

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

FERNANDA LINI SEIXAS

**EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ  
AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) E APLICAÇÃO NA  
CONFECCÃO DE BIOFILMES COMPOSTOS**

MARINGÁ

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ  
AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) E APLICAÇÃO NA  
CONFECÇÃO DE BIOFILMES COMPOSTOS**

Fernanda Lini Seixas

Eng.<sup>a</sup> Química, UEM, 2008

Orientador: Prof. PhD Marcelino Luiz Gimenes

Dissertação de Mestrado submetida à  
Universidade Estadual de Maringá, como parte  
integrante dos requisitos necessários à  
obtenção do Grau de Mestre em Engenharia  
Química, Área de Desenvolvimento de  
Processos.

Maringá – PR – Brasil

Fevereiro 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Seixas, Fernanda Lini

S462eExtração de Pectina das cascas de Maracujá Amarelo  
(*Passiflora edulis f. flavicarpa*) e aplicação na  
confecção de Biofilmes Compostos/ Fernanda Lini. --  
Maringá, 2011.

106 f. il. col., figs., tabs.

Orientador: Prof. PhD Marcelino Luiz Gimenes.

Dissertação (mestrado em Engenharia Química) - Universidade  
Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento  
de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Química, 2011.

1. Extração de Pectina. 2. Biofilmes compostos. I. Guimenes,  
Marcelino Luiz, orient. II. Universidade Estadual de  
Maringá. III. Título.

CDD 664.25 21.ed.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a Versão Final da Dissertação de Mestrado apresentada por Fernanda Lini Seixas perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 02 de fevereiro de 2011.

COMISSÃO JULGADORA



Prof. Dr. Marcelino Luiz Gimenes  
Orientador



Profª Drª Agnes de Paula Scheer  
Membro



Profª Drª Sueli Teresa Davantel de Barros  
Membro

*"Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com  
paixão, perder com classe e vencer com ousadia, por que o  
mundo pertence a quem se atreve..."*

*(Augusto Branco)*

## AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos

Ao programa de pós-graduação em engenharia química da Universidade Estadual de Maringá por disponibilizarem recursos humanos e financeiros para a execução deste trabalho;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado;

À toda a minha família, em especial minha amada Mãe e meu querido irmão pelo carinho, compreensão e confiança;

Ao professor Marcelino Luiz Gimenes, pela orientação, confiança, empenho e amizade demonstrados durante todo este período, essencial para a realização deste trabalho;

À minha companheira de trabalho, Deise Lika Fukuda, aluna de iniciação científica, pela amizade e carinho adquiridos e pela importante contribuição para a realização deste trabalho;

À professora Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz do departamento de bioquímica e biologia molecular da Universidade Federal do Paraná, ao professor Eduardo Radovanovic do departamento de química da Universidade Estadual de Maringá e à professora Maria Helene Canteri pela disposição e colaboração;

Aos professores Nehemias e Olivo e à professora Sueli pelo incentivo, acompanhamento, amizade e empenho em ajudar.

À todos os amigos, colegas de laboratório, pela agradável convivência e apoio demonstrados durante este período;

Aos técnicos, engenheiros e funcionários do Departamento de Engenharia química pelo auxílio e valiosas sugestões;

À todos que contribuíram para a realização deste trabalho, não citados, mas jamais esquecidos.

EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ  
AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) E APLICAÇÃO NA  
CONFECÇÃO DE BIOFILMES COMPOSTOS

AUTOR: FERNANDA LINI SEIXAS

ORIENTADOR: PROFESSOR PhD MARCELINO LUIZ GIMENES

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo 5790, Bloco E-46 - 09, CEP 87020-900 - Maringá – PR, Brasil, defendida em 2 de Fevereiro de 2011. 106 p.

### RESUMO

A pectina é um polissacarídeo presente na parede celular das plantas, sendo utilizada industrialmente como agente geleificante ou estabilizante. Pode ser extraída da casca do maracujá amarelo, um abundante resíduo agroindustrial. A primeira parte deste trabalho tem como objetivo estudar o processo de extração da pectina com máximo rendimento utilizando o ácido nítrico, acético e tartárico, através do processo convencional de extração e sob aquecimento em microondas. As cascas de maracujá foram desidratadas e trituradas até a obtenção de uma farinha que foi utilizada para obtenção da pectina. A extração ácida foi realizada sob aquecimento, em uma razão final sólido/solvente de 1:50 (w/v). Posteriormente, as pectinas foram isoladas pela precipitação em etanol na razão volumétrica de 1:2 v/v. Para o processo convencional foram avaliados os fatores: concentração do ácido, temperatura e tempo de extração utilizando-se um planejamento experimental Box–Behnken. Para este caso, o maior rendimento encontrado foi para extrações com ácido tartárico 24,18%, nas condições de pH 1,9, 80 °C e 40 min. Para o ácido nítrico 14,10% nas condições de pH 1,9, 90 °C e 20 min e para o ácido acético 10,7% nas condições de pH 2,1, 90 °C e 20 min. Considerando as extrações realizadas sob aquecimento em microondas foram analisados os efeitos da potência emitida pelo forno e o tempo de exposição. Este método originou maiores rendimentos e pectinas com melhores propriedades (DE, massa molar, teor de ácidos urônicos). Os maiores rendimentos foram encontrados para ondas emitidas a 627,9 W de potência, 9 minutos de exposição e pH 2,0. Nestas condições pectinas extraídas com ácido nítrico apresentaram rendimento de 13,0%,

elevada massa molar, 82,3% de ácidos urônicos e alto grau de esterificação (68,15%). Pectinas obtidas pela utilização de ácido acético apresentaram um rendimento de 12,91%, elevada massa molar, 80,5% de ácidos urônicos e alto grau de esterificação (64,56%). Os maiores rendimentos (30%) foram obtidos pela utilização do ácido tartárico, no entanto, a pectina extraída apresentou algumas qualidades indesejáveis, tais como: baixo grau de esterificação, massa molar reduzida e baixo teor de ácidos urônicos (58,5%). Os principais açúcares constituintes das amostras de pectina extraída foram arabinose, galactose e glucose. Os reogramas de soluções de pectina (1 g/L) apresentaram um comportamento de fluido Newtoniano. A segunda parte deste trabalho propõe a utilização da pectina cítrica comercial na formulação de biofilmes. Esses materiais foram elaborados a partir de pectina e alginato e posteriormente caracterizados. Os biofilmes foram preparados por *casting*. O processo de fabricação dos filmes foi composto de dois estágios. Primeiramente o alginato e a pectina (1:1) foram solubilizados em água contendo 0,04 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ /g macromolécula e 0,6 g de glicerol/g macromolécula. O segundo estágio (reticulação complementar) consistia na imersão dos filmes em 50 mL de uma solução de  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e glicerol, ambos com diferentes concentrações, por 30 minutos. Foram avaliados os efeitos da concentração do plastificante (glicerol 5, 7 e 10% v/v) e do agente reticulante (íons  $\text{Ca}^{++}$  3, 5 e 7% m/v) nas propriedades mecânicas, solubilidade em água, grau de intumescimento, propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água nos biofilmes. Os filmes, com uma espessura média de 0,07mm, apresentaram aspecto atraente, propriedades mecânicas aceitáveis, conteúdo de umidade em torno de 20%, solubilidade em água na faixa de 32 a 55%. Estes filmes têm grau de intumescimento em torno de 1,1 a 2,17. A permeabilidade ao vapor de água é moderada e os valores encontrados são típicos de biofilmes hidrofílicos.

EXTRACTION OF PECTIN FROM PASSION FRUIT PEEL  
(*Passiflora edulis f. flavicarpa*) AND APPLICATION IN THE  
MANUFACTURE OF COMPOSITE BIOFILMS

AUTHOR: FERNANDA LINI SEIXAS

SUPERVISOR: PROF PhD MARCELINO LUIZ GIMENES

Master Thesis; Chemical Engineering Graduate Program; State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46 - 09; CEP: 87020-900 - Maringá - PR, Brazil, presented on February 2, 2011. 106 p.

**ABSTRACT**

Pectin is a polysaccharide present in cell walls of plants and it's used industrially as a gelling agent or stabilizer. It can be extracted from the peels of yellow passion fruit, an abundant agro-industrial waste. The first part of this work aims to study the extraction of pectin with a maximum yield using acetic, nitric and tartaric acid. Through the conventional process of extraction and under microwave heating. The peels of passion fruit were dried and milled to obtain a flour to extract the pectin. The acid extraction was carried out under heating, using a ratio solid / solvent 1:50 (w/v). Subsequently, the pectins were isolated by precipitation in ethanol in volume ratio of 1:2 v/v. For the conventional process the parameters analysed were: acid concentration, temperature and extraction time. A Box-Behnken experimental design was used. For this case, the highest yield was found for extraction with tartaric acid 24.18% under the conditions of pH 1.9, 80 ° C and 40 min. For nitric acid 14.10% under pH 1.9, 90 ° C and 20 min and for acetic acid 10.7% under the conditions of pH 2.1, 90 ° C and 20 min. Considering the extractions performed under microwave heating were analyzed the effects of power emitted by the equipment and the exposure time. This method resulted in higher yields with better properties and pectin (DE, molecular weight, uronic acid content). The highest yields were found for the waves emitted power 627.9 W, 9 minutes of exposure and pH 2.0. Accordingly pectins extracted with nitric acid showed a 13.0% yield, high molecular weight, 82.3% uronic acids and a high degree of esterification (68.15%). Pectins obtained by the use of acetic acid showed a yield of 12.91%, high molecular weight, 80.5% uronic acids and a high degree of

esterification (64.56%). The highest yields (30%) were obtained by the use of tartaric acid, however, the extracted pectin had some undesirable qualities, such as: low degree of esterification, low molecular weight and low content of uronic acid (58.5%). The main sugar constituents of the extracted pectin were arabinose, galactose and glucose. Rheograms pectin solutions (1 g/L) showed a Newtonian fluid behavior. The second part of this work proposes the use of commercial citrus in the formulation of biofilms. These materials were prepared from pectin and alginate and further characterized. The films were prepared by casting. The manufacturing process of the films consisted of two stages. First the alginate and pectin (1:1) were dissolved in water containing 0.04 g of  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /g macromolecule and 0.6 g glycerol/g macromolecule. The second stage (crosslinking complementary) consisted of immersing the films in 50 mL of a solution  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  and glycerol, both with different concentrations, for 30 minutes. Was evaluated the effects of the plasticizer (glycerol 5, 7 and 10% v/v) and crosslinking agent ( $\text{Ca}^{++}$  3, 5 and 7% w/v) on mechanical properties, water solubility, degree of swelling and permeability to water vapor in the biofilms. The films, with an average thickness of 0.07 mm, were attractive appearance, acceptable mechanical properties, moisture content around 20% and water solubility in the range of 32 to 55%. These films have a degree of swelling around 1.1 to 2.17. The water vapor permeability is moderate and the values are typical of hydrophilic biofilms.

---

**SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	4
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
<b>1ª PARTE - EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO (PASSIFLORA EDULIS F. FLAVICARPA) .....</b>		<b>5</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
3.1	MARACUJÁ .....	5
3.2	GESTÃO DE RESÍDUOS DA INDUSTRIALIZAÇÃO DE FRUTOS .....	8
3.3	PECTINA.....	9
3.3.1	<i>Localização da pectina no tecido vegetal.....</i>	<i>9</i>
3.3.2	<i>Classificação das substâncias pécticas.....</i>	<i>9</i>
3.3.3	<i>Estrutura molecular .....</i>	<i>10</i>
3.3.4	<i>Degradação das substâncias pécticas .....</i>	<i>13</i>
3.3.5	<i>Aplicações.....</i>	<i>15</i>
3.3.6	<i>Produção industrial.....</i>	<i>15</i>
3.4	EXTRAÇÃO.....	17
3.5	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS PECTINAS.....	19
3.5.1	<i>Grau de esterificação (DE).....</i>	<i>19</i>
3.5.2	<i>Massa Molar e homogeneidade .....</i>	<i>20</i>
3.5.3	<i>Composição monossacarídica .....</i>	<i>21</i>
3.5.4	<i>Propriedades reológicas.....</i>	<i>21</i>
3.5.5	<i>Difração de Raios-X .....</i>	<i>23</i>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
4.1	MATERIAIS .....	25
4.2	MÉTODOS .....	25
4.2.1	<i>Preparo da matéria-prima .....</i>	<i>25</i>
4.2.2	<i>Análises físico-químicas da matéria-prima.....</i>	<i>26</i>
4.2.3	<i>Metodologia para a extração de pectinas .....</i>	<i>26</i>
4.2.4	<i>Planejamento experimental.....</i>	<i>28</i>
4.2.5	<i>Rendimento gravimétrico .....</i>	<i>29</i>
4.2.6	<i>Caracterização das pectinas .....</i>	<i>29</i>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
5.1	CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO.....	33
5.1.1	<i>Aspectos Visuais.....</i>	<i>33</i>
5.1.2	<i>Composição centesimal da farinha de cascas de maracujá.....</i>	<i>35</i>
5.2	EXTRAÇÃO .....	36

---

5.2.1	<i>Extração através da metodologia convencional</i> .....	36
5.2.2	<i>Extração de pectina sob aquecimento em microondas</i> .....	39
5.3	<b>CARACTERIZAÇÃO DA PECTINA</b> .....	42
5.3.1	<i>Determinação da Composição monossacarídica</i> .....	44
5.3.2	<i>Determinação da homogeneidade</i> .....	46
5.3.3	<i>Determinação da viscosidade aparente</i> .....	49
5.3.4	<i>Difração de Raios-X</i> .....	51
5.3.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i> .....	52
<b>2ª</b>	<b>PARTE - BIOFILMES DE PECTINA E ALGINATO</b> .....	<b>54</b>
6.1	BIOFILMES .....	54
6.2	APLICAÇÕES DOS BIOFILMES .....	55
6.3	ALGINATO .....	57
6.4	PROPRIEDADES DA PECTINA E DO ALGINATO NA FORMULAÇÃO DOS BIOFILMES.....	58
6.5	PLASTIFICANTES.....	60
6.6	CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES .....	61
6.6.1	<i>Espessura</i> .....	61
6.6.2	<i>Aspectos visuais</i> .....	61
6.6.3	<i>Intumescimento</i> .....	62
6.6.4	<i>Solubilidade em água</i> .....	62
6.6.5	<i>Propriedades de barreira</i> .....	63
6.6.6	<i>Propriedades mecânicas</i> .....	64
6.6.7	<i>Análise superficial dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura</i> .....	65
<b>7</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>66</b>
7.1	MATERIAIS .....	66
7.2	MÉTODOS .....	66
7.2.1	<i>Metodologia para a confecção dos filmes de pectina e alginato</i> .....	66
7.2.2	<i>Planejamento experimental</i> .....	67
7.2.3	<i>Caracterização dos filmes</i> .....	68
<b>8</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>72</b>
8.1	ASPECTOS VISUAIS .....	72
8.1.1	<i>Microscopia</i> .....	73
8.2	UMIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA .....	74
8.3	GRAU DE INTUMESCIMENTO .....	77
8.4	PERMEABILIDADE AO VAPOR D'ÁGUA ( $K_{pVA}$ ).....	78
8.5	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	80
<b>9</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>83</b>
9.1	CONCLUSÃO GERAL .....	83
9.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	84
<b>10</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>86</b>

<b>ANEXO A</b> .....	<b>99</b>
<b>ANEXO B</b> .....	<b>100</b>
<b>ANEXO C</b> .....	<b>101</b>
<b>ANEXO D</b> .....	<b>104</b>
<b>ANEXO E</b> .....	<b>105</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – O fruto do maracujá amarelo ( <i>Passiflora edulis</i> ) inteiro, em corte e suas partes constituintes.....	6
<b>Figura 2</b> – Estrutura da parede celular de plantas e localização das substâncias pécticas. ....	9
<b>Figura 3</b> – Estrutura do ácido poligalacturônico.....	11
<b>Figura 4</b> – Estrutura molecular da pectina.....	12
<b>Figura 5</b> – Representação convencional e alternativa proposta para a cadeia de pectina. ....	12
<b>Figura 6</b> - Modificações nas substâncias pécticas por efeito da temperatura. ....	13
<b>Figura 7</b> - Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina. ....	14
<b>Figura 8</b> – Aspectos visuais das cascas de maracujá e da farinha de cascas (FCM) que foram utilizadas como matéria-prima para as extrações.....	33
<b>Figura 9</b> – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá (ampliação de 200 X). ....	34
<b>Figura 10</b> – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá após o processo de extração convencional de pectina (ampliação de 200 X).....	34
<b>Figura 11</b> – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá após o processo de extração de pectina por aquecimento em microondas (ampliação de 200 X). ....	34
<b>Figura 12</b> – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido tartárico. ....	38
<b>Figura 13</b> – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido nítrico. ....	38
<b>Figura 14</b> – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido acético. ....	39
<b>Figura 15</b> – Curva da temperatura versus tempo para o sistema de reação quando submetido ao aquecimento em microondas sob potências de 627,9 W e 355,8 W.....	40
<b>Figura 16</b> – Curva de evaporação do solvente para o sistema de reação quando submetido ao aquecimento em microondas sob potências de 627,9 e 355,8 W. ....	40
<b>Figura 17</b> – Aspectos visuais das pectinas extraídas das cascas do maracujá amarelo com diferentes tipos de ácido.....	41
<b>Figura 18</b> – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido acético através do processo: (a) convencional e (b) em microondas.....	47
<b>Figura 19</b> – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido nítrico através do processo: (a) convencional e (b) em microondas.....	47
<b>Figura 20</b> – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido tartárico através do processo: (a) convencional e (b) em microondas.....	48
<b>Figura 21</b> – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina cítrica comercial (Vetec). ....	48
<b>Figura 22</b> – Perfil de eluição comparativo das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI.....	49
<b>Figura 23</b> – Reogramas para soluções de pectina (1 g/L), extraída sob dois processos distintos com diferentes tipos de ácido. ....	50

<b>Figura 24</b> – Difractograma de Raios-X para amostras de pectina extraídas com três tipos de ácido (processo convencional) e pectina cítrica comercial. ....	52
<b>Figura 25</b> – Microscopia eletrônica de varredura para pectinas extraídas com diferentes tipos de ácido (ampliação de 200 X).....	53
<b>Figura 26</b> – Estrutura do ácido $\beta$ -D-manurônico (a), $\alpha$ -L-gulurônico (b) e alginato (c) (ERTESVÁG e VALLA, 1998).....	58
<b>Figura 27</b> – Célula utilizada nos testes de permeabilidade ao vapor de água. ....	71
<b>Figura 28</b> – Aspectos visuais do biofilme de pectina cítrica e alginato. (a) Filme sendo retirado do suporte após primeiro estágio e (b) após reticulação complementar. ....	72
<b>Figura 29</b> – Aspectos visuais dos biofilmes de alginato e pectina extraída com diferentes ácidos: (a) acético; (b) nítrico e (c) tartárico.....	72
<b>Figura 30</b> – Microscopia eletrônica de varredura para a superfície dos biofilmes compostos de pectina e alginato para diferentes concentrações da solução reticuladora do 2º estágio. (ampliação de 2000 X). ....	74
<b>Figura 31</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a massa de filme solubilizada em água (MS) em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	76
<b>Figura 32</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o conteúdo de umidade (g água/g filme) dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	76
<b>Figura 33</b> – Grau de intumescimento (GI) de filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio. ....	77
<b>Figura 34</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o grau de intumescimento dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	78
<b>Figura 35</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a permeabilidade ao vapor de água ( $k_{pva}$ ) dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	80
<b>Figura 36</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a tensão de ruptura dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	82
<b>Figura 37</b> – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o alongamento dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e $\text{CaCl}_2$ . ....	82
<b>Figura 38A</b> – Diagrama de extração ácida e precipitação de pectinas a partir da FCM. ....	99
<b>Figura 39C</b> – Perfil de eluição comparativo das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI. ....	101
<b>Figura 40C</b> – Perfil de eluição comparativo (detector RI) das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI. ....	101
<b>Figura 41C</b> – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido acético e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI. ....	102
<b>Figura 42C</b> – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido acético e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI. ....	102
<b>Figura 43C</b> – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido nítrico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI. ....	102
<b>Figura 44C</b> – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido nítrico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI. ....	103

<b>Figura 45C</b> – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido tartárico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI. ....	103
<b>Figura 46C</b> – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido tartárico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.....	103
<b>Figura 47D</b> – Fluxograma da preparação de filmes de pectina e alginato de sódio. Adaptado de Zactiti, 2004 .....	104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Composição química do maracujá <i>Passiflora edulis f. flavicarpa</i> (constituintes expressos por 100 g de porção comestível). .....	7
<b>Tabela 2</b> – Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental e concentração de ácido correspondente aos valores de pH.....	28
<b>Tabela 3</b> – Composição química da farinha de cascas de maracujá. ....	35
<b>Tabela 4</b> – Planejamento experimental e rendimento de pectina, extraída pelo processo convencional a partir das cascas do maracujá amarelo utilizando os ácidos: Acético, Tartárico e Nítrico. ....	37
<b>Tabela 5</b> – Rendimento de pectina obtido para extrações realizadas com três diferentes ácidos (pH = 2,0) sob aquecimento em microondas.....	42
<b>Tabela 6</b> – Condições de extração que geraram o maior rendimento para cada tipo de ácido e processo de extração.....	43
<b>Tabela 7</b> – Composição e grau de esterificação das pectinas extraídas com diferentes ácidos nos processos convencionais e com microondas, comparadas com a pectina cítrica comercial. ....	43
<b>Tabela 8</b> – Composição monossacarídica das pectinas extraídas com diferentes ácidos nos processos convencionais e com microondas, comparadas com a pectina cítrica comercial. ....	46
<b>Tabela 9</b> – Viscosidade aparente das soluções de pectina e coeficiente de correlação das retas ajustadas. ...	50
<b>Tabela 10</b> – Classificação da permeabilidade ao vapor d'água de filmes ( $k_{pva}$ ) (Krochta e Mulder-Johnston, 1997).....	79
<b>Tabela 11B</b> – Coeficientes dos modelos de regressão para os experimentos realizados com o ácido acético, nítrico e tartárico, para o processo de extração convencional.....	100
<b>Tabela 12E</b> – Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes de pectina e alginato.....	105
<b>Tabela 13E</b> – Grau de intumescimento de equilíbrio e razão das espessuras final e inicial dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio. ....	105
<b>Tabela 14E</b> – Espessura média e permeabilidade ao vapor d'água dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio. ....	106
<b>Tabela 15E</b> – Propriedades mecânicas dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio. ....	106

## NOMENCLATURA

---

ADRS	Agricultura e Desenvolvimento Rural Sustentável
CNUMAD	Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento Humano
DE	Grau de esterificação
DM	Grau de metoxilação
FCM	Farinha de cascas de maracujá
HGA	Homogalacturonanas
HM	Pectina com alta metoxilação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LM	Pectina com baixa metoxilação
P	Potência
PG	Poligalacturonase
PGL	Poligalacturonato liase
PMG	Polimetilgalacturonase
PMGE	Polimetilgalacturonato esterase
RG-I	Ramnogalacturonana I
RG-II	Ramnogalacturonana II
T	Temperatura
te	Tempo de extração
$K_{pva}$	Permeabilidade ao vapor de água
MS	Massa de filme solubilizada em água
GI	Grau de intumescimento
TR	Tensão na ruptura
E	Elasticidade
GLC	Cromatografia líquido-gasosa

---

# 1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos processados é acompanhada pelo surgimento de agroindústrias dos mais diversos portes. Diante dessa necessidade de produção, passa a existir o problema da geração de resíduos, agravando, com isto, a situação da poluição ambiental. Neste contexto surge o conceito da tecnologia limpa, que tem como objetivo minimizar a geração de resíduos de forma preventiva e intervém para aprimorar a produção de alimentos com a diminuição da geração de poluentes (AMANTE, 2002).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) alcançando a produção anual em 2007 de 664 mil toneladas (IBGE, 2009). Cerca de 95% deste total é processado pelas indústrias, sendo somente aproveitada a polpa. As cascas e sementes são utilizadas por produtores rurais para suplementar a alimentação animal, as quais correspondem a 65-70% da massa total dos frutos. Uma vez que o volume de cascas e sementes atinge cerca de 400 mil toneladas/ano de resíduo fresco, passa a ser de grande interesse econômico, científico e tecnológico agregar valor a esses subprodutos originados do processamento dos frutos. O pericarpo (parte integral das cascas) de maracujá, se bem tratado e armazenado, poderia ser utilizado como matéria-prima na obtenção de co-produtos com aplicação na indústria alimentícia, como as fibras dietéticas ou outros compostos bioativos (CANTERI, 2010).

As pectinas, fibras dietéticas que podem ser extraídas das cascas do maracujá amarelo, são bio-polímeros formados quase inteiramente de ácido D-galacturônico unidos por ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1-4) e resíduos de éster metil ácido galacturônico. São amplamente utilizadas nas indústrias de alimentos como agentes espessantes e geleificantes, além de possuírem outras inúmeras aplicações.

Normalmente as pectinas são extraídas das cascas de frutas cítricas e de maçã com ácidos minerais fortes, tais como: fosfórico, sulfúrico, nítrico ou clorídrico (PINHEIRO, 2007). A utilização destes ácidos fortes acarreta algumas desvantagens, tais como, poluição ambiental e corrosão dos equipamentos. A substituição dos agentes extratores normalmente utilizados, por ácidos orgânicos fracos surge com o intuito de minimizar esses efeitos negativos. Dessa maneira, este trabalho propõe a utilização de dois ácidos orgânicos fracos (tartárico e acético), além do ácido nítrico para extração de pectina.

O processo para produção de pectina comercial não é divulgado em sua totalidade pelas indústrias. No entanto, é evidente a influência de vários fatores na extração tais

---

como: tipo de ácido, temperatura, concentração de ácido e de solvente, características da matéria prima, entre outros (CANTERI, 2010).

Assim, a primeira parte deste trabalho apresenta um estudo comparativo que analisa dois processos de extração, através de aquecimento sob microondas e o método convencionalmente utilizado. Foram avaliados os fatores que influenciam o rendimento da extração de pectina da casca do maracujá amarelo utilizando os ácidos tartárico, acético e nítrico. Foram analisados os efeitos das variáveis: temperatura, tempo de extração e pH do ácido, para a metodologia de extração convencional. Além da intensidade de campo eletromagnético e tempo de exposição para extrações em microondas. Em seguida, a pectina obtida sob as condições que geraram o maior rendimento, para cada tipo de ácido e processo de extração, foi caracterizada quanto as suas propriedades físico-químicas.

A segunda parte deste trabalho propõe a aplicação da pectina na produção de biofilmes. Estes materiais surgem como alternativa aos plásticos sintéticos que não são biodegradáveis e representam um sério risco ambiental. Os materiais utilizados na elaboração dos filmes apresentam vantagens e desvantagens, sendo que a combinação deles pode promover melhoria nas características desejadas. Filmes confeccionados a partir de pectina pura apresentam-se totalmente solúveis em água, além de apresentarem propriedades mecânicas pobres. Por outro lado, filmes compostos de alginato, um carboidrato extraído de algas, demonstram uma alta rigidez e pouca maleabilidade. Neste sentido, os dois polissacarídeos foram utilizados na elaboração dos filmes, buscando com isto, a melhoria de suas propriedades. Para a elaboração de uma solução filmogênica são necessários constituintes básicos como: polímeros de alta massa molecular, denominados agentes formadores, solvente, agentes plastificantes e agentes reticulantes. Cada um desses materiais é utilizado buscando oferecer determinadas características para o biofilme. Assim, este estudo analisou a influência da concentração de cloreto de cálcio (agente reticulante) e glicerol (agente plastificante) nas propriedades dos filmes.

A primeira parte deste trabalho, referente à extração de pectina das cascas de maracujá, compreende os capítulos de 3 a 5. O capítulo 3 traz uma revisão bibliográfica a respeito do fruto maracujá e do seu potencial como matéria-prima para extração de pectinas. Também apresenta as principais características, propriedades físico-químicas e aplicações das pectinas. O capítulo 4 elucida os métodos experimentais utilizados e o capítulo 5 apresenta os resultados obtidos e suas discussões. A segunda parte, relativa à aplicação da pectina na confecção de biofilmes compostos, é incluída nos capítulos 6 a 8. O capítulo 6 apresenta uma revisão bibliográfica referente aos biofilmes suas propriedades

e aplicações, bem como algumas características dos polissacarídeos pectina e alginato. Os métodos experimentais relacionados à confecção e caracterização dos biofilmes são tratados no capítulo 7. Os resultados e discussões são abordados no capítulo 8. E por fim, as conclusões e sugestões do trabalho são apresentadas no capítulo 9.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o processo de extração de pectina das cascas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), utilizando-se o ácido nítrico, acético e tartárico e a aplicação da pectina na formulação de biofilmes compostos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar e comparar dois processos de extração de pectina: a metodologia convencionalmente utilizada e extração sob aquecimento em microondas;
- Determinar, utilizando a metodologia de superfície de resposta, o efeito das variáveis: temperatura, tempo de extração e concentração do ácido sobre o rendimento de pectina, para o processo de extração convencional;
- Caracterizar a pectina extraída quanto às suas propriedades físico-químicas;
- Propor uma aplicação da pectina através de sua utilização na confecção de biofilmes compostos de pectina e alginato;
- Avaliar o efeito das concentrações de agente reticulante (Cloreto de cálcio) e de plastificante (Glicerol) na formulação dos biofilmes;
- Caracterizar os biofilmes quanto à espessura, umidade, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, grau de intumescimento e propriedades mecânicas.

---

# 1ª PARTE - EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 MARACUJÁ

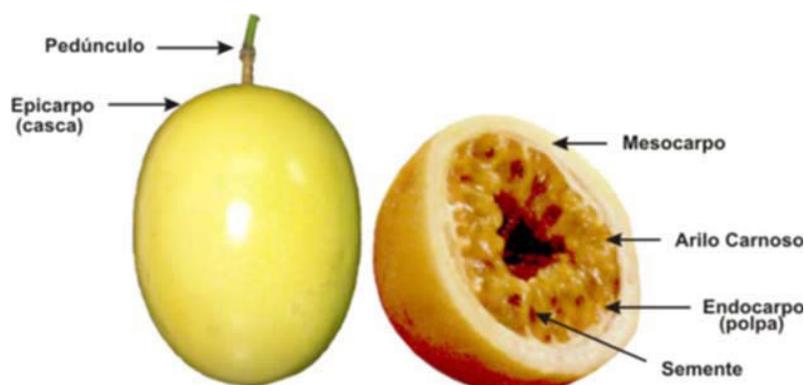
O maracujá, fruta nativa da América Tropical, pertence à família *Passifloraceae*, a qual consiste em 12 gêneros e mais de 500 espécies distintas, largamente distribuídas pelos continentes americano, asiático e africano. O principal gênero, *Passiflora*, apresenta aproximadamente 400 espécies conhecidas, das quais cerca de 60 são consideradas frutos comestíveis (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

As espécies mais cultivadas no Brasil e no mundo são: o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), maracujá-roxo (*Passiflora edulis*) e o maracujá-doce (*Passiflora alata*). O maracujá-doce é destinado para o mercado de fruta fresca, devido à sua baixa acidez, já o maracujá amarelo destaca-se por apresentar características superiores quando comparado ao maracujá roxo, como maior tamanho de fruto, maior peso, maior teor de caroteno, maior acidez total, maior resistência a pragas e maior produtividade por hectare (PIZA JR. *et al.*, 1996).

O maracujá amarelo é a espécie de maior interesse comercial, sendo a mais cultivada (95% da área) no Brasil, a mais vigorosa e a mais adaptada aos dias quentes. Os frutos completam seu desenvolvimento em 18 dias e amadurecem em 80 dias, possuem uma massa entre 43 e 250 g em média, sua polpa é ácida e apresentam um maior rendimento em suco se comparado a outras espécies (SEBRAE, 2005). Na Figura 1 pode-se observar o fruto do maracujá amarelo nas formas inteiro, em corte e suas partes constituintes.

A casca do maracujá é composta pelo flavedo ou epicarpo (parte com coloração) e albedo ou mesocarpo (parte branca), sendo este rico em pectina, fonte de niacina (vitamina B3), ferro, cálcio, e fósforo. Em humanos, a niacina atua no crescimento e na produção de hormônios, assim como previne problemas gastrointestinais. Os minerais atuam na prevenção da anemia (ferro), no crescimento e fortalecimento dos ossos (cálcio) e na formação celular (fósforo). Quanto à composição de fibras, a casca do maracujá constitui

produto vegetal rico em fibra do tipo solúvel (pectinas e mucilagens), extremamente benéfica ao ser humano (CORDOVA *et al.*, 2005). No entanto, a composição do maracujá pode variar em função de vários fatores, tais como: espécie, época de colheita, tamanho do fruto, estágio de maturação, estágio de desenvolvimento, fertilidade do solo e manuseio pós-colheita. A composição química do maracujá amarelo (*Passiflora edulis*), com os principais componentes, pode ser observada na Tabela 1.



**Figura 1**– O fruto do maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) inteiro, em corte e suas partes constituintes.

Fonte: Ministério da Integração Nacional, 2004.

O maracujá é considerado uma boa fonte de beta-caroteno, sendo este responsável pela coloração amarelada. Os açúcares redutores são em grande parte constituídos por glicose e frutose. O principal ácido do maracujá é o ácido cítrico que constitui 93 a 96% de sua acidez total, sendo o ácido málico responsável por 4 a 7% (MEDINA *et al.*, 1980).

Os princípios ativos maracujina, passiflorine e calmofilase são encontrados em toda a planta, principalmente nas folhas, conferindo ao maracujazeiro propriedades calmantes, hipnóticas, analgésicas e antiinflamatórias (SEBRAE, 2005).

Em termos de mercado, os principais países produtores de maracujá no mundo são: Brasil, Colômbia, Peru e Equador. O mercado internacional de suco concentrado e de polpa de maracujá é dominado pelo Equador, Colômbia e Peru que aparecem como grandes exportadores. Sendo os principais países importadores de suco e polpa de maracujá a Alemanha e a Holanda (SEBRAE, 2005).

**Tabela 1**– Composição química do maracujá *Passiflora edulis f. flavicarpa* (constituintes expressos por 100 g de porção comestível).

Constituinte	Quantidade
Água (g)	84,9
Energia (cal)	53,0
Proteína (g)	0,7
Gordura (g)	0,2
Acúcares totais (g)	13,7
Fibras (g)	0,2
Cinzas (g)	0,5
Cálcio (mg)	3,8
Fósforo (mg)	24,6
Ferro (mg)	0,4
Vitamina A (UI)	2410
Tiamina (mg)	Traços
Riboflavina (mg)	0,1
Niacina (mg)	2,2
Ácido Ascórbico (mg)	200

Fonte: CHAVAN e KADAM (1995).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, representando cerca de 90% da produção mundial (IBGE, 2004), alcançando a produção anual em 2007 de 664 mil toneladas (IBGE, 2009). Dos frutos de maracujá produzidos, uma pequena parcela é consumida *in natura*, sendo que cerca de 95% da produção é industrializada para a fabricação de sucos (CEPLAC, 2007). O suco, além de ser consumido no mercado interno, é também exportado. Para os exportadores brasileiros, o principal mercado ainda é o europeu, que adquire mais de 90% do suco exportado pelo Brasil. No entanto, há boas perspectivas de exportação para o mercado norte-americano, canadense e japonês (SEBRAE, 2005).

O mercado brasileiro de suco de fruta industrializado foi o que mais cresceu na categoria de bebidas não alcoólicas no país, apresentando um aumento de 30% ao ano (LÓPEZ, 2004). Dessa forma, devido ao crescimento desse ramo industrial, muitos pesquisadores têm atuado em estudos que tem por objetivo a melhoria da qualidade dos

produtos, a fim de contribuir para a consolidação do suco de maracujá industrializado no mercado interno e externo.

No entanto, apesar do grande número de pesquisas realizadas em relação ao suco da fruta e a melhoria de sua qualidade na industrialização (SANDI *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2004), poucos são os trabalhos que ressaltam a importância do reaproveitamento dos resíduos do maracujá descartados pela indústria (OLIVEIRA *et al.*, 2002; FERREIRA e PENA, 2004a; FERREIRA e PENA, 2004b; CARVALHO e GODOY, 2004; GOMES, 2004; CANTERI, 2010; KLIEMANN, 2006). Dessa maneira, compete às agroindústrias o gerenciamento adequado de seus resíduos, segundo os preceitos de manejo orientados pelo conceito de Agricultura e Desenvolvimento Rural Sustentável (ADRS), preconizado pela Organização das Nações Unidas (ONU) (ITAL,1980).

### **3.2 GESTÃO DE RESÍDUOS DA INDUSTRIALIZAÇÃO DE FRUTOS**

O significativo aumento da produção das agroindústrias provoca um acréscimo na geração de resíduos, sendo a indústria de suco de frutas produtora de elevada quantidade de rejeitos, com potenciais problemas para disposição final. Esses co-produtos podem ser potencialmente utilizados como constituintes de ração animal. Entretanto, o conteúdo de fibra dietética torna possível o desenvolvimento de novos ingredientes naturais para a indústria alimentícia (FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004, FIGUEROLA *et al.* , 2005; LOUSADA JÚNIOR *et al.* , 2006, CANTERI, 2010).

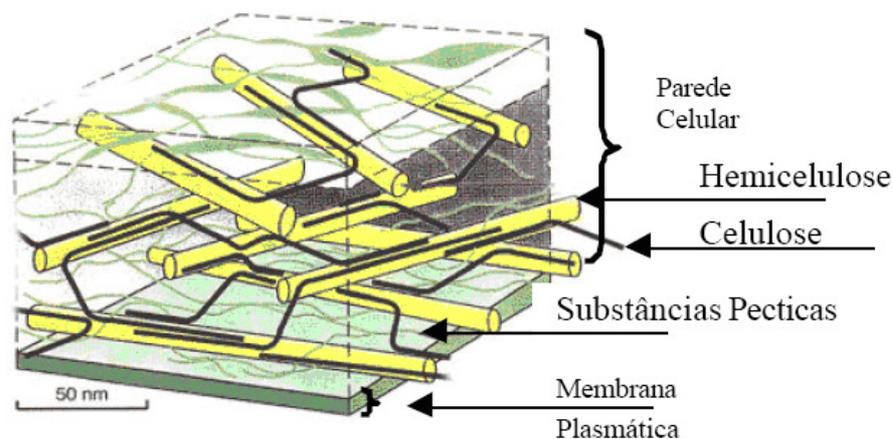
Neste sentido a pectina apresenta-se como uma alternativa importante, com agregação de valor e solução parcial para o tratamento e para a disposição final no processo global do gerenciamento de resíduos sólidos, pela minimização do volume a ser descartado, entre 40-70% do total, variável conforme a fruta de origem. Já em 1940, cerca de 60% da pectina produzida no mundo era de bagaço cítrico, devido à abundância de matéria-prima gerada pela industrialização de sucos cítricos (KERTESZ, 1951). Hermann Herbstreith descobriu, na década de 1930, o potencial de uso e aplicação do bagaço de maçã, subproduto até então descartado da produção do suco (H&F, 1998). Isso aponta a tendência crescente das indústrias em buscar alternativas que promovam o fechamento da “reciclagem” de um resíduo, com o máximo de aproveitamento possível e por meio da maior exploração comercial possível dos componentes antes considerados como subprodutos (CANTERI, 2010).

### 3.3 PECTINA

#### 3.3.1 Localização da pectina no tecido vegetal

As pectinas são polissacarídeos estruturais encontrados nos espaços intercelulares e lamelas centrais dos tecidos vegetais, como ilustrado na Figura 2. Em tecidos mais jovens, especialmente das frutas, estas substâncias são formadas em grande quantidade, constituindo-se muitas vezes, em canais amplos que separam as células (CRISTENSEN, 1986; DA SILVA *et al.*, 1997; TURQUOIS *et al.*, 1999).

As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular, representando cerca de 30% dos polissacarídeos constituintes da parede celular de plantas dicotiledôneas. 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 FARAHAHNAKY, 2005).



**Figura 2** – Estrutura da parede celular de plantas e localização das substâncias pectínicas.

Fonte: IPPA, 2008.

#### 3.3.2 Classificação das substâncias pectínicas

A Sociedade Americana de Química (American Chemical Society) classificou as substâncias pectínicas em: protopectina, ácido pectínico, ácido pectico e pectina, sendo estes três últimos total ou parcialmente solúveis em água (KASHYAP *et al.*, 2000, ALKORTA

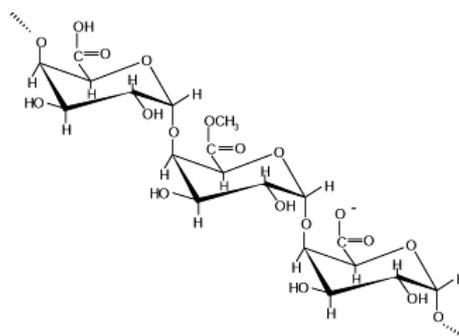
*et al.*, 1998). Protopectina apresenta-se insolúvel em água, sendo a forma nativa unida com outros constituintes das células vegetais e, em condições de hidrólise restrita, produz ácidos pectínicos ou pectina (KASHYAP *et al.*, 2000, SAKAI *et al.*, 1993, MAIORANO, 1990). Ácido péctico é uma designação aplicada a substâncias pécticas compostas de ácido poligalacturônico coloidal (KASHYAP *et al.*, 2000, SAKAI *et al.*, 1993), onde os grupos carboxilas estão essencialmente livres de grupos metil éster (KASHYAP *et al.*, 2000, SAKAI *et al.*, 1993, WHITAKER, 1994) e seus sais são pectatos neutros ou ácidos. Ácido pectínico é um grupo de compostos contendo ácido poligalacturônico coloidal com poucos grupos metil éster (MAIORANO, 1990).

O termo geral pectina, o qual será empregado neste trabalho, designa ácidos pectínicos solúveis em água, com grau variável de grupos metil éster e um grau de neutralização capaz de formar gel com açúcares e ácidos em condições adequadas (SAKAI *et al.*, 1993).

### 3.3.3 Estrutura molecular

As pectinas são moléculas extremamente complexas, e a tentativa de acomodá-las em um único modelo mostra-se um grande desafio. As pectinas são formadas por dezessete diferentes monossacarídeos, organizados em polissacarídeos distintos, a partir de mais de vinte diferentes ligações para formação de uma rede (VINCKEN *et al.*, 2003; VORAGEN *et al.*, 2009) agrupadas em diferentes tipos de cadeia. Essas cadeias são constituídas por ácidos urônicos, hexoses, pentoses e metil-pentoses e essas diversas unidades estruturais podem estar substituídas por metanol, ácido acético e ácidos fenólicos (CANTERI, 2010).

A estrutura química da pectina é constituída de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido D-galacturônico ligados covalentemente por ligações  $\alpha$ - (1,4), onde os grupos carboxílicos podem ser metil esterificados em diferentes extensões. Essa cadeia principal, representada na Figura 3, pode ser interrompida por unidades de L-ramnose através de ligações  $\alpha$ -(1,2), às quais estão ligadas por cadeias laterais, formadas por açúcares neutros, principalmente unidades de galactose e arabinose (BRANDÃO e ANDRADE, 1999; LÉVIGNE, THOMAS, RALET, QUEMENER e THIBAUT, 2002; KJONIKSEN, HIORTH e NYSTRÖM, 2005; YAPO e KOFFI, 2006; YAPO *et al.*, 2007, PINHEIRO, 2007).



**Figura 3** – Estrutura do ácido poligalacturônico.

Fonte: Brandão e Andrade, 1999.

As pectinas são formadas por três principais frações, a fração linear conhecida como homogalacturonana (HGA) e as frações ramificadas conhecidas como ramnogalacturonana I (RG-I) e ramnogalacturonana II (RG-II) (WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006), como está representado na Figura 4.

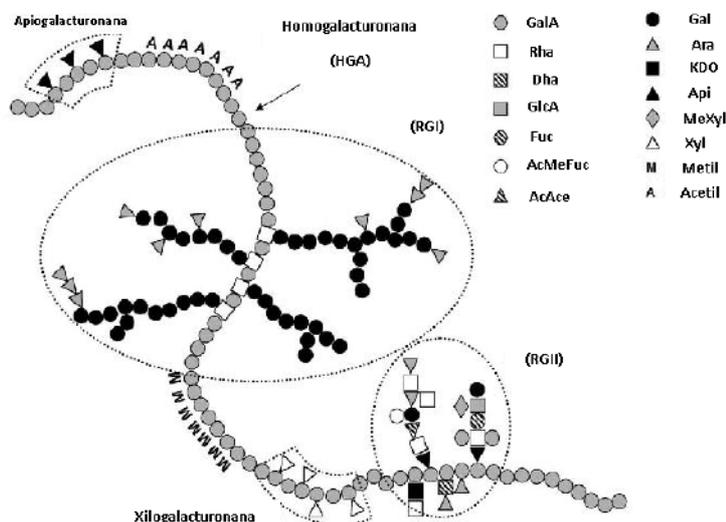
As homogalacturonanas (HGA) são polímeros constituídos por longas cadeias de unidades de ácido galacturônico em ligação  $\alpha$ -(1,4), que podem estar parcialmente esterificadas, razão pela qual são mais resistentes à hidrólise. Unidades de ramnose podem ser encontradas ocasionalmente na homogalacturonana (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 péctico 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 (BUCHANAN, GRUISSEM e JONES, 2000; GULFI, ARRIGONI e AMADÒ, 2007).

Existem alguns modelos que tentam supor como a molécula de pectina estaria ligada. Na representação estrutural de Péres; Rodrigues-Carvajak; Doco, 2003 (Figura 4), a cadeia principal da pectina é 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 5-Representação convencional.

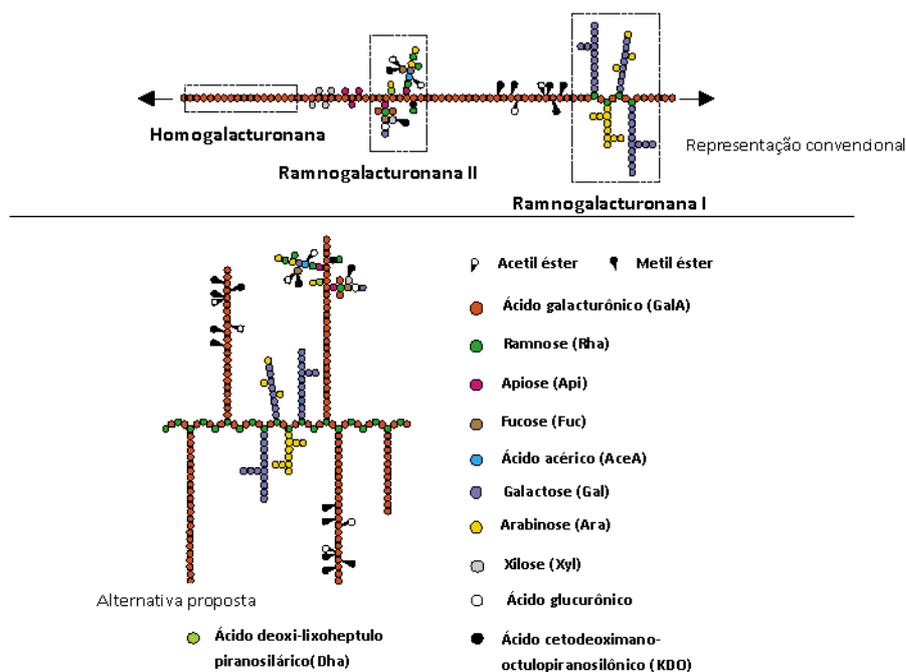
Entretanto, um modelo estrutural alternativo foi proposto por Willats, Knox e Mikkelsen, na qual HGA pode ser considerada como uma cadeia lateral da RG-I (Figura 5- Alternativa proposta), o que causou grande impacto nos estudos de estrutura fina das pectinas (VINCKEN *et al.*, 2003; WILLATS, KNOX e MIKKELSEN, 2006).



**Figura 4** – Estrutura molecular da pectina.

GalA: ácido galacturônico; Rha: Ramnose; Dha: ácido deoxi-lixoheptulo piranosilárico; GlcA: ácido Glucurônico; Fuc: Fucose; Acace: ácido acérico; Gal: Galactose; Ara: Arabinose; KDO: ácido cetodeoximano-octulopiranosilônico; Api: Apiose; MeXyl: Metil Xilose ; Xyl: Xilose; Metil: Metil éster; Acetil: Acetil éster.

Fonte: Pérez; Rodriguez-Carvajal; Doco, 2003.

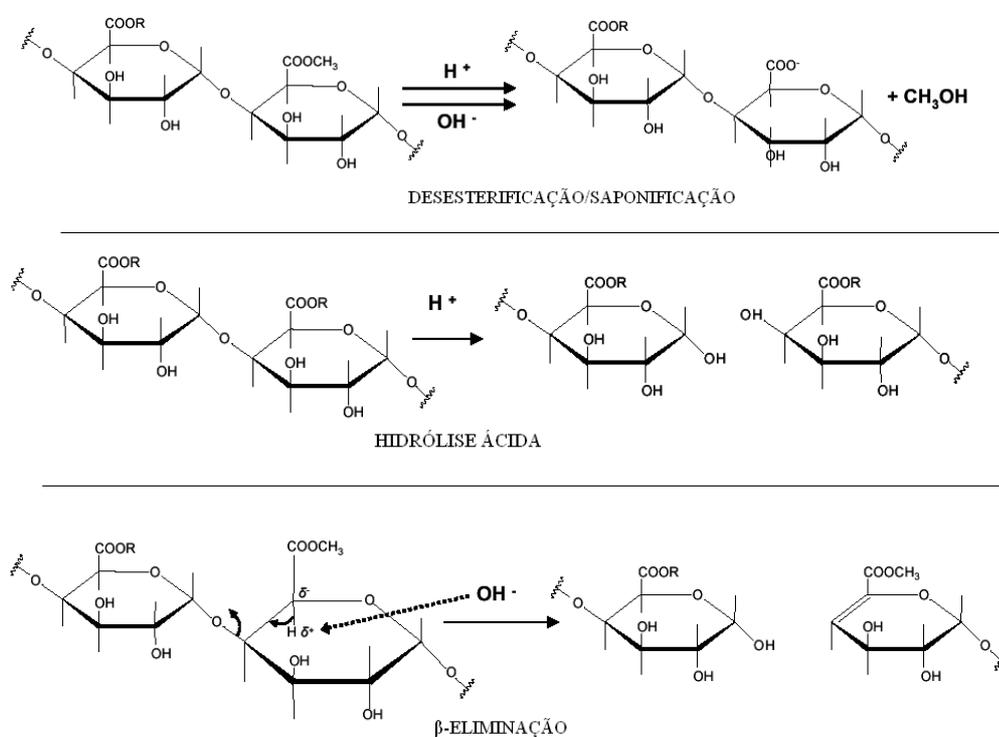


**Figura 5** – Representação convencional e alternativa proposta para a cadeia de pectina.

Fonte: Willats; Knox; Mikkelsen, 2006.

### 3.3.4 Degradação das substâncias pécicas

Em dispersão, as substâncias pécicas podem se degradar por dois mecanismos químicos principais, esquematizados em três tipos de reação na Figura 6. O primeiro tipo deles é a desesterificação, com liberação de metanol e formação de pectatos. Em meio ácido (pH entre 1 a 3), em temperaturas inferiores a 10 °C, predominam as desesterificações. O outro mecanismo, denominado de despolimerização (diminuição do tamanho da cadeia polimérica) pode acontecer por hidrólise (ácida ou enzimática) das ligações  $\alpha(1_4)$ , ou ainda por reações de  $\beta$ -eliminação. Em temperaturas acima de 10 °C em meio ácido, sendo mais frequentes as hidrólises de ligações  $\alpha(1_4)$  (THIBAUT; PETIT, 1979; CANTERI, 2010).



**Figura 6** - Modificações nas substâncias pécicas por efeito da temperatura.

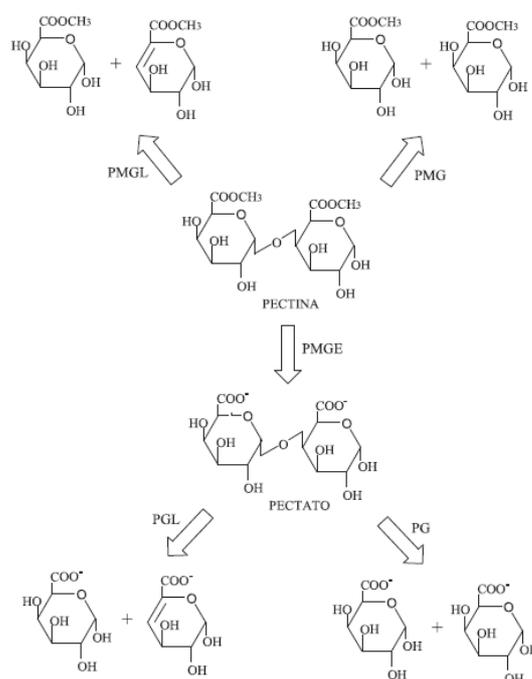
Fonte: Willats; Knox; Mikkelsen, 2006.

Na  $\beta$ - eliminação, o hidrogênio em C5, mais ácido em função do grupo éster metílico é atacado pelo íon hidróxido, resultando na transferência eletrônica levando à ruptura da ligação glicosídica e formação, entre C4 e C5 de dupla ligação conjugada com aquela da função carboxílica. Essa reação pode ser acelerada pelo aumento da concentração de álcali e da temperatura ou na presença de íons tais como  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , citrato, malato ou fitato. Abaixo de 10 °C, o grau de metilação das pectinas foi

suficientemente reduzido para impedir, por repulsão eletrostática, a aproximação dos íons hidróxidos e essa reação não mais ocorre (THIBAUT *et al.*, 1991, CANTERI, 2010).

As substâncias pécicas também podem ser degradadas por enzimas pectinolíticas, produzidas em diferentes combinações pelas plantas e por microrganismos como fungos, leveduras e bactérias (DA SILVA *et al.*, 2005, GAINVORS *et al.*, 1994, TSUYUMU *et al.*, 1989). A classificação das enzimas pécicas está baseada no ataque ao esqueleto galacturônico, pela preferência de substrato (pectina, ácido pécico ou protopectina), ação por transeliminação ou hidrólise e por clivagem randômica (enzima endo-, liquificante ou despolimerizante) ou terminal (enzima exo- ou sacarificante) (ZHENG; SHETTY, 2000, SILVA *et al.*, 2005).

Existem basicamente três tipos de pectinases, como representado na Figura 7: pectina esterase (desesterificante ou desmetoxilante), enzimas responsáveis pela remoção dos grupos metil éster; as despolimerizantes (que incluem as enzimas hidrolíticas e as liases), estas, catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécicas e, as protopectinases que solubilizam protopectina para formar pectina (SAKAI *et al.*, 1993).



**Figura 7** - Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina.

PMGL: polimetilgalacturonato liase. PMG: polimetilgalacturonase. PMGE: polimetilgalacturonato esterase (pectina esterase). PGL: poligalacturonato liase (pectato liase). PG: poligalacturonase

Fonte: ALKORTA *et al.*, 1998.

### 3.3.5 Aplicações

A pectina constitui-se em um colóide por excelência, e em função de seu caráter hidrofílico, devido à presença de grupos polares, apresenta a propriedade de envolver grande quantidade de água, produzindo uma solução viscosa. Em função dessa capacidade, a pectina é amplamente utilizada no preparo de geléias, doces de frutas, produtos de confeitaria, sucos de frutas e em outros ramos da indústria de alimentos.

Comercialmente as pectinas classificam-se no Brasil como aditivos, para os quais o Ministério da Saúde aprova a inclusão nos alimentos com a função de estabilizante, espessante e geleificante. A quantidade a ser utilizada condiz com o percentual necessário para se obter o efeito desejado (BRASIL, 2007).

Além do emprego em alimentos, a pectina vem sendo utilizada para remover metais tóxicos em soluções aquosas e como agente floculante no tratamento de efluentes, apresentando a vantagem de ser biodegradável e atóxica ao meio ambiente e aos seres humanos (YOKOI *et al.*, 2002, COELHO, 2008).

Estudos ainda sugerem que a pectina poderia ser utilizada na indústria farmacêutica, por apresentar propriedades de reduzir os níveis de colesterol no sangue de humanos (ROS; SCHOL; VORAGEN, 1998, COELHO, 2008).

Na medicina a pectina possui propriedades úteis para o desenvolvimento de biomateriais com aplicação biomédica. Este polímero é utilizado em sistemas de liberação controlada (LIU *et al.*, 2003), como agente anti-inflamatório, anti-coagulante e em substâncias cicatrizantes. Para esta última aplicação, são desenvolvidos compósitos à base de pectinas de modo a formarem membranas, microcápsulas e géis injetáveis (OUYANG *et al.* 2004).

Atualmente diversos trabalhos vêm sendo realizados buscando desenvolver e empregar materiais biodegradáveis no envolvimento de produtos alimentícios, em substituição aos materiais sintéticos. Em vista disso, a pectina, em associação com outros polissacarídeos, mostra-se um promissor componente para formulação desses novos produtos.

### 3.3.6 Produção industrial

As principais indústrias mundiais produtoras de pectina na atualidade são Cpkelco, Danisco, Degussa, Herbestreith & Fox, Obipectin e Pektowin Jaslo (CYBERCOLLOIDS, 2006). No Brasil a produção industrial de pectina cítrica, extraída das cascas de laranja e limão, teve início no ano de 1954, na cidade de Limeira (SP), idealizada por um italiano, na empresa Citropectina. Essa mesma indústria alterou o nome para Braspectina, em 1985, passou a Citrus Colloids S/A, em 1993 e, quando adquirida pelo grupo Hércules, em 1998, foi denominada CPKelco (RIBEIRO, 2002), sendo a única fábrica de pectina no País e maior produtora mundial de pectina cítrica (ACIL, 2010, CANTERI, 2010).

Comercialmente a pectina em pó é classificada como de alta metoxilação (HM ou AM), com percentual de grupamentos esterificados na cadeia (grau de esterificação ou DE) superior a 50%, na prática entre 50 e 75%, ou de baixa metoxilação (LM ou BM), com DE inferior a 50%, na prática entre 20 e 45% (SRIAMORNSAK, 2003; OFST, 2005; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). O consumo mundial de pectina, em 1987, foi de seis mil toneladas para pectina de baixa metoxilação (LM) e oito mil para de alta metoxilação (HM). Os preços variavam entre 7,92-8,80 dólares/kg para LM e 11,00-13,20 dólares/kg para HM, gerando um movimento de 22 milhões de dólares por ano (YALPANI; SANDFORD, 1987). Em fevereiro de 2010 o valor de venda de um quilograma de pectina cítrica de alta metoxilação no Brasil estava em torno de R\$118,00 (cento e dezoito reais), aproximadamente \$ 63.00 (sessenta e três dólares), numa valorização de mais de 500% em cerca de vinte anos (QUIMIBRAS, 2010, CANTERI, 2010).

Pouco se sabe sobre o processo de extração industrial de pectina. Este consiste basicamente de uma etapa de extração vegetal em pH ácido e meio aquoso; a purificação desse líquido extraído e o isolamento da pectina (CHRISTENSEN, 1986). Industrialmente, a pectina extraída é separada do bagaço utilizando prensas hidráulicas e/ou centrifugação. Algumas vezes, ocorre gelatinização do amido e é necessário tratamento enzimático preliminar com amilases. Subseqüentemente o extrato é filtrado e, finalmente, concentrado. Na preparação de pectinas em pó, o extrato líquido concentrado é tratado com solventes orgânicos ou certos sais metálicos para precipitar os polímeros (SAKAI *et al.*, 1993). A pectina é então precipitada em concentrações de etanol superiores a 45% (m/v). No entanto, Metanol, etanol e 2-propanol podem ser usados para promover a precipitação da pectina (VORAGEN *et al.*, 1995). Para minimizar o volume de álcool, o extrato clarificado pode ser concentrado em evaporadores multiestágio até 3-4% de teor de pectina. O precipitado obtido pela adição de etanol é lavado posteriormente para remover

contaminantes na forma de metais pesados, resíduos de agrotóxicos, ácidos, açúcares, compostos fenólicos, pigmentos e outros materiais insolúveis em álcool (VORAGEN *et al.*,1995). A pectina precipitada é coletada, seca, moída e armazenada (SAKAI *et al.*,1993). De uma forma geral, no armazenamento, mesmo pulverizadas, as pectinas sofrem algumas despolimerizações e desmetilações, num processo de auto hidrólise, ainda mais se a pectina estiver na forma ácida e a taxa de umidade acima de 5%. O pH de estabilidade situa-se entre 3,5 e 4,5 (THIBAUT *et al.* ,1991, CANTERI, 2010).

Devido às variações nas matérias-primas há grandes diferenças no poder geleificante de preparações de pectina (VORAGEN *et al.* ,1995). Para assegurar ao usuário a mesma força de gel para o produto comercializado as pectinas são padronizadas, com sacarose, glucose ou lactose até grau de geleificação de 150 °US SAG, (SAKAI *et al.*, 1993; VORAGEN *et al.* ,1995). No entanto, esta padronização pode modificar a estrutura química das pectinas, promovendo a saponificação parcial de ésteres ou a amidação de grupamentos ácidos (SAKAI *et al.* ,1993, CANTERI, 2010).

### 3.4 EXTRAÇÃO

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, pêsego, 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, ROVARES, 2007). No entanto, nos últimos anos, a casca de maracujá tem sido muito estudada como matéria-prima alternativa para extração de pectina.

A extração de pectina 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, entre eles estão a temperatura, o pH e o tempo de extração (PAGAN *et al.*, 2001, KLIEMANN, 2006).

O processo de obtenção da pectina geralmente abrange as seguintes etapas: 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 em meio básico 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, ROVARES, 2007).

Peres *et al.* (2005) extraíram a pectina do albedo de maracujá sob refluxo a 80 °C por uma hora (razão soluto/solvente 1:50), com água acidificada com 5 mL de ácido nítrico 0,1 N . Após rendimento médio de 15,7% na primeira extração, o albedo parcialmente esgotado foi novamente desidratado e utilizado para extração de pectina, resultando em 12,4%. Os autores concluíram que potencialmente cerca de 30% de pectina poderia ser extraída do albedo de maracujá-amarelo.

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 massa seca) 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 consequência, a pectina extraída apresentou baixo grau de esterificação. Para extrações utilizando ácido nítrico (razão 1:50, 90 min, 90 °C) este autor encontrou valores de 38% de rendimento, neste caso o percentual médio de esterificação apresentado classifica a pectina extraída como HM, com 75,68 % de DE.

D'Addosio *et al.* (2005) extraíram e caracterizaram a pectina da casca do maracujá amarelo em diferentes estádios de maturação. As extrações foram realizadas com ácido clorídrico, fosfórico e uma mistura dos dois ácidos. A pectina com os maiores grau de esterificação e teor de ácido galacturônico, foi obtida quando ácido clorídrico foi utilizado como agente extrator. Em condições fixas de pH, temperatura e tempo de extração, obtiveram o máximo rendimento de 18,45% com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (NaPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> como agente de extração.

Canteri (2010) estudou a extração de pectina das diferentes frações das cascas de maracujá sob o aspecto de produção de pectinas com alto grau de qualidade. Os resultados mostraram que o maior conteúdo de pectina foi encontrado na fração mesocarpo, com alta viscosidade e com baixa retenção de compostos fenólicos. Os resultados obtidos indicam uma evidente influência da matéria prima sobre a pectina resultante e suas propriedades reológicas. As características moleculares da pectina de maracujá foram afetadas negativamente quando as farinhas das cascas de maracujá haviam sido submetidas a altas

temperaturas. As condições ideais para extração de pectina com a mais alta viscosidade aparente e elevada massa molar foram tempo curto (5 min), temperatura média (80 °C) e concentração média de ácido nítrico (50 mM). Nessas condições o rendimento foi de 196 g kg<sup>-1</sup>, de uma pectina com alta metoxilação, massa molar de 166.000 g mol<sup>-1</sup>, 78 % de ácido galacturônico e 43 mg g<sup>-1</sup> de açúcares neutros.

Fishmann *et al.* (2000) extraíram pectina do albedo da laranja através de aquecimento por microondas sob pressão. O tempo de extração variou de 2,5 a 8 minutos. A pectina solubilizada foi caracterizada através da massa molar e viscosidade intrínseca por cromatografia de exclusão por alta pressão. A massa molar e a viscosidade diminuíram com o aumento do tempo de extração. Nos tempos de 2,5 a 3 minutos a massa molar e a viscosidade da pectina do albedo da laranja foram maiores que da pectina cítrica comercial, quando a razão de albedo para solvente era de 1:25. A possível explicação desses resultados é que em curtos períodos de extração a pectina foi solubilizada em uma estrutura compacta em rede, que foi separada em componentes assimétricos com o tempo.

O efeito do aquecimento por microondas no tecido da casca de laranja e na qualidade da pectina extraída foi pesquisado por Kratchanova, Bénémou e Kratchanov (2004). Como resultado, a extração de pectina foi facilitada por esse aquecimento prévio. Um rendimento considerável de pectina e um melhoramento de massa molecular, grau de esterificação e força de gel foram obtidos.

### **3.5 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DAS PECTINAS**

#### **3.5.1 Grau de esterificação (DE)**

O grau de esterificação (DE) ou grau de metoxilação (DM) das pectinas é definido como a relação de unidades de ácidos galacturônicos esterificados por unidade de ácido galacturônico total. A proporção de metoxilação, ou de grupos carboxílicos esterificados, é expressa pelo conteúdo de metoxilas. A quantidade destes grupos desempenha um importante papel na capacidade da pectina para formar um bom gel, sendo parâmetro para indicar as propriedades físicas ou funcionais das pectinas (WONG, 1995).

O percentual de grupos esterificados (DM ou DE) é mais comumente determinado por titulação (BOCHEK *et al.*, 2001) ou ligação com cobre, também usado para análise do teor de ácido galacturônico (CANTERI, 2010).

O grau de substituição de ésteres nas pectinas determina o mecanismo de formação de géis, sua conformação e suas propriedades reológicas. Pectinas com um alto grau de metoxilação (HM) podem geleificar a pH abaixo de 3,5. E também quando a atividade de água é reduzida pela adição de um co-soluto como sacarose até a concentração de 55% em massa. Géis de pectinas HM e açúcar são formados por uma combinação de efeitos hidrofóbicos e hidrofílicos.

Já as pectinas de baixa metoxilação (LM), formam géis por uma reação com cálcio chamada de mecanismo “egg-box”. Estes géis são afetados pelo tipo de soluto utilizado (açúcares) e pela temperatura. O soluto pode afetar a força do gel, bem como a taxa de desenvolvimento da estrutura (NORZIAH *et al.*, 2001).

### 3.5.2 Massa Molar e homogeneidade

A massa molar das pectinas pode ser variável de acordo com a fonte vegetal, matéria-prima e condições de extração, mas sua determinação é um desafio devido aos problemas de heterogeneidade e agregação, além da usual larga distribuição (SAKAI *et al.*, 1993; VORAGEN *et al.*, 1995).

Os valores citados na literatura para a massa molar das pectinas variam entre 20.000 g mol<sup>-1</sup> a 360.000 g mol<sup>-1</sup> e as amostras comerciais entre 35.000 g mol<sup>-1</sup> a 120.000 g mol<sup>-1</sup>. Em função da polimolecularidade das substâncias pécnicas, os valores médios podem diferir até de um fator de 10. Além dos fatores já citados, essa importante variação pode ser explicada pela utilização de métodos diferentes de extração ou determinação da massa molar (THIBAUT, 1980, CANTERI, 2010).

Para determinação da homogeneidade e da massa molar absoluta das pectinas uma técnica que vem sendo utilizada em indústrias de alimento é a Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão usando detectores de espalhamento de luz e índice de refração (HPSEC-MALLS) (CORREDIG, KER e WICKER, 2000). Além de sua eficiência na determinação de massa molar e conformação do polímero, não é necessário a utilização de padrões (CARCELLER e AUSSENAC, 2001; KLIEMANN, 2006).

---

Nessa cromatografia, uma dispersão com o polímero é carregada através de uma coluna recheada com um gel poroso, que permite a penetração de cadeias poliméricas e exclusão das cadeias maiores. Um pico simétrico de eluição é indicativo de homogeneidade (PAZUR, 1994). As cadeias de massa molar menor são eluídas em atraso com relação às cadeias de massa molar mais elevada. A escolha correta do tamanho e da distribuição dos poros do gel possibilita uma separação contínua de massas molares da amostra polimérica (CANEVAROLO JR, 2002).

### 3.5.3 Composição monossacarídica

Os monossacarídeos, obtidos a partir da hidrólise das ligações glicosídicas por ácidos fortes, podem ser quimicamente reduzidos com borohidreto e acetilados com anidrido acético, resultando em acetatos de alditol. Essas substâncias são voláteis em diferentes temperaturas e podem ser separadas pela cromatografia líquido/gás (GLC), utilizando uma coluna capilar adequada. Os derivados voláteis são arrastados através da coluna por um gás inerte para um detector. Com a utilização de gradiente de temperatura, os açúcares irão eluir em diferentes tempos e, a partir da comparação com o comportamento de padrões tratados similarmente, pode-se determinar a razão molar de cada açúcar na amostra original (CARPITA; McCANN, 2000; CANTERI, 2010).

Para determinação de açúcares neutros, a cromatografia a gás é preferível à líquida de alta pressão, devido a uma série de fatores. Além da sensibilidade, permitindo a análise de quantidades menores que nanomols de carboidratos, mostra-se menos susceptível a interferências, como de sais ou proteínas (CHAPLIN, 1994).

A determinação de ácidos urônicos é possível através de um método proposto em 1973 por Blumenkrantz e Asboe-Hansen. Esse método apresenta elevada sensibilidade e especificidade, com menor interferência por açúcares neutros como a glucose, a galactose, a xilose, a arabinose, a ramnose, a frutose ou componentes fenólicos (DONER, 1986; IBARZ *et al.*, 2006; CANTERI, 2010).

### 3.5.4 Propriedades reológicas

A reologia pode ser vista como a ciência da deformação e do escoamento da matéria, ou seja, é o estudo da maneira, segundo a qual os materiais respondem à aplicação

de uma determinada tensão ou deformação (TONELI *et al.*, 2005). A resistência de um fluido de massa molar contra qualquer mudança posicional de seu elemento volumétrico é responsável pela grandeza física conhecida por viscosidade (BIRD; LIGHTFOOT, 2004).

De uma maneira geral, os fluidos podem ser classificados reologicamente em Newtonianos e não-Newtonianos. Comportam-se como fluidos Newtonianos, todos os gases e todos os líquidos compostos de moléculas pequenas (até massas moleculares da ordem de 5000). Nos fluidos Newtonianos, há proporcionalidade entre tensão cisalhante e a taxa de cisalhamento e uma única determinação experimental é suficiente para definir o único parâmetro reológico (BIRD; LIGHTFOOT, 2004).

Os fluidos não-Newtonianos não apresentam uma relação linear entre a tensão cisalhante e a taxa de cisalhamento e, devido às interações entre seus componentes, os valores obtidos são considerados como viscosidade aparente.

O conhecimento do comportamento reológico das soluções de polissacarídeos é de fundamental importância no projeto, na avaliação e na modelagem de processos. Além disso, as propriedades reológicas são indicadores da qualidade do produto e desempenham um papel fundamental na análise das condições de escoamento em processos de alimentos como pasteurização, evaporação e secagem (MARCOTTE *et al.*, 2001; MORRIS, 1995; LAPASIN e PRICL, 1999).

Lapasin e Pricl (1999), em seu estudo sobre reologia de polissacarídeos industriais, ressaltam que o comportamento reológico dos materiais, pode ser afetado por uma série de fatores, tais como: mudanças na força iônica, na temperatura ou em outros parâmetros do solvente, estes, por sua vez, podem induzir uma transição conformacional, modificando a resistência hidrodinâmica da macromolécula ao escoamento. Além disso, se a concentração do polímero for suficientemente alta, as variações descritas acima podem promover mudanças estruturais em um nível supramolecular e, conseqüentemente, modificar o comportamento reológico (MORRIS, 1995; LAPASIN e PRICL, 1999).

Os polissacarídeos em soluções diluídas encontram-se na forma de espirais desordenadas e aleatórias, cuja forma flutua continuamente através do movimento Browniano. As propriedades apresentadas por essas soluções estão associadas ao grau de ocupação do espaço pelo polímero. Sob baixas concentrações, a solução é formada por ilhas de espirais que estão bem separadas umas das outras e completamente livres para se movimentarem de forma independente. Com o aumento da concentração, entretanto, as espirais começam a se tocar e pode haver a formação de moléculas adicionais pela sobreposição, ou pela acomodação de uma espiral na outra. Com a formação dessas

sobreposições, as cadeias individuais poderão se movimentar somente pelo processo de contorção através da rede emaranhada de cadeias vizinhas. O início do processo de sobreposição das espirais é determinado por dois fatores: o número de cadeias presentes (proporcional à concentração) e o volume que cada uma ocupa (associado à massa molecular) (MORRIS, 1995; LAPASIN e PRICL, 1999).

Um parâmetro conveniente para a caracterização do volume das espirais é a viscosidade intrínseca ou o número limite de viscosidade,  $[\eta]$ , que mede o aumento fracional na viscosidade por unidade de concentração de cadeias isoladas (MORRIS, 1995; LAPASIN e PRICL, 1999). Para qualquer polissacarídeo específico, a viscosidade intrínseca aumenta com a massa molecular.

### 3.5.5 Difração de Raios-X

A difratometria de raios-X corresponde a uma das principais técnicas de caracterização micro estrutural de materiais cristalinos. Sendo muito utilizada na investigação de estruturas poliméricas. O princípio da difração depende do fenômeno de interferência que ocorre quando uma onda em movimento é espalhada a partir de um número de centros e esses centros têm relação direta com os domínios cristalinos e amorfos presentes em sua estrutura (BILLMEYER Jr, 1984).

Os raios-X ao atingirem um material podem ser espalhados elasticamente, sem perda de energia pelos elétrons de um átomo. O fóton de raios-X após sua colisão com o elétron muda sua trajetória, mantendo, porém, a mesma fase e energia do fóton incidente. Sob o ponto de vista da física ondulatória, pode-se dizer que a onda eletromagnética é instantaneamente absorvida pelo elétron e reemitida. Caso os átomos que geram este espalhamento estejam arranjados de maneira sistemática, como em uma estrutura cristalina, apresentando entre eles distâncias próximas ao do comprimento de onda da radiação incidente, pode-se verificar que as relações de fase entre os espalhamentos tornam-se periódicas e que os efeitos da radiação de raios-X podem ser observados em vários ângulos.

Considerando-se dois ou mais planos de uma estrutura cristalina, as condições para que ocorra difração dos raios-X vão depender da diferença de caminho percorrido pelos raios-X e do comprimento de onda da radiação incidente.

---

Em uma estrutura cristalina com dois ou mais planos, as condições para que ocorra a difração de raios-X dependerão da diferença de caminho percorrido pelos raios-X e o comprimento de onda da radiação incidente. Esta condição se baseia nos princípios de Bragg (Equação 1), nos quais um cristal é apresentado como um conjunto de planos refletivos, com espaçamento uniforme, de onde os raios-X incidentes num ângulo teta são refletidos num mesmo ângulo teta (CARBINATTO, 2010).

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin\theta \quad (1)$$

Onde:  $n$  é um número inteiro;

$d$  é a distância entre os planos cristalinos (índice de Miller);

$\lambda$  é o comprimento de onda da radiação utilizada;

$\theta$  é o ângulo de incidência dos raios-X.

Desta forma, o estudo da estrutura interna de um material cristalino depende da radiação penetrante nesse material e dos efeitos de interferência resultantes do espalhamento provocado pela sua estrutura. Os raios-X têm poder de penetração e mostram os efeitos de interferência desde que eles tenham comprimento de onda da mesma ordem de magnitude do espaçamento entre os planos do cristal (BILLMEYER JR, 1984).

Os compostos sólidos são considerados cristalinos, amorfos ou com domínios cristalinos e amorfos (semicristalinos) e difratam facilmente a radiação X. Em difratogramas originados por polímeros é possível observar um acentuado halo amorfo e também partes bem definidas que correspondem aos domínios cristalinos, ou seja, às regiões ordenadas presentes na amostra (CANEVAROLO JR, 2004).

---

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

As amostras das cascas de maracujá amarelo utilizadas neste trabalho foram obtidas na Polpa Norte, indústria produtora de polpas de frutas, localizada na cidade de Japurá no Estado do Paraná tratando-se, portanto, de um resíduo gerado pela empresa. O material coletado na empresa foi congelado ( $-15 \pm 2$  °C) até o momento do uso. As amostras eram compostas do pericarpo da fruta, isto é, a parte integral das cascas. O material não passou por nenhum tipo de seleção prévia, sendo utilizado diretamente como foi gerado pela indústria.

Todos os reagentes utilizados tinham pureza analítica. A pectina cítrica comercial, utilizada para comparação, era da marca Vetec P.A., Brasil, com alto grau de metoxilação (HM).

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Preparo da matéria-prima

As cascas foram lavadas em água corrente para o seu degelo e submetidas a um processo de branqueamento, que visa à inativação enzimática. Para isto, as cascas foram imersas em água a temperatura de 97 °C durante 3 minutos, imediatamente depois, foram transferidas para outro banho com água à temperatura ambiente, sendo mantidas por 15 minutos.

Após a remoção do excesso de água, por prensagem em tecido de algodão, as cascas foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar a 50 °C até massa constante e trituradas em liquidificador até a obtenção de uma farinha com granulometria inferior a 495 µm, denominada FCM. As amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas em temperatura de congelamento ( $-15 \pm 2$  °C) até o momento do uso.

#### 4.2.2 Análises físico-químicas da matéria-prima

A determinação da umidade foi realizada por secagem direta em estufa a 105 °C, até massa constante. O teor de cinzas foi determinado por aquecimento em mufla a 550 °C. Ambas as análises foram realizadas em triplicata, segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz 012/IV e 018/IV (1985).

As análises de proteínas (N x 5,75), lipídeos e fibra bruta foram realizadas segundo metodologia descrita em AOAC, 16ª edição (1998), sendo os cálculos realizados em base úmida. Os carboidratos foram determinados pela diferença dos parâmetros mencionados acima.

#### 4.2.3 Metodologia para a extração de pectinas

As pectinas foram extraídas das cascas de maracujá amarelo através de dois métodos distintos: extrações realizadas em um sistema de condensação aquecido por banho termostático, denominado de método convencional e extrações efetuadas sob aquecimento em microondas. As metodologias são descritas abaixo.

##### *4.2.3.1 Extração de pectina pelo método convencional*

Este processo de extração foi realizado segundo a metodologia de Canteri (2010) com algumas modificações. A pectina foi extraída sob refluxo em um sistema de condensação. Adaptou-se a um balão de fundo redondo um banho termostático, um condensador de bolas e um termômetro.

Para cada extração foram preparadas separadamente 100 mL de uma suspensão contendo a farinha das cascas do maracujá (FCM), que posteriormente sofreu a adição de 100 mL de uma solução ácida com o pH ajustado de forma que a suspensão final (200 mL) apresentasse a concentração prescrita para o ensaio. Para o preparo da suspensão, foram adicionados ao balão de fundo redondo 4 g da farinha da casca do maracujá e 100 mL de água destilada, quando a suspensão de FCM e a solução ácida atingiram a temperatura desejada (70, 80 e 90 °C) a solução ácida foi adicionada ao balão contendo a amostra da FCM. Esta suspensão ácida final deveria apresentar razão sólido-líquido 1:50 (m/v).

Para a extração o sistema foi mantido na temperatura desejada durante o tempo estabelecido para o ensaio (10, 20 e 40 min). A suspensão, ainda quente, foi filtrada a vácuo em tecido sintético, o retido foi descartado e o filtrado, contendo as pectinas solúveis, foi resfriado em banho de gelo até 4 °C.

Para o isolamento da pectina solúvel, o extrato ácido líquido foi adicionado a dois volumes de álcool etílico absoluto (1:2 v/v), ambos a cerca de 4 °C. Para isto, a solução contendo as pectinas foi gotejada lentamente, sob agitação magnética, em um Becker contendo o álcool. Esta mistura foi agitada por 10 minutos e deixada em repouso por aproximadamente 30 minutos para permitir a flotação da pectina. A pectina foi separada por filtração a vácuo em filtro de papel. O gel foi imerso em álcool etílico absoluto por aproximadamente 12 horas, em seguida, foi parcialmente desidratado pela imersão em acetona por poucos minutos e conduzido à estufa de circulação a 40 °C até massa constante (cerca de cinco horas).

O processo de extração e isolamento da pectina está esquematizado na Figura 38A (ANEXO A).

#### *4.2.3.2 Extração de pectina sob aquecimento em microondas*

Este processo de extração foi realizado em um sistema composto de um Becker de 600 mL, parcialmente fechado por um vidro, que foi submetido a um aquecimento em forno de microondas da marca CCE, modelo M – 304.

Foram adicionados ao Becker de 600 mL, 4 g da farinha de cascas de maracujá e 100 mL de água destilada, posteriormente, adicionou-se 100 mL de uma solução ácida com concentração ajustada para que o pH final da suspensão fosse igual a 2. O Becker foi parcialmente fechado por um vidro relógio e levado ao aquecimento em microondas durante um período de tempo pré-determinado. Faz-se necessário um Becker com capacidade superior ao volume da suspensão devido ao fato de que há formação de bolhas e estas tendem a transbordar a superfície do recipiente.

Como o sistema de extração manteve-se parcialmente aberto, havia a evaporação gradativa do solvente. Com o intuito de manter a concentração da suspensão constante, a quantidade de água evaporada era repostada ao sistema. Para isto, construiu-se uma curva de evaporação de água versus tempo, e através desta, conhecíamos o volume de água perdido. Assim, em períodos de um ou dois minutos, o forno era desligado e a quantidade de água perdida rapidamente repostada ao sistema que retornava ao aquecimento. A suspensão ainda

quente era filtrada em tecido sintético e as etapas seguintes de purificação e isolamento seguem como a metodologia descrita no item 4.2.3.1.

As variáveis estudadas com efeito sobre o rendimento da extração foram: tipo de ácido (nítrico, acético ou tartárico), tempo de extração (3, 6 e 9 minutos) e a potência emitida pelo forno de microondas (627,9 e 355,8 W).

#### 4.2.4 Planejamento experimental

Para extrações realizadas através do processo convencional as seguintes variáveis foram avaliadas: pH da solução extratora, temperatura (T) e tempo de extração (te) para três tipos de ácidos: nítrico, acético e tartárico. Para avaliar a importância desses fatores e selecionar os significativos, utilizou-se um planejamento experimental cujo modelo é descrito por Box e Behnken (1960). Cada variável foi estudada em três níveis (-1, 0 e +1) e os experimentos foram realizados aleatoriamente. Este modelo foi escolhido por apresentar um uso eficiente de ensaios experimentais para experimentos fatoriais  $3^3$  (três fatores em três níveis). As variáveis e níveis utilizados para os ensaios e também a concentração de ácido correspondente aos valores de pH são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental e concentração de ácido correspondente aos valores de pH.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
pH	2,1	2,0	1,9
T (°C)	70	80	90
te (min)	10	20	40
	Concentração (mol/L)		
Nítrico	0,0079	0,010	0,013
Acético	3,60	5,71	9,07
Tartárico	0,069	0,11	0,17

T: temperatura; te: tempo de extração.

---

Para extrações sob aquecimento em microondas um planejamento fatorial completo foi utilizado para analisar o efeito da potência emitida pelo equipamento (627,9 W e 355,8 W) e do tempo de exposição (3, 6 e 9 minutos) sobre o rendimento de pectina.

Para comparação das médias aplicou-se o teste de Tukey com um nível de significância de 5%. Os dados foram analisados com auxílio do programa *Statistica 7.1*.

#### 4.2.5 Rendimento gravimétrico

O percentual de rendimento gravimétrico de pectina para cada extração foi calculado a partir da razão entre a massa da pectina desidratada e a massa da farinha utilizada como matéria-prima (CANTERI, 2010).

#### 4.2.6 Caracterização das pectinas

Amostras de pectina extraídas nas condições que geraram o maior rendimento para cada tipo de ácido e processo de extração analisado foram caracterizadas e comparadas à pectina cítrica comercial (Vetec) quanto ao teor de umidade, cinzas, grau de esterificação, composição monossacarídica, determinação da homogeneidade, viscosidade aparente e morfologia.

##### 4.2.6.1 Umidade

A determinação da umidade foi realizada por secagem direta em estufa a 105 °C, até massa constante. As análises foram realizadas em triplicata, segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz 012/IV, (1985).

##### 4.2.6.2 Cinzas

O teor de cinzas foi determinado por aquecimento em mufla a 550°C. As análises foram realizadas em triplicata, segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz 018/IV, (1985).

##### 4.2.6.3 Determinação do grau de esterificação (DE)

O DE foi determinado por titulação potenciométrica pelo método proposto por Bocek; Zabivalova; Petropavlovskii (2001). Amostras de pectina seca (0,5 g) foram solubilizadas em 50 mL de água destilada, para isto, a amostra permaneceu sob agitação magnética a 40 °C por aproximadamente uma hora e posteriormente, em um recipiente hermeticamente fechado, permaneceu em estufa a 40 °C por cerca de 12 horas (*overnight*), até sua completa dissolução. Esta solução foi titulada com NaOH 0,05 N, em presença de fenolftaleína, sendo o volume gasto registrado como inicial ( $V_1$ ).

Um processo de saponificação foi realizado pela adição de 10 mL de NaOH 0,05 N, seguido de agitação magnética por trinta minutos. Esta solução foi posteriormente neutralizada pela adição de 10 mL de HCl 0,05 N. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,05 N e o resultado registrado como volume final ( $V_2$ ).

As soluções de NaOH e HCl foram devidamente fatoradas e preparadas imediatamente antes da realização da análise, já que apresentam baixa estabilidade. Para evitar a grande variação de resultados observada numa mesma amostra analisada em diferentes períodos, uma amostra de pectina cítrica comercial com grau de esterificação conhecido (Vetec), foi utilizada para calcular um fator de correção para calibração dos resultados, a cada vez que uma nova determinação era feita.

O DE em porcentagem foi calculado através da equação 1.

$$DE = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \cdot 100 \quad (1)$$

#### 4.2.6.4 Determinação da Composição monossacarídica

Esta análise foi realizada pelo departamento de bioquímica e biologia molecular da Universidade Federal do Paraná em colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz.

##### *Monossacarídeos neutros*

Para determinação da composição monossacarídica das frações em termos de açúcares neutros as amostras foram hidrolisadas com ácido trifluoracético 2 M, durante 5 h a 100 °C. Ao término da hidrólise o excesso de ácido foi removido por evaporação (BIERMANN, 1989). Após a hidrólise ácida total, os monossacarídeos foram solubilizados em água destilada e reduzidos pela adição de cerca de 10 mg de boroidreto de sódio por

16h a 4 °C (WOLFROM; THOMPSON, 1963b). Posteriormente, foi adicionado resina catiônica fortemente ácida para remoção dos ions Na<sup>+</sup>. As soluções foram filtradas e o solvente evaporado a vácuo. Adicionou-se 1 mL de metanol para remoção do ácido bórico e o borato de metila formado foi evaporado a vácuo. Este processo foi repetido por três vezes. Os alditóis formados foram acetilados pela adição de 0,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de piridina, em tubos vedados, permanecendo durante 12 horas à temperatura ambiente (WOLFROM; THOMPSON, 1963a). A reação foi interrompida pela adição de gelo, sendo a seguir procedida a extração dos acetato de alditóis, através da adição de clorofórmio e posterior eliminação de piridina em tratamentos sucessivos com sulfato de cobre 5% e água destilada. Após a evaporação do solvente, os acetatos de alditóis formados foram submetidos a cromatografia líquido-gasosa (GLC) para determinação da composição dos monossacarídeos neutros.

Os acetatos de alditóis resultantes foram analisados por GLC usando um cromatógrafo Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation) equipado com uma coluna capilar DB-225 (0,25mm x 30m). As temperaturas do injetor e do detector por ionização de chama (FID) foram de 250 °C e 300 °C, respectivamente. A temperatura do forno foi programada de 100 °C a 215 °C a uma taxa de aquecimento de 40 °C/min. Hélio foi utilizado como gás de arraste, a um fluxo de 1,0 mL/min.

#### *Monossacarídeos ácidos*

A dosagem de ácidos urônicos foi realizada pelo método de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973), tendo como solução padrão ácido galacturônico nas concentrações de 10-100 µg/mL e leitura em 520 nm. As análises foram realizadas em quadruplicata.

#### *4.2.6.5 Determinação da homogeneidade*

As amostras foram analisadas por cromatografia de exclusão estérica acoplada a detector de espalhamento de luz laser de multiângulos e detector diferencial de índice de refração (HPSEC-MALLS/RI). As análises foram realizadas em um equipamento constituído por uma bomba HPLC (Waters 515), injetor, 4 colunas de ultrahydrogel – 120, 250, 500 e 2000 – com limites de exclusão  $5.10^3$ ,  $8.10^4$ ,  $4.10^5$  e  $7.10^6$  respectivamente, DAWN DSP Light Scattering (Wyatt Technology) e um detector de índice de refração diferencial modelo 2410 (Waters). O eluente utilizado foi uma solução de NaNO<sub>2</sub> 0,1 M contendo 200 ppm de NaN<sub>3</sub>. As amostras foram solubilizadas na concentração de 1,5 m/m

na solução do eluente. Antes das análises as amostras foram filtradas em membranas de acetato de celulose com poro de 0,22  $\mu\text{m}$ . Esta análise foi realizada no departamento de bioquímica e biologia molecular da Universidade Federal do Paraná em colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz.

#### 4.2.6.6 Viscosidade aparente

A caracterização reológica das pectinas foi realizada segundo a metodologia adotada por Kliemann (2006). As dispersões foram preparadas pela dissolução da pectina, na concentração de 1 g/L, em água destilada contendo cloreto de sódio 0,155 M. A utilização de água salina é necessária para que a força iônica total da dispersão seja mantida constante durante a diluição (THIBAUT *et al.*, 1991).

Os reogramas foram obtidos em reômetro rotacional (Brookfield Engineering Laboratories, model RVDV III ULTRA), com cilindros concêntricos, utilizando um sensor SC4-18, variando-se a taxa de deformação até 300  $\text{s}^{-1}$ . A temperatura foi mantida constante (30  $^{\circ}\text{C}$  +/- 2  $^{\circ}\text{C}$ ) e as amostras foram mantidas em repouso por cerca de 10 minutos para relaxamento e perda de histórico de cisalhamento. As medidas foram realizadas em triplicata. A viscosidade aparente foi obtida da razão da tensão de cisalhamento (Pascal) pela taxa de deformação ( $\text{s}^{-1}$ ). Os dados foram coletados pelo software Rheocalc (R) 32 (edição 2.5) e os reogramas foram construídos através do programa Excel.

#### 4.2.6.7 Difração de Raios-X

Amostras de pectina desidratadas foram submetidas à difração de raios-X. A análise foi realizada em difratômetro da marca Shimadzu - modelo D 6000, com fonte de íons cobre 40 kV e 35 mA. Os parâmetros utilizados foram: ângulo ( $2\theta$ ) entre 5 e 50  $^{\circ}$ ; passo de 0,015  $^{\circ}$ ; tempo/ passo de 10 s; e velocidade de 0,0015  $^{\circ}/\text{s}$ .

#### 4.2.6.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para visualização da morfologia das amostras de pectina desidratada, utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura Shimadzu SS – 550, Superscan, software Superscan SS-550. As amostras foram aderidas em um suporte com a utilização de uma fita dupla-face condutora de carbono e posteriormente metalizadas com ouro para garantir a condutividade elétrica de sua superfície de observação.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO

#### 5.1.1 Aspectos Visuais

A Figura 8 ilustra (na esquerda) o aspecto visual das cascas de maracujá utilizadas como matéria-prima para as extrações, este material é um resíduo gerado por uma indústria produtora de suco. Do lado direito da imagem podemos observar a aparência final da farinha de cascas, produzida por secagem em estufa, moagem e posterior peneiramento (granulometria inferior a 495  $\mu\text{m}$ ).

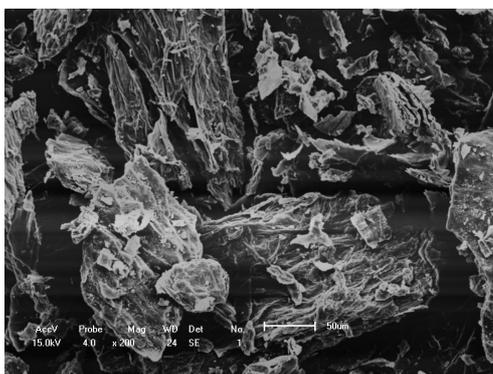


**Figura 8** – Aspectos visuais das cascas de maracujá e da farinha de cascas (FCM) que foram utilizadas como matéria-prima para as extrações.

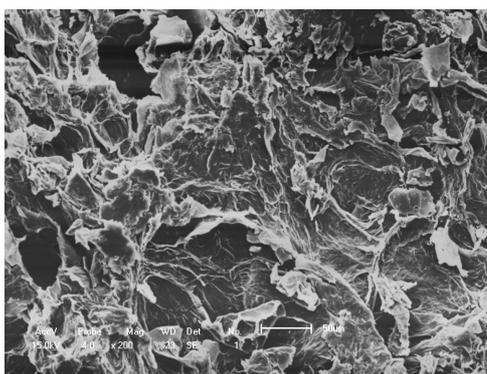
As Figuras 9, 10 e 11 representam as imagens de microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá antes e após sofrerem o processo de extração ácida, através da metodologia convencional e por aquecimento em microondas, respectivamente.

Como podemos observar ambos os processos de extração promovem um aumento da porosidade do material. No entanto se compararmos as Figuras 10 e 11 percebe-se que o aquecimento sob microondas proporcionou um considerável aumento na porosidade capilar das cascas de maracujá. Resultado do aumento da temperatura e pressão no interior do tecido do fruto, gerado pelo aquecimento sob microondas. Dessa forma, o material fica superficialmente mais exposto, facilitando com isto, a extração de pectina.

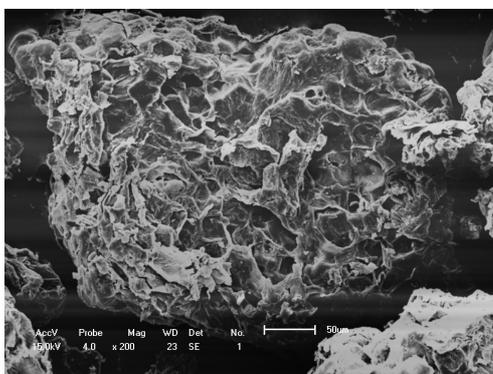
Kratchanova *et al.* (2004), também observaram este comportamento ao estudarem a extração de pectina de cascas de laranja sob aquecimento em microondas, os autores concluíram que este aquecimento causou a ruptura das células parênquimais do material. Sendo que o dano ao tecido da planta aumentou com o aumento na intensidade do campo de microondas, que foi expressa pelo aumento dos espaços intracelulares.



**Figura 9** – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá (ampliação de 200 X).



**Figura 10** – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá após o processo de extração convencional de pectina (ampliação de 200 X).



**Figura 11** – Microscopia eletrônica de varredura para a farinha de cascas de maracujá após o processo de extração de pectina por aquecimento em microondas (ampliação de 200 X).

### 5.1.2 Composição centesimal da farinha de cascas de maracujá

Os resultados obtidos na determinação da composição centesimal da farinha de cascas de maracujá estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** – Composição química da farinha de cascas de maracujá.

<b>Componentes</b>	<b>(%)</b>
Umidade	9,8
Cinzas	4,0
Lipídeos	1,07
Proteína (N x 5,75)	6,46
Fibra bruta	50,98
Carboidratos	27,69

Os resultados encontrados para a composição centesimal da farinha de cascas de maracujá estão de acordo com os obtidos por Kliemann (2006), Rovares (2007), Martins, Guimarães e Pontes (1985) e Oliveira *et al.* (2002). Sendo que certas variações são aceitáveis, já que dependem principalmente do estágio de maturação do fruto, tendo em vista que o amadurecimento do fruto leva à perda de umidade, o que acarreta a concentração dos demais constituintes, além de outros fatores, tais como o lugar de plantio e as condições genéticas da planta (GARCIA e FARINAS, 1975).

O teor de umidade da farinha da casca de maracujá encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estipula o máximo de 15% (m/m) de umidade para farinhas (BRASIL, 2005). O baixo teor de umidade garante que o material possua boa estabilidade física e química até o momento do uso.

Os valores de cinzas (4,0 %) encontrados nas amostras, segundo Kliemann (2006), indicam o produto como boa fonte de minerais, se comparado a outras farinhas comerciais, como farinha de trigo - 0,68 %, fubá de milho amarelo - 0,71 % (GUILHERME e JOKL, 2005), farinha de mandioca – 1,2 % e farinha de arroz – 0,6 % (IBGE, 1999).

As amostras de farinha das cascas apresentaram um alto teor de fibra bruta (50,98%). Gomes (2004) encontrou 79,77% de fibras alimentares totais na farinha da casca de maracujá amarelo, Kliemann (2006) encontrou 64,8% em amostras de farinha da casca do maracujá com flavedo e Pinheiro (2007) obteve 57,36% de fibras totais.

A pectina trata-se de uma fibra solúvel, assim, o seu teor está contabilizado na porcentagem de carboidratos. O alto valor encontrado (27,69%) demonstra o potencial desse subproduto cascas de maracujá como matéria-prima para extração de pectina.

## 5.2 EXTRAÇÃO

### 5.2.1 Extração através da metodologia convencional

O processo de extração de pectina é afetado por muitos fatores, entre eles estão: a temperatura, o tempo de extração e o tipo de ácido utilizado. Para avaliar a significância destes efeitos no rendimento de pectina foi utilizada a metodologia de superfície de resposta através de um planejamento experimental descrito por Box Bhenken. A resposta (rendimento) foi submetida à regressão não linear múltipla para obtenção de um modelo polinomial de segunda ordem.

O planejamento e os rendimentos obtidos para os três ácidos estão apresentados na Tabela 4.

Os valores dos coeficientes dos modelos de regressão para os ácidos acético, tartárico e nítrico são apresentados na Tabela B11 (ANEXO B). O teste t-Student foi realizado com 16 graus de liberdade e um nível de significância de 5%.

As equações 2, 3 e 4 representam os modelos construídos para o rendimento de pectina a partir das extrações realizadas com os ácidos tartárico, nítrico e acético, respectivamente. As Figuras 12, 13 e 14 ilustram as superfícies de resposta obtidas a partir destes modelos de regressão para os correspondentes ácidos. A qualidade do ajuste da equação do modelo polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação  $R^2$ , cujos valores são: para o ácido tartárico 0,79; acético 0,97 e nítrico 0,98. Os quais indicam que o modelo representou satisfatoriamente, para os dois últimos ácidos, a relação entre os parâmetros analisados.

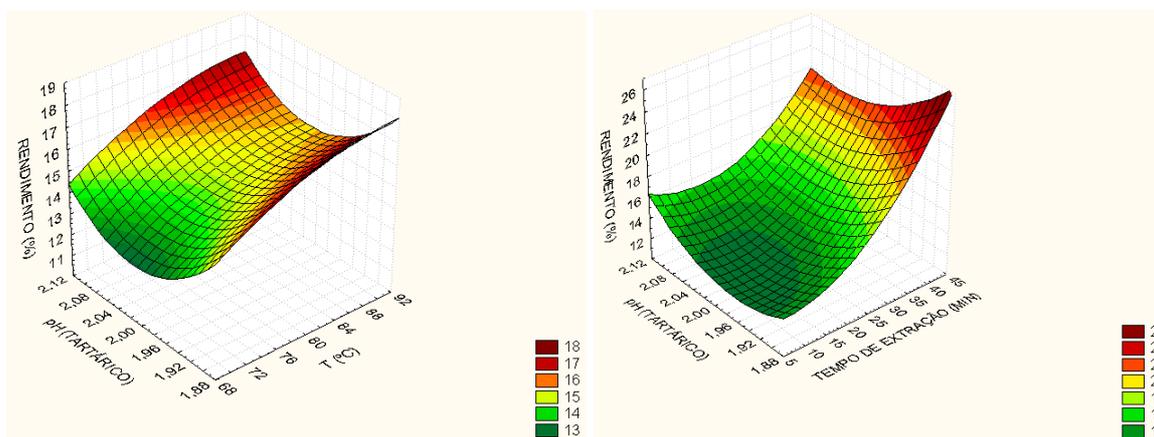
**Tabela 4** – Planejamento experimental e rendimento de pectina, extraída pelo processo convencional a partir das cascas do maracujá amarelo utilizando os ácidos: Acético, Tartárico e Nítrico.

Variáveis			Rendimento (%)		
pH	T (°C)	te (min)	Ácido Acético	Ácido Tartárico	Ácido Nítrico
2,1	70	20	7,88	13,58	10,10
2,1	90	20	10,70	15,92	11,78
1,9	70	20	6,80	12,99	9,47
1,9	90	20	8,95	15,32	14,10
2,1	80	10	7,79	13,38	9,90
2,1	80	40	10,05	19,77	13,30
1,9	80	10	7,17	13,16	9,98
1,9	80	40	9,10	24,18	12,65
2,0	70	10	6,24	10,78	7,89
2,0	70	40	9,33	18,17	12,90
2,0	90	10	8,40	14,62	11,20
2,0	90	40	10,02	19,04	12,94
2,0	80	20	6,56	12,92	9,20
2,0	80	20	6,67	13,02	9,00
2,0	80	20	6,00	12,94	8,89

te: Tempo de extração

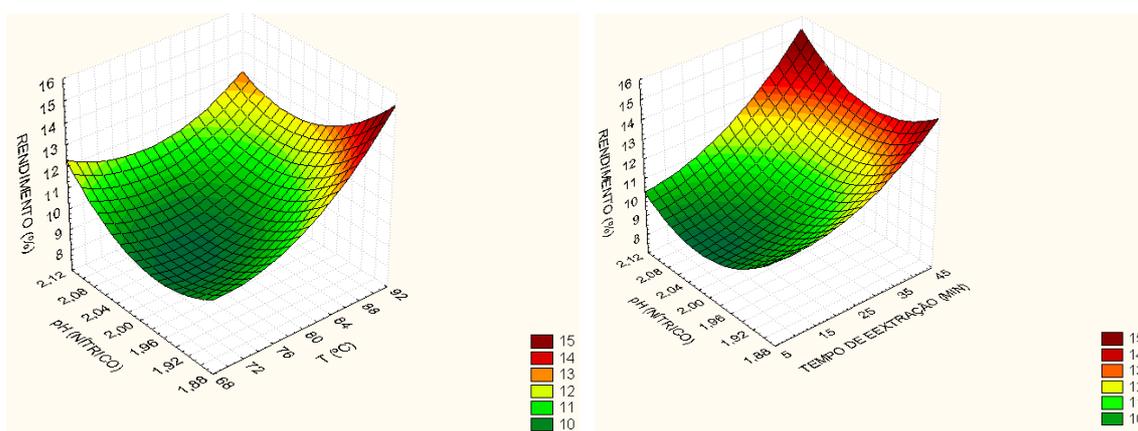
Para extrações com os ácido tartárico e nítrico o pH e o tempo de extração foram as variáveis que afetaram significativamente o rendimento da extração. O pH mostrou ser a variável de maior importância para estes sistemas, sendo que o rendimento da extração é favorecido à medida que o valor do pH diminui e o tempo de extração aumenta. A temperatura não afetou o modelo ao nível de significância considerado, no entanto, é possível perceber através da superfície de resposta gerada um aumento no rendimento em temperaturas mais elevadas.

$$\text{Rendimento (\%)} = 641,28 - 676,82 \text{ pH}_{\text{tartárico}} + 173,13 \text{ pH}_{\text{tartárico}}^2 + 0,009 \text{ te}^2 \quad (2)$$



**Figura 12** – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido tartárico.

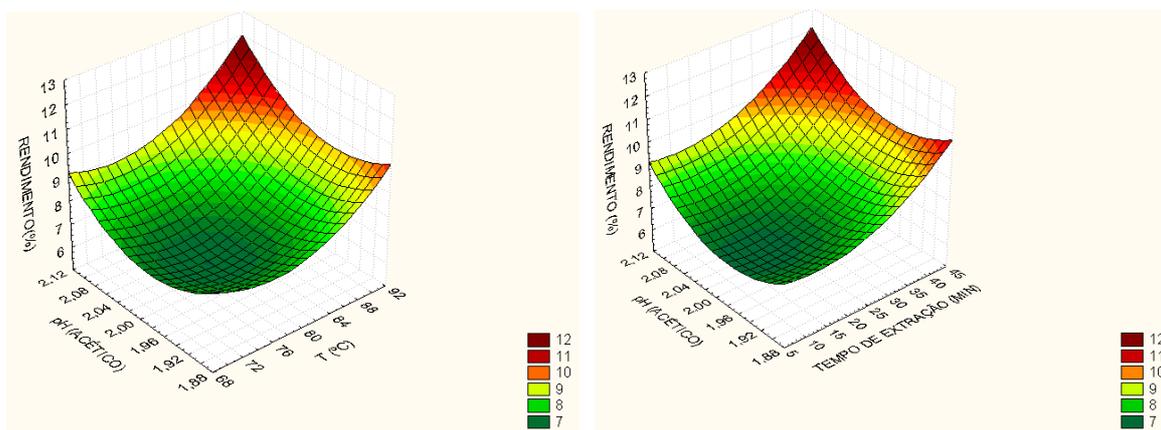
$$\text{Rendimento (\%)} = 459,98 - 457,83 \text{ pH}_{\text{nítrico}} + 127,88 \text{ pH}_{\text{nítrico}}^2 + 0,003 \text{ t}^2 \quad (3)$$



**Figura 13** – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido nítrico.

Para o ácido acético, pode-se concluir através das superfícies obtidas que todas as variáveis estudadas mostraram-se importantes para o modelo. Novamente o pH foi a variável que apresentou maior significância, no entanto, para este caso o rendimento é favorecido a partir do aumento do pH, ou seja, da diminuição da concentração de ácido. Melhores rendimentos são obtidos a temperaturas e tempos de extração mais elevados.

$$\text{Rendimento (\%)} = 519,57 - 448,83 \text{ pH}_{\text{acético}} + 110,13 \text{ pH}_{\text{acético}}^2 - 1,89 \text{ T} + 0,011 \text{ T}^2 + 0,003 \text{ t}^2 \quad (4)$$



**Figura 14** – Superfície de resposta para o rendimento gravimétrico de pectina para extrações realizadas com ácido acético.

Dentre os ácidos estudados o tartárico foi o melhor agente extrator. Estes resultados estão de acordo com Kliemann (2006) que ao comparar os ácidos cítrico, clorídrico e nítrico, também concluiu que o ácido orgânico foi o melhor agente extrator com um rendimento de 70% (pH 1,2, 90° C e 10 minutos). Pinheiro (2007) encontrou um rendimento de 27,4% para extrações realizadas com ácido cítrico (0,086% ácido, 97 °C, 60 minutos). Yapo e Koffi (2006) obtiveram 13,4% de rendimento para extrações realizadas com ácido nítrico. Canteri (2010) encontrou um rendimento de 11% para extração de pectina com ácido nítrico (50 mM, 80° C e 20 minutos) do pericarpo do maracujá.

Os menores rendimentos foram obtidos para extrações realizadas com ácido acético, provavelmente por este se tratar de um ácido extremamente fraco (constante de dissociação =  $1,74 \times 10^{-5}$ ). A pectina obtida ainda apresentou o odor residual do ácido.

Com isto, a utilização do ácido tartárico em substituição aos ácidos fortes atualmente utilizados mostra-se bastante eficiente, do ponto de vista do rendimento da extração, visto que 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).

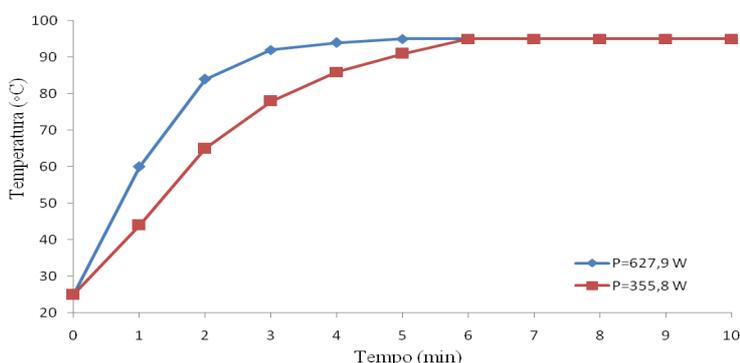
### 5.2.2 Extração de pectina sob aquecimento em microondas

Um planejamento experimental fatorial completo foi utilizado para analisar o efeito da potência emitida pelo equipamento (627,9 W e 355,8 W) e do tempo de exposição (3, 6 e 9 minutos) sobre o rendimento de pectina. O pH da solução foi mantido constante (2,0) para os três tipos de ácidos estudados.

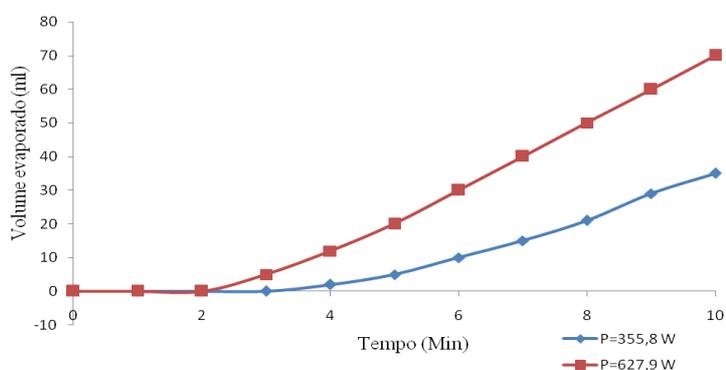
Primeiramente, para estudar o processo de extração de pectina por aquecimento em microondas, construíram-se curvas de evaporação do solvente e da temperatura do sistema versus o tempo para as duas potências utilizadas (627,9 W e 355,8 W). As curvas estão representadas nas Figuras 15 e 16, respectivamente.

Como é possível observar através da Figura 15, a temperatura do sistema de extração estabilizou-se em 95 °C após 4 minutos de aquecimento para a potência de 627,9 W e após 6 minutos para a potência de 355,8 W.

Como o sistema de extração foi mantido parcialmente aberto, foi necessário fazer-se a reposição da água perdida pelo processo de evaporação, de modo que a concentração do sistema se mantivesse aproximadamente constante. Para isto, utilizou-se a curva de evaporação ilustrada na Figura 16. Nota-se que a quantidade de solvente evaporado da solução extratora, para ambas as potências testadas, é expressiva. Se não houvesse a reposição da água, após 9 minutos de aquecimento o sistema haveria perdido aproximadamente 70 mL para o aquecimento sob 627,9 W de potência, e cerca de 35 mL para o aquecimento sob 355,8 W de potência.



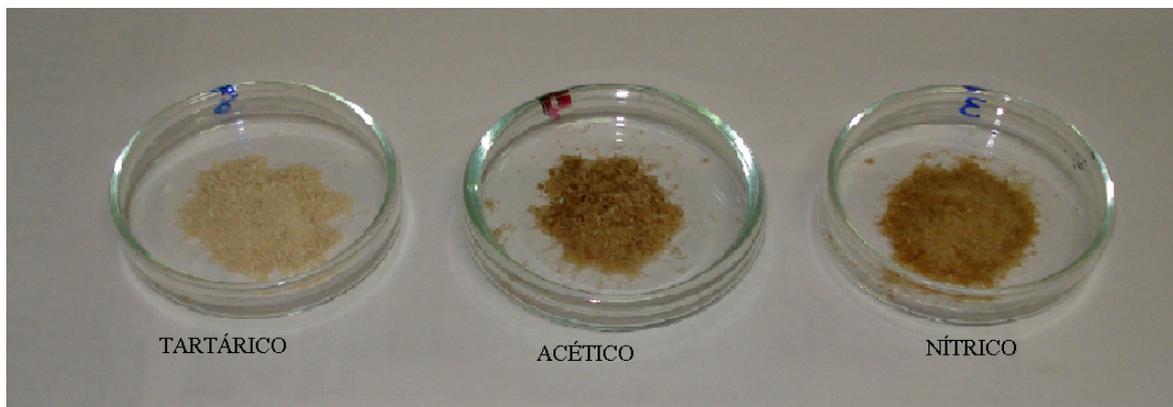
**Figura 15** – Curva da temperatura versus tempo para o sistema de reação quando submetido ao aquecimento em microondas sob potências de 627,9 W e 355,8 W.



**Figura 16** – Curva de evaporação do solvente para o sistema de reação quando submetido ao aquecimento em microondas sob potências de 627,9 e 355,8 W.

O planejamento experimental e os rendimentos médios obtidos para os ensaios de extração com os três tipos de ácido estão apresentados na Tabela 5.

Da composição centesimal da farinha das cascas do maracujá previamente determinada, sabemos que a porcentagem de carboidratos encontrada nas cascas de maracujá foi de 27,69%, como a pectina é uma fibra solúvel, sua contribuição total à casca do maracujá deve estar inserida neste percentual. No entanto, encontramos valores de rendimento, para extrações com ácido tartárico, superiores a este valor (42,41% > 27,69%), indicando que a pectina extraída pode estar impregnada pelo sal tartarato. Este sal possui coloração branca, sendo que a pectina apresentou-se com o mesmo aspecto de cor, como se pode observar através da Figura 17, onde é comparada a aparência da pectina extraída com os diferentes tipos de ácidos.



**Figura 17** – Aspectos visuais das pectinas extraídas das cascas do maracujá amarelo com diferentes tipos de ácido.

Com o intuito de quantificar o sal presente na pectina, e corrigir os valores de rendimento encontrados, amostras foram submetidas à diálise. Encontrou-se que em média 40% da massa da pectina é composta pelo sal tartarato. Os resultados de rendimento real foram então corrigidos por este fator.

Dentre os ácidos analisados, os ácidos orgânicos originaram rendimentos superiores se comparados ao do ácido forte. Novamente o ácido tartárico foi o melhor agente extrator em termos de rendimento.

Os maiores rendimentos foram obtidos quando a maior intensidade de campo e o maior tempo de exposição foram utilizados. Este comportamento também foi observado por Kratchanova *et al.* (2004) ao estudarem a extração de pectina de cascas de laranja.

**Tabela 5** – Rendimento de pectina obtido para extrações realizadas com três diferentes ácidos (pH = 2,0) sob aquecimento em microondas.

Potência (W)	te(min)	Rendimento (%)			
		Nítrico	Acético	Tartárico	
				Real	Corrigido(40%)
627,9	3	9,15 <sup>a</sup>	11,41 <sup>a</sup>	22,33	15,95 <sup>a</sup>
627,9	6	11,83 <sup>b</sup>	12,71 <sup>b</sup>	23,55	16,82 <sup>b</sup>
627,9	9	13,01 <sup>c</sup>	12,91 <sup>c</sup>	42,41	30,29 <sup>c</sup>
355,8	3	9,05 <sup>d</sup>	9,43 <sup>d</sup>	21,45	15,32 <sup>d</sup>
355,8	6	9,30 <sup>e</sup>	11,25 <sup>e</sup>	22,58	16,13 <sup>e</sup>
355,8	9	9,90 <sup>f</sup>	12,73 <sup>b</sup>	25,47	18,19 <sup>f</sup>

te: tempo de extração. Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) obtidas através do Teste de Tukey.

Se compararmos os dois processos de extração analisados neste trabalho, o aquecimento através de microondas proporcionou um considerável aumento no rendimento de pectina obtido para os ácidos orgânicos. Este comportamento pode ser explicado por mudanças que ocorrem no tecido da planta quando submetidos às microondas. A energia do campo eletromagnético é convertida em calor, principalmente em substâncias polares. Como resultado há uma intensa formação de vapores no interior na estrutura capilar porosa do material vegetal, aumentando a pressão interna e modificando suas propriedades físicas (KRATCHANOVA *et al.*, 2004). Este comportamento foi confirmado pelas imagens de microscópicas das cascas de maracujá após sofrerem o processo de extração (Figura 11).

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DA PECTINA

Amostras de pectina, extraídas sob as condições que geraram o maior rendimento, para os três tipos de ácido e para as duas metodologias de extração utilizadas (sumarizadas na Tabela 6) foram caracterizadas, e comparadas com a pectina cítrica comercial (Vetec) quanto à sua composição química, grau de esterificação, morfologia, comportamento reológico e homogeneidade.

**Tabela 6** – Condições de extração que geraram o maior rendimento para cada tipo de ácido e processo de extração.

<b>Convencional</b>	<b>pH</b>	<b>T (°C)</b>	<b>te (min)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Tartárico	1,9	80	40	24,18
Nítrico	1,9	90	20	14,10
Acético	2,1	90	20	10,70
<b>Microondas</b>	<b>pH</b>	<b>P (W)</b>	<b>te (min)</b>	
Tartárico	2,0	627,9	9	30,29
Nítrico	2,0	627,9	9	13,01
Acético	2,0	627,9	9	12,91

Os teores de umidade, cinzas e grau de esterificação estão apresentados na Tabela 7.

O conteúdo de umidade das pectinas extraídas com ácidos nítrico, acético e tartárico apresentaram-se superiores quando comparados à pectina cítrica comercial. Kliemann (2006) encontrou valores de umidade entre 6,07 e 13,28% para pectina extraída das cascas do maracujá com os ácidos nítrico, clorídrico e cítrico. Os valores encontrados neste trabalho foram levemente superiores. No entanto, os teores de umidade podem variar de acordo com as condições de extração.

**Tabela 7** – Composição e grau de esterificação das pectinas extraídas com diferentes ácidos nos processos convencionais e com microondas, comparadas com a pectina cítrica comercial.

<b>Composição (%)</b>	<b>Pectina extraída pelo processo convencional</b>			<b>Pectina extraída sob aquecimento em microondas</b>			<b>Pectina comercial</b>
	<b>Tartárico</b>	<b>Nítrico</b>	<b>Acético</b>	<b>Tartárico</b>	<b>Nítrico</b>	<b>Acético</b>	
Umidade	13,25 (±0,14)	11,75 (±0,21)	15,30 (±0,11)	11,05 (±0,20)	12,97 (±0,30)	15,70 (±0,19)	6,85 (±0,21)
Cinzas	4,98 (±0,04)	2,01 (±0,03)	1,99 (±0,06)	5,12 (±0,02)	2,35 (±0,02)	2,02 (±0,02)	1,25 (±0,08)
DE	44,20 (±0,98)	58,50 (±1,35)	61,90 (±1,70)	50,00 (±1,48)	64,15 (±1,65)	64,56 (±1,90)	70,0 (±0,55)

Média (± desvio padrão) (3 repetições).

Os teores de cinzas das amostras de pectina extraídas apresentaram-se superiores ao da amostra comercial. Esses valores estão de acordo com os obtidos por Kliemann (2006) de 2,16 a 3,05%. O baixo teor de cinzas encontrado é um bom indicativo da pureza da amostra, pois pode afetar a habilidade da pectina em formar gel (KAR e ARSLAN, 1999). Pode-se observar que o conteúdo de cinzas da pectina extraída com ácido tartárico é superior aos demais. Este resultado se deve ao fato de que alguns ácidos possuem maior habilidade em solubilizar minerais. Assim, o mineral solubilizado pode ser precipitado com a pectina durante a etapa de lavagem com etanol.

Os valores do grau de esterificação das pectinas mantiveram-se na faixa de 44 a 64%, inferiores à porcentagem da pectina cítrica comercial. Com exceção da pectina extraída com ácido tartárico, de acordo com a classificação comercial, as pectinas obtidas apresentaram alto grau de esterificação (acima de 50%), sendo consideradas de grande interesse econômico. Embora pectinas de baixo grau de esterificação possuam aplicações como agentes geleificantes, sua utilização é limitada.

Esses resultados concordam com os encontrados por Pinheiro *et al.* (2007) e Yapo (2009b), com valores entre 52 e 73%, em extração com ácido cítrico ou suco de limão, respectivamente. Canteri (2010) obteve um DE médio de 68% para pectina extraída do mesocarpo do maracujá com ácido nítrico. Kliemann (2006) obteve, ao extrair pectina das cascas de maracujá com ácido cítrico (90 °C, 10 min e pH 1,2), um grau de esterificação de 45,94 %.

Segundo Levigne, Ralet e Thibault (2002), as condições de extração, bem como a matéria-prima utilizada influenciam não somente o rendimento de pectina, mas também a estrutura química do produto final. O processo de extração por aquecimento em microondas produziu pectinas com DE superior se comparadas às obtidas pelo método convencional. Resultado da menor degradação da molécula obtida através de um aquecimento rápido e menos prolongado.

### 5.3.1 Determinação da Composição monossacarídica

As composições monossacarídicas das pectinas extraídas com diferentes ácidos nos processos convencionais e com microondas, comparadas com a pectina cítrica comercial estão apresentadas na Tabela 8.

O perfil de açúcares neutros das pectinas foi afetado pelo método de extração e pelo tipo de ácido utilizado. A amostra comercial apresentou altos teores de galactose e glucose e valores inferiores dos outros monossacarídeos neutros comparativamente às amostras obtidas experimentalmente. Estes resultados concordam com a pesquisa de Kjoniksen *et al.* (2005), que afirmam que a quantidade de açúcares neutros é modificada dependendo da matéria-prima utilizada e do método de extração.

Os principais açúcares presentes nas pectinas extraídas foram ramnose, arabinose, galactose e glucose. Estando de acordo com o estudo de Yapo e colaboradores (2006) que também encontraram estes açúcares neutros em predominância. A razão molar entre ácido urônico e ramnose (AU/Rha), um indicador da proporção dos blocos no polímero, permaneceu entre 19,53 e 34,63, para extrações com o ácido nítrico e acético. De acordo com dados recentemente publicados (14-35) para casca de maracujá-amarelo (YAPO, 2009a), sugerindo que essas amostras de pectina consistem principalmente de regiões lineares de ácido galacturônico (CANTERI, 2010). O teor de açúcares para amostras extraídas com ácido tartárico foi superior aos encontrados para os outros casos, isso pode indiretamente indicar a hidrólise da cadeia de homogalacturonana pela ação do ácido reduzindo a quantidade relativa de ácido galacturônico, já que esses açúcares neutros são constituintes das cadeias laterais.

A quantidade média de ácidos urônicos permaneceu entre 54,3 e 83,1%. Resultados similares aos encontrados por Yapo (2009b) de 63,8% a 78,3% em pectina de casca de maracujá, extraída com ácido nítrico a 80 °C, por 90 minutos numa razão sólido/líquido de 1:25. Segundo estabelece a legislação dos Estados Unidos e União Européia (FAO-UE) há o limite de 65% de ácidos poligalacturônicos para que um polissacarídeo extraído seja considerado pectina (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). Dessa maneira, enquadraram-se na legislação as pectinas extraídas com ácido nítrico (para ambos os processos de extração analisados) e ácido acético (extração sob aquecimento em microondas). Valores inferiores ao padrão de exigência norte-americano e europeu foram encontrados para a pectina cítrica comercial e também para pectina extraída com ácido tartárico e acético (processo convencional).

**Tabela 8** – Composição monossacarídica das pectinas extraídas com diferentes ácidos nos processos convencionais e com microondas, comparadas com a pectina cítrica comercial.

Composição (%)	Pectina extraída pelo processo convencional			Pectina extraída sob aquecimento em microondas			Pectina comercial
	Tartárico	Nítrico	Acético	Tartárico	Nítrico	Acético	
Rha	6,8	2,4	3,2	5,9	2,6	4,0	2,3
Fuc	0,7	0,2	0,3	0,6	0,3	0,5	0,1
Ara	11,2	1,9	4,9	8,1	4,1	9,5	5,0
Xyl	3,1	1,1	1,4	2,5	1,6	2,5	0,4
Man	2,1	0,8	0,7	1,7	0,7	1,8	0,7
Gal	10,6	5,0	4,1	9,2	3,6	6,8	9,4
Glc	11,0	5,5	4,9	13,5	4,8	12,4	26,1
AU <sup>a</sup>	54,3	83,1	62,5	58,5	82,3	80,5	56,0

Acúcares neutros: derivados de acetatos de alditóis analisados por GLC (Rha- ramnose; Fuc- fucose; Ara- arabinose; Xyl- Xilose; Man,-Manose; Gal- galactose; Glc,-glucose). <sup>a</sup> AU- ácido urônico, determinado por Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973) (%).

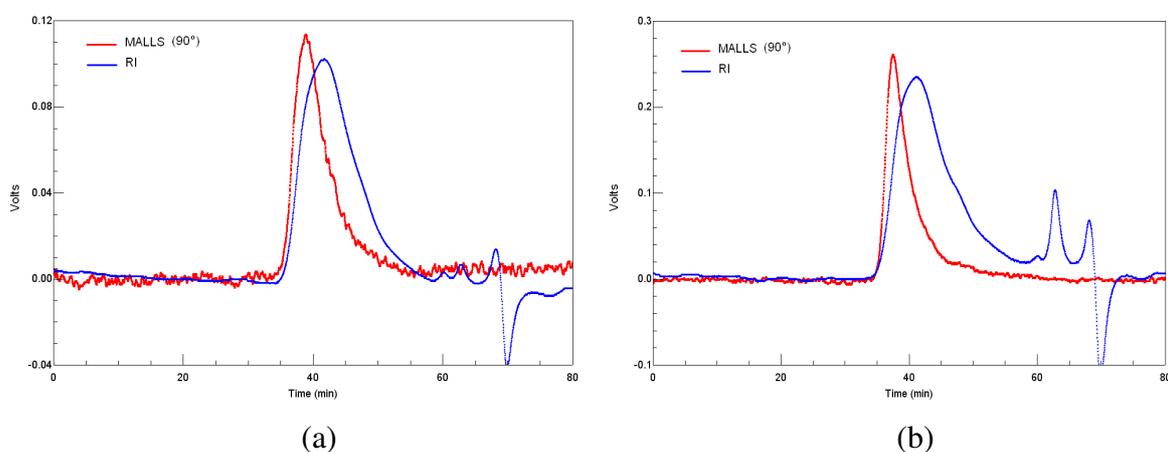
### 5.3.2 Determinação da homogeneidade

As pectinas extraídas com o ácido acético, nítrico e tartárico através dos processos convencionais e com microondas foram avaliadas quanto à homogeneidade por HPSEC. No sistema utilizado as colunas de permeação em gel eram acopladas em série a detectores de índice de refração (RI) e espalhamento de luz laser multiângulos (MALLS 90 °). O detector RI oferece dados proporcionais à concentração, enquanto que o detector MALLS 90 ° apresenta dados referentes à massa molar.

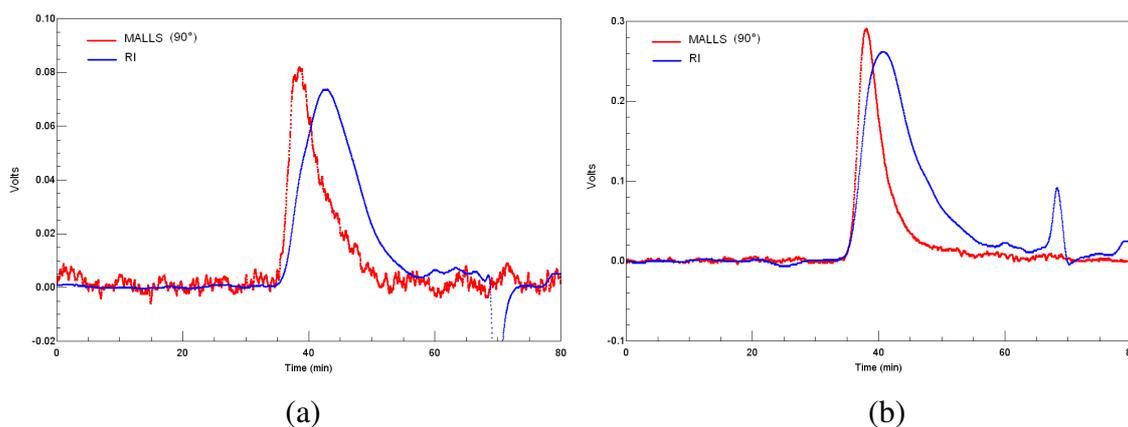
As Figuras 18 (a e b) e 19 (a e b) apresentam os perfis de eluição para pectina extraída com ácido acético e nítrico respectivamente. Observa-se a presença de um pico bastante intenso de espalhamento de luz, em torno de 40 minutos, coincidindo parcialmente com o pico do índice de refração. Indicando que os polissacarídeos obtidos apresentam elevada massa molecular. O processo de extração convencional originou pectinas com uma distribuição molecular bastante homogênea. Para o caso da extração em microondas existe a ocorrência de dois picos (RI) em torno de 65 minutos para o ácido

acético e um pico em aproximadamente 69 minutos para o ácido nítrico evidenciando, com isto, a presença de uma pequena quantidade de moléculas com baixa massa molar.

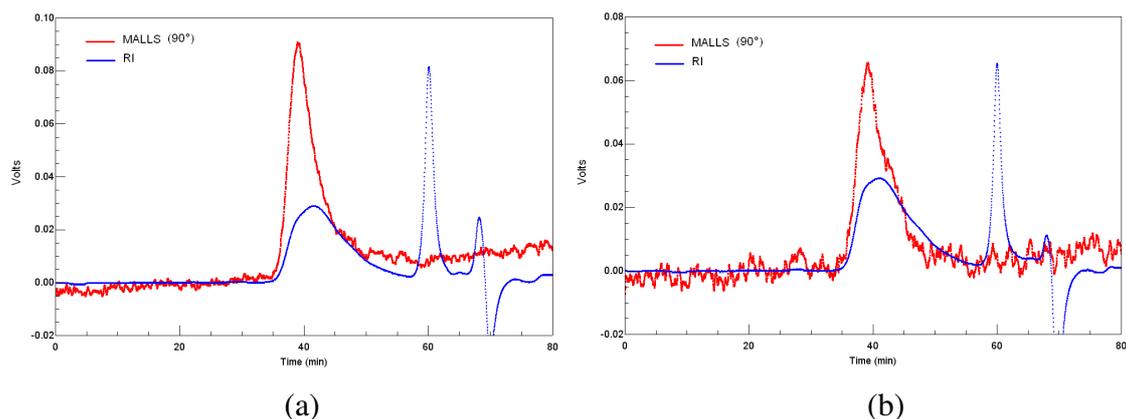
As Figuras 20 (a e b) representam os cromatogramas obtidos para extrações com ácido tartárico. Nos perfis encontrados há a presença de um pico de concentração (RI) pouco acentuado em 40 minutos, para moléculas de alta massa molar, além de um pico proeminente em 60 minutos. Para este caso o perfil cromatográfico é bastante similar ao obtido para a pectina cítrica comercial (Figura 21). Este comportamento demonstra a existência de uma significativa quantidade de moléculas com baixa massa molar, ou até mesmo a presença de contaminantes, como por exemplo, o tartarato para a pectina obtida experimentalmente, ou para o caso da pectina comercial, elementos utilizados industrialmente para a sua padronização.



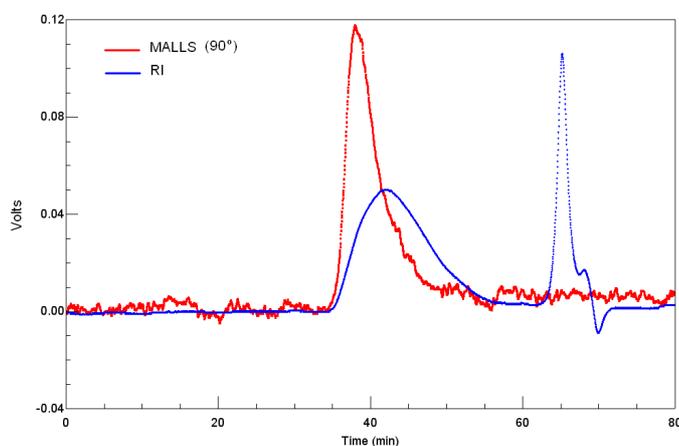
**Figura 18** – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido acético através do processo: (a) convencional e (b) em microondas.



**Figura 19** – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido nítrico através do processo: (a) convencional e (b) em microondas

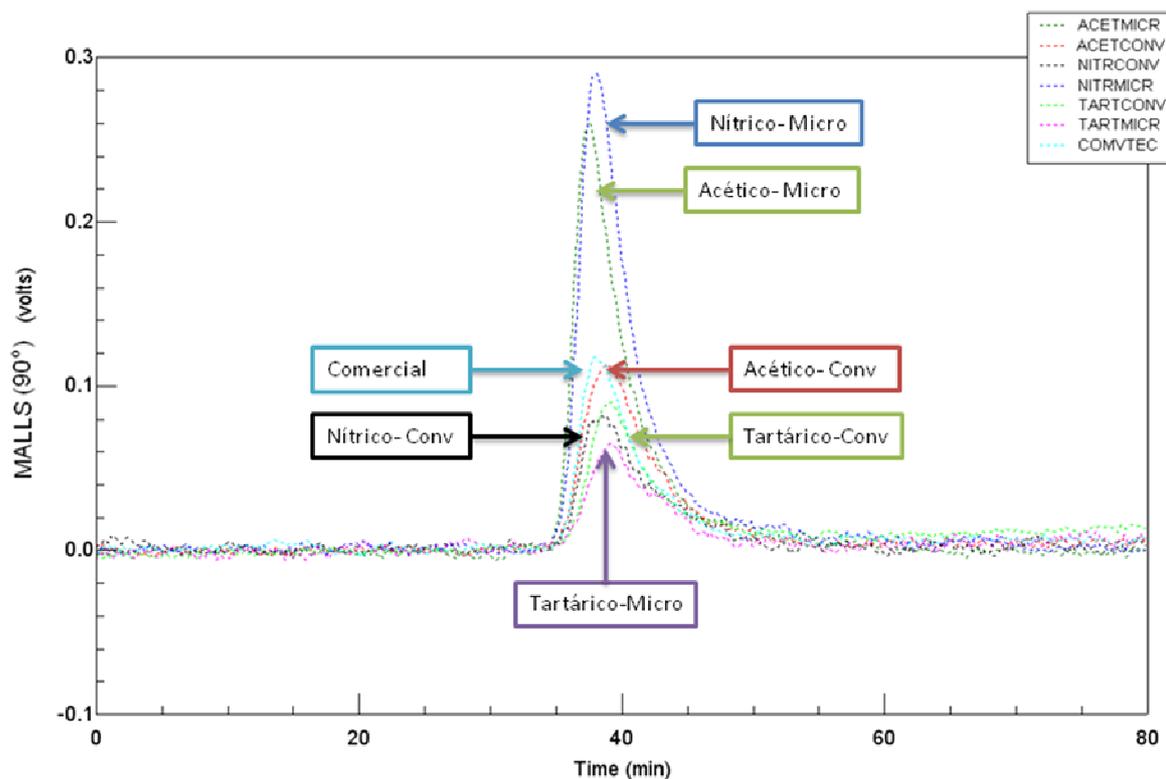


**Figura 20** – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina obtida por extração com ácido tartárico através do processo: (a) convencional e (b) em microondas.



**Figura 21** – Perfil de eluição por HPSEC-MALLS/RI da pectina cítrica comercial (Vetec).

A Figura 22 representa o perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas considerando-se o sinal MALLS (90 °), correspondente à massa molar. É possível observar que dentre os ácidos analisados, o nítrico e o acético extraíram pectina com maior massa molar. Pectinas extraídas com estes ácidos sob aquecimento em microondas apresentaram elevada massa molar, superior à pectina cítrica comercial. Isto demonstra a vantagem do rápido aquecimento e extração em minutos sobre a extração lenta convencional. Neste caso, menos ligações co-valente são quebradas. Isto por sua vez, produz pectina, com maior massa molar (CHAU FISHMAN, *et al.*, 2000;. FISHMAN, CHAU KOLPAK, & BRADY, 2001). Outros perfis comparativos para os sinais RI e MALLS são apresentados no ANEXO C.

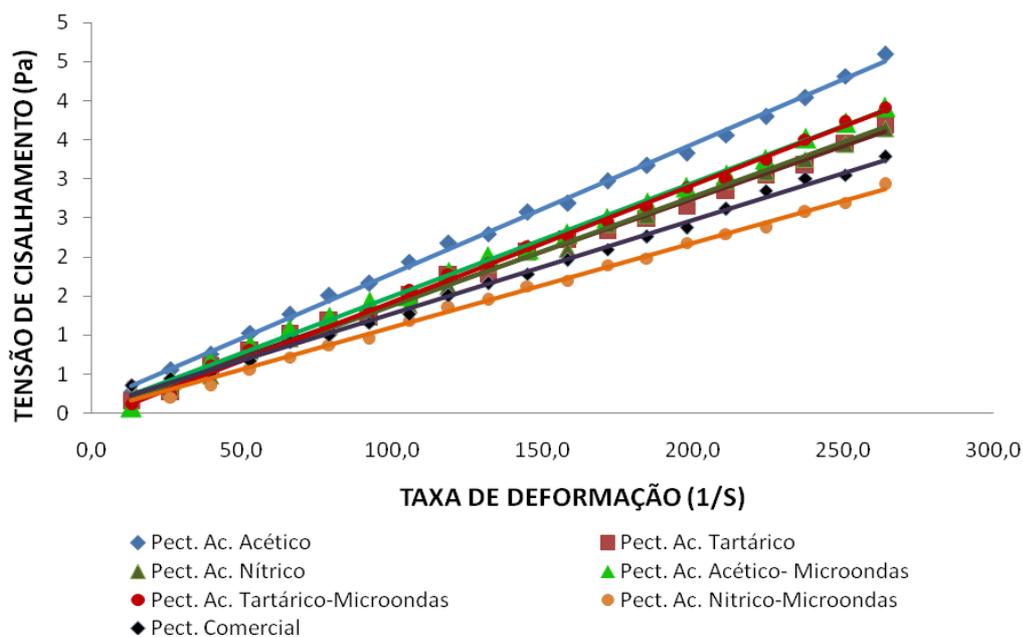


**Figura 22** – Perfil de eluição comparativo das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI.

### 5.3.3 Determinação da viscosidade aparente

Os reogramas obtidos para as soluções de pectina (1 g/L) extraídas com diferentes tipos de ácido e processos estão representados na Figura 23. Como existe um comportamento linear entre a tensão de cisalhamento e taxa de deformação, as soluções apresentam um comportamento de fluido Newtoniano. Sendo a viscosidade dessas soluções constantes e iguais aos coeficientes angulares das retas ajustadas aos dados, estes valores estão apresentados na Tabela 9.

A solução de pectina extraída com ácido acético através do processo convencional apresentou o maior valor de viscosidade. Com exceção da pectina extraída com ácido nítrico sob aquecimento em microondas, a viscosidade das amostras apresentou-se superior à da pectina cítrica comercial. Estes resultados concordam com os obtido por Kliemann (2006) para extrações com os ácidos nítrico, clorídrico e cítrico. No entanto, não foi possível observar um comportamento regular entre os dois processos de extração e sua relação com a viscosidade da solução.



**Figura 23** – Reogramas para soluções de pectina (1 g/L), extraída sob dois processos distintos com diferentes tipos de ácido.

**Tabela 9** – Viscosidade aparente das soluções de pectina e coeficiente de correlação das retas ajustadas.

Amostras	Viscosidade (Pa.s)	R <sup>2</sup>
Ácido acético	0,0165 <sup>a</sup> (± 0,0005)	0,9983 (± 0,001)
Ácido tartárico- Microondas	0,0149 <sup>b</sup> (± 0,0004)	0,9979 (± 0,002)
Ácido acético- Microondas	0,0145 <sup>b</sup> (± 0,0003)	0,9972 (± 0,002)
Ácido tartárico	0,0135 <sup>b</sup> (± 0,0002)	0,9958 (± 0,003)
Ácido nítrico	0,0139 <sup>b</sup> (± 0,0001)	0,9969 (± 0,001)
Comercial	0,0120 <sup>b</sup> (± 0,0001)	0,9967 (± 0,002)
Ácido nítrico- Microondas	0,0108 <sup>c</sup> (± 0,0002)	0,9941 (± 0,006)

Média ± desvio padrão (3 repetições). Nota: letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias obtidas através do Teste de Tukey.

Dispersões poliméricas exibem um aumento linear na viscosidade com o aumento da massa molar. Para um polímero com massa molar fixa, a viscosidade intrínseca é diretamente proporcional até que uma concentração crítica seja alcançada. Ambas as observações refletem o início das associações entre cadeias. A viscosidade intrínseca, a concentração e o tamanho da molécula estão intimamente relacionados (GLASS; SCHULZ; ZULOSKI, 1991). Entretanto, este comportamento não foi observado para a

viscosidade aparente da solução. Os resultados obtidos por cromatografia para a comparação entre as massas molares não concordam com o comportamento da solução na análise da sua viscosidade aparente. Deve-se considerar que em muitos casos, grandes discrepâncias são obtidas entre massa molar média e viscosidade, mesmo quando os experimentos são conduzidos com especial cuidado. Isso pode ser devido a polidispersão, fenômenos de agregação e grau de esterificação das moléculas, pH, presença de eletrólitos, massa molar e concentração (VORAGEN *et al.* , 1995), além da presença de cadeias ou grupos laterais, que ocultam os grupos funcionais necessários para a geleificação (BONDU, 1986). Dessa forma, essa medida mostra-se bastante imprecisa pela existência de vários fatores possíveis de interferir na tensão superficial como hidratação, flexibilidade da molécula e heterogeneidade (OWENS *et al.* , 1946).

#### 5.3.4 Difração de Raios-X

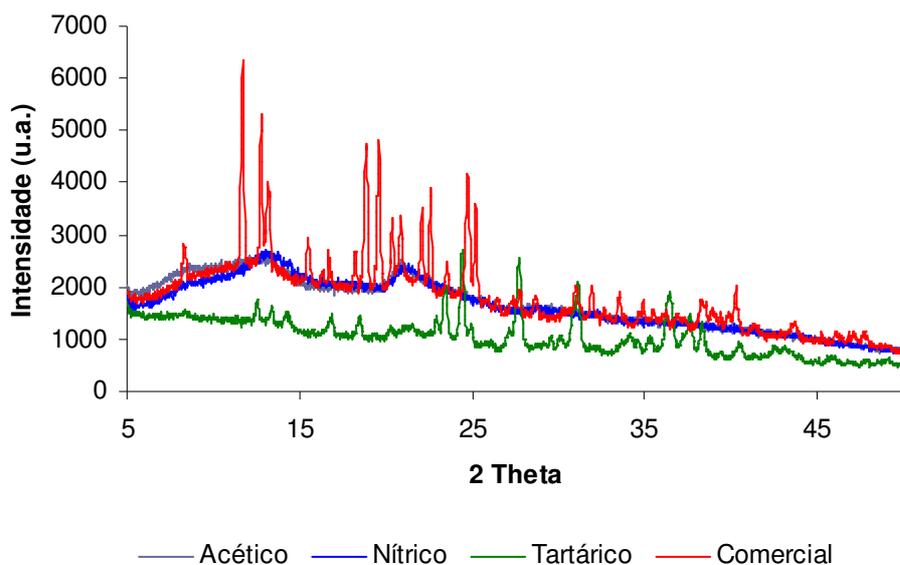
Amostras de pectina extraída com três diferentes tipos de ácido através do processo convencional de extração e uma amostra de pectina cítrica comercial foram submetidas à difração de raios-X. A Figura 24 mostra as curvas de intensidade de difração obtidas.

Como é possível observar o difratograma da pectina comercial apresenta uma série de picos intensos e bem definidos, em aproximadamente  $11,86^\circ$ ,  $13,32^\circ$  ( $2\theta$ ) e uma série de picos na faixa de  $19^\circ$  a  $25,3^\circ$  ( $2\theta$ ), demonstrando, com isto, uma estrutura cristalina. Mishra *et al.* (2008) também encontraram comportamento similar para pectina cítrica comercial.

Amostras de pectina extraídas com o ácido nítrico e acético apresentaram estruturas análogas e completamente amorfas.

A pectina extraída com ácido tartárico demonstrou um comportamento estrutural semicristalino, neste caso o polissacarídeo apresenta tanto domínios cristalinos quanto amorfos. Alguns picos podem ser observados em  $23,6^\circ$ ,  $24,92^\circ$ ,  $28,3^\circ$ ,  $31,62^\circ$  e  $36,72^\circ$  ( $2\theta$ ).

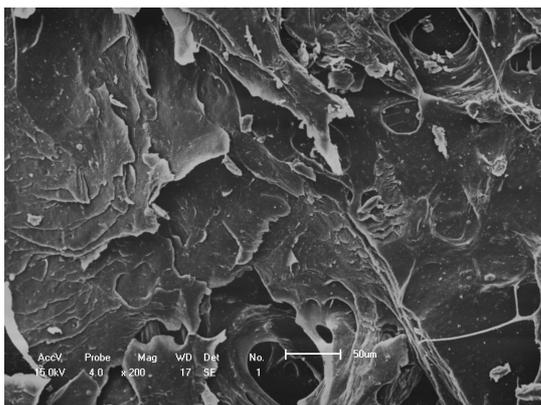
Essa mudança observada no padrão de difração de raios-X das amostras evidencia a ocorrência de modificações físicas e químicas, indicando a alteração da rede tridimensional das moléculas, causada pelo tipo de ácido que é utilizado na etapa de extração.



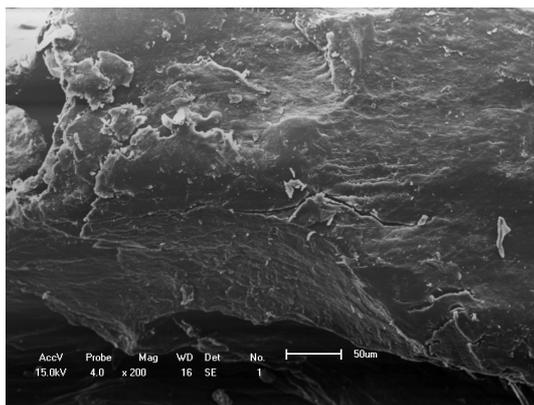
**Figura 24** – Difratograma de Raios-X para amostras de pectina extraídas com três tipos de ácido (processo convencional) e pectina cítrica comercial.

### 5.3.5 Microscopia eletrônica de varredura

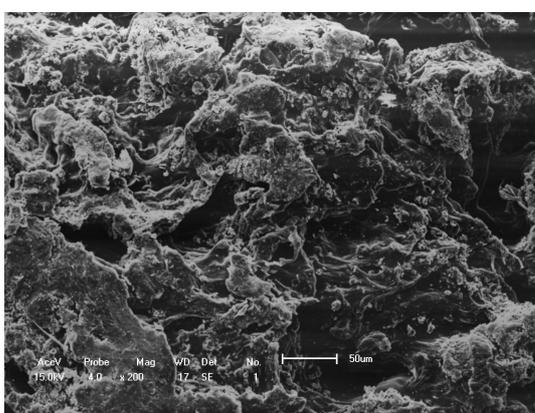
Micrografias de amostras de pectina extraída com três diferentes ácidos, através do processo de extração convencional são mostradas na Figura 25. Não houve diferenças observáveis entre as micrografias para os diferentes processos de extração, assim as imagens para pectina obtida por aquecimento em microondas foram omitidas. É possível observar uma estrutura lamelar para as pectinas extraídas com o ácido acético e nítrico (estrutura amorfa) enquanto a pectina extraída com o ácido tartárico apresenta-se superficialmente de forma aglomerada e rugosa (estrutura semicristalina). Estas imagens ilustram a diferença estrutural encontrada através das análises de raios-X.



Pectina extraída com ácido acético



Pectina extraída com ácido nítrico



Pectina extraída com ácido tartárico

**Figura 25** – Microscopia eletrônica de varredura para pectinas extraídas com diferentes tipos de ácido (ampliação de 200 X).

---

## 2ª PARTE - BIOFILMES DE PECTINA E ALGINATO

### 6.1 BIOFILMES

Os biofilmes e recobrimentos biodegradáveis são aqueles formados a partir de polímeros naturais, de origem animal ou vegetal, como polissacarídeos, lipídios e proteínas. Estes materiais, quando lançados no meio ambiente, convertem-se em compostos simples, mineralizados, que, redistribuídos através dos ciclos de carbono, nitrogênio e enxofre não agredem o biosistema (CHANDRA e RUSTGI, 1998).

Existem alguns requisitos específicos para utilização de biofilmes, tais como: boa aceitabilidade sensorial, propriedades de barreira e mecânicas adequadas, estabilidade bioquímica, físico-química e microbiológica, ser inócuo, não-poluinte, de processamento simples e de baixo custo (DEBEAUFORT *et al.*, 1998, TURBIANI, 2007). Esses filmes também devem ser de preferência, transparentes, ter aderência suficiente para serem facilmente removíveis no manuseio e não introduzir alterações no gosto. Embora atributos de qualidade física e de proteção ao alimento sejam os objetivos principais de um revestimento, dá-se bastante ênfase às características visuais dos mesmos (ASSIS e LEONI, 2003, TURBIANI, 2007).

A formação dos filmes geralmente envolve associações inter e intramoleculares ou ligações cruzadas de cadeias de polímeros formando uma rede tridimensional semirígida que retém o solvente (THARAHATHAN, 2003). Para a elaboração de uma solução filmogênica são necessários constituintes básicos como: polímeros de alta massa molecular, denominados agentes formadores (lipídios, proteínas ou polissacarídeos), solvente (água ou etanol), agentes plastificantes (glicerol, sorbitol ou triacetina), agentes reticulantes ( $\text{Ca}^{++}$ , dimetil uréia, etc.) e agentes ajustadores de pH. Cada um desses materiais é utilizado buscando oferecer determinadas características para o biofilme.

O processo de produção dos biofilmes a partir de uma solução filme-formadora geralmente é constituído de duas etapas. Na primeira, há a solubilização da macromolécula em um solvente (água, etanol, solução de ácido acético, etc.) ao qual podem ser incorporados diversos aditivos (plastificantes, agentes reticulantes, etc.). Na etapa seguinte, a solução filmogênica é vertida sobre um suporte e submetida à secagem até uma condição que permita um fácil desprendimento do molde (CUQ *et al.*, 1995, TURBIANI, 2007).

As características finais dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são resultantes de diversos parâmetros, tais como: características físico-químicas e concentração da macromolécula e dos seus demais constituintes (solvente, plastificante, etc.), pH, condições de secagem e condições ambientais (temperatura e umidade). As propriedades das macromoléculas influenciam diretamente nas características finais dos filmes e/ou coberturas comestíveis. Filmes baseados em macromoléculas com características hidrofílicas apresentam razoáveis propriedades de barreira ao oxigênio e ao gás carbônico, enquanto filmes baseados em lipídios possuem boas propriedades de barreira ao vapor de água, no entanto, apresentam resistência mecânica insuficiente (PARK *et al.*, 1994, TURBIANI, 2007).

Dentre os biopolímeros utilizados na elaboração dos biofilmes há algumas fontes de proteínas, polissacarídeos e seus derivados, que são comumente encontradas na literatura, tais como: glúten (TANADA-PALMU; GROSSO, 2002; GONTARD *et al.*, 1994), gelatina (CARVALHO, 2002; FAKHOURI, 2002; SOBRAL, 1999), isolado proteico de soja (RHIM *et al.*, 1999), caseína (CHICK; HERNANDEZ, 2002), proteína do soro do leite (GALIETTA *et al.*, 1998; McHUGH; KROCHTA, 1994a), alginato (CHA *et al.*, 2002), pectina (MARINIELLO *et al.*, 2003; FISHMAN; COFFIN, 1998), entre outros (BATISTA, 2004).

Filmes constituídos de proteínas e polissacarídeos geralmente apresentam propriedades mecânicas adequadas a algumas aplicações, permeabilidade seletiva aos gases oxigênio e dióxido de carbono e aos aromas, porém não atuam como bons constituintes de barreira à umidade devido a suas características hidrofílicas (PÉROVAL *et al.*, 2002; PARK *et al.* 1994; GALLO *et al.* 2000; YANG; PAULSON, 2000a; NISPEROS-CARRIEDO, 1994). Dessa forma, para que haja uma melhora das características funcionais dos filmes geralmente são realizadas misturas de hidrocolóides (proteínas ou polissacarídeos). Dessa maneira, quando os polímeros são combinados eles podem interagir física e quimicamente e resultar em filmes com melhores propriedades (SHIH, 1996, BATISTA, 2004).

## 6.2 APLICAÇÕES DOS BIOFILMES

Atualmente as embalagens (plásticas) derivadas do petróleo, como as poliolefinas, poliésteres, poliamidas, entre outras, são muito utilizadas. Essas embalagens são viáveis

---

economicamente, sendo produzidas em grande quantidade por baixo custo, possuem boas propriedades mecânicas (tensão de ruptura e alongamento) e de barreira a gases e compostos aromáticos, além da estabilidade térmica. No entanto, são totalmente não-biodegradáveis, o que acarreta sérios problemas quanto à sua utilização. Instala-se aqui um paradigma embalagem *versus* meio ambiente (THARANATHAN, 2003).

Em vista do problema ambiental gerado pela utilização de materiais não biodegradáveis surge o conceito de embalagem ativa que pode ser definido como sendo uma forma de revestimento no qual a embalagem, o alimento e a interação destes com o ambiente estendem a vida de prateleira do alimento enquanto melhoram a qualidade do produto (SUPPAKUL *et al.*, 2003).

O principal uso de filmes comestíveis tem sido proposto para proteger produtos alimentícios. Recobrimentos são aplicados ou confeccionados diretamente sobre o produto ou alimento a ser protegido enquanto filmes são estruturas independentes que podem ser utilizadas para envolvê-los, após sua fabricação (DONHOWE e FENNEMA, 1993). Os filmes podem localizar-se na superfície ou como finas camadas entre diferentes partes do produto (DEBEAUFORT *et al.*, 1998).

A aplicação de filmes e recobrimentos tem como propósitos: proteger mecanicamente o alimento, prevenir perda de sabores, retardar a taxa de deterioração por controle da transferência de umidade, oxigênio e agentes oxidantes e redutores (KESTER; FENNEMA, 1986, BATISTA, 2004). Inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos com a utilização de coberturas para prorrogar a vida útil de produtos frescos, contribuindo para a redução do uso das embalagens descartáveis não-biodegradáveis.

Outra utilização dos biofilmes de grande importância é na liberação controlada de fármacos. Dentre as justificativas para aplicação do revestimento polimérico das formas farmacêuticas sólidas orais, poderemos incluir: mascarar sabores e/ou odores desagradáveis, melhoria estética, proteção frente ao fluido gástrico, prevenção das interações entre constituintes da formulação, aliado ao aumento da estabilidade. Entretanto, a maior expectativa clínica recai sobre a possibilidade do efetivo controle da liberação temporal e espacial do fármaco (SOUTO-MAIOR *et al.* 2008).

O processo de revestimento de fármacos tem sido sugerido a partir da aplicação de materiais poliméricos reconhecidos como seguros, capazes de proporcionar liberação controlada e precisa do medicamento, e com excelente reprodutibilidade. Neste contexto destaca-se o desenvolvimento de novos materiais envolvendo polissacarídeos voltados à aplicação no controle da cinética de liberação de fármacos (BUNHAK *et al.*, 2007 *a*;

SINHA *et al.*, 2003; FRIEND, 2005, SOUTO-MAIOR *et al.* 2008). Diversos polissacarídeos não celulósicos das mais variadas origens: vegetais (pectina, goma arábica, goma guar, inulina e amilose); microorganismos (dextrana, goma xantana, ciclodextrina e pullulana), de algas (alginato) e de animais (sulfato de condroitina e quitosana) têm sido sugeridos como portadores de excelente potencial para aplicação no desenvolvimento de novos materiais destinados ao revestimento farmacêutico (SINHA *et al.*, 2003; FRIEND, 2005).

A pectina e o alginato por serem polímeros naturais apresentam grande disponibilidade na natureza, baixo custo de aquisição, alta estabilidade, boas propriedades geleificantes, biocompatibilidade, atoxicidade e fácil modificação química e bioquímica (BUNHAK *et al.*, 2007 *a, b*; OLIVEIRA, CAVALCANTE, 2007). Assim, possuem grande potencial para o uso na elaboração de biofilmes e recobrimentos. Além disso, a pectina pura ou em associação com outros polímeros têm sido sugerida no desenvolvimento de sistemas terapêuticos colo-específicos e na formação de sistemas matriciais (DUPUIS *et al.*, 2006, SOUTO-MAIOR *et al.* 2008).

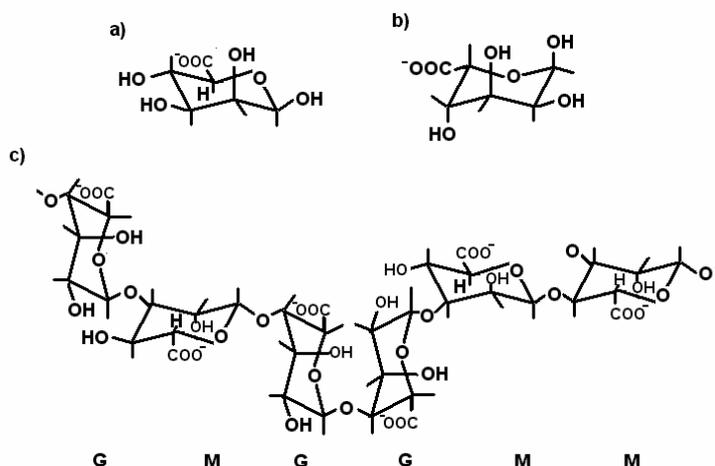
### 6.3 ALGINATO

O alginato desperta grande interesse como potencial componente estrutural de biofilmes devido a suas propriedades coloidais únicas, as quais incluem compactação, estabilização, suspensão, formação do filme, produção do gel, e estabilização da emulsão (KING, 1983; MOE *et al.*, 1995). O alginato é um carboidrato coloidal hidrofílico extraído com álcali diluído de várias espécies de algas *Phaeophyceae* (TURBIANI, 2007).

Em termos moleculares, o alginato é da família de copolímeros binários, composto por ligações 1-4 de ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G), de larga variação na composição e estrutura seqüencial (KING, 1983; MOE *et al.*, 1995). Estes monômeros são organizados em blocos ao longo da cadeia, que podem ser compostos por blocos de homopolímeros (GG e MM) junto com blocos alternados (MG) na mesma molécula, como pode ser visto na Figura 26 (SMIDSRØD, 1974).

A diferença na seqüência e no conteúdo de blocos determinará a flexibilidade da cadeia, influenciando na solubilidade e estabilidade do gel que será formado. Blocos MG, por exemplo, formam cadeias mais flexíveis e mais solúveis em pHs baixos e a estabilidade do gel está diretamente relacionada ao conteúdo de blocos G (ERTESVÁG e VALLA, 1998). A propriedade mais usada e única em alginatos é sua habilidade de reagir

com cátions polivalentes, especialmente íons cálcio, para produzir géis fortes ou polímeros insolúveis (GRANT *et al.*, 1973; KING, 1983).



**Figura 26** – Estrutura do ácido  $\beta$ -D-manurônico (a),  $\alpha$ -L-gulurônico (b) e alginato (c) (ERTESVÁG e VALLA, 1998).

A estrutura do gel de alginato é governada não somente pela concentração e estrutura química da macromolécula, mas também pela cinética de formação do gel, esta por sua vez, depende da concentração de cátions, da força iônica e do pH. A formação do gel de alginato de cálcio é uma operação complexa e depende do tipo de alginato utilizado, do grau de associação entre o alginato e o cálcio, da fonte de íons de cálcio (cloreto, fosfato, lactado ou acetato de cálcio) e dos métodos de preparação (TURBIANI, 2007).

#### 6.4 PROPRIEDADES DA PECTINA E DO ALGINATO NA FORMULAÇÃO DOS BIOFILMES

Um das propriedades mais relevantes das macromoléculas na formulação de biofilmes são suas características quanto ao seu poder de geleificação. No processo de geleificação de polissacarídeos, o solvente ocupa os interstícios de uma rede tridimensional ligada por “pontos de amarração”, que envolvem a associação cooperativa de regiões longas da cadeia do polímero. Essas regiões de associação são conhecidas como pontos de junção e nos segmentos de polissacarídeos, apresenta-se na forma de ligações covalentes existindo em uma conformação ordenada (TURBIANI, 2007).

Para as pectinas fatores como pH, temperatura, concentração do soluto, número e arranjo das cadeias laterais, tamanho molecular e grau de esterificação influenciam no seu processo de geleificação (CRANDALL; WICKER, 1986; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997). Nas pectinas de baixo grau de esterificação a geleificação é provocada pela formação de ligações entre íons carboxílicos e íons de cálcio, ou outro metal bi ou trivalente, sem adição de ácido ou sacarose, como ocorre normalmente com a geleificação das pectinas de alto grau de esterificação (BOBBIO; BOBBIO, 1992; RINAUDO, 2001; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997). A geleificação das pectinas de baixo grau de esterificação resulta da ligação iônica através de pontes com cálcio a dois grupos carboxílicos pertencentes a duas cadeias diferentes, próximas fisicamente (AXELOS; THIBAUT, 1991; GROSSO; BOBBIO; AIROLDI, 2000). Em um sistema geleificante, quando o nível ótimo de cálcio é excedido o gel pode tornar-se muito quebradiço e um estágio denominado sinerese pode ocorrer (MAY, 1997, BATISTA, 2004).

A sensibilidade do cálcio é mais efetiva para pectinas de baixo grau de esterificação do que para as de alto, mas o efeito pode ser diferente entre as pectinas de mesmo teor de esterificação originárias de diferentes fontes materiais (ROLIN; DeVRIES, 1990). Pectinas comerciais apresentam diferentes distribuições na massa molecular e grau de esterificação, sendo que estas distribuições influenciam em suas propriedades funcionais bem como na sua caracterização (MAY, 1997).

A pectina é solúvel em água a 60 °C e produz uma solução viscosa, porém, ao dispersar o pó rapidamente em água é necessário certo cuidado para evitar que se formem grumos que são de difícil dissolução. Quando submetida a condições pouco ácidas (pH 5,0 ou acima) ou a temperaturas elevadas as pectinas podem ser facilmente degradadas (MAY, 1997; ROLIN; De VRIES, 1990, BATISTA, 2004).

Considerando-se o alginato, este pode ser dissolvido em água, com ou sem aquecimento, resultando em soluções com uma grande faixa de viscosidade e diferentes perfis reológicos. O alginato reage rapidamente com diversos cátions polivalentes para formar géis, que serão utilizados na formação de biofilmes. Allen *et al.* (1963) classificaram o cloreto de cálcio como o agente geleificante mais efetivo, tendo a função de estabelecer a associação cooperativa dos segmentos poliméricos M e G, formando estruturas agregadas. O efeito desses íons é estabelecer ligação entre as cadeias de alginato através de interações iônicas. Essa estrutura reticulada tridimensional formada tem uma grande capacidade de reter água, formando assim um gel muito estável (TURBIANI, 2007).

Ao se adicionar diretamente íons cálcio a uma solução de alginato de sódio e pectina, a geleificação ocorre instantaneamente na região de contato. Ocorrido isto, não é mais possível obter um filme homogêneo. Para causar uma geleificação uniforme os íons bivalentes de cálcio, provenientes de uma dispersão prévia de um sal de cálcio, devem ser lentamente liberados dentro de uma solução de alginato e pectina. Alterações no pH ou temperatura também podem ser utilizadas para controlar a liberação de íons de cálcio por toda a solução (KESTER e FENNEMA, 1986).

Em vista disso, íons bivalentes de cálcio são considerados efetivos agentes geleificantes (reticulantes) tanto para o alginato como para a pectina.

## 6.5 PLASTIFICANTES

A formação de filmes depende da solubilização da macromolécula no solvente, da adição de plastificante e/ou adição de agente reticulante ou outro aditivo que se deseja, para a obtenção de um gel (KESTER e FENNEMA, 1986, TURBIANI, 2007). O gel submetido à posterior secagem para a formação de um filme biodegradável apresenta uma coesividade que está diretamente ligada à estrutura do polímero, processo e parâmetros de fabricação (temperatura, tipo de solvente utilizado, técnica de aplicação e evaporação, entre outros), e da presença de agentes plastificantes (GUILBERT, 1986). Com a secagem do gel, o filme está formado e sua flexibilidade será dependente da interação entre as cadeias do polímero. Filmes mais rígidos são aqueles que apresentam fortes interações entre as moléculas poliméricas e como consequência disso, são menos permeáveis a gases, vapor de água e líquidos (KESTER e FENNEMA, 1986). Para atenuar a alta rigidez é necessário adicionar ao filme um plastificante, a fim de torná-lo menos quebradiço e mais flexível (TURBIANI, 2007).

Agentes plastificantes são definidos por Kester e Fenenema (1986) como compostos de baixa volatilidade e alto ponto de fusão capazes de reduzir as forças intermoleculares e aumentar a mobilidade de cadeias poliméricas. Com isso há uma melhora da flexibilidade e da extensibilidade do filme, evitando assim a ruptura do mesmo durante o manuseio e armazenagem (McHUGH; KROCHTA, 1994a; LIN; CHEN; RUN-CHU, 2000, BATISTA, 2004).

A escolha do plastificante a ser adicionado aos filmes depende da compatibilidade deste com o polímero e o solvente utilizados, isto é, deve ser miscível no polímero e no solvente, de forma a evitar a separação prematura no decorrer do processo de secagem,

---

causando uma diminuição na flexibilidade do filme. A concentração de plastificante usado na elaboração de filmes geralmente varia de 10 a 60 g/100g de matéria seca de polímero, dependendo da flexibilidade desejável no filme (GUILBERT, 1986). Sorbitol e glicerol são plastificantes comumente utilizados em diversos processos de elaboração de filmes, sendo o sorbitol cristalino a temperatura ambiente e o glicerol líquido (ANKER; STADING; HERMANSSON, 2000).

## 6.6 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOFILMES

As características mais relevantes dos biofilmes para sua aplicabilidade são suas propriedades de barreira, propriedades mecânicas e solubilidade em água.

### 6.6.1 Espessura

A espessura é um importante parâmetro de medida visto que influencia várias propriedades dos filmes tais como: propriedades mecânicas e as de permeabilidade (XIE *et al.*, 2002). Park e Chinnan (1995) observaram em seus estudos que a permeabilidade ao oxigênio e ao gás carbônico dos filmes protéicos (zeína e glúten) aumentava conforme a espessura dos filmes diminuía, enquanto que a permeabilidade ao vapor de água aumentava conforme a espessura dos filmes crescia. Esses autores concluíram que a permeabilidade pode variar com a espessura devido a mudanças estruturais causadas pelo inchamento da matriz filmogênica, que acarreta mudanças na estrutura dos filmes e provoca tensões internas que podem influenciar a permeação de certos componentes (BATISTA, 2004).

### 6.6.2 Aspectos visuais

Após o processo de secagem os biofilmes devem apresentar uma superfície homogênea e contínua, ou seja, com ausência de partículas insolúveis, rupturas, bolhas ou poros. Uma superfície totalmente homogênea é necessária para que não haja interferência de quaisquer defeitos do filme nas análises posteriores (TURBIANI, 2007).

A avaliação da opacidade de um material demonstra sua maior ou menor transparência. Para a elaboração de biofilmes que serão utilizados como embalagens ou ainda como coberturas para alimentos, uma maior transparência é desejável (YANG; PAULSON, 2000a; GONTARD *et al.* 1994), principalmente quando se deseja manter as características originais do produto, como a cor, por exemplo. Além disso, a coloração e a opacidade dos filmes não devem ser alteradas ao longo do armazenamento do material, uma vez que essa mudança de aspecto pode prejudicar a aceitação do produto (SAKANAKA, 2002, BATISTA, 2004).

### 6.6.3 Intumescimento

O intumescimento de filmes é o resultado da difusão de moléculas de solvente para o interior dos mesmos e que se acomodam na fase polimérica. Essa retenção de moléculas ocorre inicialmente nos espaços vazios. O intumescimento, entretanto, envolve inevitavelmente uma mudança no arranjo espacial das cadeias poliméricas resultando em um aumento de volume da amostra (LUCAS *et al.*, 2001).

O grau de intumescimento de um filme depende da interação polímero-solvente e do grau de reticulação do polímero. Os grupamentos químicos responsáveis pela reticulação, como são quimicamente diferentes dos segmentos das cadeias, não influenciam significativamente na interação polímero-solvente (TURBIANI, 2007).

Se o polímero é composto por uma rede tridimensional formada através de ligações químicas entre as cadeias poliméricas, estas cadeias não se separam, ou seja, não se dissolvem e o processo de dissolução é limitado ao estágio de intumescimento. Esse é o caso dos filmes de alginato de cálcio (ZACTITI, 2004).

### 6.6.4 Solubilidade em água

Biofilmes com características hidrofílicas tendem a ser susceptíveis a ação da água. Galiotta *et al.* (1998) definem solubilidade em água de filmes como a quantidade de matéria seca que é solubilizada após 24 horas de imersão. A avaliação dessa propriedade é essencial, sobretudo para que seja definido o campo de aplicação do filme (TURBIANI, 2007).

Muitas das aplicações dos filmes em alimentos têm por objetivo reduzir a transferência de água do meio externo para o produto, promovendo com isto uma barreira. Assim, a solubilidade do material que compõe o filme está diretamente relacionada a esta propriedade ficando implícito que se o filme apresentar-se altamente solúvel, sua propriedade de barreira à água estará comprometida (SAKANAKA, 2002, BATISTA, 2004).

A solubilidade dos filmes pode ser diminuída pelo processo de reticulação, esse impede a separação das cadeias e sua passagem para a solução. Se o nível de reticulação em um polímero é relativamente baixo, as moléculas de pequena massa molecular (solvente) podem penetrar na fase de polímero (LUCAS *et al.*, 2001).

Por outro lado, a adição de plastificantes tende a aumentar a solubilidade dos biofilmes. Em filmes reticulados, entretanto, esse efeito pode ser menos pronunciado. As moléculas de plastificante podem permanecer fortemente ligadas à estrutura tridimensional do polímero dificultando, desta maneira, a sua liberação para a solução (IRISSIN-MANGATA *et al.*, 2001).

#### 6.6.5 Propriedades de barreira

A permeabilidade é definida como uma propriedade do par filme/permeado (vapor de água, oxigênio, gás carbônico, etc.) e das fases em contato com as duas faces do filme (TURBIANI, 2007). A permeabilidade dos filmes é a medida obtida através da passagem de um material permeante de um lado do filme para o outro quando ambos são expostos a diferentes concentrações desse permeante em um determinado tempo, sendo ainda importante o conhecimento da área do filme exposto e sua espessura (KROCHTA; DE MULDER-JOHNSTON, 1997). O ganho de massa de uma célula utilizada para a determinação da permeabilidade ao vapor de água é registrado a partir da passagem de vapor de água do meio onde a umidade relativa é maior para aquele onde a umidade é menor (BATISTA, 2004).

A natureza química da macromolécula interfere nas propriedades de barreira dos filmes biodegradáveis. Macromoléculas altamente polares (proteínas e polissacarídeos) contêm grupos hidrofílicos, resultando em filmes com alta permeabilidade ao vapor de água. Normalmente, o grupo funcional das macromoléculas polares interage com a água através de pontes de hidrogênio, resultando na adsorção de água em ambientes com altas

umidades relativas. Assim, os altos coeficientes de solubilidade e absorção em água (rompimento de interações intermoleculares que leva a um aumento do coeficiente de difusão) são responsáveis pelas altas taxas de permeabilidade ao vapor de água. A natureza química dos aditivos presentes na formulação dos filmes também exerce influência nas propriedades de barreira (McHUGH e KROCHTA, 1994).

A microestrutura, a natureza do permeante, o plastificante utilizado, a densidade, a orientação e a massa molecular dos polímeros também são fatores que estão correlacionados com as propriedades de barreira (MILLER; KROCHTA, 1997).

#### 6.6.6 Propriedades mecânicas

Para que o alimento adicionado de cobertura ou acondicionado em embalagens do tipo biofilmes não perca sua proteção pelo manuseio ou armazenamento é necessário que os filmes apresentem certa resistência à ruptura e à abrasão e também certa flexibilidade, que permita a deformação do filme sem a sua ruptura (VICENTINI, 2003).

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da natureza do material filmogênico utilizado e da coesão envolvida na estruturação da matriz polimérica. A coesão está relacionada com a aptidão do polímero para formar ligações fortes e/ou numerosas entre duas cadeias poliméricas, que dificultam sua separação, quando submetidas a forças mecânicas. Esta resistência depende da extensão da cadeia polimérica, da sua geometria, da dispersão da força molecular, da natureza e da posição de grupamentos laterais (GONTARD *et al.*, 1993). Macroscopicamente, as propriedades mecânicas dos filmes comestíveis dependem da formulação (macromolécula, solvente, plastificante, etc.) e do processo de obtenção (TURNIANI, 2007).

Entre os métodos clássicos utilizados na avaliação mecânica, testes de tração e alongação são amplamente utilizados. A resistência à tração é a máxima tensão suportada pelo filme até o momento de sua ruptura. A alongação é a medida de maleabilidade do filme e pode ser considerada como uma característica que define a habilidade do filme em deformar antes que sua ruptura ocorra (MACLEOD, FELL, COLLETT, 1997). Esta propriedade é usualmente medida no ponto de ruptura do material, sendo expressa como a diferença percentual entre o comprimento inicial do material fixado para a realização do teste e o final (momento da ruptura) (ROBERTSON, 1993).

A elongação é um dado importante, pois alta elongação indica que um material pode absorver uma grande quantidade de energia antes do rompimento (ROBERTSON, 1993), sendo que baixos valores deste parâmetro implicam em filmes quebradiços (MACLEOD, FELL, COLLETT, 1997).

#### 6.6.7 Análise superficial dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura

A caracterização microscópica dos filmes é importante quando se deseja uma melhor compreensão do seu comportamento. A visualização a partir da microscopia eletrônica de varredura permite a identificação da incorporação dos materiais formando uma estrutura homogênea ou, ainda, a separação dos mesmos originando uma estrutura heterogênea (BATISTA, 2004).

---

## 7 MATERIAIS E MÉTODOS

### 7.1 MATERIAIS

Os filmes foram confeccionados a partir de uma blenda de pectina e alginato de sódio (Synth P.A., Brasil). Utilizou-se na elaboração dos filmes quatro amostras distintas de pectina. A pectina cítrica comercial (Vetec P.A., Brasil, HM), e pectinas obtidas experimentalmente através do processo convencional de extração com o ácido acético, nítrico e tartárico, conforme as condições de extração apresentadas na Tabela 6. Além disso, foram utilizados Cloreto de cálcio diidratado (Merck ACS, USA) como agente reticulante e glicerol (Synth P.A., Brasil) como agente plastificante.

Nos umidificadores utilizados para o armazenamento dos filmes a 52% de umidade e para os ensaios de permeabilidade ao vapor de água a 68% de umidade, foram adicionados soluções saturadas de nitrato de magnésio (Ecibra) e cloreto de sódio (Synth), respectivamente.

### 7.2 MÉTODOS

#### 7.2.1 Metodologia para a confecção dos filmes de pectina e alginato

Os filmes de pectina e alginato de sódio foram obtidos segundo Turbiani (2007) através da técnica de *casting*. Esta técnica consiste na preparação de uma solução filmogênica e aplicação da mesma em um suporte.

Devido ao alto poder gelificante do íon  $\text{Ca}^{++}$ , utilizado com agente reticulante, para que se obtenha uma solução filmogênica homogênea é necessário, primeiramente, produzir um filme de baixo grau de reticulação com uma porção reduzida de  $\text{Ca}^{++}$ , no qual a solução filme-formadora contenha alginato, pectina, glicerol (agente plastificante) e certa quantidade de cloreto de cálcio diidratado (agente reticulante). Essa etapa inicial foi denominada de 1º estágio. Graças à baixa quantidade de agente reticulante incorporada ao filme no primeiro estágio, este se mostra solúvel em água, apresentando assim, a necessidade de sofrer uma reticulação complementar, denominada de 2º estágio. A metodologia utilizada nos dois estágios está explanada a seguir.

### *1º estágio*

A preparação dos filmes foi realizada em um sistema composto de um Bécker de 600 mL, uma chapa de aquecimento, uma bomba peristáltica e um agitador mecânico. Primeiramente, solubilizou-se o glicerol (0,6 g glicerol/g macromolécula) em 400 mL de água destilada a 30 °C, em seguida, adicionou-se, lentamente, o alginato de sódio e a pectina (1:1), mantendo-se a agitação a 800 rpm por 1 hora até a completa dissolução. A dissolução das amostras de pectina obtidas experimentalmente foi realizada com a pectina úmida (após a etapa de imersão em etanol e filtragem), sendo a concentração do gel determinada por secagem em estufa. Posteriormente, elevou-se a temperatura da solução a 70 °C. Com o auxílio de uma bomba peristáltica, 30 mL de uma solução de cloreto de cálcio diidratado (0,04 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /g macromolécula) foi adicionada ao sistema a uma vazão de 1 mL/min. A adição lenta, sob agitação e a temperatura constante de 70 °C, da solução reticuladora é necessária para que se evite a geleificação localizada.

Essa solução foi, então, transferida para placas de polipropileno (diâmetro = 14 cm), estas, foram levadas a uma estufa de circulação de ar, a 40 °C, por cerca de 16 a 20 horas, para geleificação incipiente e formação de um filme. Este é solúvel em água e deve sofrer uma reticulação complementar (2º estágio).

### *2º estágio*

A reticulação complementar consiste na imersão do filme por 30 minutos em um banho a temperatura ambiente composto por 50 mL de uma solução contendo  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3, 5 e 7%) (m/v) e glicerol (5, 7 e 10%) (v/v). Os intervalos de valores foram escolhidos segundo estudos prévios obtidos por Silva *et al.* (2009). Em seguida, os filmes foram retirados do banho e mantidos sobre um suporte por 20 horas a temperatura ambiente para a secagem. Os filmes foram armazenados em dessecador a uma umidade relativa de 52%, por um período de três dias para que alcançassem a umidade de equilíbrio nesse ambiente antes de sua caracterização.

O fluxograma de preparação dos filmes está apresentado na Figura 47D (ANEXO D).

## 7.2.2 Planejamento experimental

Para avaliar a influência da concentração de agente reticulante e plastificante, na solução reticuladora do segundo estágio sobre as propriedades dos filmes utilizou-se a metodologia de superfície de resposta através de um planejamento experimental fatorial completo com a inserção de um ponto central. Os níveis para as variáveis estudadas foram:  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3, 5 e 7 %) (m/v) e glicerol (5, 7 e 10 %) (v/v).

As análises estatísticas realizadas foram obtidas através do programa *Design-Expert* 6.0.5.

### 7.2.3 Caracterização dos filmes

Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, aspecto visual, teor de umidade, solubilidade em água, grau de intumescimento (*swelling*), propriedades mecânicas (tensão e alongação na ruptura) e permeabilidade ao vapor de água.

#### 7.2.3.1 Espessura

O controle da espessura dos filmes foi obtido vertendo um volume adequado de solução filmogênica (em torno de 70 mL) de modo a manter constante a massa nas placas. A espessura dos filmes foi determinada utilizando-se um micrômetro digital (MITUTOYO, modelo MDC-25S, resolução 0,001mm, EUA). A espessura final foi calculada pela média aritmética de dez medidas aleatórias sobre uma área de 50,3 cm<sup>2</sup> (diâmetro igual a 8 cm) nos ensaios de permeabilidade ao vapor de água, e a média de cinco medidas aleatórias sobre uma área de 26,7 cm<sup>2</sup> (10,5 x 2,54 cm) nos ensaios mecânicos.

#### 7.2.3.2 Aspecto visual

As análises visuais e táteis foram realizadas de forma subjetiva (CARVALHO, 2002). Os filmes foram avaliados segundo parâmetros tais como: homogeneidade (ausência de partículas insolúveis e coloração uniforme), continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após a secagem), flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte, transparência e facilidade de manuseio.

#### 7.2.3.3 Conteúdo de umidade (W)

A massa total ( $m_i$ ) de uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi quantificada e mantida em estufa a 105 °C durante 24 h. Após este período, a massa seca final ( $m_{sf}$ ) foi determinada (TURBIANI, 2007). O conteúdo de umidade do filme ( $W$ ) foi expresso em função da massa seca inicial do filme através da Equação 5.

$$W = \frac{(m_i - m_{sf})}{m_i} \cdot 100 \quad (5)$$

Sendo:  $W$  a umidade do filme [%];

$m_i$  a massa seca inicial da amostra [g];

$m_{sf}$  a massa seca final da amostra [g].

#### 7.2.3.4 Solubilidade em água

Para determinação da solubilidade dos filmes em água, uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi imersa em 100 mL de água destilada e o sistema mantido sob agitação branda a 25 °C por 24 h, utilizando-se um *Shaker Technical TE-421*. A massa seca final ( $m_{sf}$ ) foi determinada submetendo-se esta amostra à secagem (105 °C por 24 h) (TURBIANI, 2007). A solubilidade do filme ( $S$ ) foi expressa em função da massa seca inicial do filme através da Equação 6.

$$MS = \frac{(m_{si} - m_{sf})}{m_{si}} \cdot 100 \quad (6)$$

Sendo:  $MS$  a quantidade de matéria solúvel [%];

$m_{si}$  a massa seca inicial da amostra [g];

$m_{sf}$  a massa seca final da amostra [g].

#### 7.2.3.5 Grau de intumescimento (*swelling*)

A massa inicial total ( $m_i$ ) de uma amostra de filme de 2,5 cm de diâmetro foi determinada e o material foi imerso em água destilada durante diferentes períodos de tempo. Em determinados períodos de tempo, o filme foi retirado da água e sua massa total ( $m_u$ ) determinada, em seguida a amostra retornou à água, este processo foi repetido até que a massa da amostra de filme se mantivesse constante. O excesso de umidade na superfície

das amostras foi retirado, colocando-se o filme entre duas folhas de papel de filtro, antes de cada pesagem (TURBIANI, 2007). O grau de intumescimento (GI) foi calculado segundo a Equação 7.

$$GI = \frac{mu - mi}{mi} \quad (7)$$

Sendo: *GI* o grau de intumescimento do filme;

*mu* a massa da amostra retirada da solução [g];

*mi* a massa inicial da amostra [g].

### 7.2.3.6 Tensão e alongação na ruptura

A tensão na ruptura (*TR*) e a alongação no momento da ruptura (*E*) dos filmes foram obtidas segundo o método D882 (ASTM, 1995a), utilizando um texturômetro TA.XT2 (Stable Microsystems, Inglaterra) pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa - COMCAP/UEM, em ambiente dotado de ar condicionado à temperatura de  $25 \pm 3$  °C e umidade relativa de  $55 \pm 3\%$ . Uma tira do filme de  $26,7 \text{ cm}^2$  ( $10,5 \times 2,54 \text{ cm}$ ) foi presa pelas duas garras do equipamento e submetida à tração. A tensão na ruptura foi calculada através da Equação 8 e a alongação na ruptura de acordo com a Equação 9.

$$TR = \frac{Fm}{A} \quad (8)$$

Sendo: *TR* a tensão na ruptura [Pa];

*Fm* a força máxima no momento da ruptura [N];

*A* a área da seção transversal do filme [ $\text{m}^2$ ].

$$E = \frac{(dr - di)}{di} \cdot 100 \quad (9)$$

Sendo: *E* a alongação [%];

*dr* a separação entre as garras no momento da ruptura [cm];

*di* a separação inicial entre as garras [cm].

### 7.2.3.7 Permeabilidade ao vapor de água ( $K_{pva}$ )

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada gravimetricamente, de acordo com o método E95-96 (ASTM, 1995b) utilizando pequenas cápsulas de plástico e alumínio. Cloreto de cálcio granulado foi utilizado para preencher o fundo da célula, mantendo a umidade no interior da cápsula nula. Amostras circulares de filmes, 5 cm diâmetro, foram fixadas nas células como ilustrado na Figura 27. Este sistema permaneceu no interior de um dessecador com umidade relativa constante de 68%, conferida por uma solução saturada de cloreto de sódio. Desta maneira, havia permeação do vapor de água, através do filme, entre as duas atmosferas com umidades distintas. A área da superfície livre exposta dos filmes para permeação de vapor foi de 9,6 cm<sup>2</sup>.



**Figura 27** – Célula utilizada nos testes de permeabilidade ao vapor de água.

O valor da permeabilidade ao vapor de água foi calculado através da Equação 10, segundo método E96-95 (ASTM, 1995b).

$$K_{pva} = \frac{G \cdot L}{Ae \cdot P_{sat} \cdot (UR1 - UR2)} \quad (10)$$

Sendo:  $K_{pva}$  a permeabilidade ao vapor de água [(g.mm)/(m<sup>2</sup>.dia.kPa)];

$L$  a espessura inicial do filme [mm];

$G$  a taxa de ganho de massa [g/dia];

$Ae$  a área exposta do filme [m<sup>2</sup>];

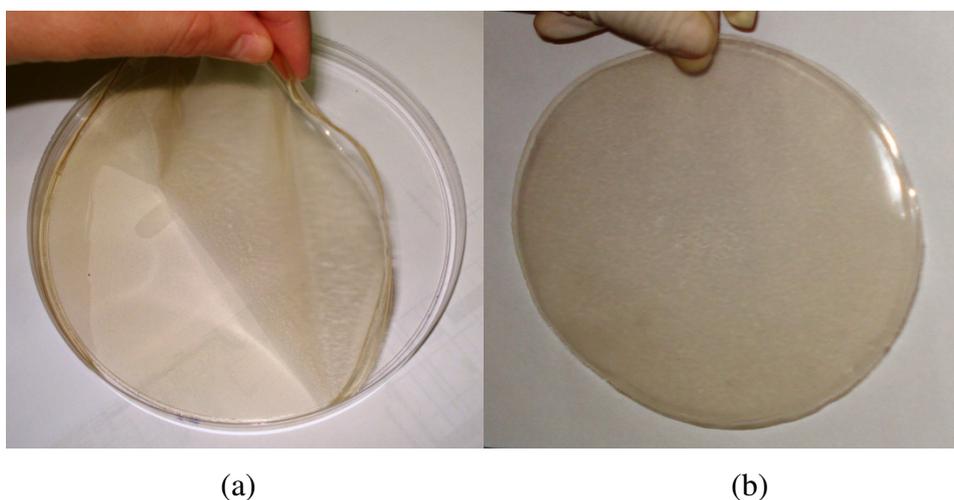
$(UR1 - UR2)$  é a diferença de umidade relativa, expressa em fração;

$P_{sat}$  a pressão de saturação de vapor de água, na temperatura do ensaio [kPa].

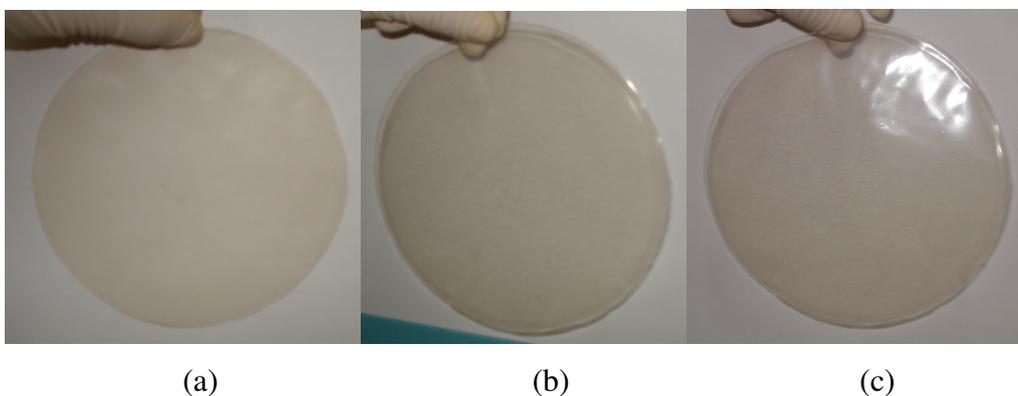
## 8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 8.1 ASPECTOS VISUAIS

Os filmes confeccionados a partir de pectina e alginato apresentaram características visuais bastante atraentes. Mostraram-se com uma coloração levemente amarelada, translúcidos e superficialmente homogêneos. Os filmes foram facilmente retirados do suporte após o processo de evaporação do solvente, apresentando boas características de manuseabilidade e flexibilidade. Os aspectos visuais dos filmes obtidos a partir das diferentes amostras de pectina não apresentaram diferenças notáveis. Estes aspectos podem ser observados nas imagens das Figuras 28 e 29.



**Figura 28** – Aspectos visuais do biofilme de pectina cítrica e alginato. (a) Filme sendo retirado do suporte após primeiro estágio e (b) após reticulação complementar.



**Figura 29** – Aspectos visuais dos biofilmes de alginato e pectina extraída com diferentes ácidos: (a) acético; (b) nítrico e (c) tartárico.

Para que seja possível realizar todas as análises de caracterização dos filmes é necessário que se tenha no mínimo quatro amostras circulares com 14 cm de diâmetro, isentas de imperfeições. Devido à dificuldade encontrada em obter quantidades significativas de pectina por extrações em escala de bancada, embora tenhamos obtido êxito na confecção dos filmes com as pectinas extraídas experimentalmente, apenas os filmes elaborados a partir de pectina cítrica comercial foram caracterizados. Assim, os resultados descritos abaixo se referem somente a filmes elaborados a partir da pectina comercial.

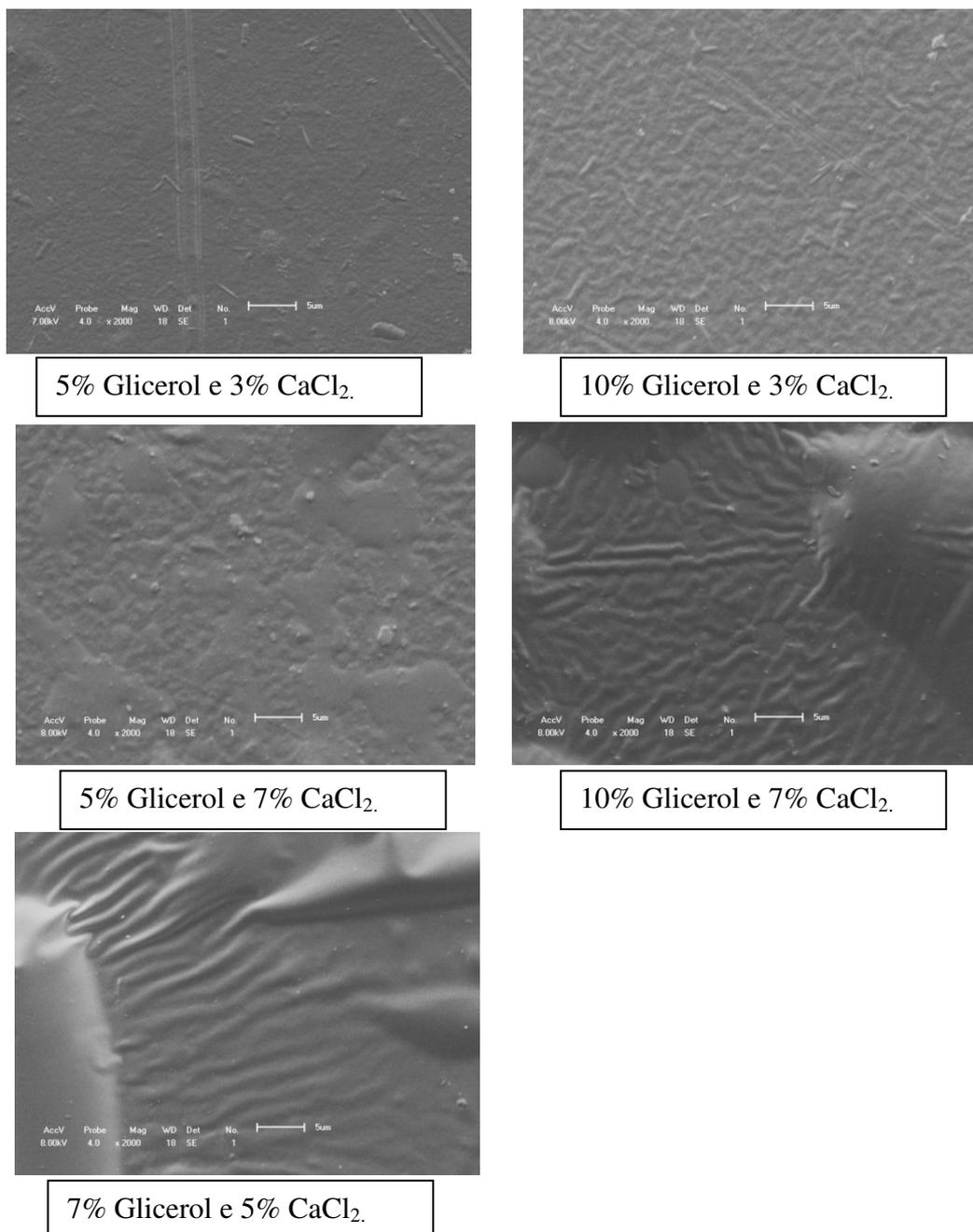
### 8.1.1 Microscopia

Com a microscopia eletrônica de varredura torna-se possível a visualização de possíveis imperfeições, a presença de poros, a separação dos componentes utilizados na formulação dos filmes e a estrutura da superfície do material (BATISTA, 2004). Através das imagens microscópicas dos filmes de pectina e alginato para diferentes concentrações da solução reticuladora do 2º estágio, ilustradas na Figura 30, é possível observar que os filmes apresentaram uma matriz filmogênica contínua e compacta. Esse comportamento evidencia a compatibilidade química dos dois polissacarídeos.

Os filmes formulados a partir de uma solução reticuladora contendo 3% (m/v) de  $\text{CaCl}_2$  e 5% (v/v) de glicerol originaram a superfície mais homogênea dentre todos os tratamentos. Havendo, desta maneira, a total incorporação dos agentes reticulante e plastificante à matriz filmogênica.

Para filmes elaborados com 7% (m/v) de  $\text{CaCl}_2$  é possível observar o início da formação de pequenos grânulos de cálcio na superfície do filme, indício de que a partir desta concentração de reticulante pode haver uma saturação no limite de absorção dos íons pelo filme.

Ao analisarmos as imagens sob a variável concentração de glicerol é possível notar que o aumento deste fator produz filmes superficialmente mais rugosos. Com isto, eles se tornam mais maleáveis e conseqüentemente menos resistentes a tensão, além de apresentarem maior permeabilidade ao vapor de água, já sua área de exposição torna-se relativamente maior.



**Figura 30** – Microscopia eletrônica de varredura para a superfície dos biofilmes compostos de pectina e alginato para diferentes concentrações da solução reticuladora do 2º estágio. (ampliação de 2000 X).

## 8.2 UMIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA

O conteúdo de umidade e solubilidade em água apresentada pelos filmes tratados com diferentes concentrações da solução reticuladora (2º estágio) estão apresentados na Tabela 12E (ANEXO E).

Embora em determinadas aplicações alta solubilidade dos filmes pode ser desejável, baixa solubilidade de filmes comestíveis é uma das mais importantes exigências em aplicações alimentícias e farmacêuticas. Os filmes apresentaram solubilidades estatisticamente distintas, sendo que seus valores mantiveram-se entre 32,88 e 51,98%. O conteúdo de umidade manteve-se entre 0,16 e 0,33 (g água/ g filme).

Silva *et al* (2009) encontraram valores entre 8,8 a 37,2% para a massa solubilizada e 0,134 a 0,299 (g água/ g filme) de conteúdo de umidade para filmes compostos de pectina e alginato. Os filmes foram confeccionados de maneira similar à realizada neste trabalho, sendo que para o segundo estágio foi usada uma solução reticuladora contendo 3% de  $\text{CaCl}_2$  (m/v) e glicerol (1%, 3%, 5%, 7%, 10%, 12% e 15% v/v). Os valores de umidade estão de acordo com os obtidos neste trabalho, no entanto, a solubilidade encontrada por estes autores mostrou-se inferior a aqui apresentada.

Para filmes de pectina pura adicionados de ácidos graxos, Batista (2004) obteve filmes 100% solúveis em água. Evidenciando as características altamente higroscópicas das pectinas ao se desintegram em água.

Turbiani (2007) preparou filmes a base de alginato de sódio reticulados com 0,8%  $\text{CaCl}_2$  no 1º estágio e reticulados no 2º estágio com solução contendo 5% glicerol e diferentes conteúdos de  $\text{CaCl}_2$ . O conteúdo de umidade encontrado por este autor, variou de 0,162 a 0,181 (g água/ g filme) e a solubilidade apresentada pelos filmes ficou em torno de 13%.

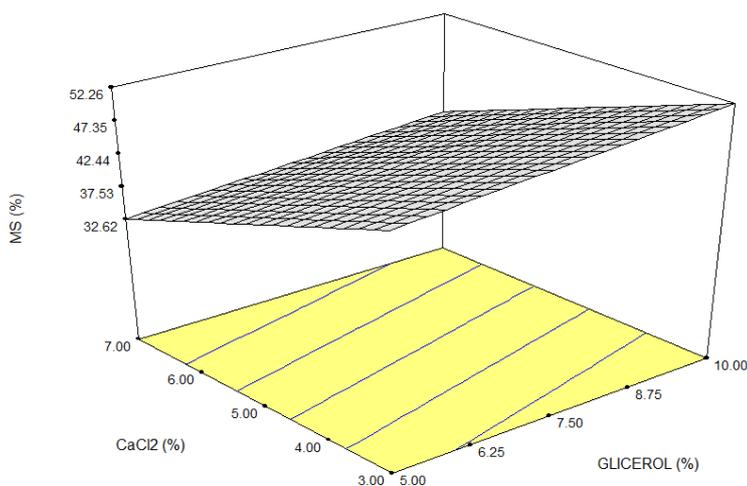
Comparando-se os valores de umidade e solubilidade em água obtidos para filmes confeccionados a partir dos polissacarídeos puros, percebe-se que os filmes originados a partir da blenda dos dois apresentou grandezas intermediárias.

As Figuras 31 e 32 ilustram as superfícies de resposta, obtidas através do ajuste de um modelo quadrático, para a massa de filme solubilizada (MS) e conteúdo de umidade, respectivamente, em função das variáveis: concentração de plastificante e agente reticulante. É possível notar que o aumento da concentração de agente reticulante acarreta uma diminuição significativa, tanto da umidade quanto da solubilidade dos filmes, indicando que os íons de  $\text{Ca}^{++}$  realmente promoveram a reticulação das cadeias poliméricas, desta maneira o aumento da concentração de  $\text{CaCl}_2$  torna as ligações intermoleculares mais coesas e arrançadas, dificultando, com isto, a solubilização dos filmes. Por outro lado, o aumento da concentração de glicerol promove um leve acréscimo no conteúdo de umidade e na solubilização dos filmes. Isto se deve ao fato de que o plastificante utilizado pode se desprender da matriz polimérica, gerando com isto lacunas

no material, tornando-o mais acessível às moléculas de água. Outro fator importante a ser considerado é a característica higroscópica do glicerol, contribuindo para o aumento da umidade dos filmes.

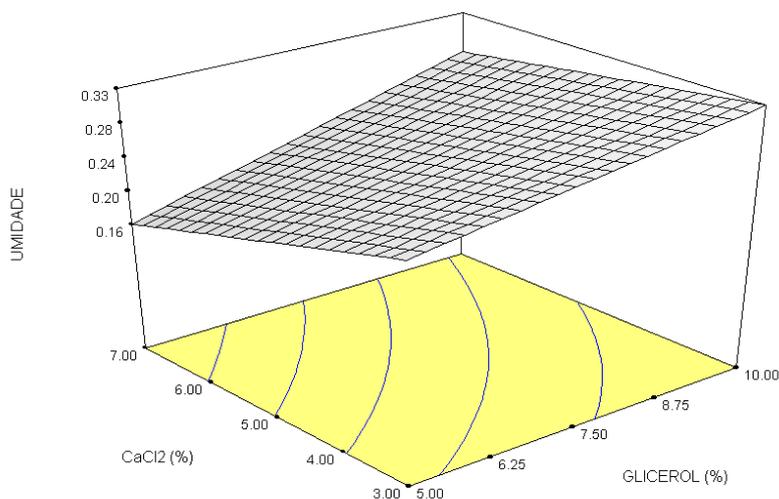
As equações 11 e 12 representam os modelos ajustados para as variáveis conteúdo de umidade ( $R^2$  0,89) e solubilidade em água ( $R^2$  0,99) dos filmes, respectivamente. Os modelos são adequados para descrição dos dados, visto que os coeficientes de regressão ( $R^2$ ) encontrados são próximos de um.

$$MS = 55,976 + 0,801 \text{ glicerol} - 3,909 \text{ CaCl}_2 \quad (12)$$



**Figura 31** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a massa de filme solubilizada em água (MS) em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

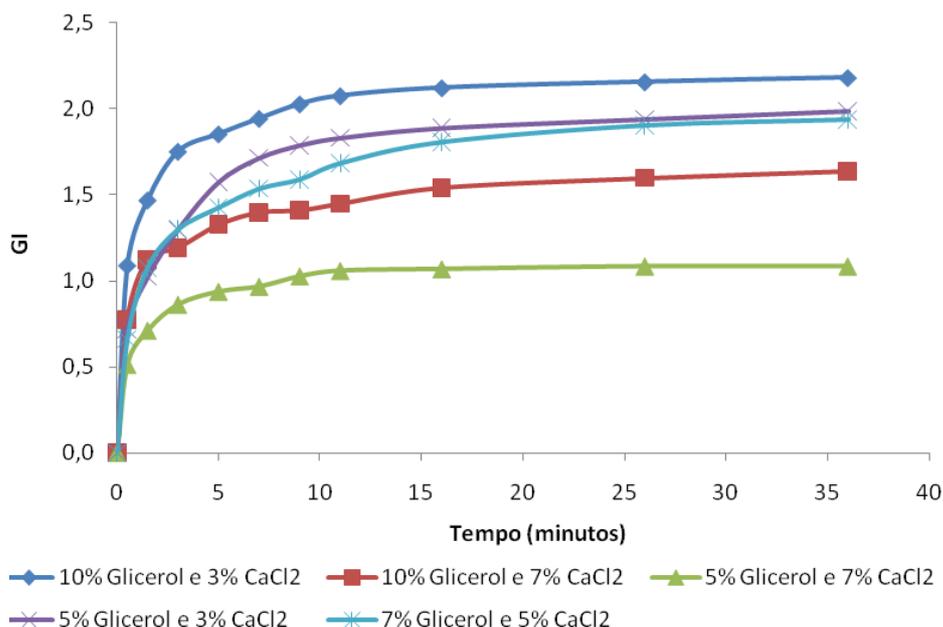
$$UMIDADE = 0,325 + 0,00375 \text{ glicerol} - 0,0400 \text{ CaCl}_2 + 0,00275 (\text{glicerol}) (\text{CaCl}_2) \quad (11)$$



**Figura 32** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o conteúdo de umidade (g água/ g filme) dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

### 8.3 GRAU DE INTUMESCIMENTO

Filmes compostos de pectina e alginato, tratados no segundo estágio com uma solução com diferentes concentrações de plastificante e reticulante, foram submetidos ao contato com água destilada a 25 °C e as cinéticas de intumescimento obtidas são apresentadas na Figura 33.



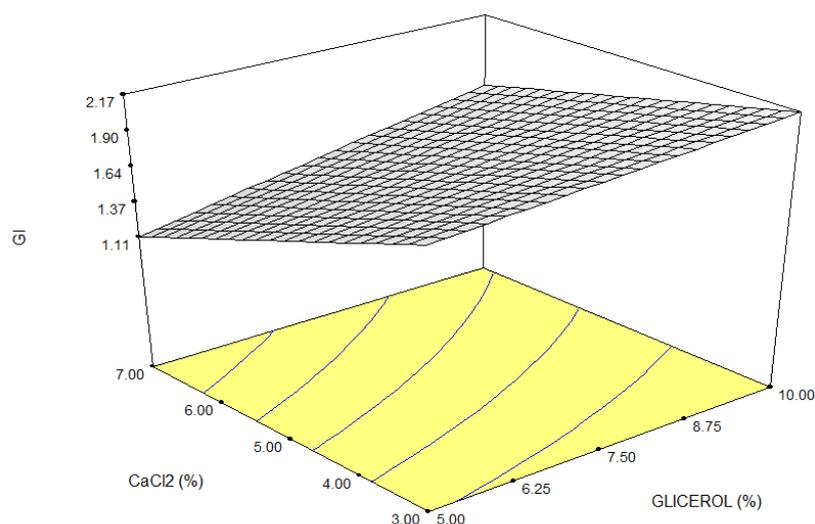
**Figura 33** – Grau de intumescimento (GI) de filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio.

A análise das curvas mostradas na Figura 33 evidencia um acentuado inchaço no início do processo e um pico de intumescimento em torno de 10 minutos de contato do filme com a água. Para filmes de alginato puro a absorção de equilíbrio de água foi encontrada após 5 minutos de imersão (TUBIANI, 2007). Filmes de pectina pura apresentaram equilíbrio na absorção de água após 20 minutos de imersão (BATISTA, 2004).

Os filmes mantiveram sua integridade após 36 minutos de imersão em água e apresentaram aparência similar à do filme original. O grau de intumescimento de equilíbrio, alcançado após 36 minutos, e a razão entre as espessuras final e inicial dos filmes estão apresentados na Tabela 13E (ANEXO E). Os valores encontrados mantiveram-se entre 1,11 e 2,17, estando de acordo com os obtidos por Silva *et al.* (2009) para filmes compostos de pectina e alginato.

Um modelo quadrático foi ajustado aos dados experimentais. A superfície de resposta está ilustrada na Figura 34, sendo representada pela equação 13 ( $R^2$  0,99). Como podemos observar, a variável concentração de reticulante afetou significativamente o grau de intumescimento dos filmes, de modo que este apresentou acentuada redução com o aumento da concentração de  $\text{CaCl}_2$ . O efeito do plastificante foi menos pronunciado, no entanto, o aumento da sua concentração causou maior intumescimento dos filmes.

$$GI = 2,670 - 0,009 \text{ glicerol} - 0,295 \text{ CaCl}_2 + 0,0157 (\text{glicerol})(\text{CaCl}_2) \quad (13)$$



**Figura 34** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o grau de intumescimento dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

#### 8.4 PERMEABILIDADE AO VAPOR D'ÁGUA ( $K_{\text{PVA}}$ )

Os valores de permeabilidade ao vapor d'água e espessura para os filmes estão apresentados na Tabela 14E (ANEXO E).

A qualificação de filmes em relação a suas propriedades de barreira ao vapor de água pode ser estabelecida através da comparação com algum material já existente no mercado. Uma forma apresentada por Krochta e Mulder-Johnston (1997) é a definição de faixas de valores que corresponderão a filmes com boas, moderadas ou pobres propriedades de barreira (TURBIANI, 2007), conforme mostrado na Tabela 10.

**Tabela 10** – Classificação da permeabilidade ao vapor d'água de filmes ( $k_{pva}$ ) (Krochta e Mulder-Johnston, 1997).

Propriedade	$k_{pva}$ * g.mm/(m <sup>2</sup> .dia.kPa)
Pobre	10 – 100
Moderada	0,10 – 10
Boa	0,01 – 0,10

Fonte: Krochta e Mulder-Johnston, 1997. \* 38°C e 90% de umidade relativa.

Segundo esta classificação os filmes de pectina e alginato apresentam-se como barreiras moderadas ao vapor d'água. Assim como ocorre em filmes de proteína e celulose. Em função da natureza hidrofílica da matriz dos polissacarídeos, as moléculas de água provocam mudanças estruturais nas cadeias do polímero, ocasionando tensões internas que influenciam na permeação do solvente (PARK e CHINNAN, 1995, TURBIANI, 2007).

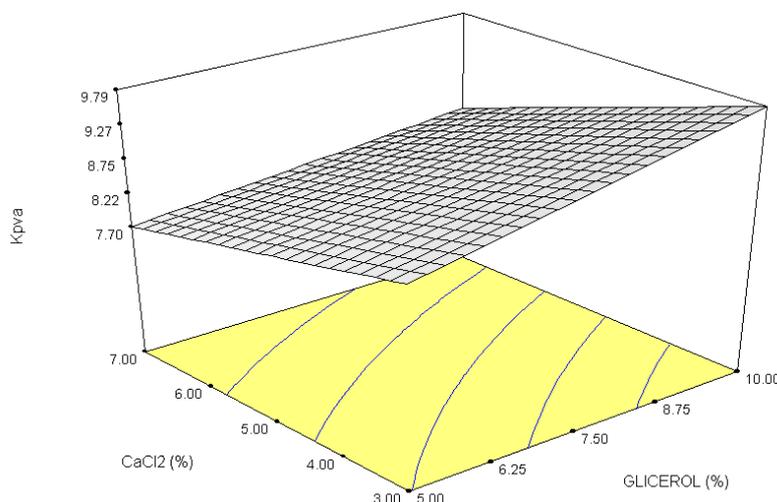
Um modelo quadrático foi ajustado aos dados experimentais. A superfície de resposta está ilustrada na Figura 35, sendo representada pela equação 14 ( $R^2$  0,97). A análise deste gráfico mostra que um incremento na concentração de plastificante aumenta significativamente a permeabilidade dos filmes. Também é possível observar que a permeabilidade dos filmes diminui à medida que a concentração de  $CaCl_2$  aumenta, indicando a ocorrência de uma efetiva reticulação das cadeias poliméricas. Sobral *et al.* (2001) verificaram que a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina bovina e suína aumentou de forma linear com a concentração de sorbitol utilizado. Isso demonstrou que a característica higroscópica dos plastificantes promoveu um aumento do conteúdo de água no filme, conseqüentemente aumentando a mobilidade das moléculas (BATISTA, 2004).

Os valores de  $k_{pva}$  encontrados (7,7 a 9,79 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa) são um pouco maiores do que os encontrados em filmes obtidos a partir de outras formulações. Filmes à base de pectina e ácidos graxos (0,04 g de pectina/mL de solução) com espessura igual a 0,07mm apresentaram permeabilidade ao vapor de água igual a 6,80 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa (BATISTA, 2004). Filmes de alginato de sódio reticulados com 3% de  $CaCl_2$  apresentaram permeabilidade ao vapor d'água em torno de 4,5 g.mm/m<sup>2</sup>.dia.kPa (TURBIANI, 2007).

Os valores superiores de permeabilidade ao vapor de água encontrados podem ser justificados pela utilização do plastificante, a inclusão das moléculas de glicerol entre as cadeias do polímero faz com que o espaçamento entre as mesmas aumente, facilitando com isto a difusão do vapor de água através do filme (YANG e PAULSON, 2000a). Além

disso, devido à alta hidrofiliicidade das moléculas de glicerol, a adsorção de moléculas de água é favorecida, contribuindo desta maneira para o aumento da permeabilidade (TURBIANI, 2007).

$$k_{pva} = 8,0825 + 0,288 \text{ glicerol} - 0,132 \text{ CaCl}_2 - 0,0255 (\text{glicerol})(\text{CaCl}_2) \quad (14)$$



**Figura 35** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a permeabilidade ao vapor de água ( $k_{pva}$ ) dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

## 8.5 PROPRIEDADES MECÂNICAS

Na Tabela 15E (ANEXO E), são apresentados os resultados dos ensaios mecânicos em termos de tensão na ruptura (TR) e alongamento na ruptura (E) dos filmes compostos de pectina e alginato. A resistência à tração representa para o filme uma resistência mecânica, que pode ser atribuída à coesão entre as cadeias poliméricas da matriz filmogênica, enquanto que o alongamento é uma medida da plasticidade do filme, ou seja, sua capacidade de se estender antes que ocorra sua ruptura (CUQ; GONTARD e GUILBERT, 1998).

A magnitude da tensão e da elongação está altamente associada com a quantidade de plasticizante presente no filme. Geralmente, o aumento da quantidade de plasticizante resulta em filmes com menor resistência à tração e maior elongação (VANIN *et al.*, 2005).

Os filmes apresentaram medidas de tensão em torno de 25,49 a 37,22 MPa, estes valores são inferiores aos encontrados por Silva *et al.* (2009) ao formularem filmes de pectina e alginato. Isso pode ser devido à fragilidade dos filmes quanto à preparação para a

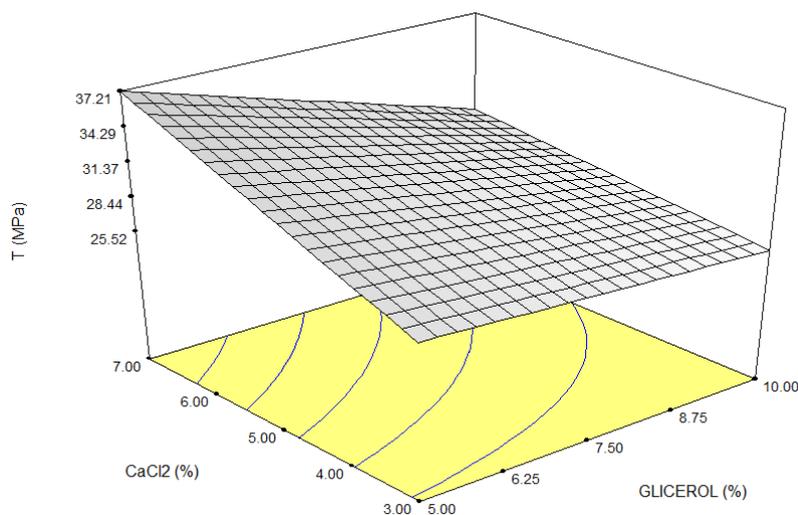
análise, uma vez que pequenas fissuras nas laterais das amostras facilitam o rompimento do filme (TURBIANI, 2007). Um aumento da resistência à tração dos filmes geralmente é desejável quando o mesmo tende a ser aplicado como proteção a certos alimentos, mas pode variar de acordo com o interesse da aplicação do filme (GONTARD, *et. al.*, 1994).

Os valores de alongamento mantiveram-se entre 2,18 e 13,99 MPa. Silva *et. al.* (2009) obtiveram valores levemente inferiores (1,9 a 9 MPa) para filmes de pectina e alginato. Turbiani (2007) obteve filmes de alginato puro com baixas propriedades de alongação. Estas, encontram-se em torno de 0,71 a 2,66 MPa, demonstrando, com isto, uma característica do alginato em formar filmes rígidos e poucos elásticos. Para filmes de pectina e ácidos graxos, Batista (2004) encontrou valores na faixa de 1,77 a 5,99 MPa. Em vista disso, os filmes compostos apresentaram uma acentuada melhora em suas propriedades elásticas.

Um modelo quadrático foi ajustado aos dados da Tabela 15E. A figura 36 ilustra a superfície de resposta obtida, esta pode ser expressa pela equação 15 ( $R^2$  0,99). Podemos observar que a tensão de ruptura diminui com o aumento da concentração de glicerol, isto se deve ao fato de que o agente plastificante torna o filme mais maleável e conseqüentemente menos rígido. Também é possível concluir que o aumento da concentração de  $\text{CaCl}_2$  proporciona um acréscimo da tensão de ruptura dos filmes, esse aumento pode ser explicado pelo desenvolvimento de *crosslinking* entre os grupos carboxílicos presentes nas moléculas de alginato e pectina e os íons  $\text{Ca}^{++}$  (CHAVEZ *et al.*, 1994; PAVLATH *et al.*, 1999).

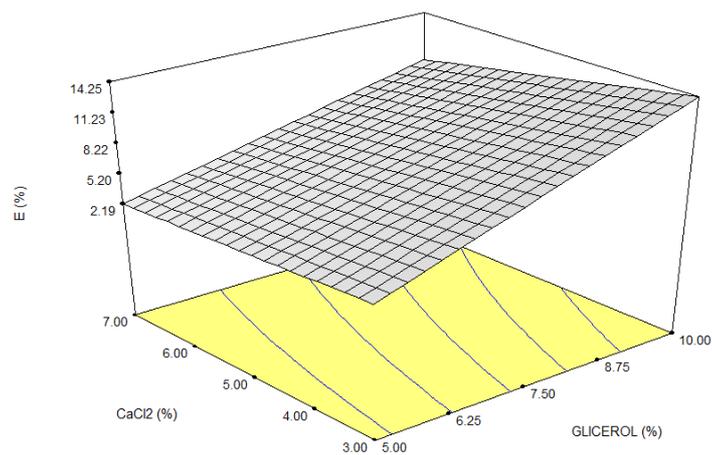
A Figura 37 representa a superfície ajustada para o alongamento dos filmes de pectina e alginato, representada pela equação 16 ( $R^2$  0,99). Percebe-se a partir desta que o agente plastificante contribuiu significativamente para o aumento da elasticidade dos filmes. O agente reticulante por sua vez, causa a diminuição do alongamento do filme, no entanto, produz um efeito menos pronunciado do que o anterior.

$$TR = 16,317 + 0,685 \text{ glicerol} + 4,208 \text{ CaCl}_2 - 0,343 (\text{glicerol}) (\text{CaCl}_2) \quad (15)$$



**Figura 36** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para a tensão de ruptura dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

$$E (\%) = - 8.300 + 2,616 \text{ glicerol} + 0,465 \text{ CaCl}_2 - 0,167 (\text{glicerol}) (\text{CaCl}_2) \quad (16)$$



**Figura 37** – Superfície de resposta, obtida através do modelo ajustado, para o alongamento dos filmes em função das variáveis: concentração de glicerol e  $\text{CaCl}_2$ .

## 9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 9.1 CONCLUSÃO GERAL

O rejeito industrial de cascas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) apresentou como componente principal as fibras (50,98%). O aproveitamento do pericarpo do maracujá para a extração de pectina mostrou-se uma alternativa economicamente viável, sendo que a pectina obtida a partir desta fonte apresentou qualidades superiores ou similares às propriedades da pectina cítrica comercial.

A quantidade bem como as características da pectina obtida sofreram a influência de vários fatores, tais como: o processo de extração, tipo de ácido e sua concentração, temperatura e tempo de extração.

Considerando o processo de extração convencional, para o ácido tartárico e nítrico o rendimento de pectina foi favorecido pela diminuição do pH. O melhor rendimento para o ácido tartárico (24,18%) foi encontrado nas condições de pH 1,9, 80 °C e 40 min. Para o ácido nítrico (14,10%) as condições foram pH 1,9, 90 °C e 20 min. O rendimento da extração com ácido acético (10,7%) (pH 2,1, 90 °C e 20 min) foi beneficiado pela diminuição da concentração do ácido.

Se comparadas ao processo de extração convencional extrações sob aquecimento em microondas originaram maiores rendimentos e pectinas com melhores propriedades (DE, massa molar, teor de ácidos urônicos). Resultado do aumento da porosidade capilar do tecido vegetal e do curto período de aquecimento. Os maiores rendimentos foram encontrados para ondas emitidas a 627,9 W de potência, 9 minutos de exposição e pH 2,0. Nestas condições pectinas extraídas com ácido nítrico apresentaram rendimento de 13,0%, elevada massa molar, 82,3% de ácidos urônicos, alto grau de esterificação (68,15%) e como principais açúcares constituintes apresentou 4,8% de glucose, 4,1% de arabinose e 3,6% de galactose. Pectinas obtidas pela utilização de ácido acético apresentaram um rendimento de 12,91%, elevada massa molar, 80,5% de ácidos urônicos, alto grau de esterificação (64,56%), 12,4% de glucose, 9,5% de arabinose e 6,8% de galactose. Os maiores rendimentos foram obtidos pela utilização do ácido tartárico, no entanto, a pectina extraída apresentou algumas qualidades indesejáveis, tais como: baixo grau de esterificação, massa molar reduzida e teor de ácidos urônicos (58,5%) inferior a 65%.

Em relação à associação da pectina e do alginato na elaboração de biofilmes, obteve-se materiais com propriedades melhoradas quando comparadas às dos filmes confeccionados a partir dos polímeros puros. Os filmes compostos apresentaram-se transparentes e homogêneos. Indicando que houve miscibilidade entre as macromoléculas e total incorporação dos componentes adicionados.

Ao analisarmos o efeito do agente reticulante sobre as características dos filmes podemos concluir que este contribui para a diminuição da solubilidade, permeabilidade ao vapor de água além de proporcionar um aumento da resistência do material. O agente plastificante utilizado conferiu maleabilidade aos filmes, no sentido em que aumentou a elasticidade dos mesmos.

Os filmes foram considerados barreiras moderadas ao vapor de água. Apresentando melhores qualidades quando obtidos a partir de uma solução reticuladora (2° estágio) composta por 5% (v/v) de glicerol e 7% (m/v) de  $\text{CaCl}_2$ .

## **9.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Como o processo industrial de extração de pectina geralmente é realizado pela utilização de ácidos inorgânicos fortes, que são altamente corrosivos e poluentes, surge a necessidade de substituição destes agentes por ácidos orgânicos fracos. Neste sentido, estudos posteriores precisam ser realizados para a determinação das condições ideais de extração de pectina a partir do ácido tartárico com qualidades melhoradas, além de que em relação ao ácido acético, embora as características sejam comparáveis às obtidas com o ácido nítrico, estudos para o aprimoramento dos processos de purificação da pectina devem ser realizados para eliminação do odor residual do ácido. Há também a necessidade de determinar a concentração remanescente de ácido presente na pectina após os processos de purificação e isolamento.

Em relação ao resíduo de cascas de maracujá gerado após o processo de extração de pectina, há a necessidade de estudos que busquem o aproveitamento desse rejeito, ainda rico em fibras e outros nutrientes. Uma alternativa para utilização desse material é a incorporação do mesmo à ração de animais ruminantes. Assim, são necessários estudos para a caracterização nutricional da farinha de cascas após submetida ao processo de extração e também a análise do desempenho da alimentação nestes animais.

Tratando-se da elaboração de biofilmes, o processo de geleificação e conseqüentemente as propriedades destes materiais são afetadas por fatores tais como: o tamanho molecular, grau de esterificação das pectinas, o número e arranjo das cadeias laterais do polímero. Assim, já que a pectina obtida a partir do pericarpo do maracujá apresentou algumas características distintas das pectinas comerciais é de se esperar que as propriedades dos filmes sejam diferentes, desta maneira é necessária a realização de estudos que promovam a caracterização dos filmes confeccionados a partir da pectina obtida das cascas de maracujá. Para isto, surge a necessidade da utilização de equipamentos que permitam extrair maior quantidade de pectina com mais facilidade em escala de bancada.

## 10 REFERÊNCIAS

ACIL-Associação Comercial e Industrial de Limeira. **Visão Empresarial 2007. CPKelco Brasil S/a.** Disponível em: <http://www.acil.org.br/site/diadaempresa/2007/encarte01/jornal10.htm> Acesso em fev. 2010.

ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L.; **Process Biochem.** 1998, 33, 21.

ALLEN, L., NELSON, A I., STEINBERG, M. P., MCGILL, J. N. Edible corn carbohydrate food coatings. I. Development and physical testing of a starch-alginate coating. **Food Technology**, v.17, p. 1437, 1963.

ANKER, M.; STADING, M.; HERMANSSON, A. Relationship between the microstructure and the mechanical and barrier properties of whey protein films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v.48, n.9, p.3806-3816, 2000.

ASSIS, O. B. G., LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Ed.30, jan-jun 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 16th edition, 4<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: AOAC, 1998.

AXELOS, M. A. V.; THIBAUT, J. F. The chemistry of low methoxyl pectin. In: WALTER, R. H. **The chemistry and technology of pectin**. New York: Academic Press. p.109- 118, 1991.

BATISTA, J. A. Desenvolvimento, caracterização e aplicações de biofilmes a base de pectina, gelatina e ácidos graxos em bananas e sementes de brócolos. **Dissertação de Mestrado**. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 137 p., 2004.

BERTAN, L. C. Desenvolvimento e caracterização de filmes simples e compostos a base de gelatina, ácidos graxos e breu branco. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 148p. 2003.

BIERMANN, C. J. Hydrolysis and the other cleavage of glycosidic linkages. In: BIERMANN, C. J.; MCGINNIS, G. D. **Analysis of Carbohydrates by GLC and MS**. Florida: CRC Press, 1989, p. 27-41.

BILLMEYER Jr, F.W.; **Textbook of polymer Science**, 3rd.ed, New York: John Wiley & Sons, 1984.

BIRD, R. B.; STEWART W. E.; LIGHTFOOT, E. N. **Fenômenos de transporte**. 2ed. Rio de Janeiro. Editora LTC. P. 11-15, 2004.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. **Anal. Biochem.**, v. 54, p. 484-489, 1973.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela. p.66-69, 1992.

BOCHEK, A. M.; ZABIVALOVA, N. M.; PETROPAVLOSVSKII, G. A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 74, n. 05, p. 775-777, mai. 2001.

BOX, G.E.O., BEHNKEN, D.W. Some new three level designs for the study of quantitative variables. **Technometrics**, v.2, p. 455-475, 1960.

BRANDÃO, E. M., ANDRADE, C. T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectina de alto grau de metoxilação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 38-44, 1999.

BRASIL, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC ANVISA/MS no 65, de 04 de outubro de 2007. Atribuição de aditivos alimentares, suas funções e seus limites máximos para geléias de frutas, vegetais, baixa caloria e mocotó. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 4 out. 2007. Seção 1.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Conferência das Nações Unidas sobre meio-ambiente e desenvolvimento**. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/estruturas/agenda21/\\_arquivos/cap21.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/agenda21/_arquivos/cap21.pdf) Acesso em dezembro de 2007.

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.

BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Polimetacrilato: Avaliação do Índice de Intumescimento e Permeabilidade ao Vapor d'água. **Quím. Nova**, São Paulo, v.30, n.2, p.312-317, 2007,a.

BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do Sulfato de Condroitina na Formação de Filmes Isolados de Etilcelulose. Avaliação das Características de Hidratação e Permeabilidade. **Lat. Am. J. Pharm.**, La Plata, v.26, n.1, p.89-95, 2007b.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J. Q.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and biopackaging. **Journal of the American Oil Chemists Society**. Chicago, v.74, n.10, p.1183-1192, 1997.

CANEVAROLO Jr. S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**, São Paulo: Artliber, 2004.

CANTERI, M. H. G. **Caracterização comparativa entre pectinas extraídas do pericarpo do maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)**. Tese de doutorado. Curitiba 2010, 161 f. Departamento de tecnologia de alimentos. Universidade Federal do Paraná.

CARCELLER, J. J., AUSSENAC, T. Size characterization of glutenin polymers by HPSEC-MALLS. **Journal of Cereal Science**, v. 33, p-131-142, 2001.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Berkeley: American Society of Plants Physiologists. 2000. p. 52-108.

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.

CARVALHO, L.D. e GODOY, R.C.B. **Utilização de bagaço de maracujá e resíduo de soja no enriquecimento de biscoitos tipo “cookies”**. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19, 2004. Recife. ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, 2004. v. CD Room.

CARVALHO, R. A. de. **Elaboração e caracterização de filmes à base de gelatina modificada enzimática e quimicamente. Tese de Doutorado**. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2002.

CEPLAC - Comissão Executiva de Planejamento da Lavoura Cacaueira. Disponível em:<<http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm>>. Acesso em 01 de novembro de 2009.

CHA, D. S.; CHOI, J. H.; CHINNAN, M. S.; PARK, H. J. Antimicrobial films based on Naalginatate and K-carrageenan. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**. London, v.35, n.8, p.715-719, 2002.

CHANDRA, R. e RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, v.23, n.7, p.1273-1335, 1998.

CHAPLIN, M. F. Monosaccharides. In: CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F. **Carbohydrate analysis**. 2 ed. London: Oxford University Press, 1994. p. 01-41.

CHAVAN, U. D., KADAM, S. S. **Handbook of fruit science and technology: production, composition, storage, and processing**. New York, USA: Marcel Dekker, 1995. p.445-454.

CHICK, J.; HERNANDEZ, R. J. Physical, thermal and barrier characterization of caseinwax-based edible films. **Journal of Food Science**. Chicago: v.67, n.3, 1073-1079, 2002.

COELHO, M. T. **Pectina: Características e Aplicações em Alimentos**. 2008. 32f. Seminário (Disciplina de Seminários em Alimentos) – Departamento de Ciência dos Alimentos, Curso de Bacharelado em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CORDOVA, K. R. V., GAMA, T. M. M. T. B., WINTER, C. M. G., KASKANTZIS NETO, G., FREITAS, R. J. S., **Características físico-químicas da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis Flavicarpa Degener*) obtida por secagem**. Boletim do CEPPA. Curitiba, v. 23, n. 2, p. 221-230, jan./jun. 2005.

CORREDIG, M., KERR, W., WICKER, L. Molecular characterization on commercial pectins by separation with linear mix gel permeation columns in-line with multi angle light scattering detection. **Food Hydrocolloids**, v.14, p. 41-47, 2000.

CRANDALL, P. G.; WICKER, L. Pectin internal gel strength: theory, measurement and methodology. IN: FISHMAN, M. L.; JEN, J. J. **Chemistry and Functions of Pectin**. Washington, D. C.: American Chemical Society, p.88, 1986.

CRISTENSEN, S.H. Pectins. In: GLICKSMAN, Martin (Ed.). **Food Hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press. v.3. p.205-230, 1986.

CUQ, B., GONTARD, N., GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In **Active Food Packaging**, M. Rooney (Ed.), p. 111-142, 1995.

CYBERCOLLOIDS. **Pectin manufacturers**. Disponível em: <http://www.cybercolloids.net>. Acesso em 14/08/2006.

D'ADDOSIO, R.D.; 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**, Caracas, v. 22, n. 03, p. 241-251, jul. 2005.

DA SILVA, E. G.; BORGES, M. F.; MEDINA, C.; PICCOLI, R. H.; SCHWAN, R. F.; **FEMS Yeast Res**. 2005, 5, 859.

DA SILVA, R.; FRANCO, C.L.; GOMES, E. **Pectinases, Hemiceluloses e Celuloses, Ação, Produção e Aplicação no Processamento de Alimentos**: Revisão. Bol. SBCTA, Campinas, v. 31, n.2, p.242-260, Jul/Dez 1997.

DEBEAUFORT, F., QUEDAZA-GALLO, J. A., VOILLEY, A., Edible films and coatings, tomorrow's packagings: A Review, **Critical Reviews in Food Science**, v.38, p. 299- 313, 1998.

DONER, L. W. Analytical methods for determining pectin composition. In: FISHMANN, M. L.; JEN, J. J. **Chemistry and function of pectin**. Florida: ACS, 1986, p. 13-19.

DONHOWE, G. e FENNEMA, O. The effects of plasticizers on cristallinity, permeability, and mechanical properties of methylcelulose films. **Journal of Food Processing Preservation**, v.17, p.247-257, 1993.

DUPUIS, G.; CHAMBIN, O.; GENELOT, C.; CHAMPION, D. and POURCELOT, Y. Colonic Drug delivery: Influence of cross-linking Agent on Pectin Beads properties and Role of the Shell Capsule type. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v.32, n.7, p.847-855, 2006.

ERTESVÁG, H., VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates, **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 85-91, 1998.

FAKHOURI, F. M. Coberturas comestíveis aplicadas na preservação de goiabas *in natura* (*Psidium guajava* L.). **Dissertação de Mestrado**. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 126p., 2002.

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

FERREIRA, C.D. e PENA, R.S. Elaboração de geléia de maracujá utilizando a farinha da casca do maracujá como fonte de pectina. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19, 2004a. Recife. ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, 2004a. v. CD Room.

FERREIRA, C.D. e PENA, R.S. Obtenção de farinha rica em fibra dietética a partir da casca do maracujá resíduo da indústria do suco. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19, 2004b. Recife. ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, 2004b. v. CD Room.

FIGUEROLA, F.; HURTADO, M. L.; ESTÉVEZ, A. M.; CHIFFELE, I.; ASSENJO, F. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. **Food Chemistry**, n. 91, p. 395-401, 2005.

FISHMAN, M. L., CHAU, H. K., HOAGLAND, P., AYYAD, K. Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. **Carbohydrate research**, v. 323, p. 126-138, 2000.

FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R. Mechanical, microstructural and solubility properties of pectin/poly (vinyl alcohol) blends. **Carbohydrate Polymers**. Oxford, v.35, n.3-4, p.195-203, 1998.

FRIEND, D. R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. **Adv. Drug Deliver. Rev.**, Amsterdam, v.57, n.2, p.247-265, 2005.

GAINVORS, A.; FRÉZIER, V.; LEMARESQUIER, H.; LEQUART, C.; AIGLE, M.; BELARBI, A.; **Yeast** 1994, 10, 1311.

GALIETTA, G.; DI GIOIA, L.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Mechanical and thermomechanical properties of films based on whey proteins as affected by plasticizer and crosslinking agents. **Journal of Dairy Science**. Savoy, v.81, n.12, p.3123-3130, 1998.

GALLO, J. A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsionbased edible films. **Journal of Membrane Science**. Amsterdam, v.180, p.37-46, 2000.

GOMES, M. Obtenção de pectina a partir de casca de maracujá, 2004. 66p. **Trabalho de Diplomação** (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos), Ponta Grossa, Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**. Oxford, v.29, n.1, p.39-50, 1994.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties.

---

**International Journal of Food Science and Technology.** Oxford, v.29, n.1, p.39-50, 1994.

GRANT, G. T., MORRIS, E. R., REES, D. A., SMITH, P. J. C., THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model, **Febs Letters**, v. 32, p. 195-198, 1973.

GROSSO, C. R. F.; BOBBIO, P. A.; AIROLDI, C. Effect of sugar and sorbitol on the formation of low methoxyl pectin gels. **Carbohydrate Polymers.** Oxford. v.41, n.4, p.421-424, 2000.

GUILBERT, S. Technology and application of edible protective films. In **Food Packaging and Preservation.** M. Mathlouthi (Ed), Elsevier Applied Science Publishers, Ltd, New York, p. 371-394, 1986.

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.

H&F HERBSTREITH & FOX. Pectins in Preventive Nutrition and Therapy. Disponível em: <[http://www.herbstreithfox.de/fileadmin/tmp/pdf/funde/FuE\\_Pectins\\_in\\_Preventive\\_Nutrition\\_and\\_Therapy.pdf](http://www.herbstreithfox.de/fileadmin/tmp/pdf/funde/FuE_Pectins_in_Preventive_Nutrition_and_Therapy.pdf)>. Vitafood Congress. 1998.

IBARZ, A.; PÁGAN, A.; TRIBALDO, F.; PÁGAN, J. Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the *m*-hydroxydiphenil pectin determination methods. **Food control**, v. 17, p. 890-893, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. Sao Paulo: IMESP, 1985. p. 21-22 e 27-28.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 25 maio 2004.

IPPA – International Pectin Producers Association. **What is pectin?** Disponível em: <[http://www.ippa.info/what\\_is\\_pectin.htm](http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm)>. Acesso em: 20 Out. 2008.

IRISSIN-MANGATA, J., BAUDUIN, G., BOUEVIN, B., GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. **European Polymer Journal**, v.37, p.1533-1541, 2001.

ITAL – INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Maracujá. São Paulo: ITAL, 1980. 207p. (Série frutas tropicais, 9).

JANSEN, A. A. J. Agriculture. In: JANSEN, A. A. J.; PARKINSON S.; ROBERTSON A. F. S. A. **Food and nutrition in Fiji: a historical review.** Volume 2. Suva: University of South Pacific, 1991. p. 690-718.

KASHYAP, D. R.; CHANDRA, S.; KAUL, A.; TEWARI, R.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 16, 277.

KERTESZ, Z. I. **The pectic substances.** New York: Interscience, 1951. 628 p.

- 
- KESTER, J. J.; FENNEMA, O. R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**. Chicago, v.42, p.47-59, 1986.
- KING, A. H. Brown seaweed extracts (Alginates). *Food Hydrocolloids*, v. 2, p. 115-188, 1983.
- 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*)**. Florianópolis, 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.
- KRATCHANOVA, M., PAVLOVA, E., PANCHEV, I. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extract pectin. **Carbohydrate Polymers**, v.56, p. 181-185, 2004.
- KROCHTA, J. M.; DE MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**. Chicago. v.51, n.2, p.61 -74, 1997.
- LAPASIN, R; PRICL, S. **Rheology of industrial polysaccharides – theory and applications**. Gaithersburg: Aspen Publishers. 1999. 620p.
- LÉVIGNE, S.; THOMAS, M.; RALET, M.C.; QUEMENER, B.; THIBAUT, J.F. Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 547-550, 2002.
- LIN, S-Y; CHEN, K-S; RUN-CHU, L. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. **Journal of Controlled Release**. Amsterdam, v.68, p.343-350, 2000.
- LIU, L. S; FISHMAN, M.L.; KOST, J; HICKS, K.B.. Pectin based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials** v. 24, p. 3333 – 3343, 2003.
- LÓPEZ, R. Preferência por hábitos saudáveis gera excelentes oportunidades para o mercado. **Engarrafador Moderno**. n. 120, p. 8-18, 2004.
- LOUSADA JUNIOR, J. E., COSTA, J. M. C., NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ, N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.
- LUCAS, E. F., SOARES, B. G., MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros - determinação de peso molecular e análise térmica**. Editora e-papers, Rio de Janeiro-RJ, 2001.
- MACHADO, J. C. V. **Reologia e escoamento fluidos-ênfase na indústria de petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. 257 p.

MACLEOD, G. S.; FELL, J. T.; COLLETT, J. H. Studies on the physical properties of mixed pectin/ethylcellulose films intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. Amsterdam, v.157, p.53-60, 1997.

MAIORANO, A. E. Produção de pectinase por fermentação em estado sólido. *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1990.

MARCOTTE, M.; TAHERIAN HOSHAHILI, A. R.; RAMASWAMY, H. S. Rheological properties of selected hydrocolloids as function of concentration and temperature. **Food Research International**. v.34, n.8, p.695-703, 2001.

MARINIELLO, L.; DI PIERRO, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MASI, P.; RAFÉALE, P. Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Journal of Biotechnology**. Amsterdam, v.102, p.191-198, 2003.

MAY, C. D. Pectins. In: IMENSON, A. **Thickening and gelling agents for food**. Cap.11. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional. p.230-260. 1997.

McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Milk-protein-based edible films and coating. **Food Technology**. Chicago, v.48, n.1, p.97-103, 1994a.

MEDINA, J.C., GARCIA, J.L.M., TOCCHINI, R.P., HASHIZUME, T., MORETTI, V.A., CANTO, W.L; In: Maracujá, da cultura ao processamento e comercialização. São Paulo: ITAL, 1980. 207p. (Frutas Tropicais, 9).

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

MILLER; K. S.; KROCHTA, J. M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. **Trends in Food Science & Technology**. London, v.8, n.7, p.228-237, 1997.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. **Fruticultura Irrigada**: sistema de informações. Disponível em : <<http://www.irrigar.org.br>>. Acesso em: 23 março 2004.

MISHA, R. K.; DATT, M.; BANTHIA, A. K. Synthesis and Characterization of Pectin/PVP Hydrogel Membranes for Drug Delivery System. **AAPS PharmSciTech**, v. 9,v, p.395-403, 2008.

MORRIS, E. R. Polysaccharide rheology and inmouth perception. In: Stephen, A. M. (Ed.). **Food Polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker. 1995 p.517-546.

NORZIAH, M. H., GONG, S. S., KARIM, A. A., SEOW, C. C. Pectin-Sucrose-Ca<sup>2+</sup> interactions: effects on rheological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 491-498, 2001.

OFST- Office Federal de la Sante Publique. **Manuel suisse des denrées alimentaires**. Gélifiants et épaississants. Chapitre 40. juin 1993. Disponível em < [http://www.baganw.admin.ch/SLMB\\_Online\\_PDF/Data%20SLMB\\_MSDA/Version%20F/40\\_Gelifiants.pdf](http://www.baganw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Data%20SLMB_MSDA/Version%20F/40_Gelifiants.pdf)>. Acesso em 26/11/2005.

OLIVEIRA, F. M.; CAVALCANTI, O. A. Pré-Bióticos na Formação de filmes isolados de Eudragit® RS30D. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade. **Lat. Am. J. Pharm.**, La Plata, v.26, n.3, p.325-31, 2007.

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

OUYANG, W.; CHEN, H.; JONES, M.L.; METZ, T.; HAQUE, T.; MARTONI, C.; PRAKASH, S. (2004) Artificial cell microcapsule for oral delivery of live bacterial cells for therapy: design, preparation, and in-vitro characterization. **Journal Pharmaceut Sci**. v. 7, p. 315-324, 2004.

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.

PARK, H. J.; CHINNAN, M. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. **Journal of Food Engineering**. Oxford, v.25, n.4, p.497-507, 1995.

PARK, J. W., TESTIN, R. F., PARK, H. J., VERGANO, P. J., WELLER, C. L., Fatty acid concentration effect on tensile strength, elongation, and water vapor permeability of laminated edible films. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 59, n. 4, p. 916-919, 1994.

PERES, P. A.; CANTERI-SCHEMIN, M. H. Rendimento da extração de pectina de diferentes partes de maracujá. **6o Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**. Campinas, 07-10 nov. 2005. p. 1467.

PERES, P. A.; SOUZA, F. L.; CANTERI-SCHEMIN, M. H.; STADLER, C. C. Valorização de resíduos agroindustriais do maracujá. **Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutos Tropicais**. João Pessoa. 29 nov./02 dez. 2005.

PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; DOCO, P. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, v. 85, p. 109–121, 2003.

PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylanbased films. 1. Effects of lipid type on water vapor permeability, film structure and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v.50, n.14, p.3977-3983, 2002.

PINHEIRO, E. R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química**. Florianópolis, 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.

PIZA JÚNIOR, C.T., GUAGGIO, J. A.; SILVA, J.R.; KAVATI, E.; MELETTI, L.M.M; SÃO JOSÉ, A.R. Adubação do maracujá. **Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 148-149, 1996.

QUIMIBRAS. Lista de preços e produtos. Disponível em: <[http://www.quimibras.com.br/homepage/produtos/dyne\\_todos.html](http://www.quimibras.com.br/homepage/produtos/dyne_todos.html)>. Acesso em 17/02/2010.

RHIM, J. W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. **Lebensmittel.-Wiss. U.-Technology**, v. 37, p. 323-330, 2003.

RIBEIRO, B. M. **Visão geral da empresa CPKelco**. Apresentação proferida na sala de reuniões da parte administrativa da empresa CPKelco, Limeira, 18 fev. 2002.

RINAUDO, M. Relation between the molecular structure of some polysaccharides and original properties in sol and gel states. **Food Hydrocolloids**. Oxford, v.15, n.4-6, p.433-440, 2001.

ROBERTSON, G. L. Optical and mechanical properties of thermoplastic polymers, in *Food Packaging: Principles and Practice*, New York, Marcel Dekker, p. 63-107, 1993.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Assessment of the provitamin A contents of foods – the Brazilian experience. **Journal of Composition and Analysis**. v. 9, p.196-230, 1999.

ROLIN, C.; De VRIES, S. J. Pectin. In: HARRIS, P. **Food Gels**. Elsevier Applied Science. Ch 10, p.401-434. 1990.

ROS, J.M.; SCHOL, H.A.; VORAGEN, A.G.J. Lemon albedo cell walls contain distinct populations of pectic hairy regions. **Carbohydrate Polymers**, v.37, p.159-166, 1998.

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.

SAKAI, T.; SAKAMOTO, T.; HALLAERT, J.; VANDAMME, E.; *Adv. Appl. Microbiol.* 1993, 39, 213.

SAKANAKA, L. S. Estudo das condições de armazenamento sobre as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina reticulada. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 175p. 2002.

SANDI, D; CHAVES, J.B.P.; SOUZA, A.C.G.; SILVA, M.T.C. & PARREIRAS, F.M. Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) durante o armazenamento. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos** .v.23, n.3, 2003.

SCHEMIN, M.H.C., 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.

SEBRAE - Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas do Paraná. Oportunidade Sebrae/PR. A Cultura do maracujá. Curitiba, Sebrae/PR, p. 5 -14, 2005.

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

SHIH, F. F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**.St. Paul, v.73, n.3, p.406-409. 1996.

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, D.; TOKUIOSSHI, K.; MARTINS, E. S.; DA SILVA, R.; GOMES, E.; *Process Biochem.* 2005, 40, 2885.

SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v.18, n.1 p.3-18, 2003.

SMIDSRØD, O. Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. **Faraday Discuss. Chemical Society**, v. 57, p. 263-274, 1974.

SOARES, L.M.V.; SHISHIDO, K.; MORAES, A.M.M.& MOREIRA, V.A. Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos** .v.24, n.2, 2004.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. **Ciência & Engenharia**. Uberlândia, v.8, n.1, p.60-67, 1999.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**. Oxford, v.15, p.423-432, 2001.

SOUTO MAIOR J. P. A.; REIS A. V.; PEDREIRO L. N.; CAVALCANTI O. A.. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 44, n. 2, abr./jun., 2008.

SRIAMORNSAK, P. Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses: A Review. **Silpakorn University International Journal**. v. 3, p. 206-228, 2003.

SUPPAKUL, P., MILTZ, J., SONNEVELD, K., BIGGER, S. W., Active packaging technologies with emphasis on antimicrobial packaging and its applications, *J. Food Science*, v. 68, n.2, 2003.

TANADA-PALMU, P. S.; FAKHOURI, F. M.; GROSSO, C. R. F. Filmes biodegradáveis. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, n.26, p.12-17, 2002.

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

THARANATHAN, R. N., Biodegradable films and composite coatings: past, present and future, *Trends in Food Science & Technology*, v. 14, p. 71-78, 2003.

THIBAUT, J. F., SAULNIER, L., AXELOS, M. A. V.; RENARD, C. M. G. C. Difficultés expérimentales de l'étude des macromolécules pectiques. **Bulletin de la Société Botanique Française**, n. 314, p. 319-337, 1991.

THIBAUT, J. F. Les substances pectiques. In: MONTIES B. **Les polymeres vegetaux**. Paris: Gauthier-Vilars, p. 233-251, 1980.

THIBAUT, J. F.; PETIT, R. Les substances pectiques: généralités et domaine d'application dans les industries alimentaires. **Industries alimentaires et agricoles**. v. 96, n. 12, dez. 1979.

TIMOFIECSYK F.R., PAWLOWSKY U. Minimização de Resíduos na Indústria de Alimentos. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 221-236, jul./dez. 2000.

TIMOFIECSYK F.R., PAWLOWSKY U. Minimização de Resíduos na Indústria de Alimentos. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 221-236, jul./dez. 2000.

TSUYUMU, S.; ISHII, S.; NAKAMURA, M.; **Agricultural and Biological Chemistry** 1989, 53, 2509.

TURQUOIS, T.; RINAUDO, M.; TARAVEL, F.R.; HEYRAUD, A. Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. **Food Hydrocolloids**, v.13, p.255-262, 1999.

VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. **Tese de doutorado**. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 198 p. 2003.

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

VITAMINASECIA. Disponível em:< <http://www.vitaminasecia.hpg.ig.com.br/maracuja>>. Acesso em 05 de dezembro de 2009.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.- J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v. 20, p. 263–275, 2009.

VORAGEN, G. J., PILNIK, W., THIBAUT, J. F., AXELOS, M. A. V., RENARD, C. M. G. C. In: **Food polysaccharides and their applications** (STEPHEN A. M., ed.), p 287–339. Marcel Dekker Inc., New York, 1995.

WHITAKER, J. R.; *Principles of Enzimology for the Food Sciences*, 2nd ed., Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994, p. 425 – 436.

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.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Acetylation. **Methods Carbohydr. Chem.**, v. 2, p. 211-215, 1963a.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydride. **Methods Carbohydr. Chem.**, v. 2, p. 65-68, 1963b.

WONG, D. W. S. **Química de los Alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza: Acribia, 1995. 476 p.

XIE, L.; HETTIARACHCHY, N. S.; JU, Z. Y.; MEULLENET, J.; WANG, H.; SLAVIK, M. F.; JANES, M. E. Edible film coating to minimize eggshell breakage and reduce post wash bacterial contamination measured by dye penetration in eggs. **Journal of Food Science**. Chicago, v.67, n.1, p.280-284, 2002.

YALPANI, M.; SANDFORD, P. A. Commercial Polysaccharides: recent trends and developments. In: YALPANI, M. **Industrial Polysaccharides. Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications**. Amsterdam: Elsevier, 1987.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. **Food Research International**. Inglaterra, v.33, n.7, p.571-578, 2000a.

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.; KOFFI, K.L. Yellow passion fruit rind – a potential source of lowmethoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

YOKOI, H.; OBITA, T.; HIROSE, J.; HAYASHI, S.; TAKASAKI, Y. Flocculation properties of pectin in various suspensions. **Bioresource Technology**, v.84, p.287-290, 2002.

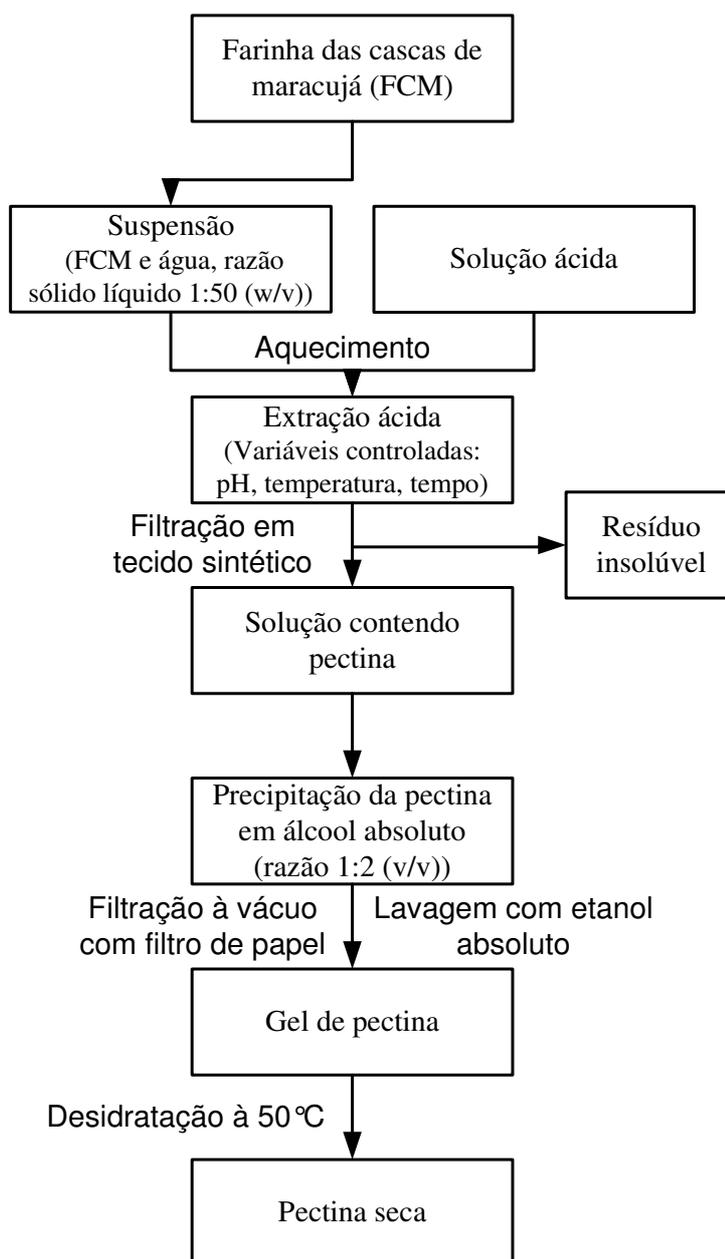
ZACTITI, E. M. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de alginato de cálcio sem e com sorbato de potássio. **Tese de Doutorado**. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

ZHENG, Z.; SHETTY, K.; *Process Biochem.* **2000**, 35, 825.

## ANEXO A

### EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ

O processo de extração e isolamento da pectina através da metodologia convencional está esquematizado na Figura 38A.



**Figura 38A** – Diagrama de extração ácida e precipitação de pectinas a partir da FCM.

## ANEXO B

### EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ

#### DADOS DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS

**Tabela 11B** – Coeficientes dos modelos de regressão para os experimentos realizados com o ácido acético, nítrico e tartárico, para o processo de extração convencional.

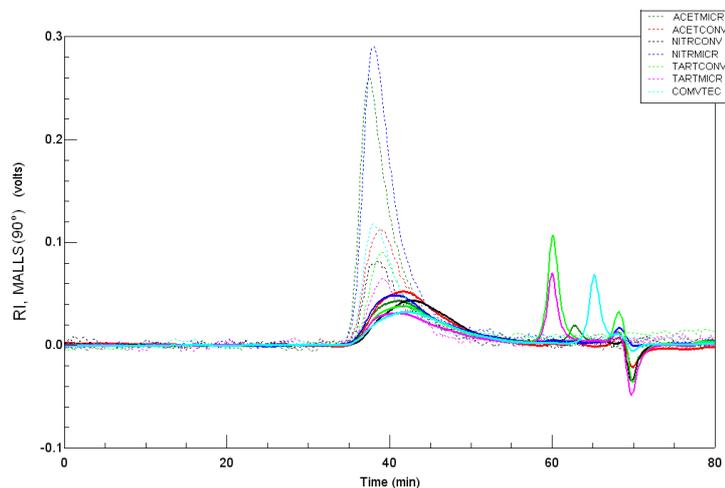
Efeito	Ácido acético			Ácido tartárico			Ácido nítrico		
	Coef.	Erro	p	Coef.	Erro	p	Coef.	Erro	p
Intercepto	519,57*	92,954	0,003	641,281*	245,767	0,048	458,17*	175,183	0,047
pH	-448,83*	86,371	0,004	-676,816*	228,361	0,031	-483,51*	162,775	0,031
pH <sup>2</sup>	110,13*	21,189	0,004	173,125*	56,024	0,027	123,67*	39,933	0,027
T(°C)	-1,886*	0,531	0,016	0,600	1,404	0,687	0,427	1,001	0,687
T(°C) <sup>2</sup>	0,011*	0,002	0,004	-0,002	0,006	0,688	-0,002	0,004	0,687
t.e.(min)	0,105	0,290	0,732	1,935	0,767	0,053	1,382	0,547	0,053
t.e.(min) <sup>2</sup>	0,003*	0,001	0,031	0,009*	0,003	0,031	0,006*	0,002	0,030
pH*T(°C)	0,168	0,204	0,448	0,003	0,538	0,996	0,003	0,384	0,995
pH*t.e.(min)	0,019	0,132	0,892	-0,873	0,349	0,054	-0,624	0,249	0,054
T(°C)*t.e.(min)	-0,003	0,001	0,081	-0,005	0,004	0,238	-0,003	0,003	0,237

\*Coeficientes significativos. O teste t-Student foi realizado com 16 graus de liberdade e um nível de significância de 0,05.

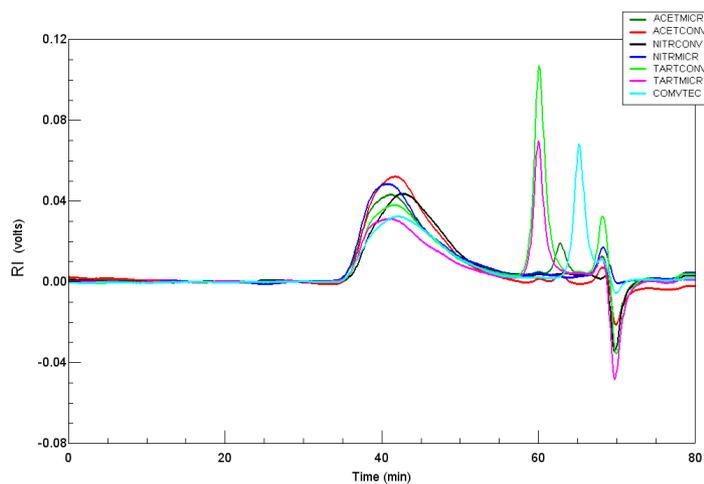
## ANEXO C

### EXTRAÇÃO DE PECTINA DAS CASCAS DE MARACUJÁ

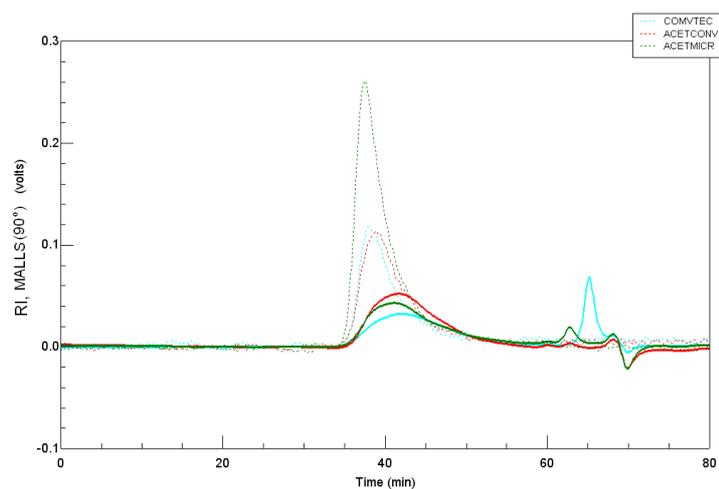
#### DADOS CROMATOGRÁFICOS (HPSEC-MALLS/RI)



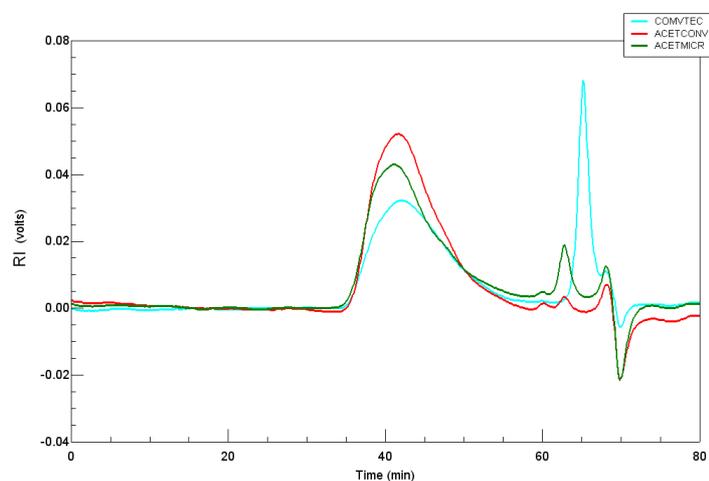
**Figura 39C** – Perfil de eluição comparativo das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI.



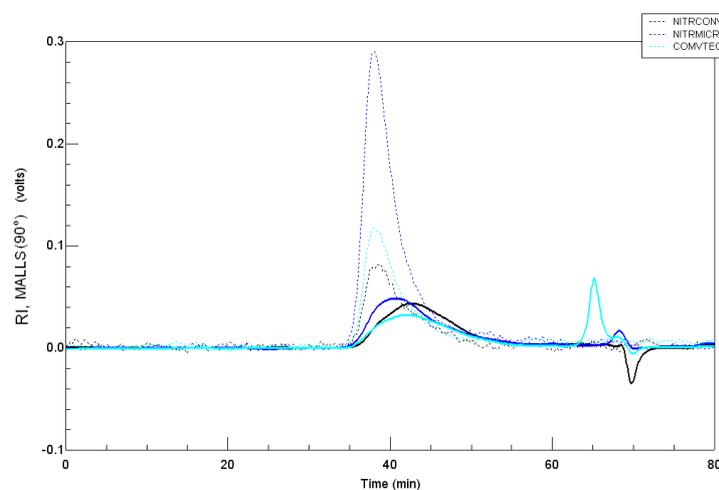
**Figura 40C** – Perfil de eluição comparativo (detector RI) das pectinas extraídas com diferentes ácidos e processos por HPSEC-MALLS/RI.



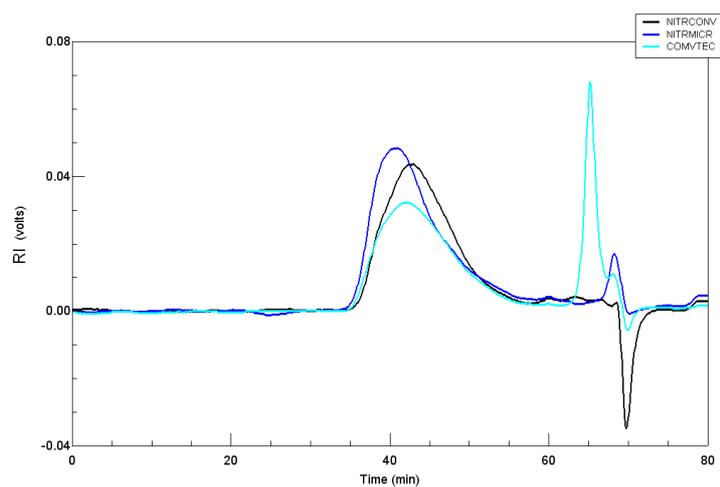
**Figura 41C** – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido acético e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.



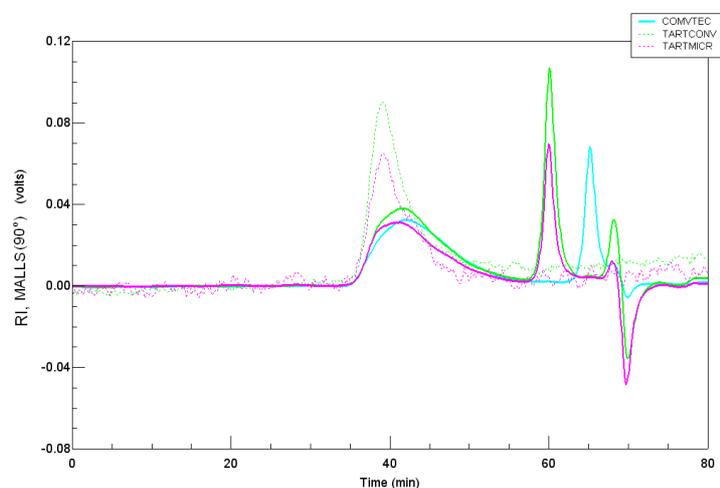
**Figura 42C** – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido acético e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.



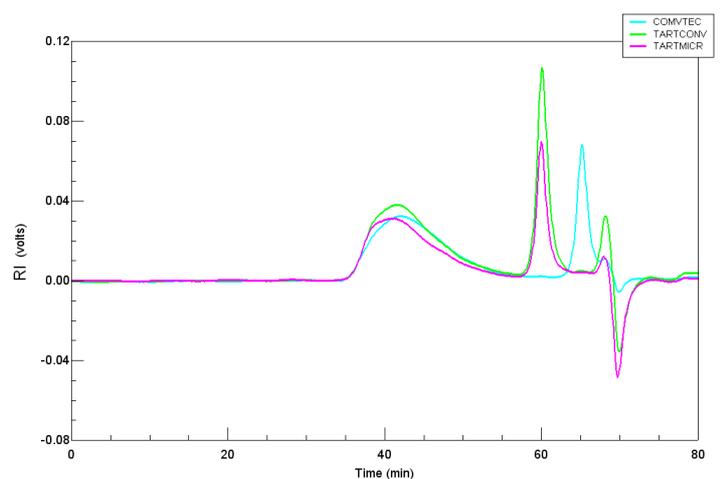
**Figura 43C** – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido nítrico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.



**Figura 44C** – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido nítrico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.



**Figura 45C** – Perfil de eluição comparativo entre as pectinas extraídas com ácido tartárico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.

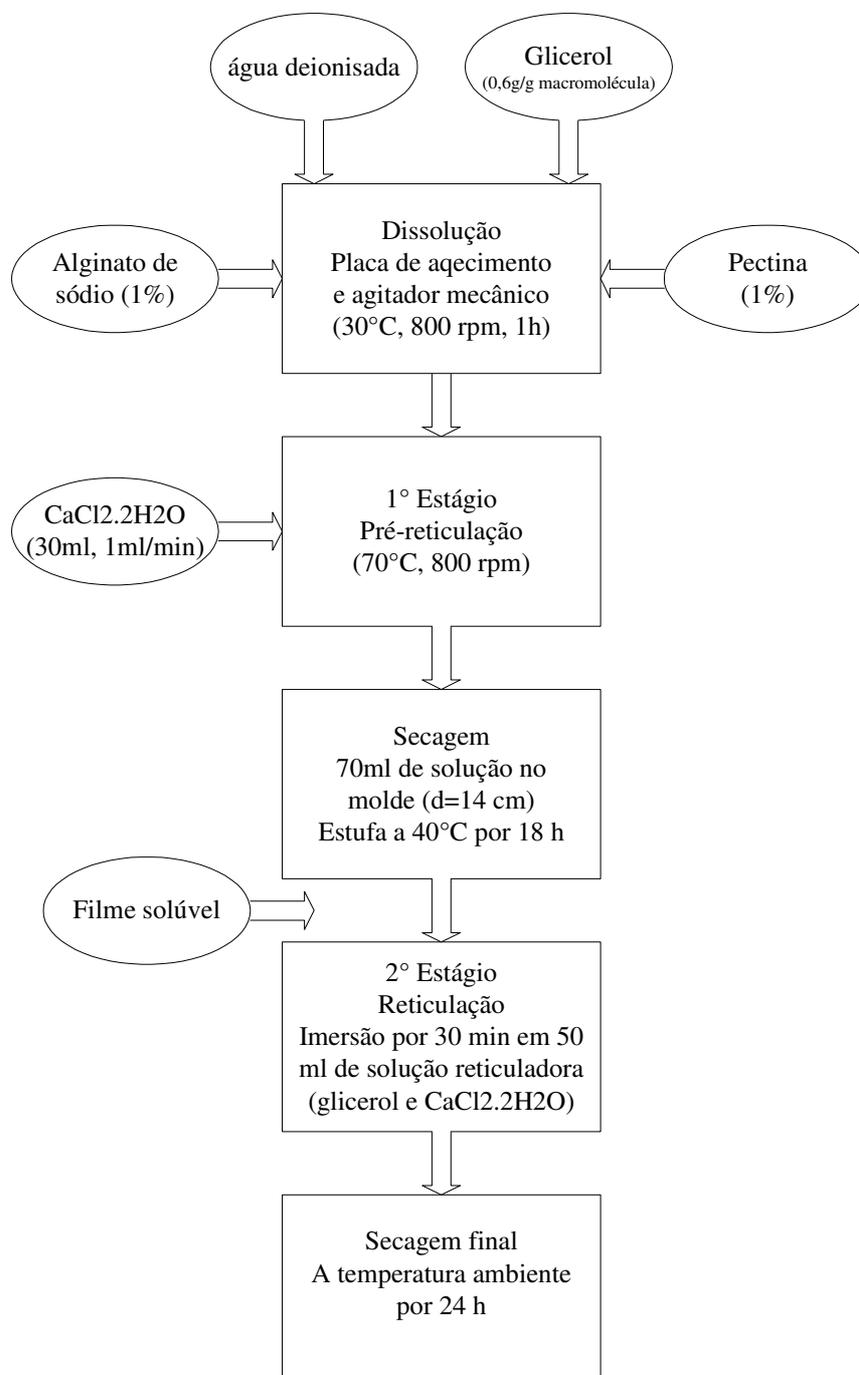


**Figura 46C** – Perfil de eluição comparativo (detector RI) entre as pectinas extraídas com ácido tartárico e pectina cítrica comercial por HPSEC-MALLS/RI.

## ANEXO D

### BIOFILMES DE PECTINA E ALGINATO

O fluxograma da Figura 47D esquematiza as etapas de preparação dos biofilmes.



**Figura 47D** – Fluxograma da preparação de filmes de pectina e alginato de sódio.

Adaptado de Zactiti, 2004

## ANEXO E

### BIOFILMES DE PECTINA E ALGINATO

#### DADOS DE SOLUBILIDADE E UMIDADE

**Tabela 12E**– Conteúdo de umidade e solubilidade em água de filmes de pectina e alginato.

Composição da solução reticuladora (2° estágio)		Umidade	Solubilidade
Glicerol (%) (v/v)	CaCl <sub>2</sub> (%) (m/v)	(g água/g filme)	(%)
10	3	0,33 (± 0,015)	51,98 (± 0,96)
10	7	0,28 (± 0,014)	36,45 (± 0,49)
5	7	0,20 (± 0,056)	32,88 (± 0,57)
5	3	0,27 (± 0,10)	48,50 (± 1,25)
7	5	0,16 (± 0,006)	36,78 (± 0,42)

Média ± desvio padrão (3 repetições).

#### DADOS DE INTUMESCIMENTO

**Tabela 13E** – Grau de intumescimento de equilíbrio e razão das espessuras final e inicial dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2° estágio.

Composição da solução reticuladora (2° estágio)		GI	$\delta_f / \delta_i^*$
Glicerol (%) (v/v)	CaCl <sub>2</sub> (%) (m/v)		
10	3	2,18	3,63 (± 0,005)
10	7	1,64	2,76 (± 0,006)
5	7	1,09	3,68 (± 0,003)
5	3	1,99	3,61 (± 0,005)
7	5	1,94	3,35 (± 0,008)

Média ± desvio padrão (5 repetições).

## DADOS DE PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

**Tabela 14E** – Espessura média e permeabilidade ao vapor d'água dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio.

Composição da solução reticuladora (2º estágio)		Espessura (mm)	Kpva (g.mm)/ (m <sup>2</sup> .dia.kPa)
Glicerol (%) (v/v)	CaCl <sub>2</sub> (%) (m/v)		
10	3	0,076 (± 0,001)	9,82 (± 0,027)
10	7	0,065 (± 0,004)	8,29 (± 0,039)
5	7	0,051 (± 0,005)	7,72 (± 0,014)
5	3	0,076 (± 0,003)	8,77 (± 0,025)
7	5	0,063 (± 0,004)	8,16 (± 0,028)

Média ± desvio padrão. Para espessura 5 repetições e para Kpva 3 repetições.

## DADOS DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS

**Tabela 15E** – Propriedades mecânicas dos filmes de pectina e alginato para variações na concentração da solução reticuladora do 2º estágio.

Composição da solução reticuladora (2º estágio)		TR (MPa)	E (%)
Glicerol (%) (v/v)	CaCl <sub>2</sub> (%) (m/v)		
10	3	25,49 (± 6,58)	13,99 (± 3,55)
10	7	28,82 (± 9,07)	9,35 (± 4,65)
5	7	37,22 (± 4,55)	2,18 (± 2,58)
5	3	27,47 (± 6,98)	3,64 (± 5,25)
7	5	30,31 (± 8,97)	2,90 (± 5,67)

Média ± desvio padrão (9 repetições).