

agár agár

ORIGEM E DIVERSIDADE DE APLICAÇÕES

De origem asiática, o agar agar é o ficocolóide de utilização mais antiga, sendo que foi o primeiro a ser usado na indústria alimentícia na forma de géis e em diversas outras aplicações industriais como aditivo em alimentos.

INTRODUÇÃO

O agar agar, também conhecido simplesmente como agar ou agarose, é um hidrocolóide extraído de diversos gêneros e espécies de algas marinhas vermelhas, da classe Rodophyta, onde ocorre como carboidrato estrutural na parede das células. Tais algas que contêm o agar agar são denominadas agarófitas.

O teor de agar agar nas agarófitas varia de acordo com as condições do mar: concentração de dióxido de carbono, tensão de oxigênio, temperatura da água e intensidade de radiação solar.

As principais espécies de valor comercial são as agarófitas dos gêneros Gracilária (*Gracilariaceae*), Gelidium (*Gelidiaceae*), Pterocladia (*Gelidiaceae*) e Ahnfeltia (*Phyllophoraceae*); existem outras, tais como a *Acanthopheltis japonica*, *Ceramium hypnaeoides* e *C. boydenii*, por exemplo.



As Gelidium, particularmente a *Gelidium amansii*, propiciam uma melhor qualidade de agar, porém são de cultivo mais difícil e menos abundantes como recursos naturais do que as Gracilária, as quais são cultivadas em escala comercial em vários países e regiões. As Pterocladia e Ahnfeltia crescem somente em algumas poucas regiões e são usadas somente na Rússia e Nova Zelândia.

A espécie Gracilária, a mais abundante para produção de agar, possui mais de 150 tipos diferentes, distribuídos principalmente nas zonas de clima temperado e subtropical. Alguns deles são cultivados em larga escala no Chile, Taiwan, Vietnã e Tailândia. Os principais países produtores de agar agar são o Chile, a Espanha e o Japão.

As algas são, em geral, coletadas manualmente por pescadores em zonas de baixa profundidade e maré baixa, ou também por mergulho, através do uso de equipamentos adequados. Após a coleta, as algas são colocadas ao sol para secagem até atingirem um nível de umidade ideal para processamento.

Em seu estado natural, o agar agar ocorre como carboidrato estrutural da parede celular das algas agarófitas, existindo na forma de sais de cálcio ou uma mistura de sais de cálcio e magné-



sio. É uma mistura heterogênea de dois tipos de polissacarídeos: a agarose, um polímero neutro, e a agarpectina, um polímero com carga sulfatado.

A agarose, fração geleificante, é uma molécula linear neutra, essencialmente livre de sulfatos, que consiste de cadeias repetidas de unidades alternadas b-1,3 D-galactose e a-1,4 3,6-anidro-L-galactose. A agarpectina, fração não geleificante, é um polissacarídeo sulfatado (3% a 10% de sulfato) composto de agarose e porcentagens variadas de éster sulfato, ácido D-glucurônico e pequenas quantidades de ácido pirúvico. A proporção destes dois polímeros varia de acordo com a espécie da alga, sendo que a agarose é o componente principal, representando cerca de 70% do total.

De forma simplificada, pode-se dizer que a agarose e a agarpectina se diferenciam pela presença de restos de sulfato e piruvato, relativamente abundantes na agarpectina e escassos (idealmente, ausentes) na agarose. Os restos de sulfato aparecem

sobre unidades de galactose que então ocupam o lugar de uma anidrogáctose na sequência alternada.

Precisamente, as algas sintetizam o agar em forma sulfatada, produzindo a anidrogáctose na eliminação enzimática do sulfato. Trata-se de um detalhe muito importante, já que o conteúdo de sulfato decresce com a maturidade da planta e, por sua vez, aumenta muito a resistência dos géis de agar obtidos a partir dela. Também, dependendo das espécies, alguns restos de galactose possuem grupos metilo no carbono 6.

A quantidade e qualidade do agar acumulado dependem de diversos fatores biológicos e ambientais, e é diferente em distintas zonas da alga.

ORIGEM

Os registros históricos apontam que o agar é o ficocolóide (polissacarídeos da parede celular de algas vermelhas e pardas) de utilização mais antiga, sendo que foi o primeiro a ser usado na indústria alimentícia na forma de géis e em diversas outras aplicações industriais como aditivo em alimentos.

De acordo com uma lenda japonesa, o método original de produção do agar foi descoberto em meados do século dezessete, presumidamente em 1658. No inverno desse ano, o Imperador japonês e sua escolta imperial perderam-se nas montanhas durante uma tempestade de neve e refugiaram-se em uma pequena hospedaria. No jantar, o dono



do estabelecimento ofereceu cerimoniosamente um prato tradicional à base de geléia, elaborada a partir de algas marinhas; era preparado cozinhando a alga vermelha *Gelidium sp.* com água. Após o jantar, o resto de geléia foi jogado fora e, durante a noite, congelou. De dia, derreteu e secou ao calor do sol, transformando-se, após alguns dias, em uma substância branca, seca e porosa. Fervendo-se essa substância com mais água, obtinha-se novamente uma geléia, até mais clara que a original. O método de fabricação do agar tinha sido assim acidentalmente descoberto.

O agar, como gelatina adoçada e



aromatizada, é conhecido no Oriente há muito tempo. É conhecido no Japão como Kanten, significando água fria, e na China como Dongfen, o que significa, literalmente, pó congelado.

A palavra agar é de origem malaia, onde é usada na forma dobrada agar agar, a qual se refere, originalmente, a gélatinas obtidas de certas algas, em particular a *Eucheuma muricatum* (*S.G. Gmelin*) das Índias Orientais. Segundo a história, os imigrantes chineses instalados nas Índias Orientais importavam o Kanten japonês para seu uso próprio, passando a apelidá-lo de agar agar.

Os europeus, basicamente os portugueses e os holandeses, das Índias Orientais aprenderam a usar o produto na preparação de geléias de frutas e, subsequentemente, o introduziram na Europa. Foi assim que um nome malaio acabou sendo usado para um produto de origem genuinamente japonesa.

O agar ainda era muito pouco

conhecido quando o bacteriologista Robert Koch o utilizou pela primeira vez como meio de cultura. Em 1881, o médico alemão Walther Hesse passou a trabalhar no laboratório de Koch para estudar questões relacionadas à saúde pública e ao metabolismo bacteriano, tendo como assistente sua esposa Fanny Angelina Eilshemius Hesse. A gelatina então utilizada para geleificar meios de cultura ou era consumida pelos próprios microorganismos ou derretia-se em dias quentes, prejudicando os experimentos que requeriam meios de cultura sólidos.

Angelina contou a seu marido que usava uma gelatina chamada de agar agar para conservar seus doces sólidos em dias quentes. Hesse testou o produto com sucesso e informou Koch dos resultados positivos. Em 1882, Robert Koch anunciou o uso de agar agar como meio de cultura em seus famosos experimentos sobre a bactéria da tuberculose.

Desde essa época, o agar agar passou a ser utilizado com sucesso para fazer meios de cultura sólidos.

O agar agar é indigerível, pelo menos pela grande maioria dos microorganismos, o que tornou universal seu uso em microbiologia para o crescimento de microorganismos em meio sólido.

Atualmente, o agar empregado em microbiologia é produzido pela indústria especializada na manufatura de meios de cultura e disponível em vários graus de pureza. É especialmente útil por manter-se sólido (na verdade com densidade de um gel firme) em temperaturas comumente empregadas para cultura de bactérias (37°C), temperatura ótima para seu desenvolvimento. As culturas em meio sólido são muito importantes, pois permitem a identificação e o isolamento de culturas puras (colônias, originadas de um único microorganismo), o que não é viável em meios de cultura líquidos.

No preparo de meios de cultura sólidos, o agar é, via de regra, adicionado na concentração de 15 gramas por litro de meio líquido. As características gerais do agar são: não tóxico (para a maioria dos microorganismos e humanos), derrete somente a 100°C, mas solidifica-se

a cerca de 45°C (dependendo da concentração), mantêm-se estável mesmo sob temperaturas de esterilização (120°C) e é fisiologicamente inerte (muito poucas bactérias expressam enzimas capazes de digeri-lo).

A produção de agar por técnicas de congelamento modernas iniciou-se em 1921, na Califórnia, Estados Unidos, por um japonês chamado Chokichi Matsuoka, que depositou patente em 1923. No decorrer da Segunda Guerra Mundial, o agar agar também passou a ser produzido na Espanha e em Portugal. Mesmo nas modernas plantas de produção de hoje, o princípio fundamental de extração e purificação do agar agar por congelamento/derretimento continua bastante similar aquele descoberto há trezentos e cinquenta anos atrás.

PROPRIEDADES

O agar agar é insolúvel em água fria, porém expande-se consideravelmente e absorve uma quantidade de água de cerca de 20 vezes o seu próprio peso, formando um gel não absorvível, não fermentável e com a importante característica de ser atóxico.

Possui em sua composição, principalmente, fibras e também sais minerais (P, Fe, K, Cl, I), celulose, anidrogálatose e uma pequena quantidade de proteínas.

A dissolução em água quente é rápida e pode-se observar a formação de um gel firme a concentrações tão baixas quanto 0,5%. O agar agar em pó seco é solúvel em água e outros solventes à temperaturas de 95°C a 100°C.

O agar agar em pó umedecido por imersão em etanol, 2-propanol, acetona ou salinizado por altas concentrações de eletrólito é solúvel em uma variedade de solventes à temperatura ambiente.

A fração geleificante do agar agar possui uma estrutura de dupla hélice. Esta estrutura agrega-se para formar uma estrutura tridimensional que retém as moléculas de água nos seus interstícios, formando assim géis termorreversíveis. A propriedade de geleificação do agar agar é devida aos três átomos de hidrogênio equatorial nos resíduos de 3,6-anidro-L-gálatose, que limitam a molécula para formar uma hélice.

No que se refere ao poder de geleifi-

cação, o agar agar é notável dentre os hidrocolóides. O gel de agar agar pode ser obtido em soluções muito diluídas contendo uma fração de 0,5% a 1,0% de agar agar.

O gel é rígido, possui formas bem definidas e pontos de fusão e geleificação precisos. Ademais, demonstra claramente os interessantes fenômenos de sinérese (exsudação espontânea da água de um gel que está em repouso) e histerese (intervalo de temperatura entre as temperaturas de fusão e geleificação). A geleificação ocorre à temperaturas muito abaixo da temperatura de fusão. Uma solução de 1,5% de agar agar forma um gel ao ser resfriado para uma temperatura de 32°C a 45°C e a fusão de tal gel não ocorre à temperaturas inferiores a 85°C. Este intervalo de histerese é uma propriedade do agar agar que encontra uma variedade de usos em aplicações alimentícias. A força de gel do agar agar é influenciada pelos fatores de concentração, tempo, pH e conteúdo de açúcar. O pH afeta notadamente a força de gel do agar agar: o decréscimo do pH diminui a força de gel. O conteúdo de açúcar também tem um efeito considerável sobre o gel de agar agar, pois seu aumento resulta em um gel com maior dureza, porém com menor coesão.

A viscosidade de uma solução de agar agar é influenciada e dependente da fonte da matéria-prima. A viscosidade à temperaturas acima do seu ponto de geleificação é relativamente constante em pH de 4,5 a 9,0 e não é muito afetada por idade ou força iônica dentro da gama de pH de 6,0 a 8,0. Entretanto, iniciada a geleificação, à temperatura constante, a viscosidade aumenta com o tempo.

A viscosidade de uma solução de agar agar a temperatura constante e concentração igual é uma função dire-

ta do peso molecular médio. A viscosidade raramente excede 10 a 15cp, em concentração de 1% e 60°C a 90°C. Geralmente, a viscosidade é menor a medida que a força do gel aumenta. O peso molecular médio do agar agar varia entre 8,000 até mais de 100,000.

Uma solução de agar agar possui uma carga levemente negativa. A sua estabilidade depende de dois fatores: hidratação e carga elétrica. A remoção de ambos os fatores resulta na flocculação do agar agar.

Soluções de agar agar expostas a altas temperaturas por períodos prolongados podem se degradar, resultando na diminuição da força de gel após a diminuição da temperatura e a formação deste. Este efeito de diminuição da força de gel é intensificado com o decréscimo do pH. Portanto, deve-se evitar a exposição de soluções de agar agar a altas temperaturas e pH menores de 6,0 por períodos prolongados. O agar agar na forma seca não está sujeito a contaminação por microorganismos. Entretanto, soluções e géis de agar agar são meios férteis de contaminação por bactérias e fungos e as devidas precauções devem ser tomadas para evitar o crescimento de microorganismos.

DIVERSIDADE DE APLICAÇÕES

Uma solução de agar agar em água forma um gel característico com temperatura de fusão de 85°C a 95°C e temperatura de geleificação de 32°C a 45°C. Esta propriedade física torna-o consideravelmente útil como ingrediente aditivo em diversas aplicações na indústria alimentícia, podendo ser utilizado em produtos lácteos, incluindo sorvetes, pudins, flans, iogurtes, leite fermentado, sorbets, e leite gelificado; em doces e confeitaria, na fabricação de balas de goma, marrom glacê, geléia de mocotó, geléia fantasia, bananada, doces em massa, confeitos, sobremesa tipo gelatina, e merengues; em produtos cárneos, onde é indi-

cado para patês, produtos enlatados de peixe, frango e carne; em bebidas, para clarificação e refinação de sucos, cervejas, vinhos e vinagres; e em panificação, para aplicação em cobertura de bolos, recheio de tortas, e massas de pão.



O agar é normalmente comercializado sob a forma de pó ou como tiras de algas secas. Possui aspecto esbranquiçado e semi translúcido.

Para o fabrico de gelatina é fervido em água a concentrações de 0,7% a 1% (p/v) até a dissolução do sólido; após esta operação, são adicionados, por exemplo, agentes adoçantes, corantes, aromas e pedaços de frutas. A mistura ainda líquida pode ser vertida para dentro de fôrmas, onde arrefece, tomando a forma desejada. Pode ainda ser parte de outras sobremesas, por exemplo, como camada de gelatina em semi frio.

Um tipo de dieta surgido na Ásia é a dieta Kanten. Este tipo de agar triplica o seu volume quando ingerido, devido à absorção de água. Como o consumidor sente o apetite saciado com este efeito, tende a ingerir menor quantidade de outros alimentos. A ausência de valor nutricional do Kanten, assim como o fato de ser composto por cerca de 80% de fibras, contribui para o controle do peso, tanto pela substituição do alimento, como possivelmente também pelo efeito laxativo deste produto. Existem também alegações que o Kanten tenha alguma eficácia contra o diabetes.

O gel de agar agar tem a interessante propriedade de inibir a liquefação característica que ocorre na ação enzimática de microorganismos. Esta propriedade encontra uma variedade de



aplicações nas indústrias médica e farmacêutica, onde o agar agar é utilizado como substrato na preparação de meios de cultura bacteriana em microbiologia, como laxativo e agente terapêutico no tratamento de disfunções digestivas, como agente retardador e carregador na administração de remédios, antibióticos e vitaminas, como agente de suspensão de sulfato de bário em radiologia, como estabilizador de soluções de colesterol e como agente de suspensão em diversos tipos de emulsões.

O agar agar encontra ainda várias outras aplicações industriais onde um agente gelificante se faz necessário, como em próteses dentárias, emulsões fotográficas, diferenciação de proteínas por eletroforese, cromatografia por exclusão de tamanho, moldagem de materiais e meios de cultura de tecido de plantas em biotecnologia.

O agar, em uma forma pura para análise e suplementado com uma mistura de nutrientes, é usado em biologia vegetal para auxiliar a germinação de plantas em placas de Petri, sob condições estéreis. Estas misturas são bem controladas e mais ou menos constantes para cada tipo de planta.

A solidificação do agar em um meio de cultura é dependente do pH, com uma gama ótima de 5,4 a 5,7. Por vezes é usado hidróxido de potássio (KOH) para aumentar o pH, sendo o meio posteriormente esterilizado por autoclave.

Este tipo de meio é particularmente útil na aplicação de concentrações específicas de, por exemplo, fito hormonas, de modo a induzir determinados

padrões de crescimento. Isto é alcançado adicionando a hormona ao meio de cultura, sendo este posteriormente autoclavado. Esta mistura pode, então, ser espalhada na superfície das placas de Petri em que germinam as sementes.

O agar também é muito usado em meios de cultura sólidos para bactérias e fungos, mas não para vírus. Alguns vírus podem, no entanto, ser cultivados em bactérias que, por sua vez, crescem em agar. Menos de 1% de todas as bactérias conhecidas podem ser cultivadas nestes tipos de meios, mas a formulação básica do meio de cultura com agar é adequado para a maioria. Este tipo de meio de cultura é feito adicionando agar (normalmente 1,5% a 2% (p/v)) e componentes de meio de cultura específicos para cada tipo de microorganismo a água destilada. Esta mistura, após esterilizada, é vertida, enquanto líquida, para placas de Petri ou tubos. Por vezes é adicionado um suplemento após a esterilização como, por exemplo, antibióticos (o calor da esterilização destrói determinados suplementos, não permitindo a sua adição anterior). Após solidificação do meio, este encontra-se apto a albergar o crescimento de microorganismos.

Diferentes microorganismos possuem diferentes necessidades nutricionais, por isso o meio de cultura é adaptado para satisfazer essas necessidades. Por exemplo, um tipo de meio é o blood agar (literalmente, agar de sangue), que possui como suplemento sangue

de cavalo e é usado para detectar a presença de organismos hemorrágicos, como a *Escherichia coli*. A detecção é feita através da digestão do sangue, que torna a placa mais clara.

Já a agarose é muito usada em biologia molecular como matriz na eletroforese em gel. Géis de agarose com concentrações tipicamente entre 0,5% e 2,5% (p/v) são usados para separação de moléculas de ácidos nucleicos de diferentes tamanhos.



Os géis de agarose são feitos dissolvendo a quantidade desejada de agarose em solução tampão adequada aquecida (normalmente, Tris-borato-EDTA ou Tris-acetato-EDTA), sendo esta despejada em um molde retangular. Enquanto a mistura não solidifica, é inserido um pente específico para que existam pequenos poços no gel. Este processo é possível porque a agarose apresenta histerese, ou seja, solidifica a uma temperatura (32°C - 40°C) diferente da temperatura de fusão (85°C).

Após a completa solidificação da agarose, o pente é retirado e as amostras podem ser aplicadas nos poços entretanto formados. O gel é colocado em uma tina contendo o mesmo tipo de solução tampão usada no gel e sujeita a uma diferença de potencial que pode chegar até 150 volts. Os ácidos nucleicos migram do pólo negativo (cátodo) para o pólo positivo (ânodo), separando-se segundo o seu tamanho: as moléculas menores encontram menos resistência a passagem através do gel, migrando mais rapidamente em direção ao pólo positivo.

A eletroforese em gel de agarose é uma das ferramentas mais utilizadas para verificação da qualidade (pureza e quantidade) de DNA ou RNA de uma amostra (por exemplo, para verificar a presença de produtos desejados de PCR), assim como para a purificação de ácidos nucleicos. Nesta, o DNA de interesse é separado dos demais contaminantes (outras moléculas de DNA de diferentes tamanhos), posteriormente excitado e separado da agarose.

A indústria de ficocolóides é um mercado crescente que movimenta anualmente milhões de dólares no mundo. O interesse econômico pelos ficocolóides explica-se pelo fato de apresentarem propriedades gelatinizantes e espessantes, o que lhes agrega considerável valor comercial.

