

ELOÍSA ROVARIS PINHEIRO

**PECTINA DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora
edulis flavicarpa*): OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO COM ÁCIDO
CÍTRICO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.**

FLORIANÓPOLIS

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

Eloísa Rovaris Pinheiro

**PECTINA DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora
edulis flavicarpa*): OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO COM ÁCIDO
CÍTRICO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do Grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni.

Florianópolis

2007

PECTINA DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora edulis flavicarpa*): OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO COM ÁCIDO CÍTRICO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.

Por

ELOÍSA ROVARIS PINHEIRO

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre no programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, pela comissão formada por:

Presidente: _____
Prof^a Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni (UFSC)

Membro: _____
Prof^a Dra. Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz (UFPR)

Membro: _____
Prof^a Dra. Edna Regina Amante (UFSC)

Membro: _____
Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto (UFSC)

Florianópolis, maio de 2007.

À minha família, em especial aos meus queridos pais (Eloy e Maria) pelo amor, suporte, força e incentivo, sempre.

Ao Thiago, pelo seu carinho, companheirismo e apoio nessa etapa de nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado forças e me guiado por este longo caminho.

À minha orientadora e amiga, Professora Renata Dias de Mello Castanho Amboni, por ter acreditado em mim, bem como por ter sempre me apoiado e motivado durante o percurso desse projeto.

À Professora Edna Regina Amante por ter me recebido em seu laboratório e ter permitido a realização da parte experimental desse projeto. Agradeço também os conselhos valiosos e as conversas agradáveis.

Ao Professor Pedro Luiz Manique Barreto, pela colaboração e orientações nas análises de reologia.

À Professora Márcia Miguel Castro Ferreira e ao Reinaldo Teófilo, do Laboratório de Quimiometria Aplicada do Instituto de Química da UNICAMP, pelas orientações e colaboração nas análises estatísticas.

À Professora Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz, à Professora Fany Reicher, à mestranda Lúcia e à Andréia, pela colaboração e acesso ao Laboratório de Química de Carboidratos do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná.

À Iolanda, Erika e Karina Simas pela amizade, apoio e colaboração sem medir esforços de boa parte do meu trabalho.

Às grandes amigas do laboratório de Frutas e Hortaliças: Manoela, Rossana, Karina Tramonte, Ângela, Janete, Sandra e Leila pela amizade, gargalhadas e festas.

Ao pessoal do Laboratório de Leites, em especial à Professora Elane Schwinden Prudêncio.

Aos colegas de pós-graduação, pelos momentos de companheirismo, em especial Thiago, Manoela, Karina Simas, Leila Falcão e Fabiane.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial Bento, Carlos, Inês, Maria, Márcia, Mari e Sérgio.

A CPKelco, pela disponibilidade de enviar amostras e contribuir nesse trabalho.

À EPAGRI, por permitir a continuidade de meu mestrado.

À Capes pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em especial ao FUNPESQUISA pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

À minha família, pai, mãe, Guigo, Rafa, vó Adília, tios, tias, primos e primas, assim como, a família do Thiago, minha segunda família, Osli, Lourdes, Nando, Nessa, Emily e Paulinho; e a todos meus verdadeiros amigos, que de uma forma ou de outra sempre estiveram presentes, e tenho certeza que estão tão felizes quanto eu, por ter finalizado mais esta etapa.

A todas as pessoas citadas e aquelas que possa ter esquecido, o meu carinho e amizade.

MUITO OBRIGADA!

PINHEIRO, Eloísa Rovaris. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

A pectina, utilizada como geleificante ou estabilizante, pode ser extraída da casca de maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*), resíduo agroindustrial da produção de sucos. Geralmente, as pectinas são extraídas das cascas de frutas cítricas e de bagaço de maçã com ácidos minerais fortes, acarretando em algumas desvantagens, como poluição ambiental, corrosão e degradação da pectina extraída. Visando desenvolver um processo alternativo, utilizando ácido orgânico como agente extrator, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração de pectina de alto grau de esterificação com ácido cítrico. As cascas sem flavedo foram desidratadas e moídas até obtenção de farinha. Esta farinha foi caracterizada quimicamente e utilizada como matéria-prima para extração de pectina. A metodologia de superfície de respostas foi utilizada para determinar as condições ótimas de extração para obtenção de pectina de alto grau de esterificação. A pectina extraída na condição otimizada (HEP) foi caracterizada quanto às suas propriedades físico-químicas e comparada à pectina cítrica comercial (HMP). A farinha da casca de maracujá amarelo apresentou um alto teor de fibras alimentares totais (57,36 %), solúveis (19,20 %) e insolúveis (38,05 %). Os resultados do planejamento composto central mostraram que as variáveis, concentração de ácido e tempo de extração, foram estatisticamente significativas para aumentar o grau de esterificação da pectina extraída. Nas extrações realizadas com menores concentrações de ácido cítrico (0,086 %) e tempos de extração (60 min) foram obtidas pectinas com alto grau de esterificação (78,59 %) e baixo valor acetil (0,30 %). O rendimento de pectina nestas condições foi 27,4 %. Os teores de cinzas, ácido galacturônico e o conteúdo de açúcares neutros de HEP foram superiores aos encontrados na HMP. Na análise da homogeneidade, as duas pectinas (HEP e HMP) mostraram-se heterogêneas. A HEP apresentou massa molar de $1,16 \times 10^5 \text{ g.Mol}^{-1}$ e viscosidade intrínseca de $2,54 \text{ dL.g}^{-1}$. O perfil de textura obtido demonstrou grande diferença entre as amostras, sendo que a HEP apresentou gel mais firme que HMP e, em ambas as amostras, os parâmetros estudados apresentaram diferenças significativas entre as concentrações. As amostras de pectina apresentaram diferença na cor ($\Delta E^* = 1,48$), que pode estar relacionada com a matéria-prima inicial. As propriedades físico-químicas da HEP foram similares às encontradas na HMP, indicando perspectivas para a utilização da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) na obtenção de pectina, a fim de minimizar os resíduos gerados, convertendo-os em matérias-primas para indústrias de alimentos, químicas e farmacêuticas.

Palavras-chave: pectina, maracujá, otimização, grau de esterificação, caracterização.

PINHEIRO, Eloísa Rovaris. **Pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*): optimization of extraction with citric acid and physicochemical characterization**. 2007. Master dissertation on Food Science – Master Program n Food Science. Federal University of Santa Catarina, Florianópolis.

ABSTRACT

The pectin, used as gelling agents or estabilizers, can be extracted of the yellow passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*), industrial waste of the juice production. Generally, the pectin is extracted from citrus peel and apple pomace with strong mineral acids, causing some disadvantages, as ambient pollution, corrosion and degradation of the extracted pectin. Aiming at to develop an alternative process, using organic acid as extracting agent, the objective of this work was select optimum conditions to extract pectin from passion fruit peels with a high degree of esterification using citric acid as extractor. The peels without flavedo was dried and milled to a dry-sieve size powdered. This flour was characterized and used as raw material for extration of pectin. Response surface methodology was used to determine the optimum conditions of extration for obtain high degree of esterification. The physicochemical properties of the pectin extracted in the optimized condition (HEP) was characterized and compared with commercial high ester pectin extracted from citrus peel (HMP). The passion fruit peel flour presented high contents of total alimentary fiber (57.36%), soluble (19.20%) and insoluble (38.05%). The results of the central composite design had shown that the variables, citric acid concentration and extraction time, had been statistically significant to increase the degree of esterification of the extracted pectin. In the extrations carried out with lower citric acid concentrations (0.086%) and extraction time (60 min) obtained pectin with high degree of esterification (78.59%) and low degree of acetilation (0.30%). The yield of pectin in these conditions was 27.4%. The ash, galacturonic acid and neutral sugars contents of HEP had been superior to the found in the HMP. In the analysis of the homogeneity, the two pectins (HEP and HMP) had presented heterogeneous. The HEP presented molar mass of $1,16 \times 10^5 \text{ g.Mol}^{-1}$ and intrinsic viscosity of 2.54 dL.g^{-1} . The analysis of texture profile demonstrated to great difference between the samples, the HEP presented more firm gel than HMP and, in both the samples, the studied parameters had presented significant differences between the concentrations. The samples of pectin had presented difference in the color ($\Delta E^* = 1.48$), that it can be related with the initial raw material. The physicochemical properties of the HEP had been similar to the found in the HMP, indicating perspective for the use of the passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) in the attainment of pectin in order to minimize the generated residues, converting them into by-products for food, chemistries and druggists industries.

Keywords: pectin, passion fruit, optimization, degree of esterification, characterization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1	
Figura 1 Estrutura química da cadeia de pectina	23
Figura 2 Representação esquemática da estrutura convencional (A) e da alternativa recentemente proposta (B) das pectinas.	25
Capítulo 2	
Figura 1 (A) Gráfico do grau de esterificação predito <i>vs.</i> observado das amostras de pectina extraída da casca do maracujá. (B) Gráfico dos resíduos <i>vs.</i> grau de esterificação observado de amostras de pectina.	45
Figura 2 Superfície de resposta mostrando o efeito da concentração de ácido cítrico e tempo de extração sobre o grau de esterificação da pectina extraída da casca do maracujá.	45
Capítulo 3	
Figura 1 Perfil de eluição das amostras de pectina por (HPSEC-MALLS) (A) HEP e (B) HMP. Em vermelho espalhamento de luz (LS); em azul: índice de refração (RI).	66

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1	
Tabela 1 Quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura permanente de maracujá no ano de 2005.	20
Tabela 2 Composição do maracujá <i>in natura</i>	21
Tabela 3 Composição centesimal da casca do maracujá amarelo.	22
Capítulo 2	
Tabela 1 Níveis codificados das duas variáveis empregadas para extração de pectina no planejamento composto central.	41
Tabela 2 Composição química da farinha da casca do maracujá amarelo (base seca).	42
Tabela 3 Resultados do grau de esterificação da pectina da casca do maracujá amarelo baseados na concentração de ácido cítrico e tempo de extração.	43
Tabela 4 Coeficientes de regressão, Erro padrão e valor <i>p</i> para o modelo de extração ácida da pectina da casca do maracujá amarelo.	44
Tabela 5 Análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão.	44
Capítulo 3	
Tabela 1 Níveis codificados das duas variáveis empregadas para extração de pectina da casca do maracujá no planejamento composto central.	55
Tabela 2 Resultados do grau de esterificação e rendimento da pectina da casca do maracujá amarelo baseados na concentração de ácido cítrico e tempo de extração.	61
Tabela 3 Coeficientes do modelo de extração ácida da pectina da casca do maracujá amarelo.	62
Tabela 4 Composição química das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo (base peso seco).	63

Tabela 5 Determinação do índice de refração diferencial (dn/dc) e massa molar (M_w) das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo através da metodologia HPSEC- MALLS.	67
Tabela 6 Determinação da viscosidade intrínseca ($[\eta]$) e a massa molar viscosimétrica (M_v) das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo.	67
Tabela 7 Perfil de textura das amostras de pectina.	68
Tabela 8 Parâmetros de cor L^* , a^* e b^* para HEP e HMP.	69

LISTA DE SIGLAS

AACC – American Association of Cereal Chemists

AcOH – Valor acetil

ANOVA – Análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

Ara – Arabinose

a* - Parâmetro de medida do grau de cor vermelha (+ a) ou verde (- a)

b* - Parâmetro de medida do grau de cor amarela (+ b) ou azul (- b)

CCD – Planejamento Composto Central

CEASA – Central de Abastecimento de Santa Catarina

Citr. – Concentração de ácido cítrico

DE – Grau de esterificação

dn/dc – Índice de refração diferencial

Et. – tempo de extração

FAO – Food and Agriculture Organization

FID – detector de ionização de chama

Fuc – Fucose

Gal – Galactose

GalA – Ácido Galacturônico

GLC – cromatografia líquido gasosa

Glc – Glucose

HEP – Pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada

HG – Homogalacturonana

HMP – Pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação

HPSEC-MALLS – Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão acoplada a detectores de espalhamento de luz laser multiângulos

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

I₂/KI – Solução de Lugol

LS – Espalhamento de luz

L* - Parâmetro de luminosidade: escala de 0 (escuro) a 100 (claro).

MALLS – Espalhamento de luz em multiângulos

Man – Manose

MLR – Regressão linear múltipla

M_v – Massa molar viscosimétrica

M_w – Massa molar

R² – Coeficiente de determinação

RG-I – Ramnogalacturonana I

RG-II – Ramnogalacturonana II

Rha – Ramnose

RI - Índice de refração

RSM – Metodologia de superfície de resposta

vs. – Versus

Xyl – Xilose

y_{pec} – Rendimento da pectina

ΔE* - Diferença total de cor

[η] – Viscosidade intrínseca

η_{sp} – Viscosidade específica

η_{red} – Viscosidade reduzida

SUMÁRIO

1 Introdução	17
--------------	----

Capítulo 1	
-------------------	--

Revisão bibliográfica	19
1 Revisão bibliográfica	20
1.1 Maracujá	20
1.2 Pectinas	22
1.2.1 Extração de Pectinas	26
1.2.2 Propriedades funcionais das Pectinas	28
Referências bibliográficas	31

Capítulo 2	
-------------------	--

Otimização da extração de pectina de alto grau de esterificação da casca do maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis flavicarpa</i>) com ácido cítrico utilizando metodologia de superfície de resposta.	35
1 Introdução	38
2 Material e métodos	39
2.1 Preparação e análises químicas da farinha da casca do maracujá	39
2.2 Extração da Pectina	40
2.3 Determinação do grau de esterificação	40
2.4 Planejamento experimental e análise estatística	41
3 Resultados e discussão	42
3.1 Composição química da farinha da casca do maracujá amarelo	42
3.2 Planejamento experimental	42
4 Conclusão	46
Referências bibliográficas	47

Capítulo 3

Extração e caracterização físico-química de pectina da casca do maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i> flavicarpa).	49
1 Introdução	52
2 Material e métodos	53
2.1 Material	53
2.2 Extração da pectina	54
2.3 Planejamento experimental	54
2.4 Determinação do grau de esterificação	55
2.5 Caracterização físico-química da pectina	56
2.5.1 Conteúdo de umidade, cinzas e proteínas	56
2.5.2 Determinação de ácidos urônicos	56
2.5.3 Determinação de açúcares neutros	57
2.5.4 Valor acetil (%)	57
2.6 Análise de homogeneidade e determinação da massa molar utilizando metodologia HPSEC-MALLS.	58
2.7 Determinação de viscosidade intrínseca e massa molar viscosimétrica	58
2.8 Perfil de textura (TPA)	60
2.9 Análise instrumental da cor	60
3 Resultados e Discussão	61
3.1 Planejamento experimental e extração	61
3.2 Caracterização da pectina	63
3.3 Análise de homogeneidade e determinação da massa molar utilizando metodologia HPSEC-MALLS.	65
3.4 Determinação da viscosidade intrínseca e massa molar viscosimétrica	67
3.5 Perfil de textura	68
3.6 Análise instrumental da cor	69
4 Conclusão	69
Referências bibliográficas	70
Anexos	73
Anexo A	74

Anexo B

77

Anexo C

79

1 INTRODUÇÃO

Uma alternativa que vem se destacando desde o início da década de 1970 consiste no aproveitamento dos resíduos de certas frutas (principalmente cascas) como matéria-prima para a produção de alguns ingredientes funcionais perfeitamente passíveis de serem incluídos na alimentação humana, como por exemplo, as pectinas, que até o presente momento têm sido isoladas, com propósitos comerciais, a partir de cascas de laranja, limão e bagaço de maçã (OLIVEIRA et al., 2002).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa), sendo a região nordeste o mais importante pólo produtor do país. Atualmente, cerca de 90 % das cascas e sementes de maracujá provenientes das indústrias de sucos e polpas são descartados. Como a quantidade de resíduos provenientes do processamento do suco de maracujá é bastante expressiva, principalmente devido a grande quantidade de fibras, pectina e óleo descartados, há a necessidade de soluções viáveis para o seu reaproveitamento. Assim, a casca do maracujá não pode ser vista como resíduo, mas sim como matéria-prima para extração de pectina.

As pectinas são um dos principais constituintes estruturais da parede celular das plantas dicotiledôneas e de algumas monocotiledôneas, sendo conhecida inúmeras propriedades que permitem seu uso como agente geleificante, espessante e estabilizante (JARVIS, 1988; SHKODINA et al., 1998). Sua aplicação na indústria de alimentos abrange os produtos lácteos, geléias, polpa de fruta, produtos cárneos, produtos de panificação, cerveja, entre outros.

As pectinas compreendem um grupo de polissacarídeos ácidos que podem apresentar grande diversidade em sua estrutura fina. Com isso, há necessidade de pectinas com características estruturais e massa molar distintas levando a produtos com diferentes propriedades funcionais.

Tendo em vista que a pectina cítrica comercial habitualmente utilizada pelas indústrias é de alto grau de esterificação, torna-se necessário a otimização do método de extração da pectina do maracujá amarelo minimizando a degradação da molécula. A

substituição dos agentes extratores normalmente utilizados, como os ácidos clorídrico, nítrico e sulfúrico, por ácidos orgânicos fracos como o ácido cítrico pode contribuir para este fim. Portanto, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração de pectina de alto grau de esterificação da casca de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) utilizando ácido cítrico como agente extrator e caracterizar suas propriedades físico-químicas comparando com a pectina cítrica comercial.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Maracujá

Originário da América tropical, o maracujá é largamente cultivado e processado em todo mundo. O Brasil é o maior produtor mundial, com produção de 480 mil toneladas e área de aproximadamente 36 mil hectares. A Bahia é o principal produtor, seguido por Espírito Santo, Pará, Minas Gerais, Sergipe, São Paulo e Ceará (IBGE, 2005), conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 Quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura permanente de maracujá no ano de 2005.

Brasil, Região Geográfica e Unidade da Federação	Quantidade produzida (Toneladas)	Valor da produção (Mil Reais)	Área plantada (Hectare)	Área colhida (Hectare)
Brasil	479.813	309.939	35.856	35.820
Norte	51.077	21.000	5.118	5.104
Rondônia	1.631	788	210	209
Acre	472	370	70	59
Amazonas	904	163	307	305
Roraima	-	-	-	-
Pará	45.297	18.114	4.168	4.168
Amapá	1.052	709	201	201
Tocantins	1.721	856	162	162
Nordeste	244.343	161.373	19.553	19.553
Maranhão	219	179	34	34
Piauí	169	143	16	16
Ceará	40.261	32.885	2.032	2.032
Rio Grande do Norte	2.879	2.116	277	277
Paraíba	6.072	4.101	819	819
Pernambuco	7.803	6.090	722	722
Alagoas	5.504	1.961	566	566
Sergipe	41.526	30.284	4.330	4.330
Bahia	139.910	83.614	10.757	10.757
Sudeste	151.096	107.291	8.593	8.586
Minas Gerais	44.025	26.554	3.063	3.063
Espírito Santo	51.070	44.038	2.097	2.097
Rio de Janeiro	15.012	10.095	1.052	1.052
São Paulo	40.989	26.603	2.381	2.374
Sul	13.714	9.384	1.021	1.021
Paraná	8.531	7.034	626	626
Santa Catarina	5.183	2.350	395	395
Rio Grande do Sul	-	-	-	-
Centro-Oeste	19.583	10.891	1.571	1.556
Mato Grosso do Sul	546	507	42	42
Mato Grosso	4.283	1.956	191	191
Goiás	13.212	6.744	1.223	1.223
Distrito Federal	1.542	1.684	115	100

Fonte: IBGE (2005)

Cerca de 150 espécies de *Passiflora* são nativas do Brasil, das quais mais de 60 produzem frutos, que podem ser aproveitados direta ou indiretamente como alimento. O maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) é o mais cultivado no Brasil e destina-se predominantemente à produção de sucos. A produção brasileira de maracujá supera a de manga, goiaba e mamão papaia (SILVA e MERCADANTE, 2002).

O maracujá é utilizado na elaboração de vários produtos existentes no mercado, resultando na produção de grande quantidade de sementes e cascas, as quais representam mais da metade do peso total do fruto (Tabela 2).

Tabela 2 Composição do maracujá *in natura*

MARACUJÁ	Componente (%)
Casca	50,3
Suco	23,2
Sementes	26,2

Fonte: Ferrari, Colussi e Ayubi (2004).

A casca do maracujá é rica em aminoácidos, proteínas e carboidratos, contendo ainda 10 a 20 % de pectina de qualidade semelhante a da laranja. A pectina do maracujá é constituída de 76 a 78 % de ácido galacturônico, 9 % do grupo metoxila, um pouco de galactose e arabinose; tem propriedades geleificantes e pode ser comparada à pectina dos citros, sendo utilizada como ingrediente funcional na formulação de geléias e sobremesas (MANICA, 1981).

A Tabela 3 apresenta os resultados da composição centesimal da casca de maracujá amarelo obtidos por Martins, Guimarães e Pontes (1985) e Oliveira et al. (2002). As variações de seus constituintes são aceitáveis, pois dependem principalmente do estágio de maturação do fruto, tendo em vista que o amadurecimento leva a perda de umidade, o que acarreta na concentração dos demais constituintes, além de outros fatores, tais como local de plantio e as condições genéticas das plantas.

Tabela 3 Composição centesimal da casca do maracujá amarelo.

Constituintes	Casca de Maracujá ¹	Casca de Maracujá ²
Umidade (%)	89,08	78,73
Cinzas (%)	0,92	1,61
Lipídios (%)	0,70	0,51
Proteína (%N x 6,25)	1,07	2,28
Fibras (%)	n.r.	4,35
Carboidratos (%)	8,23	n.r.
Cálcio (mg Ca/100g)	n.r.	10,98
Ferro (mg Fe/100g)	n.r.	3,20
Fósforo (mg P ₂ O ₅ /100g)	n.r.	36,36

Fonte: ¹ Oliveira et al. (2002); ² Martins, Guimarães e Pontes (1985); n.r. = análise não realizada

Cascas e sementes de maracujá são utilizadas por produtores rurais na suplementação da alimentação animal, como ração para bovinos e aves, ainda sem muita informação técnica adequada. Como este volume representa inúmeras toneladas, agregar valor a estes resíduos é de interesse econômico, científico e tecnológico (FERRARI, COLUSSI e AYUB, 2004).

1.2 Pectinas

As pectinas são polissacarídeos estruturais encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares de plantas terrestres. São obtidas principalmente das cascas dos frutos cítricos e de maçãs (BELITZ e GROSCH, 1997; BRANDÃO e ANDRADE, 1999; PENNA, 2002).

As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular. Além do seu papel importante no crescimento das células, elas estão envolvidas em interações com agentes patogênicos e a sua quantidade e natureza são determinantes para a textura de frutos em geral durante o crescimento, amadurecimento, armazenamento e processamento (BRANDÃO e ANDRADE, 1999; MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005).

A combinação de pectina com a celulose e hemicelulose por ligações covalentes dá origem a protopectina, que é insolúvel em água, mas facilmente decomposta por soluções ácidas liberando a pectina (PENNA, 2002).

A estrutura química da pectina é constituída de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido D-galacturônico ligados covalentemente por ligações α -(1,4), onde os grupos carboxílicos podem ser metil esterificados em diferentes extensões (Figura 1). Essa cadeia principal pode ser interrompida por unidades de L-ramnose através de ligações α -(1,2), às quais estão ligadas cadeias laterais, formadas por açúcares neutros, principalmente unidades de galactose e arabinose (BRANDÃO e ANDRADE, 1999; LEVINE, RALET e THIBAUT, 2002; KJONIKSEN, HIORTH e NYSTRÖM, 2005; YAPO e KOFFI, 2006; YAPO et al., 2007).

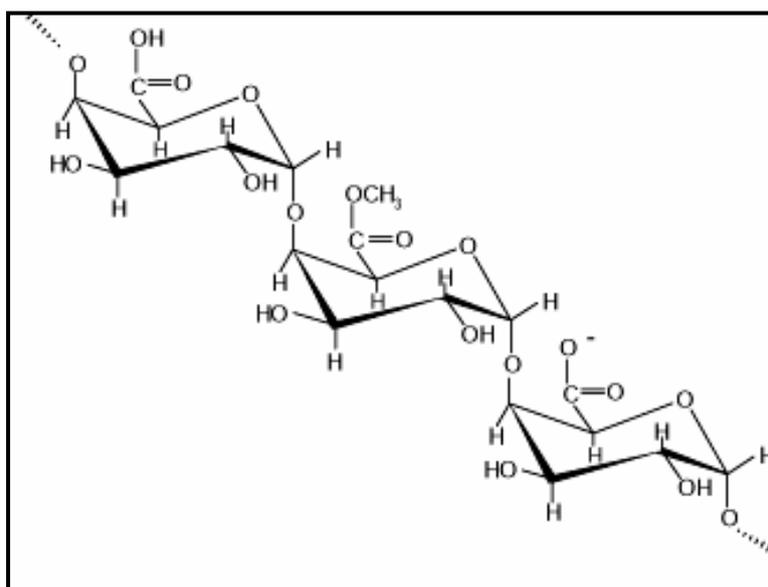


Figura 1 Estrutura química da cadeia de pectina.

Fonte: Brandão e Andrade (1999).

As pectinas são formadas por três principais frações (Figura 2A), a fração linear conhecida como homogalacturonana (HG) e as frações ramificadas conhecidas como ramnogalacturonana I (RG-I) e ramnogalacturonana II (RG-II) (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

As homogalacturonanas (HG) são polímeros constituídos por longas cadeias de unidades de ácido galacturônico em ligação α -(1,4), que podem estar parcialmente esterificadas, razão pela qual são mais resistentes à hidrólise. Unidades de ramnose podem ser encontradas ocasionalmente na homogalacturonana (BRETT e WALDRON, 1996; BUCHANAN, GRUISSEM e JONES, 2000; WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

A ramnogalacturonana I (RG-I) é o segundo polissacarídeo mais importante das pectinas. Sua cadeia consiste da repetição de unidades de dissacarídeos de ácido galacturônico e ramnose apresentando cadeias laterais formadas por diferentes açúcares, principalmente arabinanas e galactanas, ligados diretamente as unidades de ramnose, em C-4 (CARPITA e GIBAUT, 1993; BUCHANAN, GRUISSEM e JONES, 2000).

A ramnogalacturonana II (RG-II) é um polissacarídeo péptico complexo de baixa massa molar, formado por ácido galacturônico, ramnose, galactose e alguns açúcares raros como apiose, ácido acérico, Dha, Kdo, 2-O-Me-Fuc e 2-O-Me-Xyl (VIDAL et al., 2000; BUCHANAN, GRUISSEM e JONES, 2000; GULFI, ARRIGONI e AMADÒ, 2007).

Até pouco tempo acreditava-se que a estrutura principal da pectina era formada pelas homogalacturonanas, com ligações simples chamadas de “regiões lisas” (*smooth region*) e as ramnogalacturonanas com ramificações contendo vários açúcares, chamadas de “regiões em cabeleira” (*hairy region*), como mostrado na Figura 2A. Entretanto, uma estrutura alternativa foi proposta por alguns pesquisadores, na qual HG pode ser considerada como uma cadeia lateral da RG-I (Figura 2B), o que causou grande impacto nos estudos de estrutura fina das pectinas (VINCKEN et al., 2003; WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

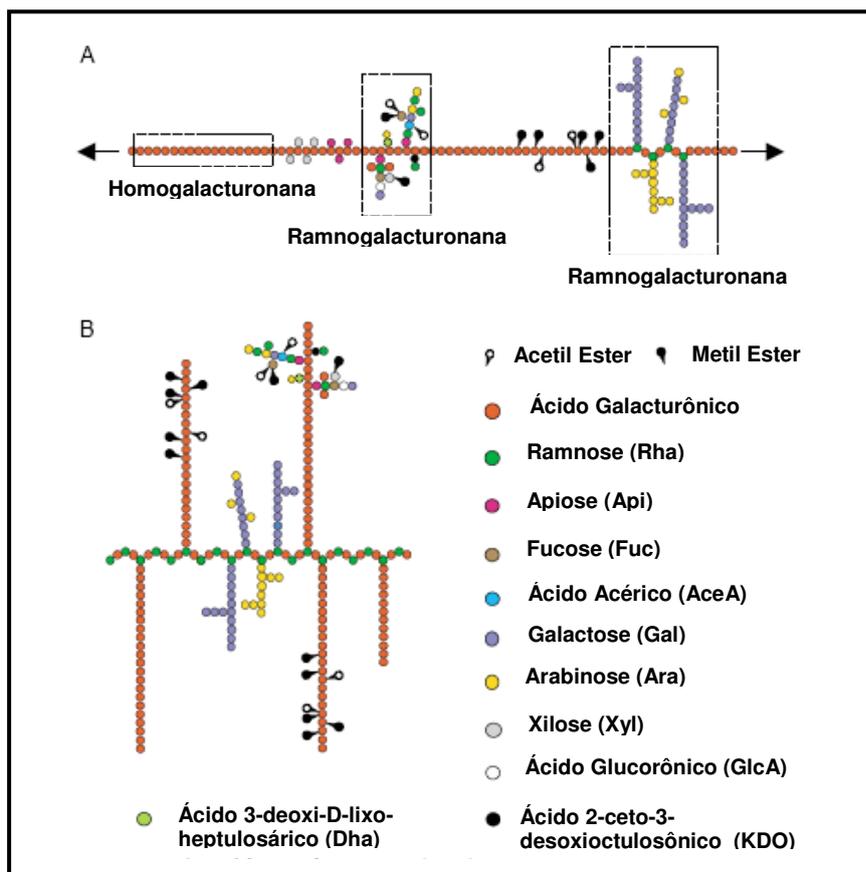


Figura 2 Representação esquemática da estrutura convencional (A) e da alternativa recentemente proposta (B) das pectinas.

Fonte: Willats, Knox e Mikkelsen (2006).

As pectinas são polímeros extremamente complexos e estruturalmente diversos. A estrutura fina das pectinas pode ser extremamente heterogênea entre as plantas, entre os tecidos e até mesmo em uma mesma parede celular. O tamanho das cadeias pode variar consideravelmente e a composição dos açúcares da RG-I pode ser altamente heterogênea. Em contraste, a RG-II possui estrutura altamente conservada (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006). Os açúcares neutros estão presentes como cadeias laterais em diferentes quantidades, dependendo da fonte de pectina e do método de extração utilizado (KJONIKSEN, HIORTH e NYSTRÖM, 2005).

1.2.1 Extração de Pectinas

Embora as cascas de cítricos e bagaço de maçã sejam as fontes tradicionais de obtenção da pectina comercial, existem estudos sobre extração de pectina de fontes alternativas, como de girassol, abóbora, beterraba, pêssego, tomate, entre outros (SHARMA, LIPTAY e MAGUER, 1998; SHKODINA et al., 1998; PAGÁN e IBARZ, 1999; LEVIGNE, RALET e THIBAUT, 2002; SAHARI, AKBARIAN e HAMED, 2003).

O processo de obtenção da pectina geralmente abrange: 1) extração aquosa do material da planta; 2) purificação do extrato líquido e 3) separação do extrato da pectina do líquido. A extração da pectina pode ser realizada por meio aquoso ácido, básico, ou com agentes quelantes ou por ação de enzimas. O processo de extração básica resulta em pectinas de baixo grau de esterificação, como resultado da saponificação dos grupos ésteres, enquanto que o processo de extração ácida geralmente resulta em pectinas de alto grau de esterificação, próximo do grau de esterificação de ocorrência natural (JOYE e LUZIO, 2000). De acordo com Buchanan, Grúissem e Jones (2000), as pectinas também podem ser extraídas da parede celular por agentes quelantes de cálcio, como oxalato de amônio e EDTA.

Normalmente as pectinas são extraídas com água acidificada com ácidos fosfórico, acético, sulfúrico, nítrico ou clorídrico em pH variando de 1 a 3 em temperatura entre 80 e 100°C. Diversos trabalhos têm reportado que fatores como temperatura, pH, tempo e tipo de ácido podem influenciar não somente o rendimento de pectina, mas também a estrutura química do produto final (PAGÁN et al., 2001; LEVIGNE et al., 2002).

De acordo com Mesbahi, Jamalian e Farahnaky (2005), períodos longos de aquecimento na extração da pectina em temperatura acima de 90 °C podem provocar a hidrólise e degradação da pectina, resultando em uma molécula de baixa massa molar. Artigos publicados recentemente recomendam o uso de ácido clorídrico (KALAPATHY e PROCTOR, 2001; LEVIGNE et al., 2002; IGLESIAS e LOZANO, 2004; MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005) e ácido nítrico (PAGÁN e IBARZ, 1999;

PAGÁN et al., 2001; LEVIGNE et al., 2002) como agentes extratores. A extração com estes ácidos apresenta algumas desvantagens, tais como poluição e corrosão. Além disso, os resíduos obtidos após a extração da pectina não são muito apropriados para alimentação humana, apesar de serem ricos em fibras dietéticas (RALET e THIBAUT, 1994).

Assim, muitos pesquisadores têm se preocupado em identificar condições ideais de extração com ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, para a obtenção de uma pectina de alta qualidade, beneficiando a indústria de alimentos sob o ponto de vista econômico e ambiental. Virk e Sogi (2004) compararam a extração de pectina de maçã com ácido cítrico e ácido clorídrico. O melhor rendimento de pectina extraída a partir da casca da maçã foi obtido com solução de ácido cítrico 1 %, apresentando um rendimento de 78 % de pectina. Entretanto, a pectina obtida nestas condições de extração apresentou baixo grau de esterificação (33,44 %) e grau de acetilação de 0,68 %.

Canteri-Schemin et al. (2005) extraíram e caracterizaram pectina de bagaço de maçã e otimizaram o processo para uma rotina de laboratório. Com modelagem matemática definiram que o melhor rendimento (17,82 g %, base peso seco) foi obtido com ácido cítrico na concentração de 6,2 % (p/v) a 100 °C por 153 minutos e a pectina obtida apresentou grau de esterificação de aproximadamente 68,84 %. Marcon (2004) obteve resultado semelhante, com um rendimento de 16,8 % (p/p) quando extraiu pectina com 5 % (p/v) de ácido cítrico a 100°C durante 80 minutos.

Poucos estudos relatam sobre as fibras dos resíduos industriais do processamento do maracujá. Considerando que a casca do maracujá é um abundante resíduo agroindustrial e tendo em vista suas propriedades químicas favoráveis, o maracujá torna-se uma nova fonte alternativa para extração de pectina.

Chau e Huang (2004) caracterizaram as sementes do maracujá como fontes de fibras alimentares, consistindo principalmente de celulose, substâncias pécicas e hemicelulose. D'Addosio et al. (2005) extraíram e caracterizaram a pectina da casca do maracujá amarelo em diferentes estágios de maturação. As extrações foram realizadas com ácido clorídrico, fosfórico e uma mistura dos dois ácidos. A pectina de melhor

qualidade, ou seja, maior grau de esterificação e teor de ácido galacturônico, foi obtida quando ácido clorídrico foi utilizado como agente extrator.

Kliemann (2006) extraiu e caracterizou a pectina da farinha da casca do maracujá amarelo com e sem flavedo. Foram realizadas extrações com ácidos cítrico, clorídrico e nítrico e foi observado que o rendimento e as características da pectina extraída variaram dependendo das condições de extração. O melhor rendimento (70 %, base peso seco) foi obtido com ácido cítrico, nas condições de extração de 90 °C, pH 1,2 por 10 min, não havendo diferença estatística entre as amostras com e sem flavedo. Entretanto, estas condições de extração afetaram a estrutura química da pectina e por conseqüência, a pectina extraída apresentou baixo grau de esterificação. Resultados similares foram obtidos por Yapo e Koffi (2006), que fracionaram as substâncias pecticas da casca de maracujá amarelo com água, oxalato de amônia e soluções diluídas de ácido nítrico. Estes pesquisadores extraíram pectina com alto teor de ácido galacturônico e com baixo grau de esterificação.

1.2.2 Propriedades funcionais das pectinas

A propriedade mais conhecida das pectinas é a capacidade de formação de gel na presença de íons, açúcares e ácidos. A geleificação ocorre devido à desidratação parcial da molécula de pectina a um grau intermediário entre a solução e a precipitação (MAY, 1990). As características físicas do gel são conseqüências da formação de contínuas redes tridimensionais com ligações cruzadas entre as moléculas (THAKUR, SINGH e HANDA, 1997). As características químicas das pectinas que influenciam a força do gel são: grau de esterificação, massa molar, composição monossacarídica, acetilação, grau de amidação e conteúdo de cinzas (PAGÁN et al., 2001; SAHARI, AKBARIAN e HAMED, 2003).

O grau de esterificação, que é usado como critério de classificação das pectinas, é a medida da proporção dos grupos de ácido galacturônico metilados em relação ao total de grupos de ácido galacturônico presentes na molécula de pectina (BOCHECK et al., 2001; PENNA, 2002, MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005). As pectinas são comercialmente classificadas em pectinas de alto grau de esterificação,

quando contém acima de 50 % dos seus grupos carboxílicos esterificados e de baixo grau de esterificação, quando somente 50 % ou menos estão esterificados. Pectinas com teor de grupos metoxílicos superior a 70 % são chamadas de pectinas rápidas, por geleificarem a temperatura mais alta, sendo termo-reversíveis (BOBBIO e BOBBIO, 1995; BRANDÃO e ANDRADE, 1999; PENNA, 2002). O mecanismo de geleificação da pectina depende do grau de esterificação. Pectinas de alto DE formarão gel em pH próximo a 3,6 e na presença de co-solutos, açúcares em concentração maior que 65 %. A função do açúcar na formação de géis de pectinas de alto DE é de estabilizar as “zonas de junção”, promovendo interações hidrofóbicas entre os grupos metil esterificados (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006). Nas pectinas de baixo grau de esterificação, as “zonas de junção” são formadas por ligações de íons cálcio com os grupos carboxílicos livres (BUCHANAN, GRUISSEM e JONES, 2000).

Pectinas de baixo grau de esterificação, que requerem controle da quantidade de íons cálcio para formar géis, podem ser utilizadas como agente geleificante em produtos com baixo teor de açúcares, como geléias e gelatinas *light* (IGLESIAS e LOZANO, 2004). Os géis resultantes são termo-reversíveis, mais macios e mais elásticos do que os obtidos de pectinas de alto grau de esterificação ou agar (BELITZ e GROSCH, 1997; PENNA, 2002). Alguns autores ressaltam que pectinas de baixo grau de esterificação possuem limitadas aplicações como agentes geleificantes (ARSALAN, 1995; MICHEL; THIBAUT e MERCIER, 1985; PHATAK; CHANG e BROWN, 1988; ROMBOUTS e THIBAUT, 1986).

Pectinas de alto grau de esterificação são consideradas mais importantes e são amplamente usadas como agentes geleificantes na produção de geléias, marmeladas, estabilizantes de bebidas e sorvetes e produtos de confeitaria. A presença de cadeias laterais, principalmente com unidades de arabinose e galactose, afeta significativamente as propriedades funcionais das pectinas, tais como solubilidade, geleificação, formação de filme e propriedades reológicas, além de favorecer a agregação em soluções concentradas (BRANDÃO e ANDRADE, 1999).

A seleção de uma pectina apropriada é dependente da temperatura de geleificação, da textura e do processamento. Por exemplo, para um gel tradicional com partículas de frutas suspensas torna-se necessária uma rápida geleificação, tendo-se que

utilizar uma pectina de alto grau de esterificação. Para gomas ou geléias com baixo valor calórico ou sem açúcar, entretanto, são indicadas as pectinas de baixo grau de esterificação. Estas pectinas podem ser utilizadas em conjunto com outros hidrocolóides, sendo capazes de promover o gel com a consistência desejada para cada tipo de produto (MOORHOUSE, 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARSALAN, N. Extraction of pectin from sugar beet pulp and intrinsic viscosity–molecular weight relationship of pectin solutions. **Journal of Food Science and Technology Mysore**, v. 32, n. 5, p. 381–385, 1995.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. 2ª ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 1134 p.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Varela, 1995. 151 p.

BOCHEK, A.M.; ZABIVALOVA, N.M.; PETROPAVLOVSKII, G.A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 796-799, 2001.

BRANDÃO, E.M.; ANDRADE, C.T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v.9, n.3, p. 38-44, 1999.

BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls**. 2ª ed. Cambridge: Chapman & Hall Books, 1996. 255 p.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.1408 p.

CANTERI-SCHEMIN, M.H., FERTONANI, H.C.R., WASZCZYNSKYJ, N., WOSIACKI, G. Extraction of pectin from Apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 2, p. 259-266, 2005.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-30, 1993.

CHAU, C.F.; HUANG, Y.L. Characterization of passion fruit seed fibres: a potential fibre source. **Food Chemistry**, v. 85, p. 189-194, 2004.

D'ADDOSIO, R.; PÁEZ, G.; MARÍN, M.; MÁRMOL, Z., FERRER J. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis* f. flavicarpa Degener). **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 22, p. 240-249, 2005.

FERRARI, R.A.; COLUSSI, F; AYUB, R.A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá – aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 101-102, 2004.

GULFI, M.; ARRIGONI, E.; AMADÒ, R. *In vitro* fermentability of pectin fraction rich in hairy regions. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 3, p. 410-416, 2007.

IGLESIAS, M.T.; LOZANO, J.E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**. v. 62, p. 215-223, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal Anual, 2005.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?z=t&o=1&i=P>. Acesso em: 16 abr., 2007.

JARVIS, M.C. A survey of pectin content of no lignificad monoct cell walls. **Plant Physiology**, v. 88, p.309-314, 1988.

KALAPATHY, U., PROCTOR, A. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on yield and purity of soy hull pectin. **Food Chemistry**, v.73, n.4, p.393-396, 2001.

KJONIKSEN, A.L., HIORTH, M.; NYSTROM, B. Association under shear flow in aqueous solutions of pectin. **European Polymer Journal**, v.41, p. 761-771, 2005.

KLIEMANN, E. **Extração e Caracterização da Pectina da Casca do Maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*)**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2006.

LÉVIGNE, S.; RALET, M.C.; THIBAUT, J.F. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using a experimental design. **Carbohydrate Polymers**, v. 19, p. 145-153, 2002.

LÉVIGNE, S.; THOMAS, M.; RALET, M.C.; QUEMENER, B.; THIBAUT, J.F. Determiation of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 547-550, 2002.

MANICA, I. **Fruticultura tropical 1 : Maracujá**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 151 p.

MARCON, M.V. **Extração e caracterização de pectinas obtidas de farinha do bagoço de maçã**. 2004. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2004.

MARTINS, C.B.; GUIMARÃES, A.C.L.; PONTES, M.A.N. **Estudo tecnológico e caracterização física, físico-química do maracujá (*Passiflora edulis F. Flavicarpa*) e seus subprodutos**. Fortaleza: Centro de Ciências Agrárias, n.4, 1985. 23 p.

MAY, C.D. Industrial pectins: sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, p. 79-99, 1990.

MESBAHI, G.; JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in foods systems. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 731-738, 2005.

MICHEL, F.; THIBAUT, J.F.; MERCIER, C. Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1499–1502, 1985.

MOORHOUSE, R. Ubiquitous hydrocolloid. **The World of Food Ingredients**, p. 24-30, Set., 2004.

OLIVEIRA, L.F.; NASCIMENTO, M.R.F.; BORGES, S.V.; RIBEIRO, P.C.N.; RUBACK, V.R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 259-262, 2002.

PAGÁN, J.; IBARZ, A.; LLORCA, M.; PAGÁN, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, v. 34, p. 605-612, 2001.

PAGÁN, J., IBARZ, A. Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 39, p. 193-201, 1999.

PHATAK, L.; CHANG, K.C.; BROWN, G. Isolation and characterization of pectins from sugar beet pulp. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 3, p. 830-833, 1988.

PENNA, A. L. B. Hidrocolóides: usos em alimentos. **Food Ingredients**, v. 17, p. 58-64, 2002.

RALET, M.C.; THIBAUT, J.F. Extraction and characterisation of very highly methylated pectins from lemon cells walls. **Carbohydrate Research**, v. 260, p. 283-296, 1994.

ROMBOUTS, F.M.; THIBAUT, J.F. Feruloylated pectin substances from sugar beet pulp. **Carbohydrate Research**, v. 154, p. 177-188, 1986.

SAHARI, M.A.; AKBARIAN, A.M.; HAMED, M. Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. **Food Chemistry**, v. 83, p. 43-47, 2003.

SHARMA, S.K., LIPTAY, A., MAGUER, M. Molecular characterization, physico-chemical and functional properties of tomato fruit pectin. **Food Research International**, v. 30, n. 07, p. 543-547, 1998.

SHKODINA, O.G, ZELTSER, O.A, SELIVANOV, N.Y, IGNATOV, V.V. Enzymic extraction of pectin preparations from pumpkin. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 313-316, 1998.

SILVA, S.R.; MERCADANTE, A.Z. Composição de carotenóides de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, 254-258, 2002.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.V. Chemistry and uses of pectin – A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 47-73, 1997.

VIDAL, S.; DOCO, T.; WILLIAMS, P.; PELLERIN, P.; YORK, W.S.; O'NEIL, M.A. Structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II:

evidence for the backbone location of the aceric acid-containing oligoglycosyl side chain. **Carbohydrate Research**, v. 326, p. 277 - 294, 2000.

VINCKEN, J.P.; SCHOLS, H.A.; OOMEN, R.J.; McCANN, M.C.; ULVSKOV, P.; VORAGEN, A.G. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, v. 132, n. 4, p. 1781-1789, 2003.

VIRK, B.S.; SOGI, D.S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace (*Malus Pumila* Cv Amri) peel waste. **International Journal of Food Properties**, v.7, n. 03, p.1-11, 2004.

WILLATS, W.G.T.; KNOX, J.P.; MIKKELSEN, J.D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

YAPO, B.M.; KOFFI, K.L. Yellow passion fruit rind – a potencial source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

YAPO, B. M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1356-1364, 2007.

CAPÍTULO 2

OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE PECTINA DE ALTO GRAU DE ESTERIFICAÇÃO DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora edulis flavicarpa*) COM ÁCIDO CÍTRICO UTILIZANDO METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.

Parte deste trabalho foi apresentada na forma de resumo expandido na *58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Científica – SBPC*, Florianópolis - SC, 2006 (ANEXO A).

Parte deste trabalho foi apresentada na forma de resumo no *XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – CBCTA*, Curitiba - PR, outubro de 2006 (ANEXO B).

Artigo submetido à publicação na revista *Bioresource Technology* (Anexo C).

RESUMO

O planejamento composto central foi utilizado para otimizar as condições de extração de pectina de alto grau de esterificação da casca de maracujá amarelo com ácido cítrico. As variáveis independentes envolvidas na otimização foram: concentração de ácido cítrico (0,086 – 2,91 %) e tempo de extração (17 – 102 min). O efeito da combinação destas variáveis sobre o grau de esterificação foi investigado. Os modelos de regressão explicaram adequadamente a variação dos dados ($R^2 = 0,99$) e representaram significativamente a relação entre as variáveis independentes e a resposta (grau de esterificação). Os resultados mostraram que a variável concentração de ácido cítrico foi o principal fator que afetou o grau de esterificação, sendo que menores concentrações de ácido cítrico resultaram em frações com maior grau de esterificação. Através da superfície de resposta foi estabelecida a condição satisfatória para extração de pectina de alto grau de esterificação, com concentração de ácido cítrico de 0,086 % e tempo de extração de 60 minutos.

Palavras-chave: Extração da pectina, casca do maracujá, grau de esterificação, metodologia de superfície de resposta, Planejamento Composto Central.

ABSTRACT

A central composite design was employed to optimize the extraction of high ester pectin from passion fruit peel with citric acid. The independent variables were citric acid concentration (0.086-2.91 %) and extraction time (17–102 min). The combined effect of these variables on the degree of esterification was investigated. Results showed that the generated regression models adequately explained the data variation and significantly represented the actual relationship between the independent variables and the response (degree of esterification). The results showed that citric acid concentration was the most important factor to affect the degree of esterification. Lower citric acid concentration increased the degree of esterification. Through the response surface, the satisfactory condition of 0.086 % citric acid for 60 min was established for extraction of high-ester yellow passion fruit pectin.

Keywords: Pectin extraction; Passion fruit peel; Degree of esterification; Response Surface Methodology; Central Composite Design.

1 INTRODUÇÃO

O maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) é o mais cultivado no Brasil e se destina predominantemente à produção de sucos, gerando grande quantidade de sementes e cascas, as quais representam mais da metade do peso total do fruto.

A pectina, um dos principais constituintes estruturais da parede celular do maracujá, é conhecida por suas inúmeras propriedades, que permitem seu uso como agente geleificante, espessante e estabilizante (SHKODINA et al., 1998).

As pectinas pertencem a um grupo de polímeros extremamente complexos e de diferentes estruturas, compostos por unidades de ácido galacturônico unidas por ligações glicosídicas α -(1,4), com um número variável de grupos metil esterificados. Contudo, podem conter também unidades de ramnose com ramificações de arabinanas e galactanas, variando suas estruturas finas consideravelmente (SINGTHONG et al., 2004; LIU, SHI e LANGRISH, 2006).

Alguns grupos carboxílicos das unidades de ácido galacturônico nas cadeias de pectina são metil esterificados e o percentual de grupos esterificados é expresso como grau de esterificação (DE). Dependendo do grau de esterificação, as pectinas são divididas em dois grandes grupos: pectina de alto grau de esterificação com DE maior que 50 % e de baixo grau de esterificação com DE menor que 50 % (THAKUR, SINGH e HANDA, 1997). Nas pectinas de alto grau de esterificação as “zonas de junção” são formadas por ligações cruzadas de homogalacturanana (HG) por ligações de hidrogênio e forças hidrofóbicas entre os grupos metoxílicos, ambos promovidos pela alta concentração de açúcares e baixo pH. Nas pectinas de baixo grau de esterificação as “zonas de junção” são formadas por ligações cruzadas com cálcio entre os grupos carboxílicos livres (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

O processo de extração é a operação mais importante para obter a pectina do tecido vegetal (PAGÁN e IBARZ, 1999), podendo ser realizada por método químico ou enzimático. É um processo de múltiplos estágios físico-químicos, nos quais a hidrólise e extração de macromoléculas do tecido vegetal e sua solubilização sofrem influência de diversos fatores, como temperatura, pH e tempo de extração (PAGÁN et al., 2001).

Geralmente, as pectinas são extraídas das cascas de frutas cítricas e de maçã com ácidos minerais fortes, o que pode apresentar inúmeras desvantagens, como poluição ambiental, corrosão e degradação da pectina extraída.

O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições de extração de pectina da casca de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) com ácido cítrico, visando obter pectina de alto grau de esterificação, através da metodologia de superfície de resposta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de maracujá (*Passiflora edulis* flavicarpa) foram adquiridos na Central de Abastecimento de Santa Catarina (CEASA), São José, SC, Brasil, durante os meses de março a maio de 2005. As frutas foram selecionadas de acordo com o estágio de maturação e similaridade na cor das cascas. Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

2.1 Preparo e análises químicas da farinha da casca do maracujá

Os maracujás foram lavados e higienizados. O flavedo e a polpa foram removidos e as cascas foram cortadas em pequenos pedaços, branqueadas para inativações enzimáticas e secas em estufa de circulação de ar forçada (modelo 171, FABBE, São Paulo, Brasil) a 55 °C até peso constante. As cascas secas foram trituradas até obtenção de uma farinha fina, denominada de 'farinha da casca do maracujá', que foi utilizada como matéria-prima para todos os ensaios relacionados à extração e caracterização da pectina. Esta farinha foi embalada em sacos de polietileno à vácuo e armazenada em freezer (-18 ± 2 °C).

A farinha da casca do maracujá foi analisada, em triplicata, quanto aos conteúdos de umidade, lipídios, proteína (N x 6,25), cinzas (AOAC, 1998) e fibras alimentares solúveis e insolúveis (AACC, 1999). Os carboidratos totais foram calculados por diferença (AOAC, 2005).

2.2 Extração da Pectina

O processo de extração foi realizado de acordo com a metodologia de Canteri-Schemin et al. (2005) com pequenas modificações. A pectina foi extraída com diferentes concentrações de ácido cítrico e tempos de extração, sob refluxo em sistema de condensação a 97 °C (soluto/solvente 1:50). O extrato ácido quente foi pressionado em tecido fino e o filtrado foi resfriado a 4 °C. Este filtrado (contendo a pectina) foi centrifugado por 30 minutos a 6000 rpm e o sobrenadante separado. O sobrenadante foi adicionado de etanol (1:2 v/v) e esta mistura foi agitada por 10 minutos e deixada em repouso por uma hora para permitir a precipitação da pectina. A pectina precipitada foi separada por filtração, lavada com etanol absoluto e seca em estufa de circulação de ar forçada a 45 °C por 12 horas. O material resultante foi triturado até granulometria de 60 mesh.

2.3 Determinação do grau de esterificação

O grau de esterificação (DE) das amostras de pectinas foi determinado pelo método de titulação potenciométrica de acordo com Boчек, Zabilova e Petropavlovskii (2001). A pectina seca (0,2 g) foi colocada em um copo de Becker e umedecida com etanol 95 %. Água destilada aquecida a 40°C (20 mL) foi adicionada e o polímero foi dissolvido com agitação por 2 horas. A solução resultante foi titulada com NaOH 0,1 N na presença de fenolftaleína e o resultado foi anotado como titulação inicial (T_i). Depois, adicionou-se 10 mL da solução de NaOH 0,1 N à amostra neutralizada de ácido galacturônico e agitou-se esta solução por mais 2 horas para saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. 10 mL de HCl 0,1 N foi adicionado. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,1 N. O número de grupos carboxílicos esterificados foi calculado a partir do volume de NaOH 0,1 N gasto na titulação final (T_f). O grau de esterificação foi calculado usando a equação 1:

$$\% \text{ DE} = \left[\frac{T_f}{T_i + T_f} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde, T_i : total mL de NaOH usado na titulação inicial; T_f : total mL de NaOH usado na titulação final.

2.4 Planejamento experimental e análise estatística

A metodologia de superfície de resposta (RSM) foi utilizada para determinar a condição ótima para a extração de pectina de alto grau de esterificação da farinha da casca do maracujá. O planejamento composto central (CCD) com duas variáveis independentes foi empregado (BOX e WILSON, 1951; TEÓFILO e FERREIRA, 2006). As variáveis utilizadas foram: concentração de ácido cítrico (Citr.) e tempo de extração (Et.). Os valores mínimo, máximo e médio para concentração de ácido cítrico foram 0,086 %; 2,91 % e 1,5 %, respectivamente e para o efeito do tempo de extração foram 17, 102 e 60 minutos, respectivamente. A escolha dos níveis foi baseada em estudos prévios (dados não publicados). O planejamento completo consistiu de 13 experimentos, incluindo quatro fatoriais (níveis -1 e +1), quatro axiais (níveis $\pm\alpha$) e cinco replicatas no ponto central (Tabela 1). Os experimentos no ponto central do planejamento foram realizados para se estimar o erro puro. Todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória para minimizar o efeito de variações inexplicáveis das respostas, devido a erros sistemáticos. A função resposta (y) medida foi o grau de esterificação (DE) da pectina extraída.

Tabela 1 Níveis codificados das duas variáveis empregadas para extração de pectina no planejamento composto central.

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha^*$	-1	0	+1	$+\alpha^*$
Concentração de ácido cítrico (%)	0,086	0,5	1,5	2,5	2,914
Tempo de extração (min.)	17,58	30	60	90	102,42

* $\alpha = \pm 1,414$ para $k = 2$ (duas variáveis independentes).

Os coeficientes de regressão para termos lineares, quadráticos e interação foram determinados por regressão linear múltipla (MLR). A significância de cada coeficiente de regressão foi avaliada estatisticamente pelo valor-t a partir do erro puro obtido das replicatas no ponto central. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para validar o modelo. Os coeficientes de regressão foram utilizados para gerar as superfícies de resposta. Todos os cálculos e gráficos foram obtidos por planilhas eletrônicas do Microsoft[®] Excel 2003 de acordo com Teófilo e Ferreira (2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química da farinha da casca do maracujá

A composição química da farinha da casca do maracujá está apresentada na Tabela 2. Baixos teores de lipídios e altos teores de cinzas, fibras solúveis e fibras insolúveis foram encontrados na farinha da casca do maracujá, estando de acordo com os dados previamente publicados para outras farinhas de frutas (PAGÁN e IBARZ, 1999; VIRK e SOGI, 2004), Este subproduto tem provado ser uma boa fonte de fibras, podendo ser utilizado como matéria-prima para a extração de pectina.

Tabela 2 Composição química da farinha da casca do maracujá amarelo (base seca).

Componentes (%)	Farinha da casca do maracujá amarelo*
Umidade	9,93 ± 0,12
Cinzas	7,52 ± 0,02
Proteína	4,05 ± 0,61
Lipídio	Menor que 0,10
Fibra dietética total	57,36 ± 0,02
Fibra solúvel	19,20 ± 0,02
Fibra insolúvel	38,16 ± 0,02
Carboidratos	21,28 ± 0,44

* Média ± Desvio-padrão (n=3)

3.2 Planejamento experimental

Os valores experimentais de grau de esterificação obtidos nos pontos do planejamento composto central estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Resultados do grau de esterificação da pectina da casca do maracujá amarelo baseados na concentração de ácido cítrico e tempo de extração.

Ordem Exp.	Variáveis		Resposta
	Citr. (%)	Et. (min)	DE (%)
12	1,5	60,0	47,62
9	1,5	60,0	46,51
11	1,5	60,0	49,71
4	2,5	90,0	27,52
13	1,5	60,0	49,13
1	0,5	30,0	67,04
8	1,5	102,4	44,31
7	1,5	17,6	46,27
10	1,5	60,0	50,00
6	2,9	60,0	27,69
2	2,5	30,0	40,70
5	0,086	60,0	78,59
3	0,5	90,0	69,44

Citr., concentração de ácido cítrico; Et., tempo de extração; DE, grau de esterificação.

Os coeficientes de regressão múltipla estão apresentados na Tabela 4. Dos resultados apresentados nesta tabela, somente o coeficiente quadrático da variável tempo de extração não foi significativo no teste t-Student em nível de significância de 0,05. A variável concentração de ácido cítrico (Citr.) foi a variável de maior importância neste sistema. Os resultados mostraram que menores concentrações de ácido cítrico, nos níveis estudados, contribuem para maior percentual de grau de esterificação. A interação Citr. x Et. foi o segundo coeficiente mais importante deste modelo. Estes resultados sugerem a grande influência da concentração de ácido cítrico (dentro dos níveis estudados), devido ao alto grau de esterificação obtido com baixas concentrações de ácido cítrico e longos tempos de extração. Contudo, com alta concentração de ácido cítrico, é necessário menor tempo de extração para obter um alto grau de esterificação.

Tabela 4 Coeficientes de regressão, Erro padrão e valores p para o modelo de extração ácida da pectina da casca do maracujá amarelo.

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t	p
Média	48,59*	0,66	73,25	2,08E-07
$b_{\text{Cit.}}$	-17,53*	0,52	-33,43	5,00E-06
$b_{\text{Et.}}$	-1,69*	0,52	-3,23	3,20E-02
$b^2_{\text{Cit.}}$	2,76*	0,56	4,91	7,97E-03
$b^2_{\text{Et.}}$	-1,16	0,56	-2,07	1,08E-01
$b_{\text{Cit.}} \times b_{\text{Et.}}$	-3,90*	0,74	-5,25	6,29E-03

*Efeitos significativos. Nível de significância para o teste-t: 0,05, Graus de liberdade: 4.
Cit., concentração de ácido cítrico; Et., tempo de extração.

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos da análise de variância (ANOVA). A regressão foi significativa, mas a falta de ajuste não foi significativa e o erro puro foi baixo. Devido à alta precisão do grau de esterificação experimental, o erro puro foi pequeno e o erro padrão foi calculado a partir da média quadrática dos resíduos. O teste t-Student foi realizado com 12 graus de liberdade e nível de significância de 0,05.

Tabela 5 Análise de variância (ANOVA) para o modelo de regressão.

Variação	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média Quadrática	F	p
Regressão*	2611,60	5	522,32	138,9	7,61E-07
Resíduo	26,32	7	3,76		
Falta de ajuste	17,52	3	5,84	2,6	0,18
Erro puro	8,80	4	2,20		
Total	2637,90	12			

*Coeficientes significativos

Uma indicação gráfica da qualidade do modelo pode ser visualizada nas Figuras 1A e 1B. A Figura 1A mostra a relação linear entre os valores calculados através do modelo de regressão e os valores observados experimentalmente do grau de esterificação da pectina, com coeficiente de determinação, R^2 , de 0,99. O gráfico dos resíduos versus valores observados experimentalmente de grau de esterificação (Figura 1B) mostra que as considerações de normalidade, independência e aleatoriedade dos resíduos foram satisfeitas.

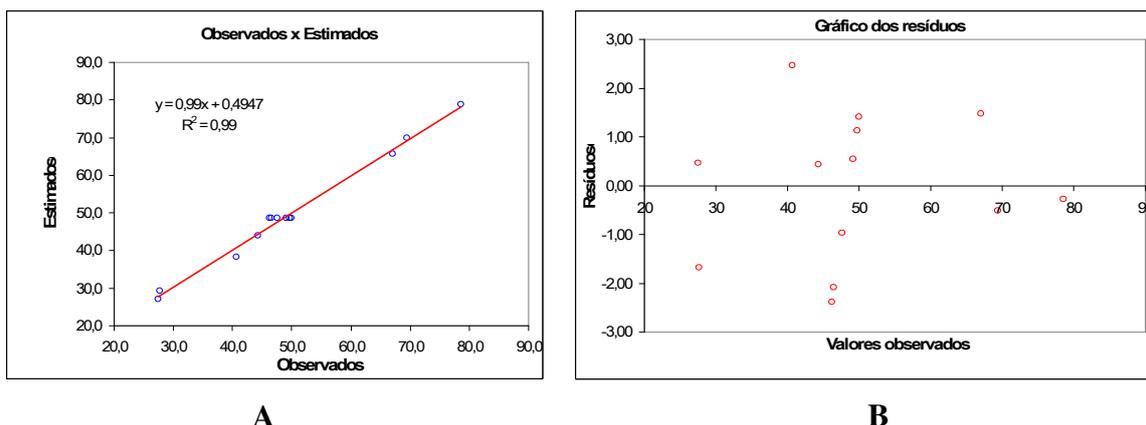


Figura 1 (A) Gráfico do grau de esterificação predito vs. observado das amostras de pectina extraída da casca do maracujá. **(B)** Gráfico dos resíduos vs. grau de esterificação observado de amostras de pectina.

O modelo construído para o grau de esterificação está demonstrado na equação 2 e a Figura 2 mostra a superfície de resposta elaborada para este modelo de regressão.

$$DE (\%) = 48,589 - 17,56 \text{ Citr.} - 1,698 \text{ Et.} + 2,7809 \text{ Citr.}^2 - 3,895 \text{ Citr. Et.} \quad (\text{Equação 2})$$

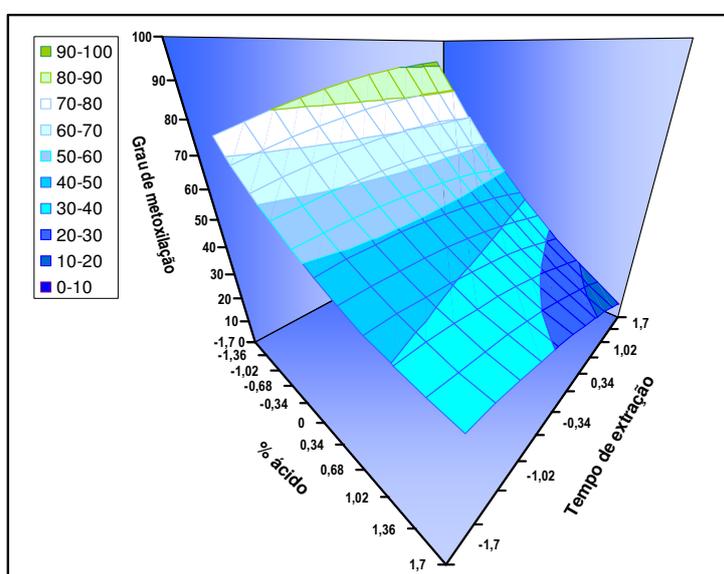


Figura 2 Superfície de resposta mostrando o efeito da concentração de ácido cítrico e tempo de extração sobre o grau de esterificação da pectina extraída da casca do maracujá.

A superfície de resposta mostra que um aumento no grau de esterificação da pectina é obtido quando a variável concentração de ácido cítrico e a variável tempo de extração são usadas nos níveis -1,414 (0,086 %) e 0 (60 min), respectivamente. Nesta condição satisfatória, o grau de esterificação calculado pelo modelo adequado deve ser de 78,59 %.

Comparado com dados da literatura, o grau de esterificação obtido para a pectina da casca do maracujá amarelo está de acordo com os encontrados por Corona et al. (1996) (71,6 %), Matsumoto e Otagaki (1990) (73,2 %) e D'Addosio et al. (2005) (69,7 %), que utilizaram ácido clorídrico como agente extrator, sob diferentes condições de extração. Canteri-Schemin et al. (2005) também obtiveram pectina com alto grau de esterificação (68,8 %) a partir do bagaço de maçã utilizando ácido cítrico como extrator.

Estes resultados demonstram o sucesso da extração de pectina da casca do maracujá com ácido cítrico, fornecendo potenciais benefícios para extração industrial de pectina, tanto do ponto de vista econômico como ambiental.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos do planejamento composto central indicam que as variáveis independentes, concentração de ácido cítrico e tempo de extração, podem ser consideradas estatisticamente significativas com o objetivo de aumentar o grau de esterificação da pectina da casca do maracujá amarelo. O modelo matemático evidenciou a variável concentração de ácido cítrico como o fator mais importante seguido da interação entre as variáveis independentes. Através da metodologia de superfície de resposta foi obtida uma fração de pectinas de alto grau de esterificação na condição satisfatória de 0,086 % de ácido cítrico com tempo de extração de 60 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS – AACC. **Approved methods**. 9 ed. St. Paul, Minnesota, 1999. 1345p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18th ed. Gaithersburg, M.D, USA, 2005.

BOCHEK, A.M., ZABIVALOVA, N.M., PETROPAVLOVSKII, G.A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 75, p. 796-799, 2001.

BOX, G.E.P., WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimal conditions. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v.13, p. 1-45, 1951.

CANTERI-SCHEMIN, M.H., FERTONANI, H.C.R., WASZCZYNSKYJ, N., WOSIACKI, G. Extraction of pectin from Apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 259-266, 2005.

CORONA, M., DÍAZ, A., PÁEZ, G., FERRER, J., MÁRMOL, Z., RAMONES, E. Extracción y caracterización de pectina de la corteza de parchita. **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 13, p. 785-791, 1996.

D'ADDOSIO, R., PÁEZ, G., MARÍN, M., MÁRMOL, Z., FERRER J. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis* f. flavicarpa Degener). **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 22, p. 240-249, 2005.

LIU, Y.; SHI, J.; LANGRISH, T.A.G. Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. **Chemical Engineering Journal**, v.120, p. 203-209, 2006.

MATSUMOTO, L.; OTAGAKI, M. Pectin content in dried peel of passion fruit. **Journal of Food Science**, v. 18, p. 132-137, 1990.

PAGÁN, J.; IBARZ, A. Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 39, p.193-201, 1999.

PAGÁN, J.; IBARZ, A.; LLORCA, M.; PAGÁN, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, v. 34, p. 605-612, 2001.

SHINGTHONG, J.; CUI, S.W.; NINGSANOND, S.; GOFF, H.D. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 391-400, 2004.

SHKODINA, O.G, ZELTSER, O.A, SELIVANOV, N.Y, IGNATOV, V.V. Enzymic extraction of pectin preparations from pumpkin. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 313-316, 1998.

TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin – a reviews. **Critical Reviews of Food Science and Nutrition**, v. 37, p. 47-73, 1997.

VIRK, B.S.; SOGI, D.S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace (*Malus Pumila* Cv Amri) peel waste. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 1-11, 2004.

WILLATS, W.G.T.; KNOX, J.P.; MIKKELSEN, J.D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

CAPÍTULO 3

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PECTINA DA CASCA DO MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora edulis flavicarpa*).

Parte deste trabalho foi apresentada na forma de resumo expandido na *58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Científica – SBPC*, Florianópolis - SC, 2006 (ANEXO A).

Parte deste trabalho foi apresentada na forma de resumo no *XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – CBCTA*, Curitiba - PR, outubro de 2006 (ANEXO B).

RESUMO

O Planejamento Composto Central foi utilizado para otimizar a extração da pectina da casca do maracujá com ácido cítrico. A pectina extraída na condição otimizada (HEP) foi caracterizada físico-quimicamente e comparada à pectina cítrica comercial (HMP). Os resultados mostraram que a HEP possui alto grau de esterificação (78,59 %) e baixo valor acetil (0,30 %), consistindo principalmente de ácido galacturônico e alguns açúcares neutros. Na análise da homogeneidade, as duas pectinas (HEP e HMP) mostraram-se heterogêneas. A HEP apresentou massa molar de $1,16 \times 10^5 \text{ g.Mol}^{-1}$ e viscosidade intrínseca de $2,54 \text{ dL.g}^{-1}$. O perfil de textura obtido demonstrou grande diferença entre as amostras, sendo que a HEP apresentou gel mais firme que HMP e em ambas as amostras, os parâmetros estudados apresentaram diferenças significativas entre as concentrações. A análise de cor demonstrou diferença ($\Delta E^* = 1,48$) entre a HEP e a HMP podendo ser relacionada à matéria-prima inicial. As propriedades físico-químicas da pectina extraída na condição otimizada foram similares às encontradas na pectina cítrica comercial, indicando a possibilidade da sua utilização como agente geleificante em alimentos.

Palavras chaves: Pectina, grau de esterificação, açúcares neutros, viscosidade intrínseca, massa molar.

ABSTRACT

The central composed design was used to optimize the extraction of pectin from passion fruit peel with citric acid. The physicochemical properties of pectin extracted in the optimized condition (HEP) was characterized and compared with commercial high ester pectin extracted from citrus peel (HMP). The results had shown that the HEP obtained high degree of esterification (78.59 %) and low acetyl value (0.30 %), mainly consisting of galacturonic acid and some neutral sugars. In the analysis of the homogeneity, the two pectins (HEP and HMP) had presented heterogeneous. The HEP presented molar mass of $1,16 \times 10^5 \text{ g.Mol}^{-1}$ and intrinsic viscosity of 2.54 dL.g^{-1} . The analysis of texture profile demonstrated to great difference between the samples, the HEP presented more firm gel than HMP and, in both the samples, the studied parameters had presented significant differences between the concentrations. The samples of pectin had presented difference in the color ($\Delta E^* = 1.48$), that it can be related with the initial raw material. The physicochemical properties of the pectin extracted in the optimized condition had been similar to the found in commercial citric pectin, indicating the possibility use as gelling agent in foods.

Keywords: Pectin, degree of esterification, neutral sugars, intrinsic viscosity, molar mass.

1 INTRODUÇÃO

Pectinas são heteropolissacarídeos presentes na parede celular da maioria das plantas. São geralmente extraídas da parede celular por métodos químicos ou enzimáticos sob variadas condições de extração. Muitas pesquisas têm sido realizadas sobre a extração de pectinas com ácido sulfúrico (YAPO et al., 2007; YAPO, WATHELET e PAQUOT, 2007), ácido clorídrico (IGLESIAS e LOZANO, 2004; KRATCHANOVA, PAVLOVA e PANCHEV, 2004; MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005; FISHMAN et al., 2006), ácido nítrico (PAGÁN et al., 2001; YAPO e KOFFI, 2006) e ácido tartárico (CANTERI-SCHEMIN et al., 2005). Por outro lado, existem poucos estudos sobre a extração de pectina com ácido cítrico (VIRK e SOGI, 2004; CANTERI-SCHEMIN et al., 2005; MARCON et al., 2005), que pode ser melhor que os outros extratores sob o ponto de vista econômico e ambiental.

Geralmente as pectinas são caracterizadas como homogalacturonanas (HG), formadas por unidades de (1,4)- α -D-ácido galacturônico ligadas que podem ser interrompidas por regiões ramificadas de ramnogalacturonana I (RG-I) com a seguinte estrutura na cadeia principal: $\rightarrow 4$)- α -D-GalAp-(1,2)- α -L-Rhap-(1 \rightarrow . Cadeias laterais de açúcares neutros como arabinanas, galactanas ou arabinogalactanas estão ligadas nas unidades de ramnose na posição O-4 (ALBERSHEIM et al., 1996). A ramnogalacturonana II (RG-II), também presente na molécula pectica, é um polissacarídeo complexo composto por ácido galacturônico, ramnose, galactose e alguns açúcares raros, como ácido acérico, apiose, Dha, Kdo, 2-O-Me-Fuc e 2-O-Me-Xyl (ISHII e MATSUNAGA, 2001).

As pectinas são frequentemente classificadas em duas categorias, denominadas de pectinas de alto grau de esterificação (> 50 %) e pectinas de baixo grau de esterificação (< 50 %) (KJONIKSEN, HIORTH e NYSTROM, 2005). A propriedade mais conhecida das pectinas é a sua capacidade de formação de gel com açúcares e ácidos. A geleificação ocorre devido à desidratação parcial da molécula de pectina a um estágio intermediário entre a solução e a precipitação (MAY, 1990). Vários fatores determinam as propriedades geleificantes incluindo temperatura, tipo de pectina, grau de esterificação, grau de acetilação, massa molar, pH, açúcares e outros solutos e cálcio (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

Nas pectinas de alto grau de esterificação as “zonas de junção” na geleificação são formadas por ligações cruzadas de homogalacturanana (HG) por ligações de hidrogênio e forças hidrofóbicas entre os grupos metoxílicos, ambos promovidos pela alta concentração de açúcares e baixo pH. Nas pectinas de baixo grau de esterificação as “zonas de junção” do gel são formadas por ligações cruzadas com cálcio entre os grupos carboxílicos livres (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).

As pectinas extraídas de vários subprodutos são extensamente utilizadas como agentes geleificantes na indústria alimentícia. Tradicionalmente são utilizadas cascas de frutas cítricas ou bagaço de maçã como matéria-prima para extração industrial de pectina (MAY, 1990). Fontes alternativas de pectina estão sendo pesquisadas, entre elas beterraba, girassol, *Krueo Ma Noy* e polpa de pêssego. Entretanto, muito pouco é conhecido sobre substâncias pécnicas do maracujá.

Os objetivos deste trabalho foram selecionar a condição ótima de extração com ácido cítrico de pectina da casca do maracujá com alto grau de esterificação, determinar as propriedades físico-químicas da pectina otimizada e comparar estas propriedades com a pectina cítrica comercial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Os maracujás (*Passiflora edulis* flavicarpa) foram obtidos da Central de Abastecimento de Santa Catarina (CEASA) localizada em São José, SC, Brasil, durante os meses de março a maio de 2005. As frutas foram escolhidas com o mesmo estágio de maturação e cor similar das cascas. Os maracujás foram higienizados e a pele (flavedo) e a polpa foram removidas (a polpa não foi estudada). As cascas foram cortadas em pequenos pedaços, branqueadas para inativações enzimáticas, e secas em estufa de circulação forçada (modelo 171, FABBE, São Paulo, Brasil) a 55 °C até peso constante. As cascas secas foram trituradas até obtenção de uma farinha fina, denominada de ‘farinha da casca do maracujá’, que foi utilizada como matéria-prima para todos os

ensaios relacionados à extração e caracterização da pectina. Esta farinha foi embalada em sacos de polietileno a vácuo e armazenada em freezer (-18 ± 2 °C). Pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação padronizada (Genu[®] *pectin type 105 rapid set*) foi cedida pela CPKelco[®]. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 Extração da Pectina

O processo de extração foi realizado de acordo com a metodologia de Canteri-Schemin et al. (2005) com pequenas modificações. A pectina foi extraída com diferentes concentrações de ácido cítrico e tempos de extração, sob refluxo em sistema de condensação a 97 °C (soluto/solvente 1:50). O extrato ácido quente foi pressionado em tecido fino e o filtrado foi resfriado a 4 °C. Este filtrado (contendo a pectina) foi centrifugado por 30 minutos a 6000 rpm e o sobrenadante separado. O sobrenadante foi adicionado de etanol (1:2 v/v) e esta mistura foi agitada por 10 minutos e deixada em repouso por uma hora para permitir a precipitação da pectina. A pectina precipitada foi separada por filtração, lavada com etanol absoluto e seca em estufa de circulação de ar forçada a 45 °C por 12 horas. O material resultante foi triturado até granulometria de 60 mesh.

O rendimento de pectina foi calculado utilizando a equação 1:

$$y_{pec} = \left(\frac{P}{B_i} \right) 100 \% \quad (\text{Equação 1})$$

Onde y_{pec} é o rendimento da pectina (%), P é a quantidade de pectina extraída em g e B_i é a quantidade inicial de farinha da casca do maracujá (3 g).

2.3 Planejamento experimental

O planejamento composto central (CCD) com modelo quadrático foi empregado para determinar o efeito de duas variáveis independentes (concentração de ácido cítrico e tempo de extração) sobre o grau de esterificação da pectina extraída (BOX e WILSON, 1951; TEÓFILO e FERREIRA, 2006). O planejamento completo consistiu

de 13 experimentos incluindo quatro fatoriais (níveis -1 e +1), quatro axiais (níveis $\pm\alpha$) e cinco replicatas no ponto central (Tabela 1).

Tabela 1 Níveis codificados das duas variáveis empregadas para extração de pectina da casca do maracujá no planejamento composto central.

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha^*$	-1	0	+1	$+\alpha^*$
Concentração de ácido cítrico (%)	0,086	0,5	1,5	2,5	2,914
Tempo de extração (min.)	17,58	30	60	90	102,42

* $\alpha = \pm 1,414$ para $k = 2$ (duas variáveis independentes).

As tabelas da análise de variância (ANOVA) e o efeito dos coeficientes de regressão para termos lineares, quadráticos e interação foram determinados. A significância de todos os termos do polinômio foi avaliada estatisticamente pela computação do valor-F na probabilidade (p) de 0,05. Todos os cálculos e gráficos foram realizados em planilhas eletrônicas do Microsoft[®] Excel 2003 de acordo com Teófilo e Ferreira (2006).

2.4 Determinação do grau de esterificação

O grau de esterificação (DE) das amostras de pectinas foi determinado pelo método de titulação potenciométrica de acordo com Boчек, Zabilova e Petropavlovskii (2001). A pectina seca (0,2 g) foi colocada em um copo Béquer e umedecida com álcool etílico 95 %. Água destilada aquecida a 40 °C (20 mL) foi adicionada e o polímero foi dissolvido com agitação por 2 horas. A solução resultante foi titulada com NaOH 0,1 N na presença de fenolftaleína e o resultado foi anotado como titulação inicial (T_i). Depois, adicionou-se 10 mL da solução de NaOH 0,1 N à amostra neutralizada de ácido galacturônico e agitou-se esta solução por mais 2 horas para saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. 10 mL de HCl 0,1 N foi adicionado. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,1 N. O número de grupos carboxílicos esterificados foi calculado a partir do volume de NaOH 0,1 N gasto na titulação final (T_f). O grau de esterificação foi calculado usando a equação 2:

$$\% \text{ DE} = \left[\frac{Tf}{(Ti + Tf)} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde, Ti : total mL de NaOH usado na titulação inicial; Tf : total mL de NaOH usado na titulação final.

2.5 Caracterização físico-química da pectina

As análises foram realizadas pelo menos em duplicata para a pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação (HMP) e para a pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada (HEP). Todos os resultados foram expressos em base seca.

2.5.1 Conteúdo de umidade, cinzas e proteínas

O conteúdo de umidade das amostras de pectina foi determinado utilizando estufa à vácuo a 100 °C por 4 h e o conteúdo de cinzas foi determinado por incineração a 600 °C por 4 h (RANGANNA, 1977). O conteúdo de proteínas ($N \times 6,25$) das amostras foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2005).

2.5.2 Determinação de ácidos urônicos

A quantificação de ácidos urônicos foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Filisetti-Cozzi e Carpita (1991). As amostras foram solubilizadas em água destilada (0,5 mg/mL) com agitação magnética. Da solução preparada, foram separados 400 µL de amostra, em tubo de ensaio, sendo adicionados 40 µL de uma solução de ácido sulfâmico/sulfamato de potássio 4,0 M (pH 1,6), com agitação. Ácido sulfúrico de grau analítico (96,4 %) contendo tetraborato de sódio 75 mM (2,4 mL) foi adicionado à solução. O tubo foi agitado vigorosamente em agitador vortex e a mistura foi aquecida em banho-maria fervente por 20 min. A mistura foi

resfriada e foram adicionados 40 μL de solução de *m*-hidroxidifenil 0,15 % (p/v) em NaOH 0,5 % (p/v) para formação do complexo colorido, que tem leitura de absorbância no comprimento de onda de 525 nm. A curva padrão utilizada foi preparada empregando solução de ácido galacturônico (GalA).

2.5.3 Determinação de açúcares neutros

A identificação e determinação dos teores relativos de açúcares neutros das amostras de pectina foram realizadas após hidrólise ácida (ADAMS, 1965; ASPINALL, 1982), seguida de redução e posterior acetilação (WOLFROM e THOMPSON, 1963), por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. A amostra contendo os acetatos de alditóis resultantes foi analisada por cromatografia líquido gasosa (GLC) em equipamento modelo HP-5890 SII, com detector de ionização de chama (FID) utilizando nitrogênio como gás de arraste, com fluxo 2 mL/min, a 300 °C, temperatura do detector e do injetor de 250 °C. Foi utilizada uma coluna capilar modelo DB-210 (30 m x 0,25 mm d.i.), com espessura de filme de 0,25 μm .

O amido foi identificado nas amostras através da presença de coloração azul com a solução de Lugol (I_2/KI), na concentração de 10 g L^{-1} .

2.5.4 Valor Acetil (%)

O valor acetil (AcOH) das amostras de pectina foi determinado de acordo com método proposto por Ranganna (1977). As amostras de pectina (0,5 g) foram dissolvidas em solução de NaOH 0,1 N com agitação. A solução foi diluída com água destilada até completar 50 mL. Uma alíquota de 20 mL desta solução com 20 mL de solução de ácido sulfúrico – sulfato de magnésio foi destilada em destilador de nitrogênio Tecnal TE-036/1. Cerca de 100 mL do destilado foi coletado e titulado com solução de NaOH 0,5 N, utilizando vermelho de fenol como indicador. Foi destilado um “branco” utilizando 20 mL de solução de ácido sulfúrico – sulfato de magnésio e água destilada. O AcOH foi calculado através da equação 3:

$$\text{Valor Acetil (\%)} = \frac{N_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} \times 4,3}{\text{Peso da amostra}} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde, N_{NaOH} : Normalidade da solução de NaOH; mL_{NaOH} : (total mL de NaOH utilizado na titulação – total mL utilizado para titulação do branco); Peso da amostra: peso da amostra em g, nos 20 mL, alíquota.

2.6 Análise de homogeneidade e determinação da massa molar utilizando metodologia HPSEC-MALLS.

A homogeneidade das amostras foi determinada por cromatografia de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC-MALLS). As amostras (3 mg/mL) foram solubilizadas em água e filtradas em membrana de acetato de celulose com porosidade de 0,22 μm (GSWP, Millipore). As amostras foram injetadas em cromatógrafo de exclusão estérica modelo 150 C ALC/GPC Waters, com detector de índice de refração (RI) modelo Waters 2410 e detector de espalhamento de luz em multiângulos Wyatt Technology modelo Dawn-F com 18 canais acoplados em série (MALLS). Quatro colunas de permeação em gel Waters Ultrahydrogel (2000; 500; 250; 120) foram conectadas em série e acopladas ao equipamento de multi detecção. As análises foram efetuadas a temperatura ambiente (25 °C) utilizando como eluente uma solução de NaNO_2 0,1 M, contendo 0,02 % NaN_3 , com fluxo de 0,6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, monitorado através de bomba peristáltica Waters 515. O detector de índice de refração (RI) foi utilizado para determinar o valor do índice de refração diferencial (dn/dc) para a pectina extraída nas condições otimizadas (HEP). O valor do dn/dc foi subsequentemente utilizado para determinar a massa molar absoluta da pectina utilizando o detector MALLS. Os dados foram coletados e analisados pelo programa Wyatt Technology ASTRA.

2.7 Determinação de viscosidade intrínseca e massa molar viscosimétrica

A viscosidade intrínseca da pectina extraída na condição otimizada (HEP) e da pectina cítrica comercial (HMP) foi medida em um viscosímetro de bolas do tipo Höeppler acoplado a um banho termostaticado (Tecnal TE-184), com circulação de

água à temperatura de 25 °C, considerando o tempo de queda da bola (massa de 4,0050 g e densidade de 2,226 g/cm³) pelo tubo capilar do viscosímetro. Foram preparadas sete soluções com diferentes concentrações (C) (0,01; 0,03; 0,05; 0,08; 0,10; 0,15 e 0,20 g/100 mL), dissolvendo as pectinas em solução aquosa contendo 90 mM de cloreto de sódio, 10 mM de fluoreto de sódio e 1mM de Na₂EDTA a pH 6,5 a temperatura ambiente (ANGER e BERTH, 1986). Foram anotadas seis medidas de tempo para cada concentração com cronômetro digital com precisão de ± 0,1 s.

A viscosidade específica (η_{sp}) foi determinada através do tempo de escoamento de cada amostra conforme equação abaixo:

$$\eta_{sp} = (t_s - t_0) / t_0 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde t_s : tempo de escoamento da solução, t_0 : tempo de escoamento do solvente puro.

Dividindo-se a viscosidade específica pela concentração da solução em g. dL⁻¹, obtém-se a viscosidade reduzida η_{red} :

$$\eta_{red} = \eta_{sp} / C \quad (\text{Equação 5})$$

A viscosidade intrínseca é definida como o valor de viscosidade reduzida à diluição infinita ($C \rightarrow 0$). A viscosidade intrínseca da pectina ($[\eta]$) foi determinada através do gráfico da viscosidade reduzida (η_{red}) *versus* concentração (C) com extrapolação à concentração zero do polímero (coeficiente linear), conforme a equação:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{red} \quad (\text{Equação 6})$$

A massa molar viscosimétrica das amostras de pectina foi determinada através da viscosidade intrínseca $[\eta]$, utilizando a equação de Mark-Houwink-Sakurada (Equação 7).

$$[\eta] = K \cdot M_v^a \quad (\text{Equação 7})$$

Onde $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca; K e a são constantes, cujos valores são $9,55 \times 10^{-2} \text{ dL.g}^{-1}$ e 0,73; obtidos da literatura (ANGER e BERTH, 1986) e M_v é a massa molar viscosimétrica.

2.8 Perfil de textura (TPA)

O perfil de textura (TPA) dos géis elaborados a partir de diferentes concentrações (0,5 – 2 %) das amostras de pectina (HEP e HMP) em solução de sacarose (68 % p/v) a pH 3 – 3,2 foi determinado em texturômetro Stevens-LFRA (Model TA-1000, Inglaterra). Uma sonda cilíndrica com 2,54 cm de diâmetro foi utilizada e a análise foi realizada em cápsulas de alumínio de 50 mL com a amostra a $10 \pm 1^\circ\text{C}$. A velocidade do teste, tempo e distância foram $1,0 \text{ mm s}^{-1}$, 5,0 s e 20,0 mm, respectivamente. TPA foi realizado em triplicata para cada amostra.

Os seguintes parâmetros foram obtidos a partir da curva de TPA: firmeza, consistência, adesividade e força de adesão. A firmeza é definida pelo pico de força do primeiro ciclo de compressão, a consistência é a área positiva sob a curva obtida no primeiro ciclo de compressão, adesividade é a área negativa sob a curva obtida entre os ciclos e a força de adesão é o pico de força da área negativa (PONS e FISZMAN, 1996).

2.9 Análise instrumental da cor

As amostras de pectina foram dissolvidas em água destilada (1% p/v) usando agitação magnética. Os parâmetros de cor das soluções de pectina foram determinados em colorímetro Minolta Chromo Meter CR 400 (Minolta, Osaka, Japão) acoplado a um processador DP-100 utilizando o sistema CIE Lab, escala de cor L^* , a^* , e b^* com iluminante D65 e ângulo de 10° . As medidas foram realizadas em triplicata a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A partir desses dados, foi calculada a diferença geral de cor:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Equação 8})$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Planejamento experimental e extração

O grau de esterificação das pectinas extraídas com ácido cítrico variou de 27,5 % a 78,6 % (Tabela 2). O maior grau de esterificação foi obtido quando a pectina foi extraída da farinha da casca do maracujá com 0,086 % de ácido cítrico a 97 °C por 60 minutos.

Tabela 2 Resultados do grau de esterificação e rendimento da pectina da casca do maracujá amarelo baseados na concentração de ácido cítrico e tempo de extração.

Ordem Exp.	Variáveis		Respostas	
	Citr. (%)	Et. (min)	DE (%)	Rendimento (%)
12	1,5	60,0	47,62	33,68
9	1,5	60,0	46,51	32,69
11	1,5	60,0	49,71	30,11
4	2,5	90,0	27,52	38,39
13	1,5	60,0	49,13	31,86
1	0,5	30,0	67,04	26,57
8	1,5	102,4	44,31	35,00
7	1,5	17,6	46,27	31,55
10	1,5	60,0	50,00	31,17
6	2,9	60,0	27,69	43,56
2	2,5	30,0	40,70	37,53
5	0,086	60,0	78,59	27,36
3	0,5	90,0	69,44	27,54

Citr., concentração de ácido cítrico; Et., tempo de extração; DE, grau de esterificação.

Os coeficientes de regressão múltipla estão apresentados na Tabela 3. Somente o coeficiente quadrático da variável tempo de extração não foi significativo pelo teste t-Student em nível de significância de 0,05. A variável concentração de ácido cítrico (Citr.) mostrou ser a variável de maior importância neste sistema. Os resultados mostraram que menores concentrações de ácido cítrico, nos níveis estudados, contribuem para aumentar o grau de esterificação da pectina extraída. A interação Citr. x Et. foi o segundo coeficiente mais importante deste modelo. Mais uma vez, estes resultados sugerem uma grande influência da concentração de ácido cítrico (dentro dos

níveis estudados), já que maiores percentagens de grau de esterificação são obtidas com menores concentrações de ácido, mesmo com longos tempos de extração. Entretanto, com alta concentração de ácido cítrico é necessário menor tempo para a extração de pectina com alto grau de esterificação.

Tabela 3 Coeficientes do modelo de extração ácida da pectina da casca do maracujá amarelo.

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t	p
Média	48,59*	0,66	73,25	2,08E-07
b _{Citr.}	-17,53*	0,52	-33,43	5,00E-06
b _{Et.}	-1,69*	0,52	-3,23	3,20E-02
b ² _{Citr.}	2,76*	0,56	4,91	7,97E-03
b ² _{Et.}	-1,16	0,56	-2,07	1,08E-01
b _{Citr.} x b _{Et.}	-3,90*	0,74	-5,25	6,29E-03

*Efeitos significativos. Nível de significância para o teste-t: 0,05,

Graus de liberdade: 4.

Citr., concentração de ácido cítrico; Et., tempo de extração.

A equação da regressão múltipla de segunda ordem para o grau de esterificação (DE) em função da concentração de ácido cítrico e tempo de extração com coeficiente de determinação, R², de 99 % está apresentada abaixo:

$$DE (\%) = 48,589 - 17,56 \text{ Citr.} - 1,698 \text{ Et.} + 2,7809 \text{ Citr.}^2 - 3,895 \text{ Citr. Et.} \quad (\text{Equação 8})$$

O grau de esterificação da pectina da casca do maracujá amarelo extraída com ácido cítrico está de acordo com os resultados obtidos por Matsumoto e Otagaki (1990) (73,2 %), Corona et al. (1996) (71,6 %) e D'Addosio et al. (2005) (69,7 %), que utilizaram ácido clorídrico como agente extrator em solução aquosa de pectina aquecida a 90-95 °C durante 90 minutos. Canteri-Schemin et al. (2005) também obtiveram pectina com alto grau de esterificação (68,8 %) extraída da polpa da maçã utilizando ácido cítrico como extrator em solução aquosa de pectina sob refluxo a 97 °C por 30 minutos.

O rendimento da pectina ácida extraída na condição otimizada (HEP) foi 27,4 % em relação ao peso inicial da farinha da casca do maracujá. O rendimento da HEP foi maior que o encontrado para pectinas extraídas da casca do maracujá por Matsumoto et al. (1990) (20 %), Corona et al. (1996) (13,6 %) e D'Addosio et al. (2005) (11,1 %), que

utilizaram ácido clorídrico como agente extrator, assim como, Yapo e Koffi (2006) (13,4 %), que utilizaram ácido nítrico como extrator. Este rendimento também foi maior que o obtido por Canteri-Schemin et al. (2005) (17,8 %), que extraíram pectina de bagaço de maçã com ácido cítrico. As principais fontes comerciais de pectina são as cascas de frutas cítricas e bagaço de maçã, com rendimento industrial de 25 % e 15-18% (Base Peso Seco), respectivamente (MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005).

3.2 Caracterização da pectina

A composição química da pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada (HEP) e da pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação (HMP) está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 Composição química das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo (base peso seco).

Composição (%)	Pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada (HEP)	Pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação (HMP)
Umidade	7,6 ± 0,2	6,4 ± 0,05
Cinzas	5,7 ± 0,4	1,1 ± 0,3
Proteína	2,58 ± 0,00	1,15 ± 0,00
DE	78,6 ± 0,3	79,7 ± 0,6
AcOH	0,3 ± 0,03	0,4 ± 0,03
Açúcares neutros ^a :		
<i>Rha</i>	2,33	0,70
<i>Fuc</i>	1,85	-
<i>Ara</i>	14,55	6,64
<i>Xyl</i>	4,70	-
<i>Man</i>	8,75	14,54
<i>Gal</i>	11,37	6,39
<i>Glc</i>	56,45	71,73
Ácido urônico ^b	68,7	52,9

^a Derivados de acetatos de alditóis analisados por GLC (*Rha*, ramnose; *Fuc*, fucose; *Ara*, arabinose; *Xyl*, Xilose; *Man*, Manose; *Gal*, galactose; *Glc*, glucose).

^b Determinado por Filizetti-Cozzi e Carpita (1991) (%).

ND, não determinado.

HEP, pectina extraída com ácido cítrico; HMP, pectina cítrica comercial; AcOH, valor acetil.

A amostra HEP apresentou conteúdos de umidade e cinzas maiores que da amostra HMP (Tabela 4). O conteúdo de umidade da pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada (HEP) foi similar ao encontrado para pectinas extraídas da casca

do maracujá por outros autores (CORONA et al., 1996; D'ADDOSIO et al., 2005, KLIEMANN, 2006) e ligeiramente inferior ao obtido por Virk e Sogi (2004) para pectinas extraídas da casca de maçã com ácido cítrico. O conteúdo de cinzas da HEP foi maior que o encontrado por Corona et al. (1996), 2,0 %, D'Addosio et al. (2005), 3,7 % e Kliemann (2006), 2,16 a 3,05 %. Virk e Sogi (2004) também extraíram pectina com baixo teor de cinzas da casca de maçã com ácido cítrico. O maior conteúdo de cinzas encontrado na HEP pode ser explicado pelas características do agente extrator utilizado, o ácido cítrico, que por ser uma substância quelante, liga-se aos minerais presentes na amostra (D'ADDOSIO et al., 2005). Além disso, as diferenças nos conteúdos de cinzas também podem ser explicadas pelas diferenças na composição, estágio de maturação da matéria-prima inicial e/ou pela utilização de diferentes métodos de extração (MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005).

A amostra de pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada contém 2,5 % de proteína, teor superior ao encontrado na pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação (HMP) (1,15%). Estudos mostram que pectinas de várias fontes contêm, geralmente, pequena quantidade de proteína (SINGTHONG et al., 2005; YAPO E KOFFI, 2006; YAPO et al., 2007).

O valor acetil obtido por titulação de HEP e HMP foram 0,3 % e 0,4 %, respectivamente. Esses valores estão de acordo com os encontrados para pectina da casca de maracujá amarelo por Kliemann (2006), 0,16 a 0,36 %, que também determinou o valor acetil (AcOH) por titulação e por Yapo e Koffi (2006), que determinaram AcOH por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) (0,3 a 0,5 %). Virk e Sogi (2004) obtiveram valor acetil similar para pectina extraída da casca de maçã com ácido cítrico (0,7 %). O valor acetil foi menor que 4 %, valor considerado limite crítico para a formação de gel (PILNIK e VORAGEN, 1992).

Os conteúdos de ácido urônico das amostras de pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada (HEP) e da pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação (HMP) foram 68,7 e 52,9 %, respectivamente. Esses valores foram menores que os encontrados por Yapo et al. (2007), sob diferentes condições de extração. De acordo com *Food Chemical Codex* (FCC) (1981) e *Food and Agriculture*

Organization of European Union (FAO-EU), pectinas devem conter pelo menos 65 % de GalA na sua estrutura (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006). A quantidade de ácido galacturônico da HEP indica que a extração da pectina da casca do maracujá amarelo utilizando ácido cítrico foi eficaz.

Os principais açúcares neutros presentes em HEP foram ramnose (2,5 %), arabinose (15,7 %) e galactose (12,3 %). A composição de açúcares neutros e o teor de ácidos urônicos sugerem a presença da cadeia de Ramnogalacturonana e Homogalacturonana com cadeias laterais de arabinana e/ou arabinogalactana. A fucose pode ser encontrada na RG-II e a manose foi considerada como “contaminante” hemicelulósico. A xilose presente pode ser explicada devido à presença de xilogalacturonana, que substitui a homogalacturonana ligando unidades de α -D-Xyl na posição O-3 da metade das unidades de ácido galacturônico (Carpita and McCann, 2000). Glucose foi encontrada em ambas as amostras de pectina, sendo detectada a presença de amido pelo teste do iodo em ambas as amostras.

Os valores da razão de Rha por GalA, que podem ser calculados a partir da Tabela 4, sugerem que as moléculas de HEP podem consistir principalmente de regiões lineares ricas em ácido galacturônico. Além disso, os valores da razão molar de Rha/ (Ara + Gal) das amostras de pectina HMP e HEP foram pequenos, indicando baixo grau de ramificação nas cadeias laterais.

3.3 Análise de homogeneidade e determinação da massa molar utilizando metodologia HPSEC-MALLS.

Os perfis de eluição das amostras de pectina obtidos pelo HPSEC utilizando detectores de espalhamento de luz (MALLS-90°) e índice de refração (RI) estão demonstrados na Figura 1.

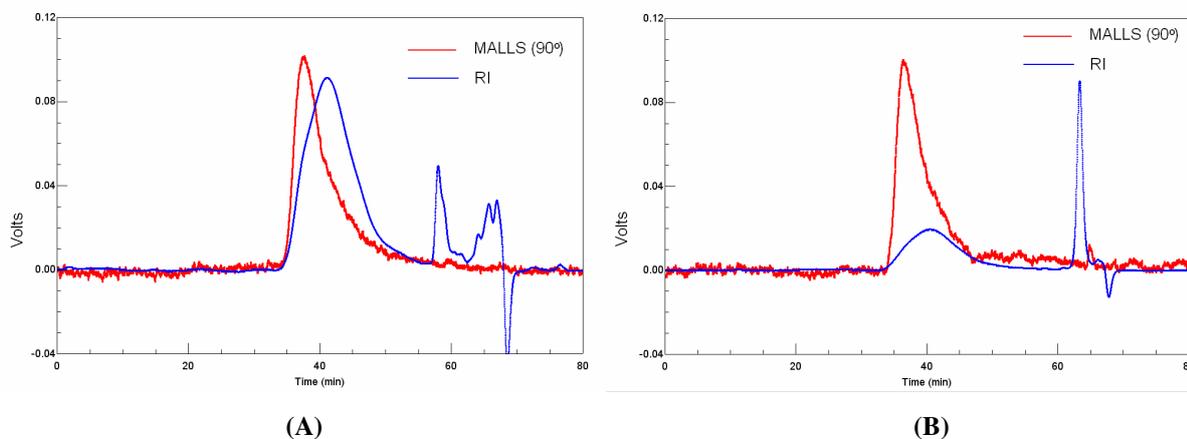


Figura 1 Perfil de eluição das amostras de pectina por (HPSEC-MALLS) (A) HEP e (B) HMP. Em vermelho espalhamento de luz (LS); em azul: índice de refração (RI).

No detector de espalhamento de luz observa-se a presença de um único pico para ambas as amostras, entretanto no detector de índice de refração observa-se a presença de outros picos, eluindo em tempos de eluição maiores, indicando a presença de moléculas de baixa massa molar. O perfil das duas amostras pelo detector de espalhamento de luz mostra tempo de eluição de aproximadamente 38 minutos, indicando a presença de um polímero de alta massa molar.

Os valores do índice de refração diferencial (dn/dc) e da massa molar (M_w) encontrados para as amostras de pectina foram similares e estão apresentados na Tabela 5. É importante ressaltar que estes valores são aproximados, uma vez que a amostra não é homogênea. A dificuldade da determinação exata da massa molar de pectinas é devido a difícil separação das espécies moleculares individuais no estado de pureza total, assim como, a capacidade da pectina em formar agregados (microgel) em soluções aquosa.

Tabela 5 Determinação do índice de refração diferencial (dn/dc) e massa molar (M_w) das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo através da metodologia HPSEC-MALLS.

	HEP	HMP
dn/dc	0,135	0,148
M_w (g.Mol ⁻¹)	$1,164 \times 10^5$	$1,287 \times 10^5$

HEP - Pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada; HMP - Pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação.

A massa molar encontrada para as amostras de pectina foi similar aos valores obtidos por Mesbahi, Jamalian e Farahnaky (2005) para pectina de alto grau de esterificação extraída da beterraba ($1,53 \times 10^5$ g.Mol⁻¹) e pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação ($1,16 \times 10^5$ g.Mol⁻¹), ambas dissolvidas em tampão fosfato e determinadas pelo sistema SEC/MALLS.

3.4 Determinação da viscosidade intrínseca e massa molar viscosimétrica

A viscosidade intrínseca e a massa molar das amostras de pectinas, determinadas através do gráfico de viscosidade reduzida *versus* concentração de pectina estão demonstradas na Tabela 6.

Tabela 6 Determinação da viscosidade intrínseca ($[\eta]$) e a massa molar viscosimétrica (M_v) das amostras de pectina comercial e pectina da casca do maracujá amarelo.

	HEP	HMP
$[\eta]$ (dL.g ⁻¹)	2,54	5,05
M_v (g.Mol ⁻¹)	$4,93 \times 10^4$	$1,26 \times 10^5$

HEP - Pectina extraída com ácido cítrico na condição otimizada; HMP - Pectina cítrica comercial de alto grau de esterificação.

A pectina extraída da casca do maracujá (HEP) apresentou menores valores para viscosidade intrínseca e massa molar em relação à pectina cítrica comercial (HMP), provavelmente devido a HEP apresentar maior ocorrência de cadeias laterais. A viscosidade intrínseca é influenciada diretamente pela massa molar, ou seja, a viscosidade aumenta à medida que aumenta as dimensões das moléculas poliméricas em solução.

Yapo e Koffi (2006) encontraram valores de viscosidade intrínseca de 2,61 a 3,07 dL.g⁻¹ e massa molar de 5,13 x 10⁴ a 6,4 x 10⁴, para pectinas com baixo grau de esterificação extraídas do maracujá amarelo utilizando o mesmo solvente e viscosímetro capilar Ubbelohde.

3.5 Perfil de textura

O perfil de textura das amostras de pectina está demonstrado na Tabela 7. Observou-se diferença significativa em todos os parâmetros para ambas as amostras de pectinas. O aumento da concentração de pectina resultou no aumento dos valores dos parâmetros de firmeza, consistência, adesividade e força de adesão das soluções de sacarose. Mesbahi, Jamalian e Farahnaky (2005) obtiveram comportamento similar para a consistência de soluções de sacarose utilizando pectina extraída da beterraba e pectina cítrica.

Tabela 7 Perfil de textura das amostras de pectina.

Concentração (%)	Firmeza (g)		Consistência (g.mm)		Adesividade (g.mm)		Força de Adesão (g)	
	HEP	HMP	HEP	HMP	HEP	HMP	HEP	HMP
0,5	140,09 ^a	25,46 ^a	2762,86 ^a	495,27 ^a	-35,18 ^a	-14,23 ^a	-11,17 ^a	-3,55 ^a
1,0	235,10 ^b	34,22 ^b	3665,65 ^b	564,68 ^b	-228,5 ^b	-19,85 ^a	-48,03 ^b	-5,42 ^a
1,5	239,21 ^b	38,19 ^c	4103,43 ^b	615,57 ^b	-399,20 ^c	-29,26 ^a	-88,80 ^c	-5,85 ^a
2,0	-	56,34 ^d	-	808,28 ^c	-	-57,22 ^b	-	-9,08 ^b

* médias com a mesma letra na mesma coluna não possuem diferença significativa ($p < 0,05$)

HEP, pectina extraída com ácido cítrico; HMP, pectina cítrica comercial.

Os valores de firmeza, consistência, adesividade e força de adesão das amostras de pectina da casca de maracujá (HEP) foram muito maiores que os valores encontrados para pectina cítrica comercial. Com isso, a utilização da pectina da casca do maracujá como agente geleificante torna-se uma alternativa interessante para a indústria alimentícia, necessitando menor quantidade comparativamente à pectina cítrica comercial, o que diminuiria consequentemente o custo de produção.

3.6 Análise instrumental da cor

A Tabela 8 apresenta os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* obtidos das amostras de pectina.

Tabela 8 Parâmetros de cor L^* , a^* e b^* para HEP e HMP.

	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
HEP	36,41	0,26	4,12	1,48
HMP	37,67	-0,15	3,44	

HEP, pectina extraída com ácido cítrico; HMP, pectina cítrica comercial.

A pectina extraída com ácido cítrico (HEP) apresentou menor valor de luminosidade (L^*) que a pectina cítrica comercial (HMP), ou seja, HMP foi ligeiramente mais clara que a HEP, sendo que esta diferença para valores de L^* (superior a unidade) já pode ser detectada pelo olho humano (MESBAHI, JAMALIAN e FARAHNAKY, 2005). Os parâmetros a^* e b^* da amostra HEP foram superiores aos da HMP. As amostras apresentaram pequena diferença de cor ($\Delta E^* = 1,48$), provavelmente ocasionada pelas diferentes matérias-primas iniciais.

Estudos posteriores são necessários a fim de avaliar se esta diferença de cor entre as pectinas pode afetar as características sensoriais de produtos como geléias, balas e xaropes.

4 CONCLUSÃO

Nas extrações realizadas com menores concentrações de ácido cítrico (0,086 %) e tempos de extração (60 min) foram obtidas pectinas com alto grau de esterificação (78,59 %) e baixo valor acetil (0,30 %). As propriedades físico-químicas da HEP foram similares às encontradas na HMP, indicando perspectivas para a utilização da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa) na obtenção de pectina a fim de minimizar os resíduos gerados, convertendo-os em matérias-primas para indústrias de alimentos, químicas e farmacêuticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.A. Complete acid hydrolysis. **Methods Carbohydrate Chemistry**, n.5, p. 269, 1965.

ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G.; O'NEILL, M.A.; SCHOLS, H.A.; VORAGEN, A.G.J. An hypothesis: The same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. In: Visser, J.; Voragen, A.G.J. (Eds.), **Pectin and Pectinases**. Amsterdam: Elsevier Science, 1996. p. 47–56.

ANGER, H.; BERTH, G. Gel permeation chromatography and the Mark-Houwink relation for pectin with different degrees of esterification. **Carbohydrate Polymers**, v. 6, p. 193-202, 1986.

ASPINALL, G.O. Isolation and fractionation of polysaccharides. In: ASPINALL, G.O. **The Polysaccharides**. New York: Academic Press, 1982.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18th ed. Gaithersburg, M.D, USA, 2005.

BOCHEK, A.M., ZABIVALOVA, N.M., PETROPAVLOVSKII, G.A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 75, p. 796-799, 2001.

BOX, G.E.P., WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimal conditions. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v.13, p. 1-45, 1951.

CANTERI-SCHEMIN, M.H., FERTONANI, H.C.R., WASZCZYNSKYJ, N., WOSIACKI, G. Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 259-266, 2005.

CARPITA, N., MC CANN, M. The cell wall. In Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 2000. p.52-108.

CORONA, M., DÍAZ, A., PÁEZ, G., FERRER, J., MÁRMOL, Z., RAMONES, E. Extracción y caracterización de pectina de la corteza de parchita. **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 13, p. 785-791, 1996.

D'ADDOSIO, R., PÁEZ, G., MARÍN, M., MÁRMOL, Z., FERRER J. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis* f. flavicarpa Degener). **Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)**, v. 22, p. 240-249, 2005.

FERTONANI, H.C.R. Estabelecimento de um modelo de extração ácida de pectina do bagaço de maçã. 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR, 2006.

FILISETTI-COZZI, T.M.C.C.; CARPITA, N.C. Measurement of uronic acid without interference for neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, n. 1, p. 157-162, 1991.

FISHMAN, M.L.; CHAU, H.K.; HOAGLAND, P.D.; HOTCHKISS, A.T. Microwave-assisted extraction of lime pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 8, p. 1170-1177, 2006.

FOOD CHEMICAL CODEX. 3 ed. National Academy of Sciences: Washington, DC, 1981.

IGLESIAS, M.T.; LOZANO, J.E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p. 215-223, 2004.

ISHII, T.; MATSUNAGA, T. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 969-974, 2001.

KJONIKSEN, A.L.; HIORTH, M.; NYSTROM, B. Association under shear flow in aqueous solutions of pectin. **European Polymer Journal**, v.41, p. 761-771, 2005.

KLIEMANN, E. **Extração e Caracterização da Pectina da Casca do Maracujá-amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*)**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2006.

KRATCHANOVA, M.; PAVLOVA, E.; PANCHEV, I. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 181-185, 2004.

LIN, H.; AIZAWA, K.; INAKUMA, T.; YAMAUCHI, R.; KATO, K. Physical properties of water-soluble pectins in hot- and cold-break tomato pastes. **Food Chemistry**, v. 93, p. 403-408, 2005.

MARCON, M.V.; VRIESMANN, L.C.; WOSIACKI, G.; BELESKI-CARNEIRO, E. Pectins from apple pomace. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 2, p. 127-129, 2005.

MATSUMOTO, L.; OTAGAKI, M. Pectin content in dried peel of passion fruit. **Journal of Food Science**, v. 18, p. 132-137, 1990.

MAY, C.D. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, p. 79-99, 1990.

MESBAHI, G.; JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in foods systems. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 731-738, 2005.

PAGÁN, J.; IBARZ, A.; LLORCA, M.; PAGÁN, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, v. 34, p. 605-612, 2001.

PAGÁN, J.; IBARZ, A. Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 39, p. 193-201, 1999.

PILNIK, W.; VORAGEN, A. G. J. Gelling agents (pectins) from plants for the industry. In: MORRISON, I. M. (Ed.), **Advances in plant and cell biochemistry and biotechnology**. London: Jai Press Ltd, 1992. p. 219-270

PONS, M.; FISZMAN, S.M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. **Journal of Texture Studies**, v. 27, p. 597-624, 1996.

RANGANNA, S. Pectin. In: **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tata McGraw Hill Publishing Company Limited, 1977. p. 21-54.

SHINGTHONG, J.; NINGSANOND, S.; CUI, S.W.; GOFF, H.D. Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 5, p. 793-801, 2005.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C., 2006. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350.

VIRK, B.S.; SOGI, D.S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace (*Malus Pumila Cv Amri*) peel waste. **International Journal of food properties**, v.7, n. 03, p.1-11, 2004.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. **Methods Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 65, 1963.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104. 2006.

YAPO, B.M.; KOFFI, K.L. Yellow passion fruit rind – a potencial source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744. 2006.

YAPO, B. M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1356-1364, 2007.

YAPO, B. M.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Comparison of alcohol precipitation and membrane filtration effects on sugar beet pulp pectin chemical features and surface properties. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 245-255, 2007.

ANEXOS

ANEXO A

Trabalhos apresentados na *58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Científica* – SBPC, Florianópolis - SC, 2006.

ANEXO B

Trabalho apresentado no *XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos* – CBCTA, Curitiba - PR, outubro de 2006.

ANEXO C

Comprovante de submissão do artigo à publicação na revista: *Bioresource
Technology*.