidos nas tabelas 5, 7, 9 e 11 e gráficos 5, 7, 9 e 11. Verifica-se que  $Ca^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  retardaram a reação de escurecimento mais eficientemente na ausência de íons citrato.

Os dados das tabelas 6, 8, 10 e 12 e gráficos 6, 8, 10 e 12 mostram que a pH 3,00  $Ca^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  não tiveram efeitos mensuráveis nas condições usadas sobre o escurecimento do sistema glicose-glicina na presença ou não de íons citrato. Estes resultados estão em parte de acordo com a observação de KATO e SAKURAI (29) sobre o efeito inibidor dos íons de  $Ca^{2+}$  enquanto que o efeito a pH 6,20 indicaria que realmente seria vantajoso o emprego de misturas de bissulfito de sódio e cloreto de cálcio para retardar o escurecimento de vegetais (SIMON *et al.* (37)).

KATO e SAKURAI (29) observaram também que íons de  $Zn^{2+}$  são inativos em uma solução de ácido cítrico e sacarose, embora esses autores não tenham indicado o pH em que foram feitas as reações. No entanto, os nossos resultados estão de acordo com os resultados de DESCHREIDER (24) embora este autor tenha empregado em suas experiências, soluções extremamente diluídas de aminoácidos, na mesma ordem de grandeza da concentração de íons de  $Zn^{2+}$  (ppm).

Os resultados obtidos e resumidos nas tabelas e gráficos, para cada cátion, indicam que diferentes cátions parecem atuar de modo diferente no mecanismo da reação de escurecimento. Assim o escurecimento é acelerado por cátions sempre a pH 3,00 que não parecem ser ativos a pH 6,20. Os cátions que retardaram o escure-

cimento não mostraram atividade a pH 3,00 mas somente a pH 6,20. Ions de  $Mn^{2+}$  constituíram-se em excessão, acelerando o escurecimento a pH 3,00 e retardando a pH 6,20.

Em todos os casos observou-se que a influência dos cátions aumentava com a concentração dos mesmos, havendo em alguns casos aparentemente um limite de concentração útil.

Os gráficos 2, 4, 14 e 16 mostram que quando o cátion favorece o escurecimento há sempre uma diminuição no período de indução, isto é, no tempo necessário para o aparecimento de cor, enquanto o efeito contrário não afeta o período de indução, mostrando efeito acentuado à medida que aumenta o tempo de reação.

A reação de Maillard que resulta na formação de melanoidinas é certamente uma transformação complexa resultante de várias reações consecutivas e pode seguir mais de um caminho, dependendo em parte das condições empregadas. A complexidade da reação de Maillard foi levada em conta por HODGE (38) ao propor esquematicamente os possíveis caminhos que a interação açúcar-aminoácido pode seguir.

O tratamento cinético do processo de escurecimento é conseqüentemente difícil mas como já fizeram outros autores (entre outros, WOLFROM et al. (39)) alguns resultados são possíveis tratando-se a transformação como uma reação de primeira ordem em que a medida da densidade ótica é considerada proporcional à variação da concentração dos reagentes. Com essa aproximação é possível calcular as constantes de velocidade de reação (k) nos vários sistemas-modelos usados, bem como, o escurecimento relativo das diferentes soluções em presença e em ausência de cátions (Apêndices I e II).

Tanto UMEMOTO et al. (31 e 32) como THOMPSON (23) sugeriram que  $Fe^{3+}$  ou  $Cu^{2+}$  agiriam somente sobre os produtos de transformação do açúcar inicial, isto é, quando já houvessem produtos insaturados e 3-desoxiglicose presentes no sistema. Tais observações não seriam aplicáveis para as nossas experiências a pH 3,00 quan

do a influência do cátion é bastante acentuada no período de indução.

Trabalhos de RAMAIAH e VISHNU (40) e ISBELL e FRUSH (41) sobre a mutarrotação, mostram que cátions podem modificar a velocidade de mutarrotação de carboidratos.

Com base no trabalho desses autores, e considerando que na reação de Maillard o ataque nucleofílico da glicina se daria à forma acíclica da glicose, sempre presente em quantidades mínimas, em equilíbrio com as formas anoméricas, poder-se-ia sugerir que os diferentes cátions reagiriam, dependendo do pH, com um dos isômeros existentes em solução, facilitando ou dificultando, conforme o caso, a abertura do anel e, desse modo, acelerando ou retardando o escurecimento não enzimático.

## 6. CONCLUSÕES

Em face dos resultados experimentais deste trabalho, chegamos às seguintes conclusões:

- 1) Íons de  $\text{Cu}^{2+}$  aceleraram o escurecimento do sistema modelo glicose-glicina a pH 3,00 em soluções tampão de citrato ou água desionizada.
- 2) A pH 6,20 em água desionizada ou em tampão de citrato não houve efeito mensurável dos íons de  $\text{Cu}^{2+}$  sobre o escurecimento do sistema-modelo glicose-glicina.
- 3) O efeito relativo dos íons de  $\text{Cu}^{2+}$  a pH 3,00 calculado pelo quociente das constantes de velocidade de escurecimento mostrou um aumento da velocidade de transformação igual a 2,89 ( $K_1$ ) e 4,07 ( $K_2$ ) em água desionizada e 3,09 ( $K_1$ ) e 4,02 ( $K_2$ ) em solução tampão de citrato.
- 4) Íons de  $\text{Ca}^{2+}$  retardaram o escurecimento do sistema-modelo glicose-glicina a pH 6,20 em tampão de citrato e em água desionizada.
- 5) A pH 3,00 não houve efeito mensurável dos íons de  $\text{Ca}^{2+}$  sobre o sistema-modelo glicose-glicina em tampão de citrato ou água desionizada.
- 6) O efeito relativo dos íons de  $\text{Ca}^{2+}$  a pH 6,20 calculado pelo quociente das constantes de velocidade mostrou uma diminuição na velocidade de reação igual a 0,70 ( $K_1$ ) e 0,78 ( $K_2$ ) em água desionizada e 0,77 ( $K_1$ ) e 0,78 ( $K_2$ ) em solução tampão de citrato.
- 7) Íons de  $\text{Zn}^{2+}$  retardaram o escurecimento do sistema-modelo glicose-glicina a pH 6,20 em tampão de citrato ou em água desionizada.
- 8) A pH 3,00 não houve efeito mensurável dos íons de  $\text{Zn}^{2+}$  sobre o sistema-modelo glicose-glicina em tampão de citrato ou água desionizada.

- 9) O efeito relativo dos íons de  $Zn^{2+}$  a pH 6,20 calculado pelo quociente das constantes de velocidade mostrou uma diminuição na velocidade de transformação igual a 0,66 ( $K_1$ ) e 0,82 ( $K_2$ ) em água desionizada e 0,84 ( $K_1$ ) e 0,79 ( $K_2$ ) em solução tampão de citrato.
- 10) Íons de  $Mn^{2+}$  retardaram o escurecimento do sistema-modelo glicose-glicina a pH 6,20 e aceleraram a pH 3,00 em água desionizada ou tampão de citrato.
- 11) O efeito relativo dos íons de  $Mn^{2+}$  a pH 3,00 calculado pelo quociente das constantes de velocidade mostrou um aumento na velocidade de transformação igual a 1,13 ( $K_1$ ) e 1,07 ( $K_2$ ) em água desionizada e 1,60 ( $K_1$ ) e 1,04 ( $K_2$ ) em solução tampão de citrato.
- 12) O efeito relativo dos íons de  $Mn^{2+}$  a pH 6,20 calculado pelo quociente das constantes de velocidade mostrou uma diminuição na velocidade de reação igual a 0,78 ( $K_1$ ) e 0,88 ( $K_2$ ) em água desionizada e 0,80 ( $K_1$ ) e 0,78 ( $K_2$ ) em solução tampão de citrato.
- 13) O efeito de cada cátion aumentou com o aumento de sua concentração, mas os resultados obtidos indicaram a existência de limites superiores além dos quais não parece haver aumento do efeito dos cátions do escurecimento do sistema-modelo glicose-glicina.
- 14) Os cátions que retardaram o escurecimento,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Mn^{2+}$  não afetaram a fase de indução, possivelmente retardando a formação de melanoidinas após formação de produtos intermediários incolores.
- 15) Os cátions que aceleraram o escurecimento,  $Cu^{2+}$  e  $Mn^{2+}$ , afetaram a fase de indução, diminuindo o tempo necessário para a formação de melanoidinas, possivelmente acelerando as reações que dão origem aos intermediários das melanoidinas.
- 16) Os resultados obtidos indicam que o processamento de alimen-



tos onde as reações de escurecimento não enzimático podem ocorrer, poderá ser melhorado ou prejudicado pela presença de íons metálicos, em concentrações baixas, da ordem de ppm, dependendo esse efeito das condições em que é feito o processamento.

## 7. SUMÁRIO

Foi feita revisão da literatura referente a ação de catalizadores na reação de Maillard, tendo em vista principalmente a ação de cátions.

Foi estudado o efeito de alguns cátions no escurecimento não enzimático do sistema-modelo glicose-glicina em água desionizada e em tampão de citrato, a pH 3,00 e 6,20 e à temperatura de 50°C.

Dos resultados obtidos foram estabelecidas correlações entre as velocidades de escurecimento das diversas soluções utilizadas, em ausência e em presença de cátions.

Foi discutida a possibilidade de reação dos cátions com uma das formas anoméricas ou com a forma acíclica da glicose, interferindo na abertura do anel desse carboidrato.

## 6. SUMMARY

The literature on the action of catalysts, principally on the action of cations on Maillard reaction has been reviewed.

The effect of several cations on the non enzymatic browning of the model system glucose-glycine in deionized water and in citrate buffer solution at pH 3.00 and 6.20 and the temperature of 50°C has been investigated.

From the results, the correlations between the browning rates of the different solutions with and without cations have been established.

The possibility of the reaction between cations and one of the anomers and the acyclic form of glucose interfering with the velocity of the ring opening of the carbohydrate, has been briefly discussed.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAILLARD, L.C. - Action des acides aminés sur les sucres; formation des mélanoidines par voie méthodique. Compt. Rend. de l' Acad. des Sciences, 1912, 154, 66-68.
2. MAILLARD, L.C. - Réaction générale des acides aminés sur les sucres: ses conséquences biologiques. Compt. Rend. Soc. Biol., 1912, 72, 599-601.
3. BORSOOK, H. & WASTENEYS, H. - The interaction of free amino-nitrogen and glucose. Biochem. J., 1925, 19, 1128-1137.
4. FRANKEL, M. & KATCHALSKY, A. - The interaction of  $\alpha$ -amino-acids and peptides with sugars in aqueous solution. Biochem. J., 1937, 31, 1595-1603.
5. FRANKEL, M. & KATCHALSKY, A. - The time factor in the interaction of amino-acids with sugars. Biochem. J., 1938, 32, 1904-1907.
6. OLCOTT, H.S. & DUTTON, H.J. - Changes in stored dried eggs. Ind. Eng. Chem., 1945, 37, 1119-1121.
7. HANNAN, R.S. & LEA, C.H. - Studies of the reaction between proteins and reducing sugars in the dry state. I. The effect of activity of water, of pH and of temperature on the primary reaction between casein and glucose. Biochem. et Biophys. Acta, 1949, 3, 313-325.
8. HANNAN, R.S. & LEA, C.H. - Reaction between glucose and the terminal amino group of lysine. Nature, 1951, 168, 744-745.

9. WOLFROM, M.L. & ROONEY, C.S. - Chemical interactions of amino compounds and sugars. VIII Influence of water<sup>2</sup>. J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 5435-5436.
10. WILLITS, C.O.; UNDERWOOD, J.C.; LENTO JR.<sup>b</sup>, H.G. & RICCIUTI, C. - Browning of sugar solutions. I. Effect of pH and type of amino acid in dilute sugar solutions. Food Research, 1958, 23, 61-67.
11. NAGAYAMA, F. - Browning of fish meat. IV. Browning of sugar with some amino acids on heating. Nippon Suisan Gakkaishi, 1961, 27, 28-33. (c.f. Chem. Abs. 1962, 56, 15789dg).
12. EICHNER, K. & KAREL, M. - The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. J. Agr. Food Chem., 1972, 20(2), 218-213.
13. SAUNDERS, J. & JERVIS, F. - The role of buffer salts in non-enzymic browning. J. Sci. Food Agr., 1966, 17(6), 245-249.
14. BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. & TREVISAN, L.M.V. - Estudos sobre a reação de Maillard I - Efeitos da temperatura e do pH. An. Acad. Brasil. Ciênc., 1973, 45(3/4), 420-423.
15. BOBBIO F.O.; BOBBIO, P.A. & TREVISAN, L.M.V. - Maillard reaction II: Catalytic effect of anions. Lebensm. - Wiss. u. Technol., 1973, 6(6), 215-218.
16. REYES, F.G.R. - Influência do pH e de aniões na reação de Maillard e na hidrólise de dissacarídeos. Tese de Mestrado. Faculdade de Tecnologia de Alimentos. UNICAMP (1972).

17. RENDLEMAN, J.A. - Complexes of alkali metals and alkaline-earth metals with carbohydrates. In: WOLFROM, M.L. ed. *Advances in Carbohydrate Chemistry*. New York, Academic Press. 1966. v.21, p. 209-271.
18. ANGYAL, S.J. - Complex formation between sugars and metal ions. *Pure and Appl. Chem.* 1973, 35, 131-146.
19. MOLDOBAEV, S.; NOGOEV, K. & KOLDOGAZIEVA, A. - Interaction of glycine with zinc iodide in aqueous solutions at 30<sup>o</sup>. *Tr. Kirg. Univ., Ser. Khim. Nauk*, 1972, N.<sup>o</sup> 2, 36-38. (c.f. *Chem. Abs.*, 1974, 80, 55444e).
20. FARAGLIA, G.; ROSSOTTI, F.J.C. & ROSSOTTI, H.S. - Potentiometric studies in mixed solvents. II. Complexes of nickel (II), copper (II) and zinc (II) with pyridine, ethylenediamine, and glycine. *Inorg. Chem. Acta*, 1970, 4(4), 488-492. (c.f. *Chem. Abs.*, 1971, 74, 80444p).
21. NYILASI, J. - Amino acid complexes of metals. III. Deamination of the various metal complexes of amino acids. *Magyar Kém. Folyóirat*, 1961, 67, 269-276. (c.f. *Chem. Abs.*, 1961, 55, 26819c).
22. WEBB, B.H. - Color development in lactose solutions during heating with special reference to the color of evaporated milk. *J. Dairy Sci.*, 1935, 18, 81-96.
23. THOMPSON, J.B. - A browning reaction involving copper-proteins. (In *Symposium on Copper Metabolism*). Johns Hopkins Press, 1950, 141-153. (c.f. *Chem. Abs.*, 1953, 47, 11269f).
24. DESCHREIDER, A.R. - A study of the browning of heated D-glucose sirups in the presence of amino acids. *Rev. Fermentations et Inds. Aliment.*, 1954, 9 (25 e 111).

25. BOHART, G.S. & CARSON, J.F. - Effects of trace metals, oxygen and light on the glucose-glycine browning reaction. *Nature*, 1955, 175, 470-471.
26. PETIT, M.L. - Complexion du cuivre par les produits de la réaction de Maillard: dosage d' un intermédiaire de la formation des mélanoidines. *Compt. Rend.*, 1956, 242, 829-831.
27. SPIVEY FOX, M.R. & MICKELSEN, O. - Salt mixtures for purified type diets. II. Effect of salts on the Maillard browning reaction. *J. Nutrition*, 1959, 68, 289-294.
28. MARKUZE, Z. - Effects of traces of metals on the browning of glucose-lysine solutions. *Roczniki Panstwowego Zakladu Hig.*, 1963, 14(1), 65-70. (c.f. *Chem. Abs.*, 1963, 59, 4980h).
29. KATO, H. & SAKURAI, Y. - Studies on browning mechanisms of fruits juice products. Part III. Mechanisms of browning in citric acid-sucrose system. *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 1964, 38(11), 536-541.
30. OTU, M. - Effect of aluminium chloride on color of sake. III. Influence of aluminium chloride on the Maillard reaction of the sugar amino acid system. *Hakko Kagaku Zasshi*, 1968, 46(7), 519-523. (c.f. *Chem. Abs.*, 1968, 69, 65409n).
31. UMEMOTO, S.; ISHII, S.; IRIE, Y & IMAI, T. - Effects of trace iron on the amino - carbonyl reaction. I. Browning of glucose- $\beta$ -alanine solution. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, 1970, 44(2), 64-67. (c.f. *Chem. Abs.*, 1972, 77, 99883q).

32. UMEMOTO, S.; ISHII, S.; IRIE, Y. & IMAI, T. - Effects of trace iron on the amino--carbonyl reaction. II Browning degradation of fructose-amine. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 1970, 44(2), 71-76. (c.f. Chem. Abs., 1972, 77, 99884r).
33. ADACHI, Y.; UKAI, N. & KOSUGE, S. - Studies on browning of tomato products. II. Browning velocity of tomato juice. J. Fd. Sci. Technol., 1971, 18(2), 59-63.
34. POWELL, R.C.T. & SPARK, A.A. - Effects of zirconium and aluminium compounds and pH on the Maillard reaction. J. Sci. Food Agr., 1971, 22(11), 598-599.
35. HEYDENREICH, G.A. - Modellversuche zur Kjärung nichtenzymatischer Bräunungs-Reaktionen in Lebensmitteln. Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und-Forschung, 1971, 146(4), 191-197.
36. COLOWICK, S.P. & KAPLAN, M.D. - Methods in enzymology. New York, Academic Press, 1955, v.1., p. 136.
37. SIMON, M. & WAGNER, J.R. & SILVEIRA, V.G. & HENDEL, C.E. - Food Technol, 1955, 9, 271.
38. HODGE, J.E. - Jr. Agr. Fd. Chem., 1953, 1, 928.
39. WOLFROM, M.L.; KOLB, D.K. & LANGER Jr., A.W. - J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 3471.
40. RAMAIAH, N.A. & VISHNU - Sharkara, 1959, 2, 56. (c.f. RENDLEMAN, J.A. - Complexes of alkali metals and alkaline-earth metals with carbohydrates. In: WOLFROM, M.L. ed. Advances in Carbohydrate Chemistry. New York, Academic Press. 1966. v. 21, p. 209-271).



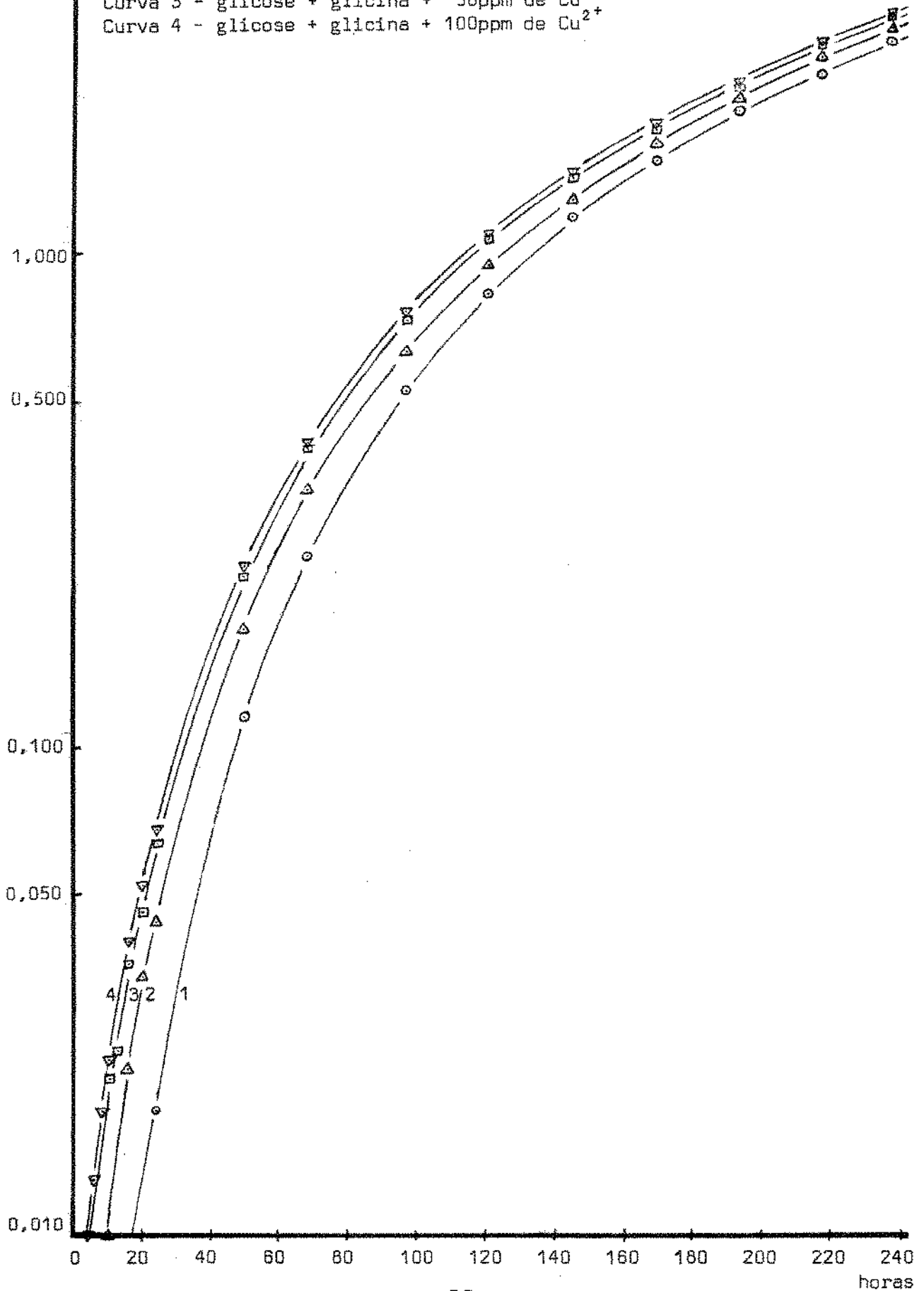
41. ISBELL, H.S. & FRUSH, H.L. - J. Res. Natl. Bur. Std., 1943,  
31, 163. (c.f. RENDLEMAN, J.A. - Complexes of alkali  
metals and alkaline-earth metals with carbohydrates. In:  
WOLFROM, M.L. ed. Advances in Carbohydrate Chemistry,  
New York, Academic Press. 1966. v. 21, p. 209-271).

10. GRÁFICOS

D.O. GRÁFICO 1

5,000  $H_2O$ ; pH 6,20;  $t^{\circ} = 50^{\circ}C$

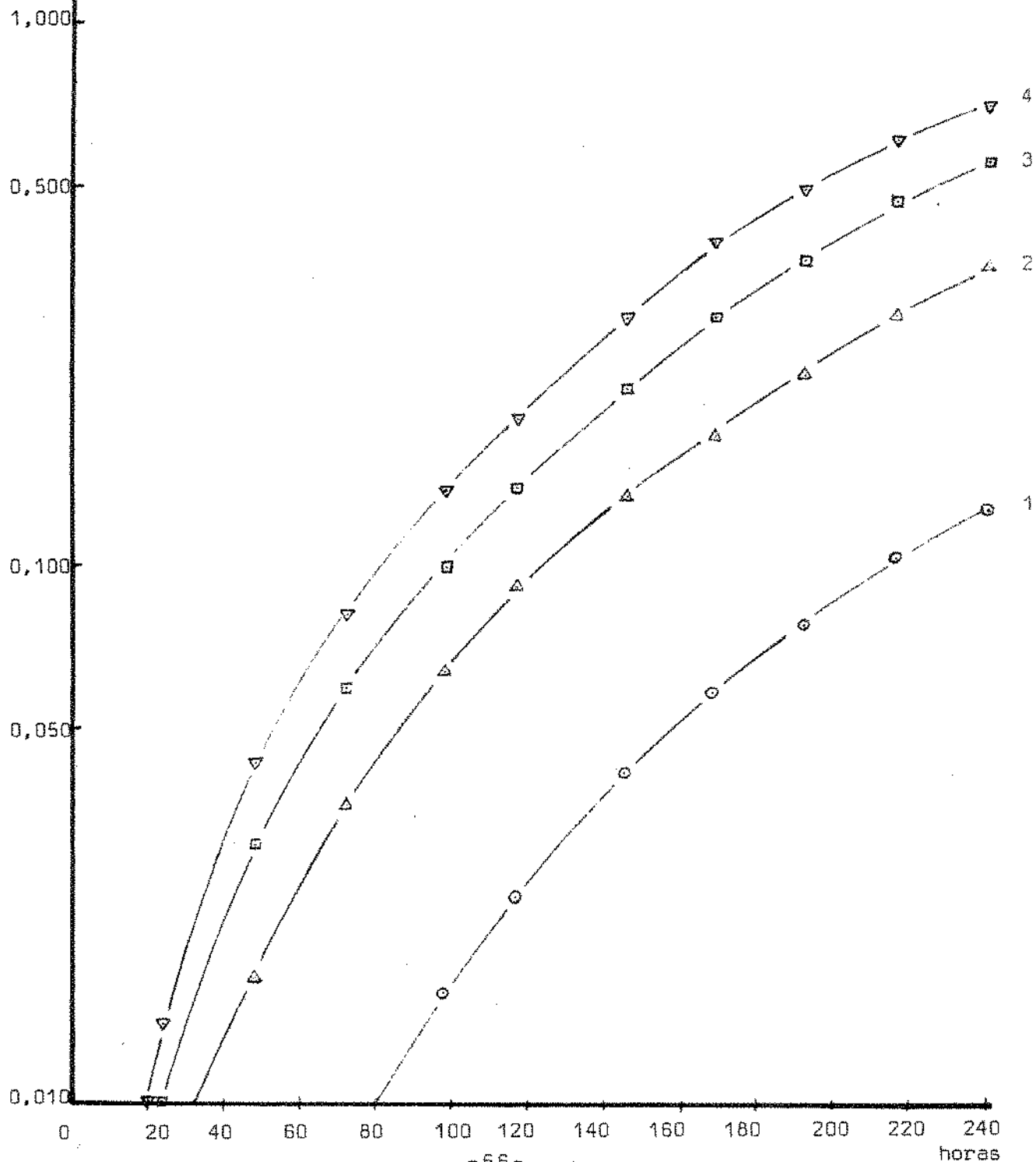
- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $Cu^{2+}$
- Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de  $Cu^{2+}$
- Curva 3 - glicose + glicina + 50ppm de  $Cu^{2+}$
- Curva 4 - glicose + glicina + 100ppm de  $Cu^{2+}$



D.O. GRÁFICO 2

5,000 H<sub>2</sub>O; pH 3,00; t° = 50°C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Cu<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de Cu<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 50ppm de Cu<sup>2+</sup>
- Curva 4 - glicose + glicina + 100ppm de Cu<sup>2+</sup>



0.0.

15,000

GRÁFICO 3

tampão citrato; pH 6,20;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Cu}^{2+}$

Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de  $\text{Cu}^{2+}$

Curva 3 - glicose + glicina + 50ppm de  $\text{Cu}^{2+}$

Curva 4 - glicose + glicina + 100ppm de  $\text{Cu}^{2+}$

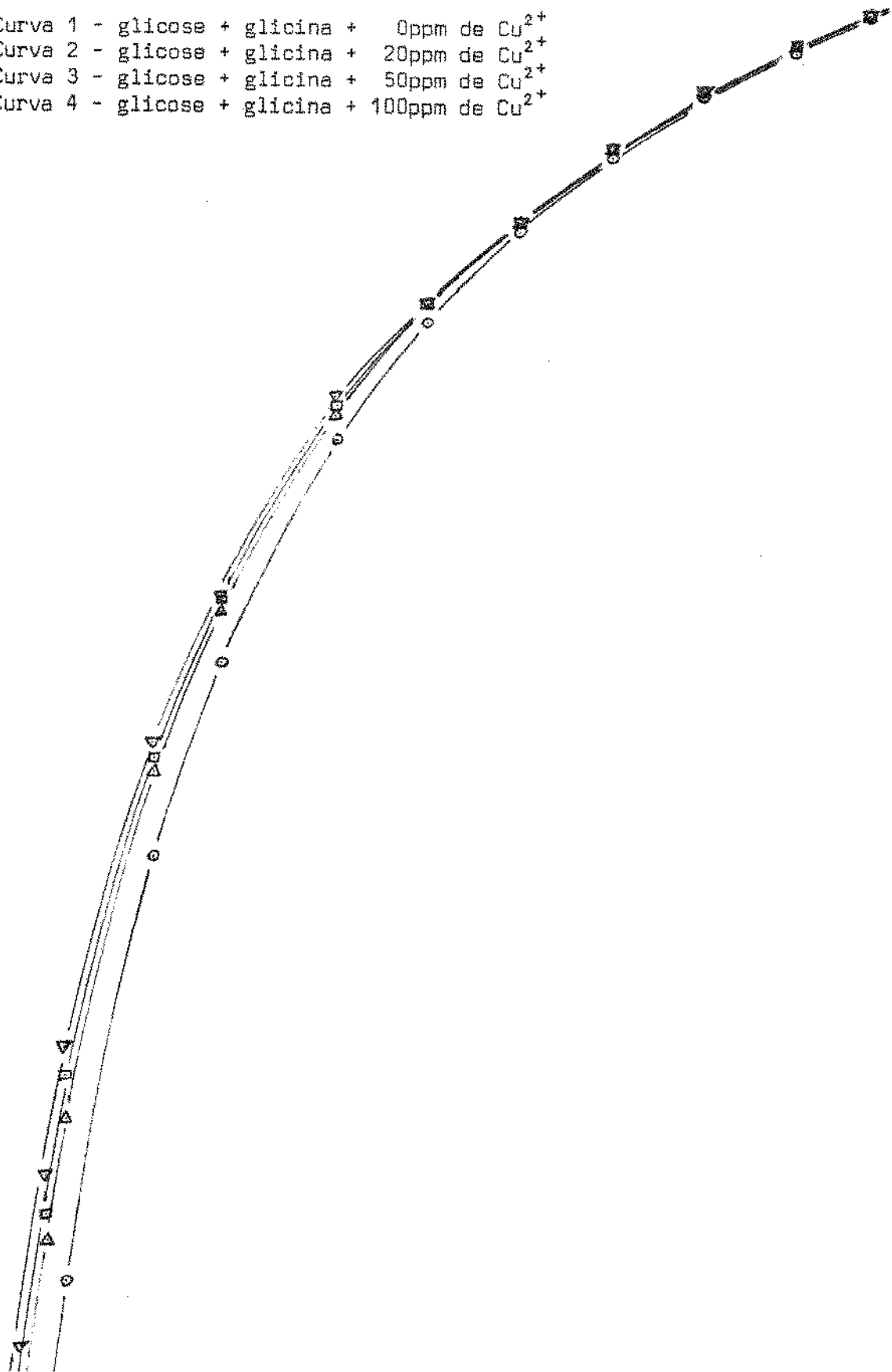
5,000

1,000

0,500

0,100

0,050



D.O.  
5,000

GRÁFICO 4

tampão citrato; pH 3,00;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Cu}^{2+}$
- Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de  $\text{Cu}^{2+}$
- Curva 3 - glicose + glicina + 50ppm de  $\text{Cu}^{2+}$
- Curva 4 - glicose + glicina + 100ppm de  $\text{Cu}^{2+}$

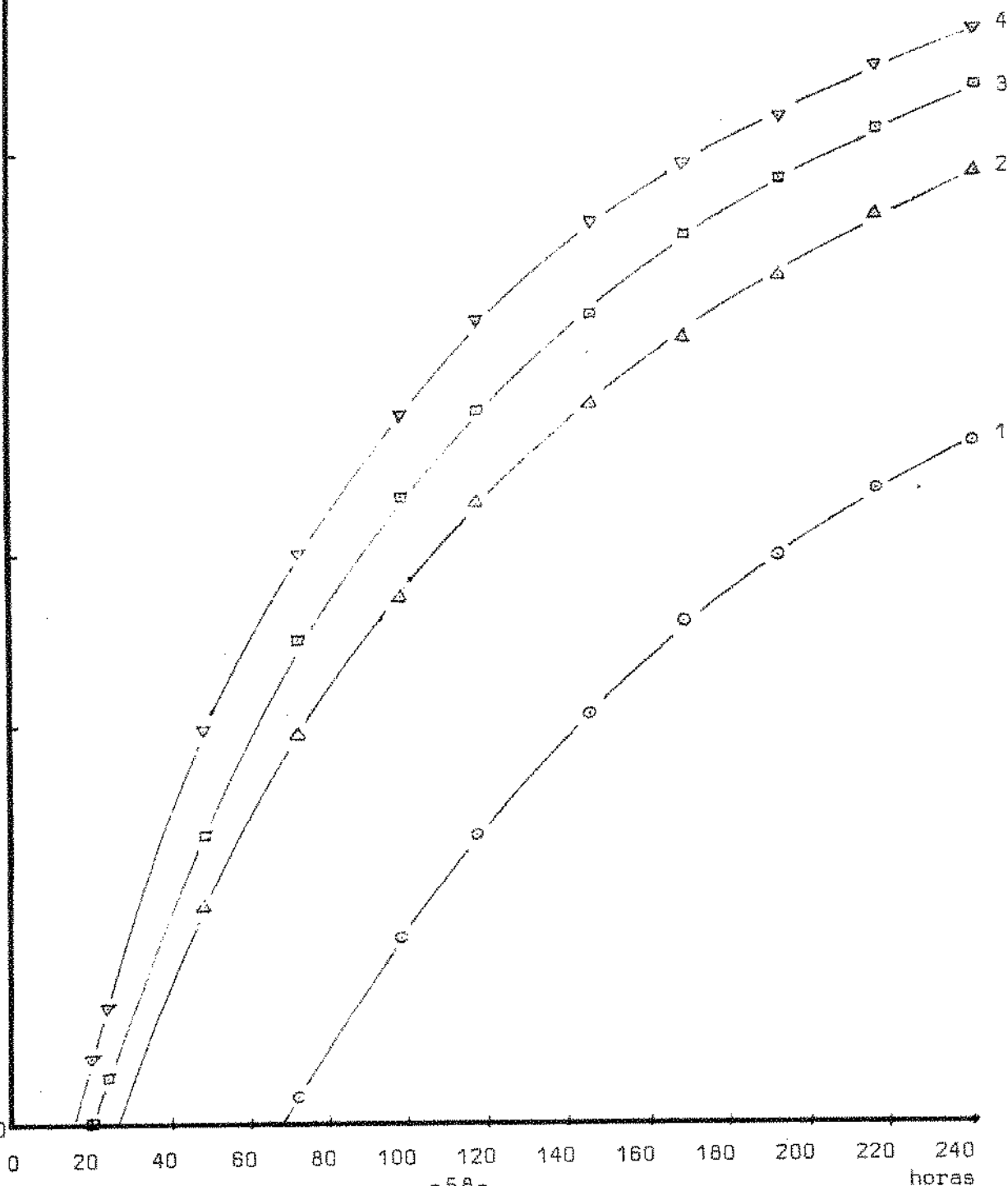
1,000

0,500

0,100

0,050

0,010

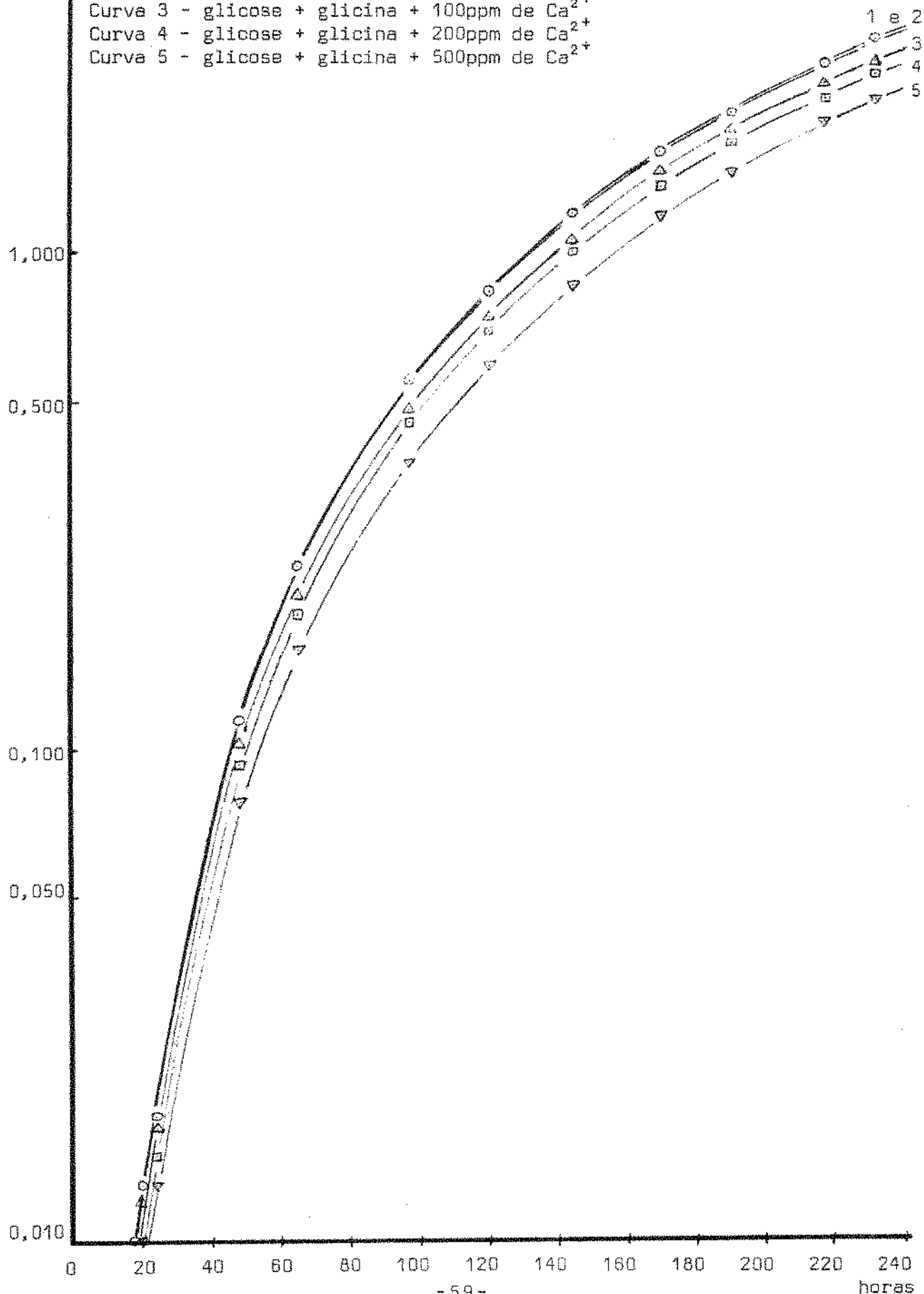


D.O.  
5,000

GRÁFICO 5

H<sub>2</sub>O; pH 6,20; t° = 50°C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 100ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 4 - glicose + glicina + 200ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 5 - glicose + glicina + 500ppm de Ca<sup>2+</sup>



D.O. GRÁFICO 6

H<sub>2</sub>O; pH 3,00; t° = 50°C

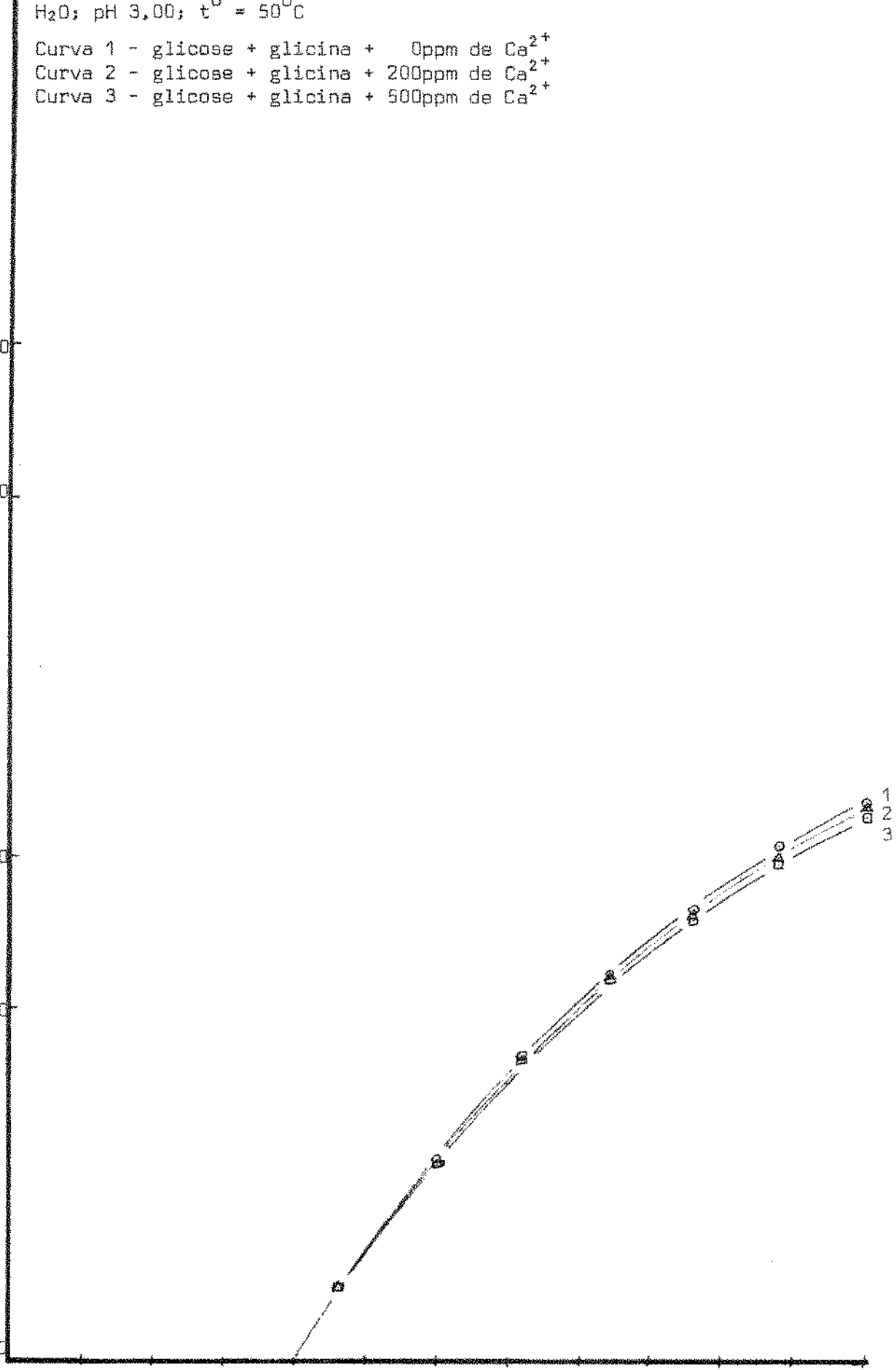
- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de Ca<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de Ca<sup>2+</sup>

5,000  
1,000  
0,500

0,100  
0,050

0,010

0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 horas

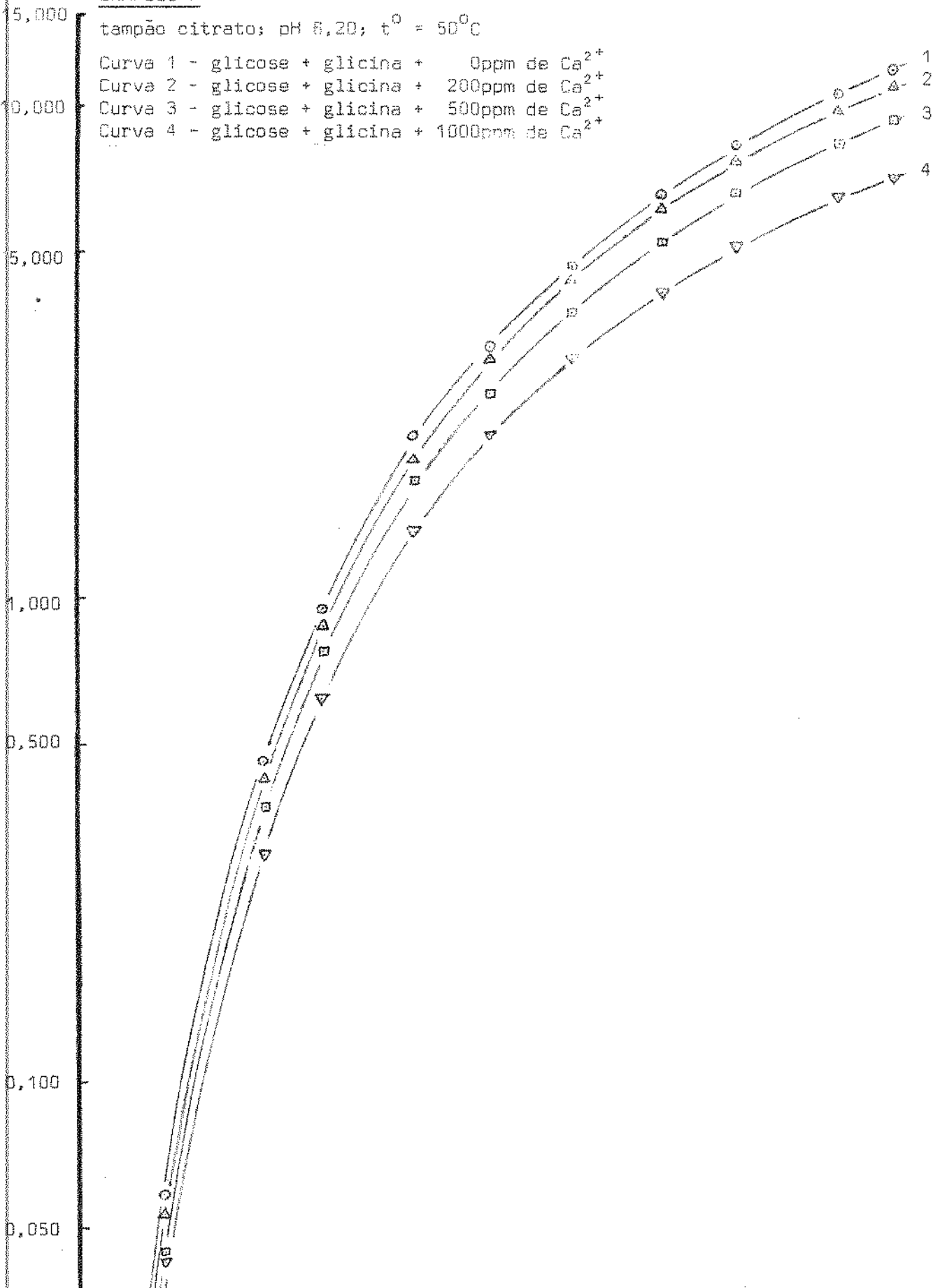




### GRÁFICO 7

tampão citrato; pH 8,20;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Ca}^{2+}$
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de  $\text{Ca}^{2+}$
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Ca}^{2+}$
- Curva 4 - glicose + glicina + 1000ppm de  $\text{Ca}^{2+}$



D.O.

5,000

GRÁFICO 8

tampão citrato; pH 3,00;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Ca}^{2+}$

Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de  $\text{Ca}^{2+}$

Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Ca}^{2+}$

1,000

0,500

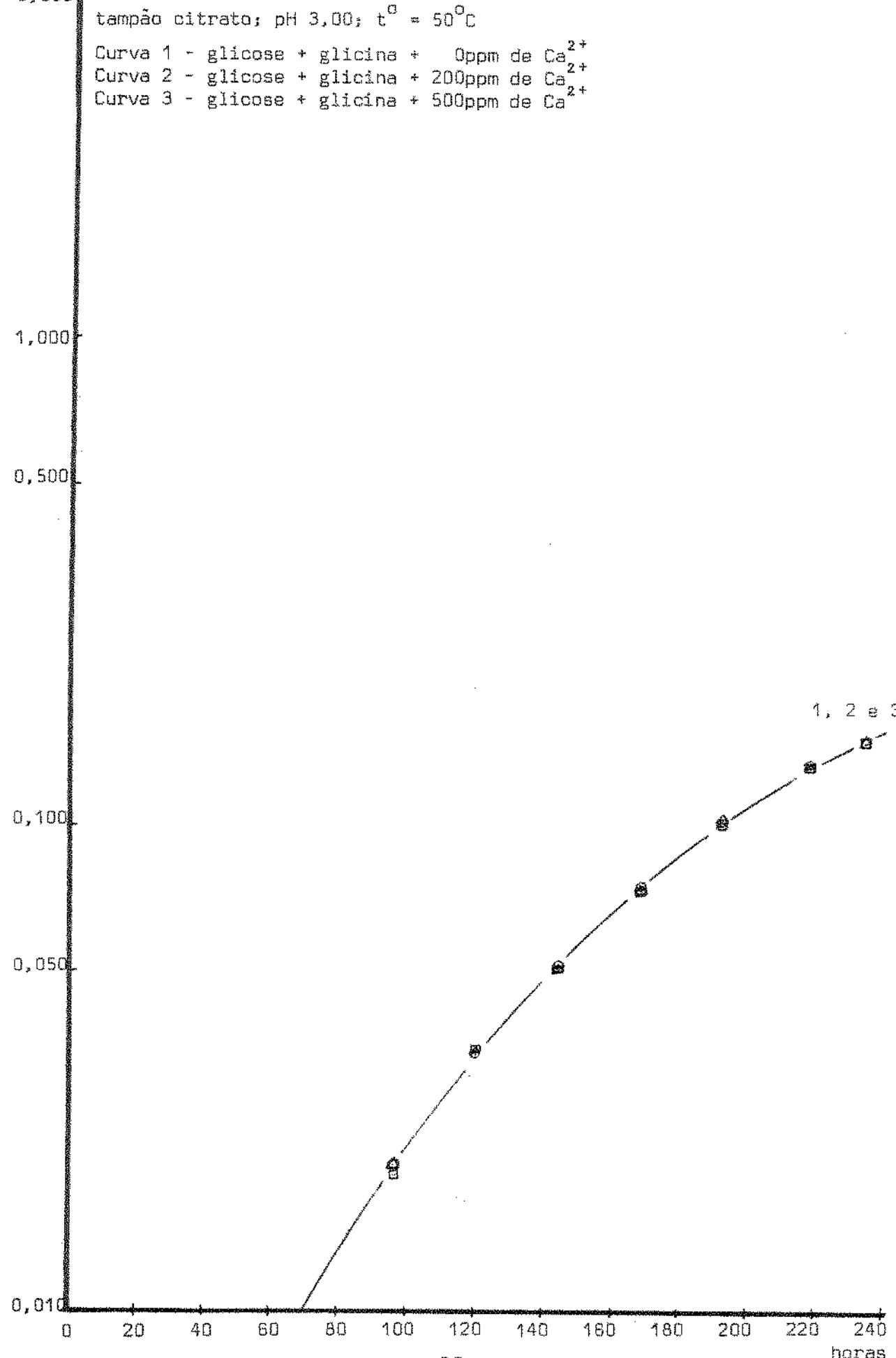
0,100

0,050

0,010

0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 horas

1, 2 e 3



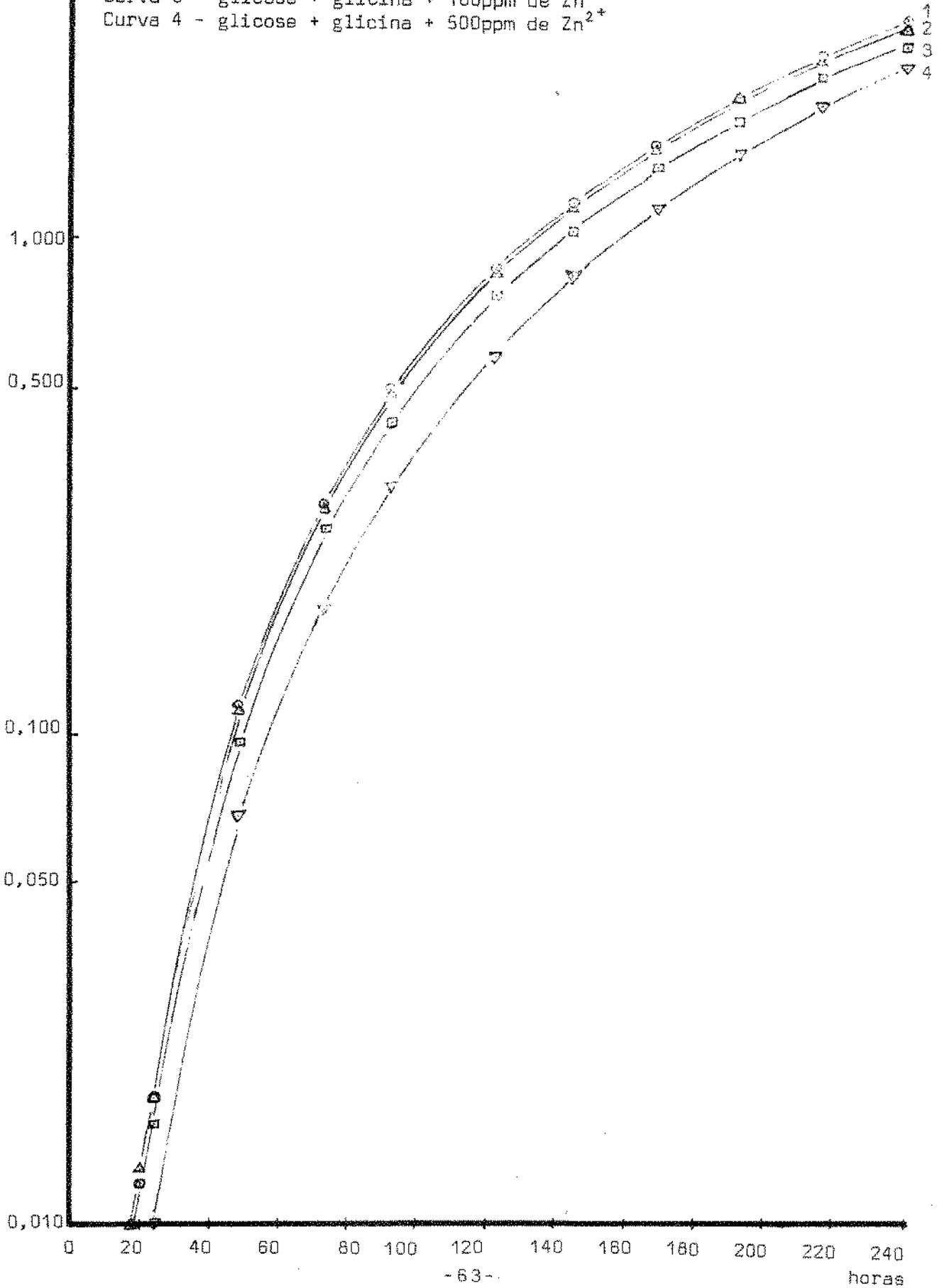
D.O.

GRÁFICO 9

5,000

H<sub>2</sub>O; pH 6,20; t° = 50°C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Zn<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 20ppm de Zn<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 100ppm de Zn<sup>2+</sup>
- Curva 4 - glicose + glicina + 500ppm de Zn<sup>2+</sup>



D.O.

GRÁFICO 10

5,000

H<sub>2</sub>O; pH 3,00; t<sup>o</sup> = 50<sup>o</sup>C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Zn<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de Zn<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de Zn<sup>2+</sup>

1,000

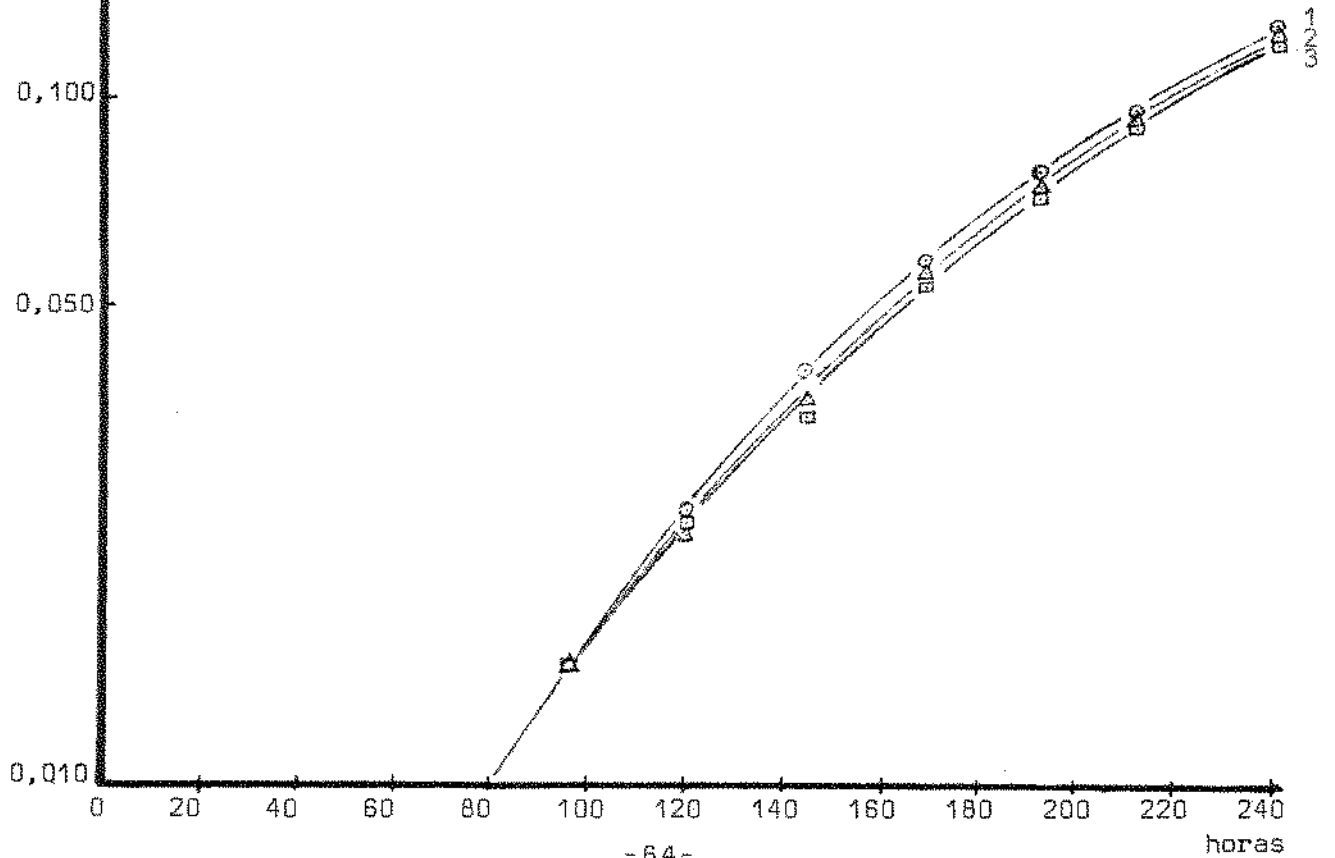
0,500

0,100

0,050

0,010

0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 horas



0.0.

GRÁFICO 11

15,000

tampão citrato; pH 6,20;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

Curva 2 - glicose + glicina + 100ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

Curva 4 - glicose + glicina + 1000ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

10,000

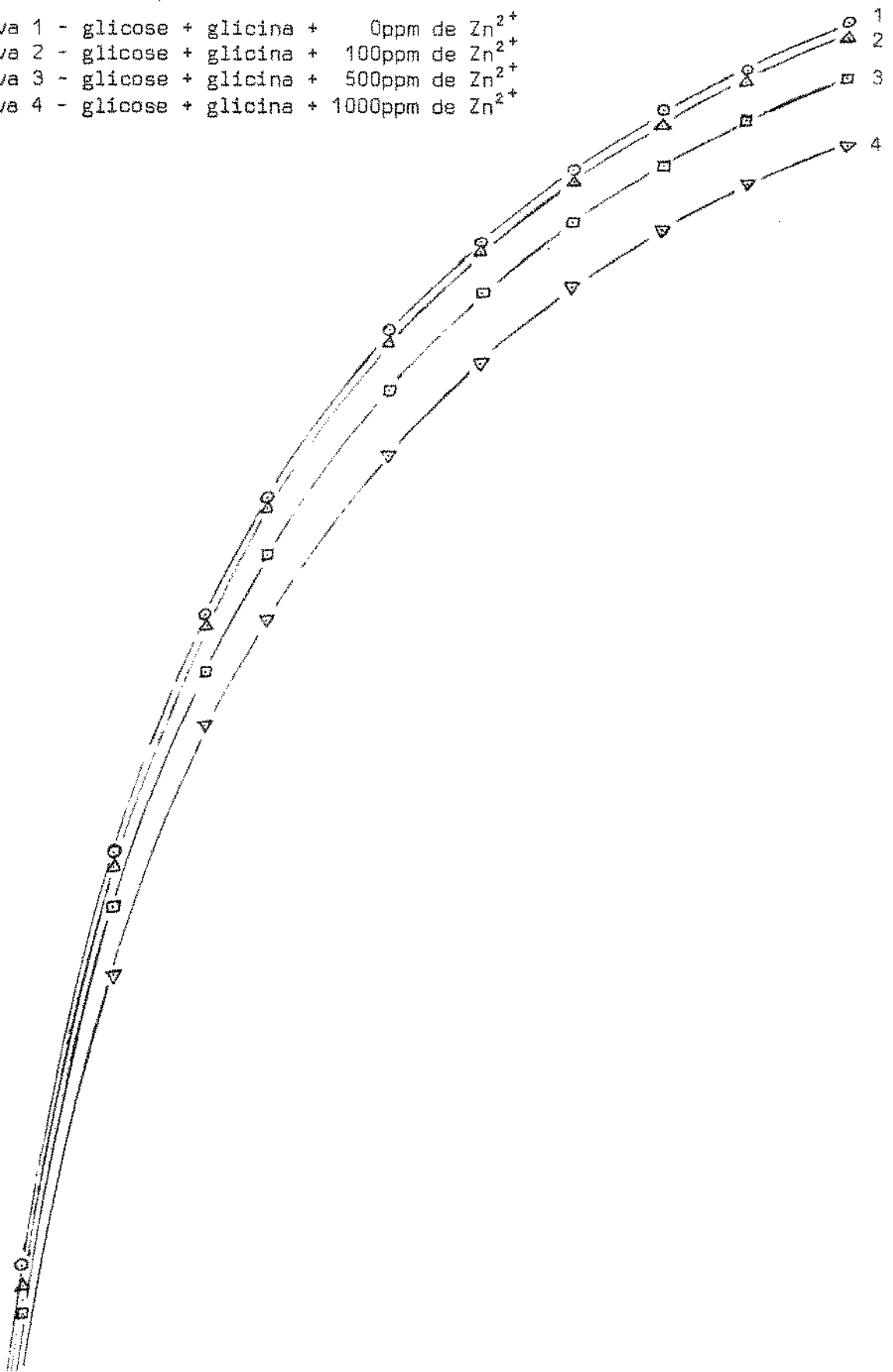
5,000

1,000

0,500

0,100

0,050



D.O.

GRÁFICO 12

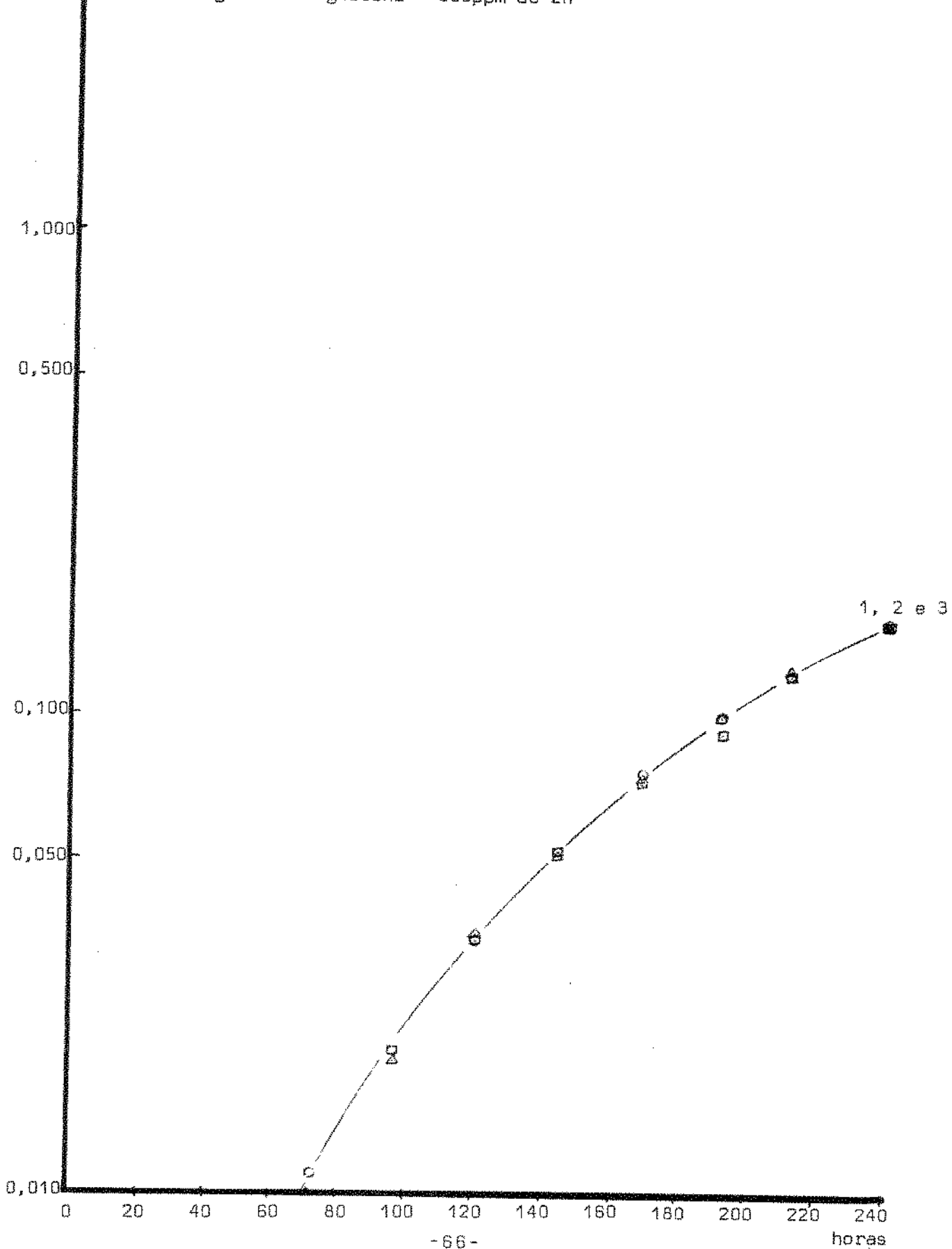
5,000

tampão citrato; pH 3,00;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Zn}^{2+}$

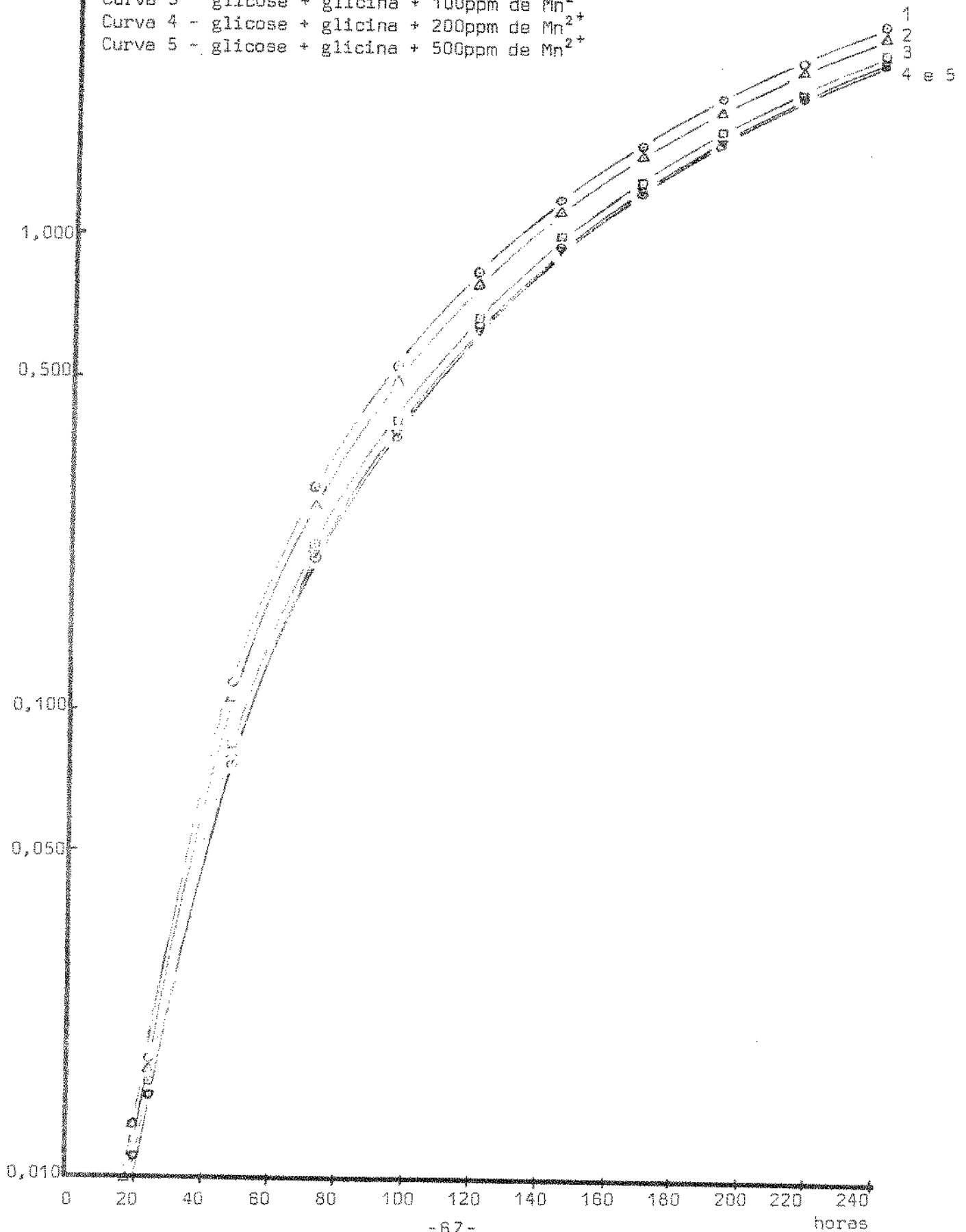


D.O.

5,000 GRÁFICO 13

H<sub>2</sub>O; pH 6,20; t° = 50°C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 10ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 100ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 4 - glicose + glicina + 200ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 5 - glicose + glicina + 500ppm de Mn<sup>2+</sup>

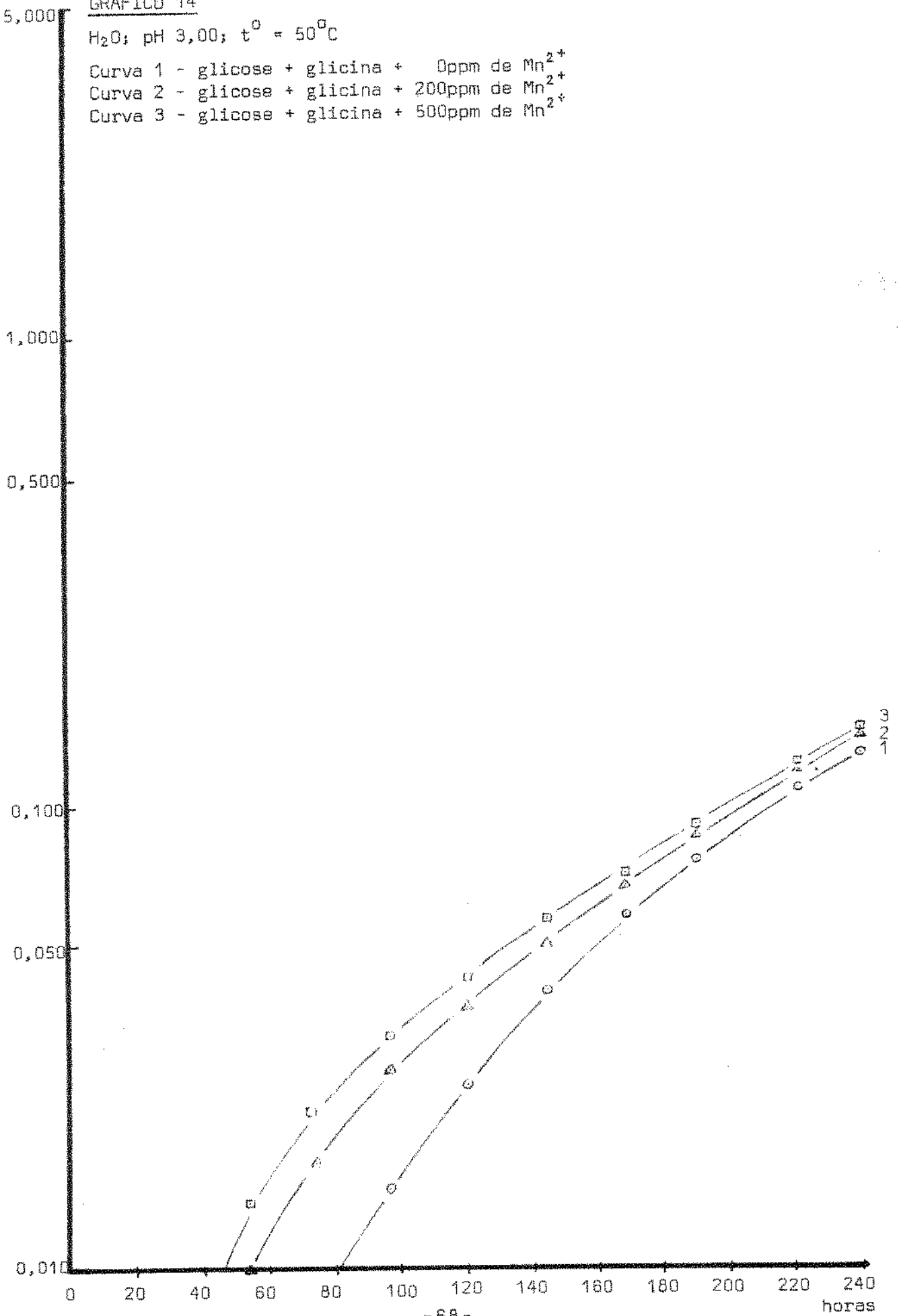


D.O.

GRÁFICO 14

H<sub>2</sub>O; pH 3,00; t° = 50°C

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de Mn<sup>2+</sup>
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de Mn<sup>2+</sup>



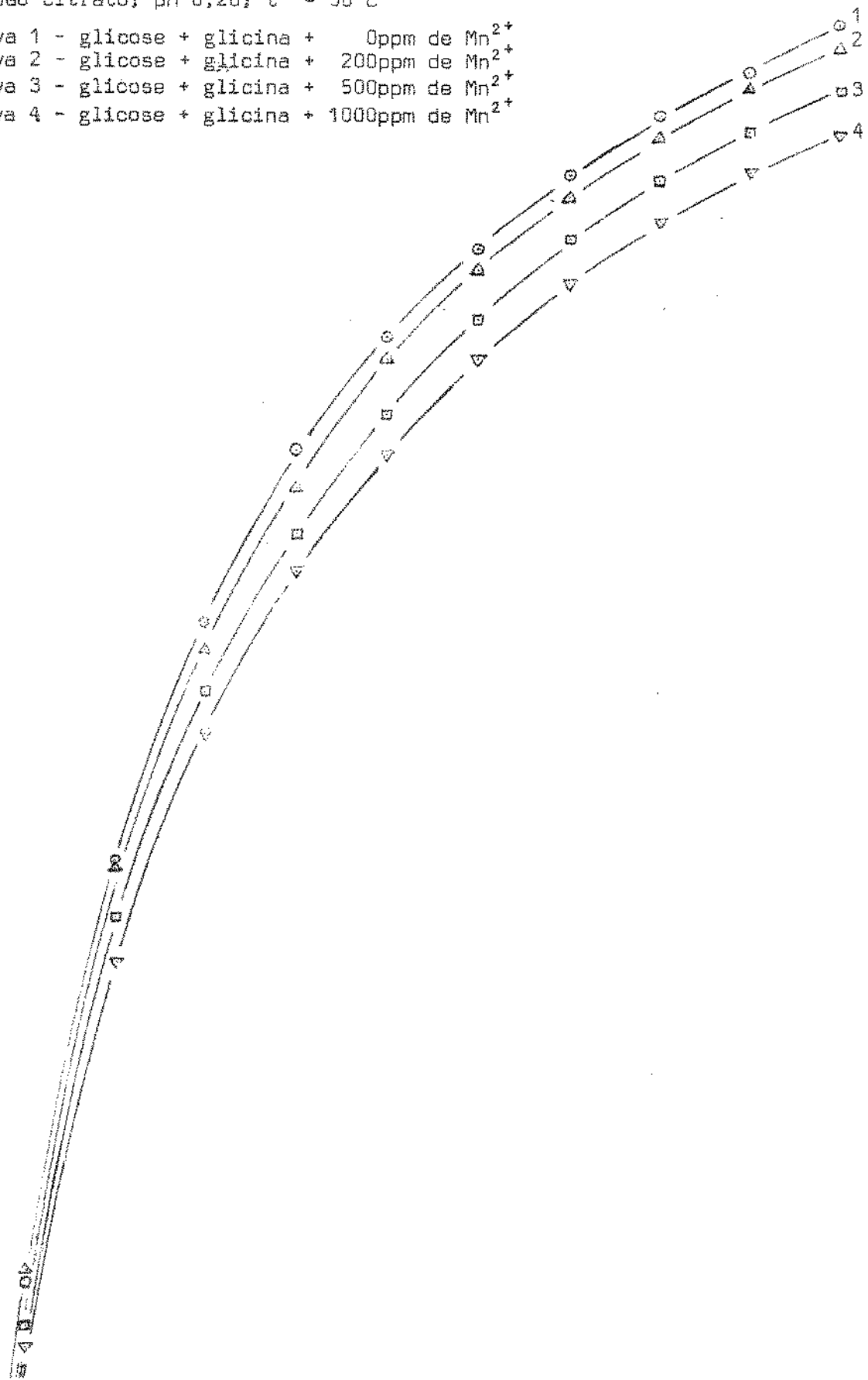


D.O.  
15,000  
10,000  
5,000  
1,000  
0,500  
0,100  
0,050

GRÁFICO 15

tampão citrato; pH 6,20;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Mn}^{2+}$
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de  $\text{Mn}^{2+}$
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Mn}^{2+}$
- Curva 4 - glicose + glicina + 1000ppm de  $\text{Mn}^{2+}$



D.O.

5,000

GRÁFICO 16

tampão de citrato; pH 3,00;  $t^{\circ} = 50^{\circ}\text{C}$

- Curva 1 - glicose + glicina + 0ppm de  $\text{Mn}^{2+}$
- Curva 2 - glicose + glicina + 200ppm de  $\text{Mn}^{2+}$
- Curva 3 - glicose + glicina + 500ppm de  $\text{Mn}^{2+}$

1,000

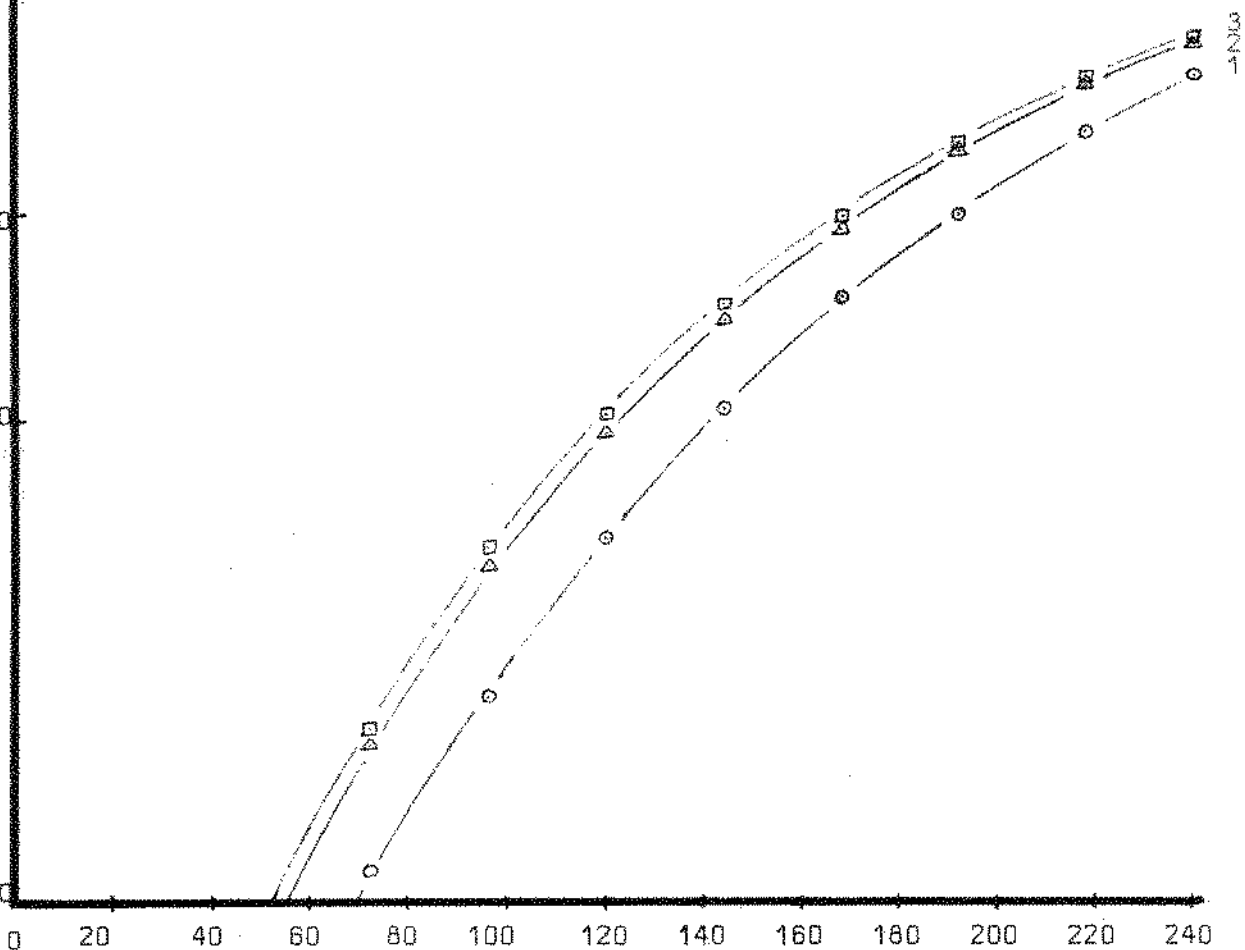
0,500

0,100

0,050

0,010

0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 horas



11. APÊNDICE

## APÊNDICE I

### Cálculo das constantes de velocidade de escurecimento

$$K = \frac{D.O._2 - D.O._1}{t_2 - t_1}$$

$t_1$  e  $t_2$  = tempo em segundos

$D.O._1$  e  $D.O._2$  = densidade ótica nos tempos  $t_1$  e  $t_2$  respectivamente.

As constantes foram calculadas considerando-se sempre a curva obtida com a quantidade máxima de metais adicionados.

### Efeito de cátions a pH 3,00

$$K_{1\text{água}} = 1,35 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 80h e 150h)}$$

$$K_{2\text{água}} = 2,59 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 150h e 240h)}$$

$$K_{1\text{água}+\text{Cu}^{2+}} = 3,90 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 20h e 72h)}$$

$$K_{2\text{água}+\text{Cu}^{2+}} = 10,53 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 72h e 240h)}$$

$$K_{1\text{citrato}} = 1,47 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 68h e 140h)}$$

$$K_{2\text{citrato}} = 3,08 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 140h e 240h)}$$

$$K_{1\text{citrato}+\text{Cu}^{2+}} = 4,54 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 16h e 76h)}$$

$$K_{2\text{citrato}+\text{Cu}^{2+}} = 12,38 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 76h e 240h)}$$

$$K_{1\text{água}+\text{Mn}^{2+}} = 1,53 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 100h e 160h)}$$

$$K_{2\text{água}+\text{Mn}^{2+}} = 2,77 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 160h e 240h)}$$

$$K_{1\text{citrato}+\text{Mn}^{2+}} = 2,35 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 80h e 152h)}$$

$$K_{2\text{citrato}+\text{Mn}^{2+}} = 3,19 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 152h e 240h)}$$

Efeito de cátions a pH 6,20

$$K_1_{\text{água}} = 13,29 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 18h e 65h)}$$

$$K_2_{\text{água}} = 41,03 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 65h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{água}+\text{Ca}^{2+}} = 9,38 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 21h e 66h)}$$

$$K_2_{\text{água}+\text{Ca}^{2+}} = 32,22 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 66h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{água}+\text{Zn}^{2+}} = 8,79 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 24h e 66h)}$$

$$K_2_{\text{água}+\text{Zn}^{2+}} = 33,96 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 66h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{água}+\text{Mn}^{2+}} = 10,41 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 19h e 75h)}$$

$$K_2_{\text{água}+\text{Mn}^{2+}} = 36,25 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 75h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{citrato}} = 26,55 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 13h e 47h)}$$

$$K_2_{\text{citrato}} = 16,78 \times 10^{-6} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 47h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{citrato}+\text{Ca}^{2+}} = 20,61 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 15h e 46h)}$$

$$K_2_{\text{citrato}+\text{Ca}^{2+}} = 13,12 \times 10^{-6} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 46h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{citrato}+\text{Zn}^{2+}} = 22,40 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 16h e 47h)}$$

$$K_2_{\text{citrato}+\text{Zn}^{2+}} = 13,37 \times 10^{-6} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 47h e 240h)}$$

$$K_1_{\text{citrato}+\text{Mn}^{2+}} = 21,40 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 13h e 50h)}$$

$$K_2_{\text{citrato}+\text{Mn}^{2+}} = 13,02 \times 10^{-6} \text{ seg}^{-1} \text{ (entre 50h e 240h)}$$

## APÊNDICE II

### Cálculo do efeito de cátions no escurecimento

$$K = \frac{K_{\text{água}} + \text{cátion}}{K_{\text{água}}}$$

$$K = \frac{K_{\text{água}} + \text{citrato} + \text{cátion}}{K_{\text{água}} + \text{citrato}}$$

#### Soluções a pH 3,00

Efeito de  $\text{Cu}^{2+}$  em água

$$K_1 = 2,89$$

$$K_2 = 4,07$$

Efeito de  $\text{Cu}^{2+}$  em solução tampão de citrato

$$K_1 = 3,09$$

$$K_2 = 4,02$$

Efeito de  $\text{Mn}^{2+}$  em água

$$K_1 = 1,13$$

$$K_2 = 1,07$$

Efeito de  $\text{Mn}^{2+}$  em solução tampão de citrato

$$K_1 = 1,60$$

$$K_2 = 1,04$$

Soluções a pH 6,20

Efeito de  $\text{Ca}^{2+}$  em água

$$K_1 = 0,70$$

$$K_2 = 0,78$$

Efeito de  $\text{Ca}^{2+}$  em solução tampão de citrato

$$K_1 = 0,77$$

$$K_2 = 0,78$$

Efeito de  $\text{Zn}^{2+}$  em água

$$K_1 = 0,66$$

$$K_2 = 0,82$$

Efeito de  $\text{Zn}^{2+}$  em solução tampão de citrato

$$K_1 = 0,84$$

$$K_2 = 0,79$$

Efeito de  $\text{Mn}^{2+}$  em água

$$K_1 = 0,78$$

$$K_2 = 0,88$$

Efeito de  $\text{Mn}^{2+}$  em solução tampão de citrato

$$K_1 = 0,80$$

$$K_2 = 0,78$$

## 12. AGRADECIMENTO

Ao professor Dr. André Tosello, diretor da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, pelas facilidades proporcionadas ao desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dr.<sup>a</sup> Florinda O. Bobbio pelo estímulo e dedicação demonstrados durante a orientação desta tese.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de uma bolsa de pós-graduação e doação de drogas.

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