



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

CRISTINE SOARES VIDAL

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA MODELO PARA OBTENÇÃO
DE POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS**

FORTALEZA

2020

CRISTINE SOARES VIDAL

DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA MODELO PARA OBTENÇÃO DE
POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.

Coorientadora: Dr^a. Lorena Mara Alexandre e Silva.

FORTALEZA

2020

CRISTINE SOARES VIDAL

DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA MODELO PARA OBTENÇÃO DE
POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, João Neto e Cristina.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

A Prof^ª. Dr^ª. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo e a Dr^ª. Lorena Mara Alexandre e Silva, por toda dedicação, paciência e carinho que tiveram comigo, além da excelente orientação, serei eternamente grata.

Aos participantes da banca examinadora Prof^ª. Dr^ª. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil e Prof^ª. Dr^ª. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos colegas do Laboratório Multiusuário de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical, pela colaboração no trabalho, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Aos colegas do Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais da UFC, pelo apoio e pelas sugestões recebidas.

Aos meus amigos, por todo o apoio, compreensão e carinho durante a realização de todo o trabalho.

Ao meu namorado, Iago, por ter tido paciência e compreensão comigo nos momentos de dificuldade, por todo apoio e carinho.

E por fim, agradeço a todos os que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A atividade agroindustrial gera grande volume de resíduos ou co-produtos e a reutilização eficiente desses resíduos para maximizar o uso das matrizes alimentares é desejável. Dentre os co-produtos pode-se destacar as cascas, bagaço e sementes que possuem potencial para ser uma biomassa para a recuperação de compostos bioativos como pectina, lipídios, flavonóides, fibras alimentares, etc. A pectina é um heteropolissacarídeo que é encontrado nas paredes celulares de todas as plantas vivas e atua como material adesivo entre as células. É amplamente utilizada em sistemas alimentares como agente emulsificante, estabilizante e espessante. No entanto, existem vários métodos de extração desses compostos bioativos e eles não seguem uma metodologia padrão, dificultando a obtenção de seletividade e reprodutibilidade quanto ao material extraído. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi extrair polissacarídeos da parede celular de casca de manga (*Mangifera indica*), casca do maracujá (*Passiflora eduli*), bagaço do caju (*Anacardium occidentale*), casca do coco verde (*Cocos nucifera*) e bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) usando uma metodologia padrão para uma extração confiável e reprodutível. As frações foram obtidas a partir de protocolos de extração sequencial com água, ciclohexano-trans-1,2-diamina tetracetato (CDTA), carbonato de sódio / CDTA e KOH, e as frações foram denominadas, respectivamente, pectina hidrossolúvel (WSP), pectina solúvel em CDTA (CSP), pectina solúvel em carbonato de sódio (SSP) e hemicelulose (HC). Para a caracterização de cada uma das frações de polissacarídeos da parede celular foram utilizadas as técnicas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) e Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H), Espectroscopia de Ressonância Nuclear de Carbono (RMN ¹³C) e Espectroscopia Heteronuclear de Coerência Quântica Simples (HSQC). Os espectros das frações WSP, CSP e SSP de todos os materiais estudados apresentaram sinais característicos de resíduos de pectina e a fração HC mostrou características sinalizadoras de hemicelulose. Estes resultados mostraram que a metodologia empregada para ser um protocolo padrão para a extração bioativa de resíduos agroindustriais é reprodutível e confiável, pois independentemente do material, as frações foram semelhantes.

Palavras-chave: Biomassa. Pectina. RMN

ABSTRACT

The agroindustrial activity generates a large volume of waste or co-products and the efficient reuse of this waste to maximize the use of food matrices is desirable. Among the co-products we can highlight the peels, bagasse and seeds that have the potential to be a biomass for the recovery of bioactive compounds, such as pectin, lipids, flavonoids, dietary fibers, etc. Pectin is a heteropolysaccharide that is found on the cell walls of all living plants and acts as an adhesive material between cells. It is widely used in food systems as an emulsifying, stabilizing and thickening agent. However, there are several methods of extracting these bioactive compounds and they do not follow a standard methodology, making it difficult to obtain selectivity and reproducibility regarding the extracted material. Thus, the objective of this work was to extract polysaccharides from the cell wall of *Mangifera indica*, *Passiflora eduli*, *Anacardium occidentale*, *Cocos nucifera* and *Saccharum officinarum* using a standard methodology for a reliable extraction. The fractions were obtained from sequential extraction protocols with water, cyclohexane-trans-1,2-diamine tetracetate (CDTA), sodium carbonate / CDTA and KOH, and the fractions were named, respectively, water-soluble pectin (WSP), CDTA-soluble pectin (CSP), sodium carbonate-soluble pectin (SSP) and hemicellulose (HC). For the characterization of each of the cell wall polysaccharide fractions, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Gel Permeation Chromatography (GPC) and Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR), Carbon Nuclear Resonance Spectroscopy (^{13}C NMR) and Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy (HSQC). The spectra of the WSP, CSP and SSP fractions of all the materials studied showed characteristic signs of pectin residues and the HC fraction showed hemicellulose signaling characteristics. These results showed that the methodology used to be a standard protocol for the bioactive extraction of agroindustrial waste is reproducible and reliable, because regardless of the material, the fractions were similar.

Keywords: Biomass. Pectin. NMR

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura da parede celular primária de uma planta.	18
Figura 2 –	Esquema da estrutura da pectina.	19
Figura 3 –	Fluxograma do pré-tratamento realizado para todas as amostras.	25
Figura 4 –	Fluxograma das etapas de extração	26
Figura 5 –	Estrutura molecular: a) ácido galacturônico e b) ácido galacturônico esterificado	30
Figura 6 –	Espectro de RMN- ¹ H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga	31
Figura 7 –	Espectro de RMN- ¹³ C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga	32
Figura 8 –	Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga	33
Figura 9 –	Espectro de RMN- ¹ H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá	36
Figura 10 –	Espectro de RMN- ¹³ C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá	37
Figura 11 –	Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá	38
Figura 12 –	Espectro de RMN- ¹ H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço de caju	41
Figura 13 –	Espectro de RMN- ¹³ C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço do caju	42
Figura 14 –	Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço do caju	43
Figura 15 –	Espectro de RMN- ¹ H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da casca do coco verde.	45
Figura 16 –	Espectro de RMN- ¹³ C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da casca do coco verde	46
Figura 17 –	Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP e c) HC da casca do coco verde	47
Figura 18 –	Espectro de Infravermelho das frações obtidas da casca da manga: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC	49
Figura 19 –	Espectro de Infravermelho das frações obtidas da casca do maracujá: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC	50
Figura 20 –	Espectro de Infravermelho das frações obtidas do bagaço do caju: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC	51
Figura 21 –	Espectro de Infravermelho das frações obtidas da casca do coco verde: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores em % de rendimento das frações obtidas	29
Tabela 2 –	Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca da manga	34
Tabela 3 –	Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca da manga	34
Tabela 4 –	Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca do maracujá	39
Tabela 5 –	Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do maracujá	40
Tabela 6 –	Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas do bagaço do caju	43
Tabela 7 –	Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do bagaço do caju	44
Tabela 8 –	Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca do coco	47
Tabela 9 –	Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do coco	48
Tabela 10 –	Massas molares e índices de polidispersividades das frações de polissacarídeos	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WSP	Water-Soluble Pectin (Pectina hidrossolúvel)
CSP	CDTA-Soluble Pectin (Pectina solúvel em CDTA)
SSP	Sodium-Soluble Pectin (Pectina solúvel em carbonato de sódio)
HC	Hemicellulose (Hemicelulose)
GE	Grau de Esterificação
CDTA	Ciclohexano-trans-1,2-diamina tetracetato
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel do inglês “ <i>Gel Permeation Chromatography</i> ”

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Resíduos agroindustriais	16
2.1.1	<i>Casca da Manga</i>	16
2.1.2	<i>Casca do Maracujá</i>	17
2.1.3	<i>Bagaço do Caju</i>	17
2.1.4	<i>Casca do Coco Verde</i>	18
2.1.5	<i>Bagaço da Cana-de-açúcar</i>	18
2.2	Polissacarídeos de parede celular	19
2.2.1	<i>Pectina</i>	19
2.2.2	<i>Hemicelulose</i>	21
2.3	Metodologias para extração de polissacarídeos	22
2.4	Técnicas de análise de polissacarídeos	23
3	OBJETIVOS	24
3.1	Objetivo Geral	24
3.2	Objetivos Específicos	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	Materiais	25
4.2	Extração das frações de parede celular	25
4.3	Análise de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H), de Carbono (RMN ¹³C) e de Coerência Quântica Simples (HSQC RMN)	28
4.4	Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR – FTIR)	28
4.5	Análise por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	28
4.6	Grau de Esterificação	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1	Rendimento	30
5.2	Análise de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN-¹H), de Carbono (RMN-¹³C) e de Coerência Quântica Simples (HSQC RMN)	31
5.2.1	<i>Casca da Manga</i>	31
5.2.1.1	<i>Grau de Esterificação</i>	35
5.2.2	<i>Casca do Maracujá</i>	36

5.2.2.1	<i>Grau de Esterificação</i>	40
5.2.3	<i>Bagaço do Caju</i>	41
5.2.3.1	<i>Grau de Esterificação</i>	44
5.2.4	<i>Casca do Coco Verde</i>	45
5.2.4.1	<i>Grau de Esterificação</i>	48
5.3	Análise por Espectroscopia por Refletância Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR – FTIR)	48
5.3.1	<i>Casca da Manga</i>	48
5.3.2	<i>Casca do Maracujá</i>	49
5.3.3	<i>Bagaço do Caju</i>	50
5.3.4	<i>Casca do Coco</i>	51
5.4	Análise por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	52
6	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

Quase um terço dos alimentos produzidos para consumo humano é perdido, equivalendo a um total de 1,3 bilhões de toneladas de alimentos desperdiçados por ano. Como a atividade industrial relativa à produção de alimentos é intensa, as perdas respectivas geram uma gama de impactos ambientais, como a erosão do solo, desmatamento, poluição da água e do ar, bem como as emissões de gases de efeito estufa que ocorrem nos processos de produção de alimentos. (SCHANES; DOBERNIG; GÖZET, 2018)

Entre as possíveis fontes de polissacarídeos péclicos, as de resíduos alimentares são de grande interesse. De fato, a exploração de resíduos pela agroindústria tem sido uma questão cada vez mais importante ao longo de vários anos. Tais resíduos têm sido utilizados como ração animal, fertilizantes ou para a geração de bioenergia, mas recentemente a extração de componentes com maior valor agregado tem ganhado mais atenção. Tais compostos podem ser classificados como compostos insolúveis (fibras), hidro ou lipossolúveis. Dentre os produtos inovadores provenientes de resíduos podemos incluir fibras alimentares com diferentes propriedades tecnológicas e nutricionais, além de aditivos alimentares e bioadsorventes para uso em tratamento de águas residuais, por exemplo. Diante disso, resíduos agroindustriais, como casca da manga, casca do maracujá, bagaço do caju, casca do coco verde e bagaço da cana-de-açúcar, foram estudados neste trabalho (MÜLLER-MAATSCH et al., 2016).

As pectinas são polissacarídeos construídos a partir de monômeros de ácido galacturônico ligados por ligações $\alpha \rightarrow 1,4$ glicosídicas e monossacarídeos como arabinose, ramnose, frutose, galactose e xilose (PANCERZ et al., 2019).

Entretanto, para obter tais polissacarídeos há diversos métodos existentes que são amplamente utilizados. Tal fato dificulta o processo de comparação dos polissacarídeos obtidos. Como exemplo, o método utilizado por MARAN et al., 2017 que faz a extração de pectina utilizando ácido cítrico, já GUANDALINI; RODRIGUES; MARCZAK, 2019 faz o uso de ultrassom para otimizar a extração. No caso de MOHAMMAD et al., 2019 faz utilização de técnicas de ultrassom e micro-ondas combinadas. Tem-se também a extração enzimática como a descrita por SABATER et al., 2018.

Os autores que inspiraram a execução deste trabalho LIU et al., 2017 utilizaram uma metodologia que se encontra em um patamar intermediário entre as metodologias, já que não é tão minuciosa como as metodologias usadas anteriormente mais bioquímicas como a descrita por ISHII et al., 1989 e ao mesmo tempo não é tão destrutiva como a citada de

MARAN et al., 2017. Diante da realidade que inclui o uso de diversas metodologias para a extração de polissacarídeos como a pectina e a dificuldade de comparar os resultados obtidos, o objetivo deste trabalho foi empregar uma metodologia padrão capaz de extrair polissacarídeos de matrizes diferentes o que possibilita uma comparação entre os polissacarídeos obtidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos agroindustriais

O avanço de tecnologias verdes e sustentáveis é relevante para a atenuação do impacto ambiental causado pelo crescimento populacional e pela dependência de combustíveis fósseis. Com o estabelecimento dessas tecnologias a partir da valorização de resíduos agroindustriais e florestais se faz possível a redução de danos ao meio ambiente (DE ARAÚJO PADILHA et al., 2019).

Cerca de um terço dos alimentos produzidos mundialmente para consumo humano é perdido ou desperdiçado, equivalendo a um total de 1,3 bilhões de toneladas de alimentos por ano. Um dos maiores responsáveis por essa enorme quantidade de resíduos é a agroindústria. Caso o resíduo não seja adequadamente tratado seu descarte pode causar sérios problemas ambientais, tais como, a erosão do solo, desmatamento, poluição da água e do ar, bem como emissões de gases de efeito estufa (SCHANES; DOBERNIG; GÖZET, 2018).

No entanto, esses resíduos agroindustriais são uma fonte rica de nutrientes, matéria orgânica e inorgânica. É importante que haja alternativas que visem a reutilização destes resíduos visando redução da poluição ambiental gerada pelo descarte direto de resíduos não tratados, resultando, como consequência, retorno econômico (SINGH; KAUR; KENNEDY, 2019).

O Brasil é um país que possui economia baseada na agroindústria e com isso também gera milhões de toneladas de resíduos. Como exemplo disto, pode-se citar as indústrias de suco de frutas que inclui manga, maracujá e caju; a indústria do coco; e a de cana-de-açúcar, utilizada para produção de etanol e açúcar.

2.1.1 Casca da Manga

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das frutas mais importantes do mundo, graças ao seu sabor agradável, aroma e alto valor nutricional, tendo mais de 1000 variedades diferentes produzidas no mundo. Nos países subdesenvolvidos, como Índia e China, ela é processada na forma de polpa, geleias e doces (DA S. PEREIRA; FONTES-SANT'ANA; AMARAL, 2019) (BANERJEE et al., 2018).

A Índia é o maior produtor de manga do mundo. A produção da Índia responde

por 52,6% da produção global de manga (ARORA et al., 2018). As regiões Nordeste e Sudeste são as principais produtoras do Brasil, somando cerca de 98,7% do volume nacional. Em 2017, o Ceará foi responsável pela produção de 45,3 mil toneladas de manga ficando em quinto lugar na classificação geral nacional (SEAPA, 2019).

O processamento de manga resulta em cerca de 30 a 50% de resíduo em que a casca de manga constitui uma fração de 40 a 60% do total desses resíduos. Os principais bioativos encontrados na casca de manga são fibra alimentar solúvel (31 - 33%), fibra alimentar insolúvel (32,1 - 34%), polifenóis (93 - 96,2 mg g⁻¹ de casca seca) e carotenoides (3092,2 mg g⁻¹ de casca seca) (BANERJEE et al., 2018).

2.1.2 Casca do Maracujá

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá (*Passiflora edulis*), tanto o fruto fresco quanto o processado, respondendo a cerca de 50% a 60% da produção mundial total (OLIVEIRA et al., 2017). A região Nordeste é a maior produtora do Brasil, sendo responsáveis por 60,9% do volume nacional. O Ceará fica em segundo lugar na classificação geral nacional com uma produção de 94,8 mil toneladas em 2017 (SEAPA, 2019).

Grande parte da produção de maracujá é destinada à fabricação de suco e néctar (MARTINS et al., 2018). No Brasil, esse processo gera cerca de 54 mil toneladas por ano de subprodutos como as sementes e a casca. No maracujá, a casca (mesocarpo e epicarpo) representa 60% da massa da fruta e contém uma grande quantidade de compostos bioativos e polissacarídeos, como a pectina que tem potencial como ingrediente na preparação de alimentos funcionais. (COELHO et al., 2017; FREITAS DE OLIVEIRA et al., 2016).

2.1.3 Bagaço do Caju

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é uma fruta tropical originária do Brasil, onde é amplamente cultivada e explorada comercialmente. Atualmente, está distribuído em vários países da Ásia, África e América Central, como uma cultura agrícola de grande importância econômica (DE ABREU et al., 2013). O Nordeste brasileiro é responsável por 99,5% da área ocupada com cajueiro no Brasil e, em 2017, essa área foi calculada em 505,5 mil hectares. O principal produtor dessa região é o Ceará, que possui a maior área plantada com cajueiro no país representando 61,6% da área nacional e 61,9% da área nordestina. O Ceará, em 2017,

produziu cerca de 84 mil toneladas com produtividade média de 234 kg/ha (BRAINER et al., 2018).

A indústria do caju gera aproximadamente 20 a 25% de fibra residual, que é descartada ou usada como suplemento alimentar (SILVA et al., 2018). O bagaço de caju pode ser aplicado como matéria-prima em vários processos industriais, como a produção de etanol de segunda geração e como substrato para a fermentação em estado sólido para produzir enzimas como o xilitol, podendo também pode ser usado como ingrediente alimentar devido a seus compostos bioativos e alta fibra alimentar (FONTELES et al., 2016).

2.1.4 Casca do Coco Verde

O coqueiro (*Cocos nucifera*) foi introduzido no Brasil através da Bahia, recebendo a denominação de coco-da-baía, e expandiu-se inicialmente pelo litoral nordestino, onde se encontram os principais produtores nacionais, dos quais, o Ceará é o terceiro maior produtor. Em seguida, foi disseminado por quase todo País. Entretanto, a Região Nordeste continua a maior produtora do Brasil, com 82,9% da área e 74,0% da produção nacional. (BRAINER et al., 2019).

Há uma crescente demanda global por produtos de coco, como água de coco, óleo de coco, leite de coco e carne de coco. No entanto, uma grande quantidade de resíduos, cerca de 80% da massa de coco verde, é produzida, e isso geralmente é descartado em locais inadequados gerando poluição e um montante de resíduo de difícil gerenciamento para os agricultores (DA COSTA NOGUEIRA et al., 2019).

A produção brasileira de coco foi de cerca de 1,7 milhão de toneladas em 2017, sendo a fibra de coco o principal resíduo. Com base em estudos realizados anteriormente, a fibra de coco pode ser usada como uma possível matéria-prima no desenvolvimento de materiais de construção, devido às excelentes propriedades térmicas, físicas e mecânicas da fibra. Além disso, a fibra de coco contém tanino em sua composição, um fungicida natural, tornando-a mais resistente ao ataque de fungos e insetos (FIORELLI; BUENO; CABRAL, 2019).

2.1.5 Bagaço da Cana-de-açúcar

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, tendo grande importância para o agronegócio brasileiro. O aumento da demanda mundial por etanol, oriundo de fontes

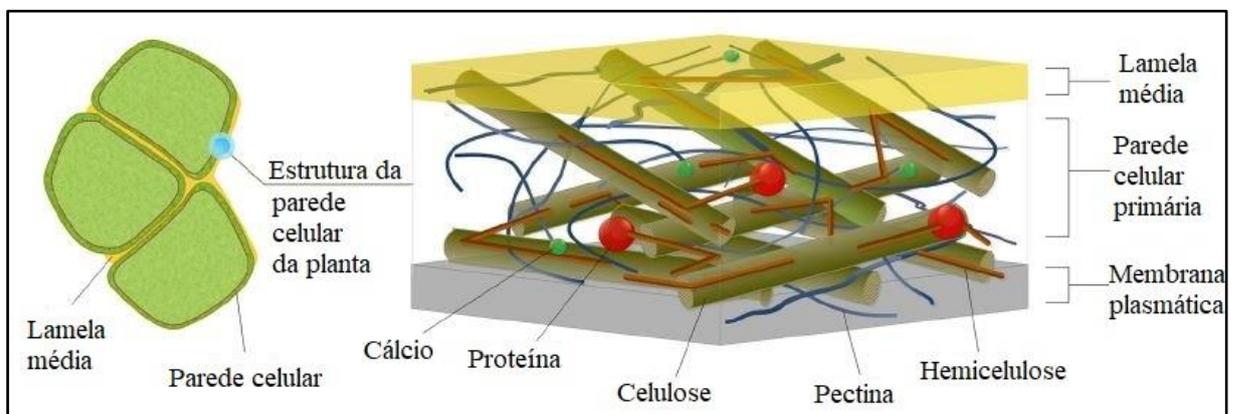
renováveis, aliado às grandes áreas cultiváveis e condições edafoclimáticas favoráveis à cana-de-açúcar, tornaram o Brasil um país importante para a exportação dessa *commoditie* (CONAB, 2018).

Com uma produção nacional de 633,26 milhões de toneladas, os maiores produtores estão nas regiões Centro-Sul somando cerca de 92,96 % da produção nacional, enquanto que as regiões Norte/ Nordeste somam somente 7,04 % (CONAB, 2018). Como resultado dessa alta produção de cana-de-açúcar, um grande volume de fibra de bagaço de cana é gerado após a extração do suco e representa quase 25% do total de cana processada. O bagaço de cana é considerado uma biomassa lignocelulósica que contém lignina, celulose e hemicelulose. Recentemente, sua demanda aumentou nas indústrias de papel e celulose, produtos de fermentação, alimentos para animais, produção de etanol e produção de biogás entre outros (VATS; KHAN; AHMAD, 2019).

2.2 Polissacarídeos de parede celular

Nas células em crescimento, a parede é tipicamente uma camada fina e flexível (0,1 – 1 μm) que consiste principalmente de polissacarídeos complexos e uma pequena quantidade de proteínas estruturais como pode ser visto na Figura 1. A espessura da parede semelhante a um véu pode ser visualizada por microscopia óptica, enquanto a microscopia eletrônica revela seu caráter fibroso na escala nanométrica. Desse modo, apesar de ser fina a parede forma uma forte rede que funciona como um espartilho, comprimindo e dando forma ao protoplasto interno da célula (COSGROVE, 2005).

Figura 1 – Estrutura da parede celular primária de uma planta.



Fonte: adaptado de (DRANCA; OROIAN, 2018).

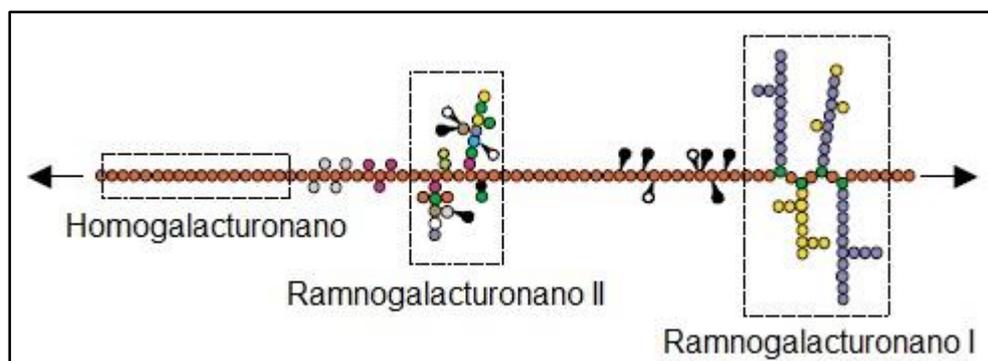
2.2.1 Pectina

As pectinas são polissacarídeos que estão presentes nas paredes celulares de todas as plantas, estando localizadas na lamela média e nas paredes celulares primária e secundária. A estrutura química da pectina é heterogênea, dependendo da origem, localização na planta e método de extração (DRANCA; OROIAN, 2018). O principal constituinte estrutural são resíduos de D-ácido galacturônico ligados por ligações $\alpha \rightarrow 1,4$ -glicosídicas. De acordo com as definições do Comitê Conjunto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO / OMS e da Comissão Europeia, a pectina precisa conter pelo menos 65% de ácido galacturônico (MÜLLER-MAATSCH et al., 2016).

Para ser considerada pectina, deve-se conter além da cadeia linear formada pelos monômeros de ácido galacturônico, conhecida como homogalacturonano, também deve-se ter o ramnogalacturonano I, que é formado por resíduos de ácido galacturônico parcialmente substituídos por resíduos de α -L-ramnose ligados $\alpha \rightarrow 1,2$. Assim como a presença de ramnogalacturonano II que é formado por várias cadeias laterais complexas contendo açúcares, como xilose, arabinose, glicose, fucose, manose ou galactose (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). A estrutura da pectina pode ser vista na Figura 2.

Com isso, esses domínios ramnogalacturonano (I e II) e homogalacturonano constituem a espinha dorsal dos polímeros pécnicos. Entretanto, porções de ácido galacturônico também podem ser esterificadas na porção de ácido carboxílico por grupos metil, o que é conhecido como esterificação ou Esterificação, mais adiante este conceito será esclarecido.

Figura 2 – Esquema da estrutura da pectina.



Fonte: adaptado de (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

Como dito anteriormente, os polissacarídeos pécnicos são componentes estruturais vitais das paredes celulares das plantas e estão associados a outros polissacarídeos da parede celular, como celulose e hemiceluloses. As diversas propriedades estruturais das pectinas,

como grau de esterificação, o conteúdo de ácido galacturônico, a composição de açúcares neutros e o peso molecular, dependem da fonte de pectina e estabelecem a base para múltiplas aplicações alimentares e não alimentares desse polissacarídeo complexo (DRANCA; OROIAN, 2018).

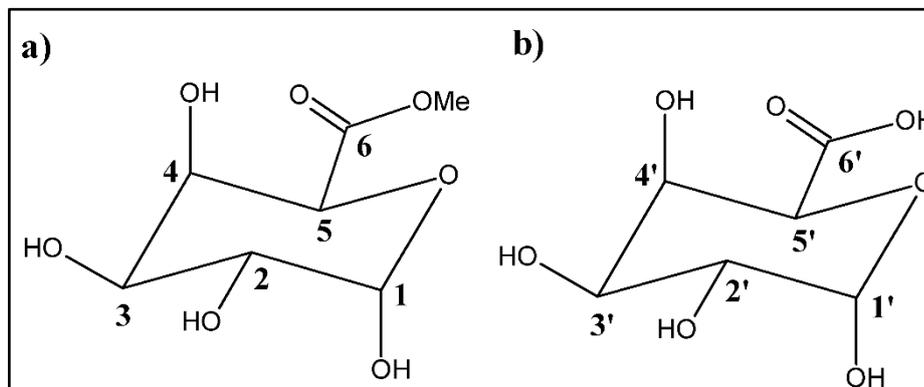
Esse homopolímero sofre uma esterificação parcial nos grupos carboxila do ácido galacturônico definido como o grau de esterificação (GE), com base nesse grau, a pectina é classificada em duas classes: AM (Alta Esterificada, GE > 50%) e BM (Baixa Esterificada, GE < 50%). O GE é uma das características mais importantes da pectina devido ao seu efeito em outras propriedades (KAZEMI; KHODAIYAN; HOSSEINI, 2019).

Para soluções aquosas de pectina, propriedades como as características reológicas, a absorção de água, a capacidade de formar géis e as interações com outros compostos: proteínas e antocianinas, dependem da origem botânica e do Grau de Esterificação. Os resultados de estudos sobre as capacidades de absorção de água da pectina indicam uma complexidade de interações entre esses polissacarídeos e a água. Existem diversos fatores que influenciam essa relação, entre eles, a temperatura, o tamanho da cadeia e a cristalinidade da pectina e o Grau de Esterificação. Além disso, em água a pectina é capaz de formar géis como resultado da conformação adotada pelas cadeias em uma solução aquosa (PANCERZ et al., 2019).

No setor de alimentos, a pectina é comumente utilizada como agente gelificante, espessante e estabilizador, bem como substituto da gordura e ingrediente funcional promotor da saúde. As aplicações não alimentares incluem o uso nas indústrias médica e farmacêutica, onde os benefícios promotores de saúde e as bioatividades da pectina mostraram potencial para aplicações biomédicas, incluindo administração de medicamentos, engenharia de tecidos e cicatrização de feridas. Cada uma das aplicações mencionadas acima começa com o isolamento da pectina do material vegetal (DRANCA; OROIAN, 2018). Como visto, a pectina é isolada de subprodutos de fontes vegetais e neste trabalho foram utilizados resíduos agroindustriais.

Na Figura 3, tem-se as estruturas moleculares do monossacarídeo majoritário da pectina, o ácido galacturônico, que pode estar esterificado como pode ser visto em b) ou não como pode ser visto em a). A numeração determinada na figura é a mesma que foi utilizada na determinação estrutural nos espectros de RMN.

Figura 3 – Estrutura molecular: a) ácido galacturônico esterificado e b) ácido galacturônico



Fonte: Elaborada pela autora.

2.2.2 Hemicelulose

A hemicelulose vêm recebendo maior atenção devido ao seu potencial de utilização na produção de etanol combustível dentre outros produtos químicos de valor agregado (ZHAO et al., 2017).

Após a celulose, a hemicelulose é um dos polissacarídeos mais abundantes nas camadas primária e secundária da parede celular da planta. O grau médio de polimerização (GP) da hemicelulose está na faixa de 80 a 200. As hemiceluloses são uma classe heterogênea de polímeros que representam, em geral, 15 a 35% da biomassa vegetal e que podem conter pentoses (β -D-xilose, α -L-arabinose), hexoses (β -D-manose, β -D-glicose, α -D-galactose) assim como ácidos urônicos (ácidos α -D-glucurônico, α -D-4-O-metilgalacturônico e α -D-galacturônico). Além de α -L-ramnose e α -L-fucose podem estar presentes em pequenas quantidades e os grupos hidroxil de açúcares podem ser parcialmente acetilados (GÍRIO et al., 2010).

A hemicelulose está intimamente associada às fibrilas de celulose e agem como uma camada ao redor das fibrilas de celulose, que conferem rigidez ao tecido da planta. Embora as hemiceluloses atualmente representem uma quantidade relativamente grande de fração de polissacarídeo na biomassa lignocelulósica, elas ainda são desperdiçadas durante os processos de indústrias de base biológica, como as de celulose e etanol celulósico. Contudo, as hemiceluloses têm muitas propriedades excelentes, incluindo biodegradabilidades, biocompatibilidade, bioatividade o que permite que suas formas nativas ou modificadas sejam aplicadas em diversas áreas, como alimentos, como fonte de xilitol e açúcar; medicamentos,

energia; indústria química; materiais poliméricos, como filme, hidrogel e transportador; biossurfactante e aditivo para fabricação de papel ou agente floculante. Desse modo, a hemicelulose é um biopolímero promissor (PENG; SHE, 2014).

2.3 Metodologias para extração de polissacarídeos

A variedade de métodos de extração de pectina e polissacarídeos de parede celular em geral foi uma das principais motivações para a realização deste trabalho, tendo em vista que existem diversas metodologias para realizar o mesmo processo de extração. Um dos métodos mais tradicionais utilizados pela indústria é a extração com ácido mineral, entretanto, a extração e o isolamento da pectina de parede celular podem ser feitos de formas distintas como por meio do uso de tratamentos químicos, físicos e enzimáticos (DRANCA; OROIAN, 2018).

Além da tradicional, tem-se também a extração utilizando ultrassom que também é amplamente usada (CHEN et al., 2019; FONTELES et al., 2016; GRASSINO et al., 2016; HOSSEINI et al., 2019; SUCHETA; MISRA; YADAV, 2020) e geralmente também é feita combinada com outras técnicas como micro-ondas (MOHAMMAD et al., 2019) e ácidos orgânicos, como ácido cítrico (MARAN et al., 2017).

A metodologia enzimática também é amplamente utilizada (SABATER et al., 2018). As enzimas mais usadas durante o processo de extração de pectina são celulase, protease, hemicelulase, alcalase, xilase, poligalacturonase, α -amilase, neutrase, b-glucosidase, endopoligalacturonase e pectinesterase (MARIĆ et al., 2018).

Diante dessa variedade de metodologias se fez necessário escolher uma metodologia intermediária, na qual, fosse possível extrair os polissacarídeos de parede celular de uma maneira não tão severa que leve a degradação de compostos valiosos encontrados nos materiais vegetais como acontece quando se utiliza a extração convencional com ácidos minerais. Tampouco uma metodologia baseada na bioquímica, na qual, os compostos obtidos são minuciosamente isolados como, por exemplo, o utilizado por FRY, 1986. Por isso, a metodologia desenvolvida primeiramente por BASANTA et al., 2013 e posteriormente adaptada por LIU et al., 2017 foi escolhida, pois, desse modo, pode-se fazer uma comparação adequada utilizando um só método com matrizes diferentes.

2.4 Técnicas de análise de polissacarídeos

A caracterização funcional e estrutural dos polissacarídeos inclui suas composições de monossacarídeos, configurações de homogeneidade e peso molecular (PM), tipos e posições de ligações glicosídicas. Diferentes técnicas analíticas são capazes de determinar as estruturas químicas dos polissacarídeos como Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia de Massa por Cromatografia Gasosa (GC-MS), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (MOHAN et al., 2020).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Padronizar uma metodologia de referência para extração de polissacarídeos da parede celular de resíduos agroindustriais e caracterizar cada fração obtida.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Padronizar uma metodologia de extração para o fracionamento de polissacarídeos usando como matrizes de resíduos de *Mangifera indica*, *Passiflora eduli*, *Anacardium occidentale*, *Cocos nucifera* e *Saccharum officinarum*;
- ✓ Caracterizar e analisar as frações obtidas;
- ✓ Determinar a composição monossacarídica das frações.

4 METODOLOGIA

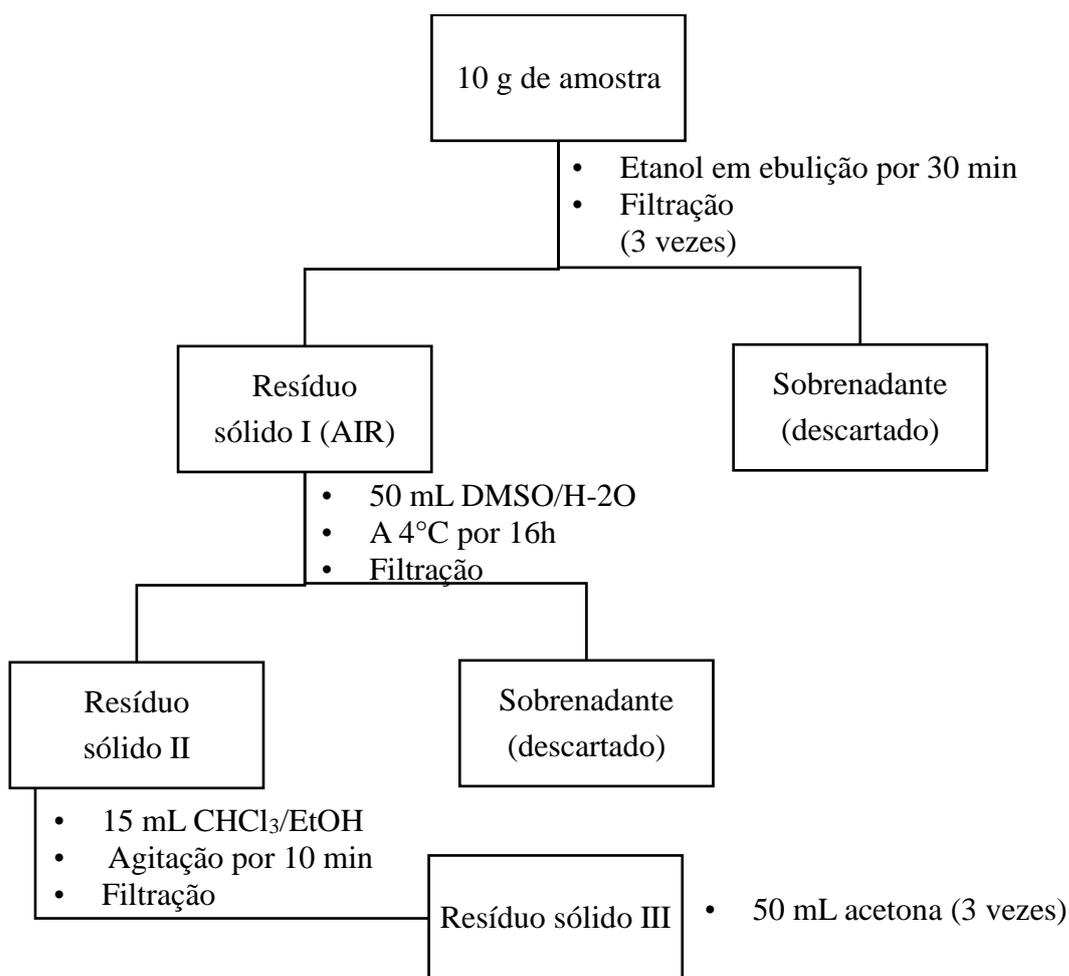
4.1 Materiais

A casca da manga, casca do maracujá, bagaço do caju, fibra do coco e bagaço da cana-de-açúcar são oriundos da Embrapa Agroindústria Tropical. Álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), clorofórmio (CHCl_3) e o acetado de sódio (NaAcO) foram adquiridos da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. A acetona e o ácido acético glacial (HAcO) foram adquiridos da Synth®. O dimetilsulfóxido (DMSO), hidróxido de potássio (KOH), carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) e o óxido de deutério (D_2O) foram obtidos pela Merck Chemical Co. O ácido 1,2-Diaminociclohexano-N,N,N',N',-Tetraacético 1-hidrato (CDTA) foi adquirido da PanReac AppliChem.

4.2 Extração das frações de parede celular

Todas as biomassas previamente citadas no item 4.1 foram secas e moídas e os materiais de parede celular foram extraídos de acordo com os métodos descritos por LIU et al., 2017 com modificações. Antes de iniciar a extração foi realizado um pré-tratamento para retirada dos resíduos insolúveis em álcool (AIR). Cerca de 10 g de cada amostra foram transferidos para etanol em ebulição durante 30 min. O etanol foi removido por filtração à vácuo e o AIR foi recolhido e retornado a etanol em ebulição. O processo acima foi repetido duas vezes, e o AIR final foi transferido para 50 mL de mistura 9: 1 v / v dimetilsulfóxido (DMSO)/ H₂O e mantido a 4 °C por 16 h. Após filtração, o resíduo foi embebido em 15 mL de 2 : 1 v / v mistura clorofórmio-etanol sob agitação durante 10 min. Em seguida, o resíduo foi lavado com 50 mL de acetona, três vezes. O fluxograma desse pré-tratamento está resumidamente descrito na Figura 3.

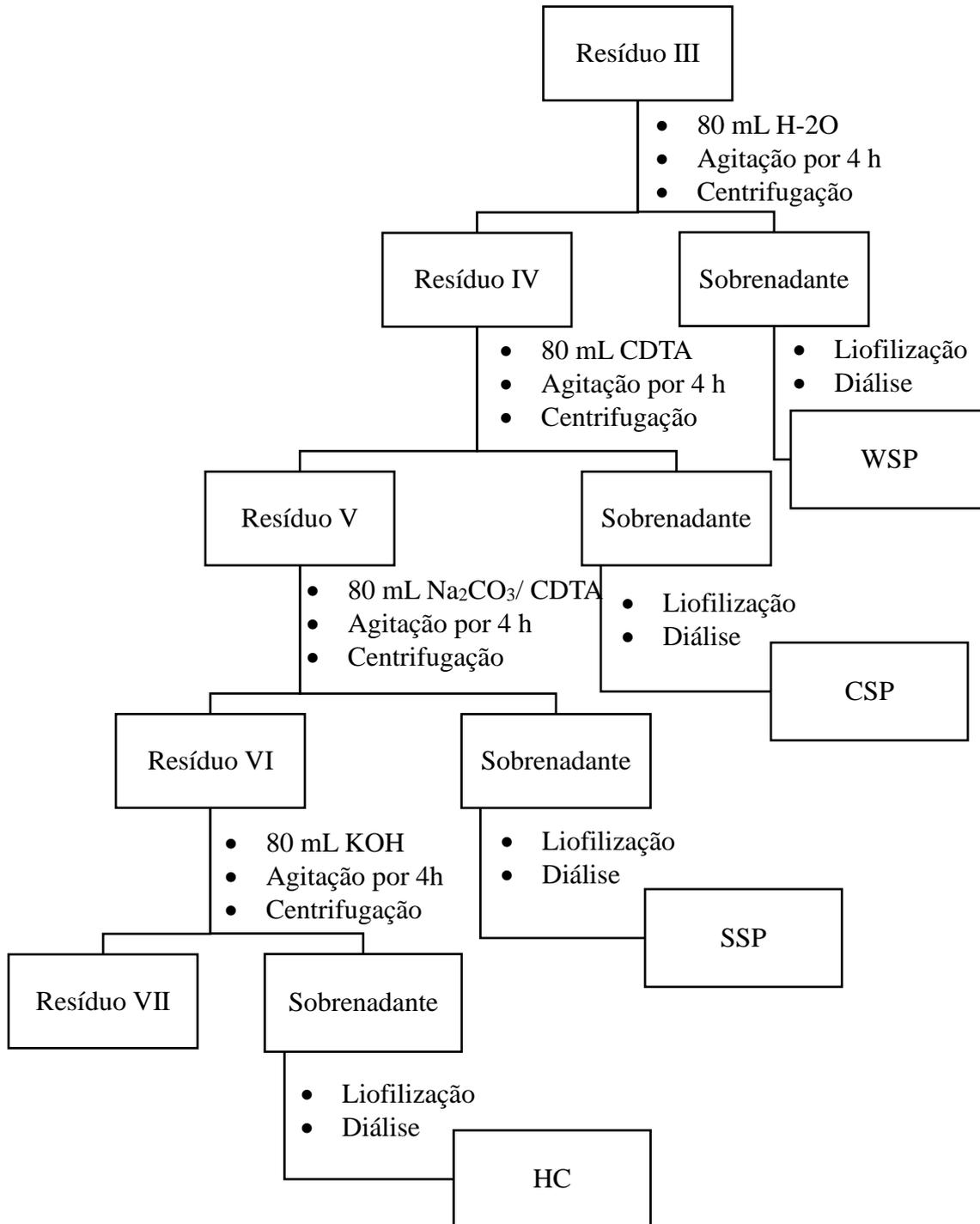
Figura 4 – Fluxograma do pré-tratamento realizado para todas as amostras.



Fonte: elaborada pela autora.

O fluxograma da Figura 4 mostra as etapas subsequentes. Após o AIR ter sido lavado com acetona, foram adicionados 80 mL de H-2O deionizada sob agitação por 4 h de centrifugação a 10000 g a 4 °C por 10 min. O sobrenadante foi dialisado por 1 semana e em seguida foi liofilizado e identificado como fração “WSP”. Ao resíduo IV (Figura 3) foram adicionados com 80 mL de 50 mM de CDTA em 50 mM de solução tampão (NaAcO/HAcO) pH 6,0 por 4 h seguido de centrifugação a 10000 g a 4 °C por 10 min. O sobrenadante foi dialisado por 72 h e em seguida foi liofilizado e identificado como fração “CSP”. Ao resíduo V (Figura 4) foram adicionados 80 mL de 50 mM de Na₂CO₃ e 20 mM de CDTA por 4h seguido de centrifugação a 10000 g a 4 °C por 10 min. O sobrenadante foi dialisado por 72h e em seguida foi liofilizado e identificado como fração “SSP”. Ao resíduo VI foram adicionados 80mL de KOH 4 mol L⁻¹ por 4 h seguido de centrifugação a 10000 g a 4 °C por 10 min. O sobrenadante foi dialisado por 72 h e em seguida foi liofilizado e identificado como fração “HC”.

Figura 5 – Fluxograma das etapas de extração



Fonte: elaborado pela autora.

4.3 Análise de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), de Carbono (RMN ^{13}C) e de Coerência Quântica Simples (HSQC RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento Agilent DD2 de 599,56 MHz para núcleo de ^1H e 150,77 MHz para núcleo de ^{13}C e equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”. As amostras foram preparadas dissolvendo-se aproximadamente 10 mg de amostra em 600 μL de D_2O . Os sobrenadantes foram transferidos para tubos de RMN de 5 mm. Em seguida, o espectro unidimensional de ^1H foi obtido com 32 varreduras, 32k de pontos no domínio do tempo com uma janela espectral de 16,0 ppm, um tempo de aquisição de 3,328s e um tempo de espera entre cada aquisição de 10s. O espectro BroadBand de ^{13}C foi obtido com 13k varreduras, 32k de número de pontos com em uma janela espectral de 251,3 ppm, um tempo de aquisição 0,865s e um tempo de espera entre cada aquisição de 1s. Para auxiliar a informação no procedimento de caracterização, foi realizado o experimento bidimensional heteronuclear gHSQC ^1H - ^{13}C . O HSQC foi adquirido com 88 varreduras com 0,150 s de tempo de aquisição, 200 ppm e 16 ppm nas dimensões ^{13}C (F1) e ^1H (F2), e 192 e 1442 pontos para F1 e F2, respectivamente. Todos os espectros foram realizados a 80°C . Essa análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN) da Embrapa Agroindústria Tropical.

4.4 Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR – FTIR)

Realizou-se análises de Infravermelho com Transformada de Fourier e os espectros foram obtidos com um espectrômetro FTIR (Varian/ 620-IR), na região de comprimento de onda de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ com uma resolução de 4 cm^{-1} e registrados como absorbância. Essa análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN) da Embrapa Agroindústria Tropical.

4.5 Análise por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

O perfil cromatográfico dos polissacarídeos foi determinado em um cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD com detector de índice de refração RID-10A a 40°C . A análise foi realizada com uma coluna Ultrahydrogel linear (7,8 x 300 mm), fase móvel de NaNO_3 0,1 mol/L, fluxo de 1,0 mL/min e o volume de amostra injetada foi de 20 μL . As amostras foram

preparadas em água deionizada na concentração de 0,2 % (m/v) e filtradas em membrana Milipore® 0,45 µm. O valor de massa molar média (M_w) foi obtido a partir da equação $\log E_w = -0,96V_e + 13,49$; $r^2 = 0,9987$. Essa análise foi realizada no Laboratório Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM) da Universidade Federal do Ceará.

4.6 Grau de Esterificação

Uma importante determinação é o Grau de metoxilação (GE) das pectinas estudadas, o Grau de Esterificação é uma proporção de unidades de ácido galacturônico esterificado para a quantidade total de suas unidades (PANCERZ et al., 2019). Buscando determinar o GE, utilizou-se a equação 1, na qual, as intensidades (I) são retiradas dos espectros de RMN ^1H das amostras (ROSENBOHM et al., 2003):

$$\text{Grau de Esterificação (\%)} = \frac{(I_{\text{H}-5'} + I_{\text{H}-1}) - I_{\text{H}-5}}{(I_{\text{H}-5'} + I_{\text{H}-1}) + I_{\text{H}-5}} \quad (1)$$

Este é o principal critério para classificação da pectina, pois determina suas propriedades e mecanismo de gelificação. As pectinas podem ser diferenciadas de acordo com esta classificação: altamente esterificadas, onde $\text{GE} > 50\%$ ou pouco esterificadas, onde $\text{GE} < 50\%$ (PANCERZ et al., 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento

Após as amostras passarem pelos processos descritos no item 4.2 o rendimento foi determinado por meio da relação entre a massa de cada fração obtida e massa inicial da amostra. Os resultados obtidos para cada fração de cada amostra de resíduo estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores em % de rendimento das frações obtidas

Amostra	WSP ^a (%)	CSP ^b (%)	SSP ^c (%)	HC ^d (%)
Casca da Manga	4,4	3,96	3,44	7,18
Casca do Maracujá	11,82	1,71	2,49	4,82
Bagaço do Caju	0,96	1,74	2,82	20,52
Casca do Coco Verde	2,52	1,40	0,73	28,15
Bagaço da Cana-de-açúcar	1,19	1,05	1,06	19,92
Guandalini et al., 2019		5,4 – 8,6		
Freitas de Oliveira et al., 2016		7,53 – 12,67		
Tamiello-Rosa et al., 2019		6,5		

^a: Pectina solúvel em água; ^b: Pectina solúvel em CDTA; ^c: Pectina solúvel em Na₂CO₃; ^d: Hemicelulose.

É possível evidenciar, a partir da Tabela 1, que cada amostra de resíduo apresentou valores distintos para cada fração obtida, demonstrando assim que a peculiaridade das amostras deve ser considerada como um ponto importante na escolha do material que deve ser a fonte de polissacarídeos de parede celular.

Deve-se destacar que a amostra que obteve o maior rendimento para a fração WSP foi a casca de maracujá, indicando assim que o tipo de pectina majoritária na mesma é a pectina solúvel, que é utilizada na indústria como agente gelificante, estabilizante e espessante em alimentos, como compotas, geleias e sucos (FREITAS DE OLIVEIRA et al., 2016). Pode-se salientar ainda que o resíduo que obteve maior rendimento de HC foi a casca do coco verde o que é esperado, já que se trata de um material rico em lignina, celulose e hemicelulose (BRÍGIDA et al., 2010).

Para se fazer uma comparação mais adequada com a literatura, teve-se que primeiramente somar os valores obtidos das frações WSP, CSP e SSP, já que na maior parte da literatura não se faz a divisão da pectina desta forma. Logo, para a casca da manga o valor do

rendimento de pectina total é 11,8%, para a casca do maracujá é 16,02%, para o bagaço do caju é 5,52%, para a casca do coco verde é 4,65% e ainda para o bagaço da cana-de-açúcar é 3,3%. Diante disso, tem-se que os valores são semelhantes aos encontrados na literatura como no caso da casca da manga (GUANDALINI; RODRIGUES; MARCZAK, 2019) e do caso da casca do maracujá (FREITAS DE OLIVEIRA et al., 2016), ou então com valores próximos ao encontrados na literatura como no caso do bagaço de caju (TAMIELLO-ROSA et al., 2019). Já para as amostras de casca do coco verde e bagaço da cana-de-açúcar os valores também são satisfatórios apesar de serem menores do que os anteriores, pois na literatura esses são reportados como materiais lignocelulósicos (referencia), mesmo assim o método empregado foi capaz de extrair uma quantidade mesmo que pequena de pectina, demonstrando assim a eficiência do método independentemente da matriz utilizada.

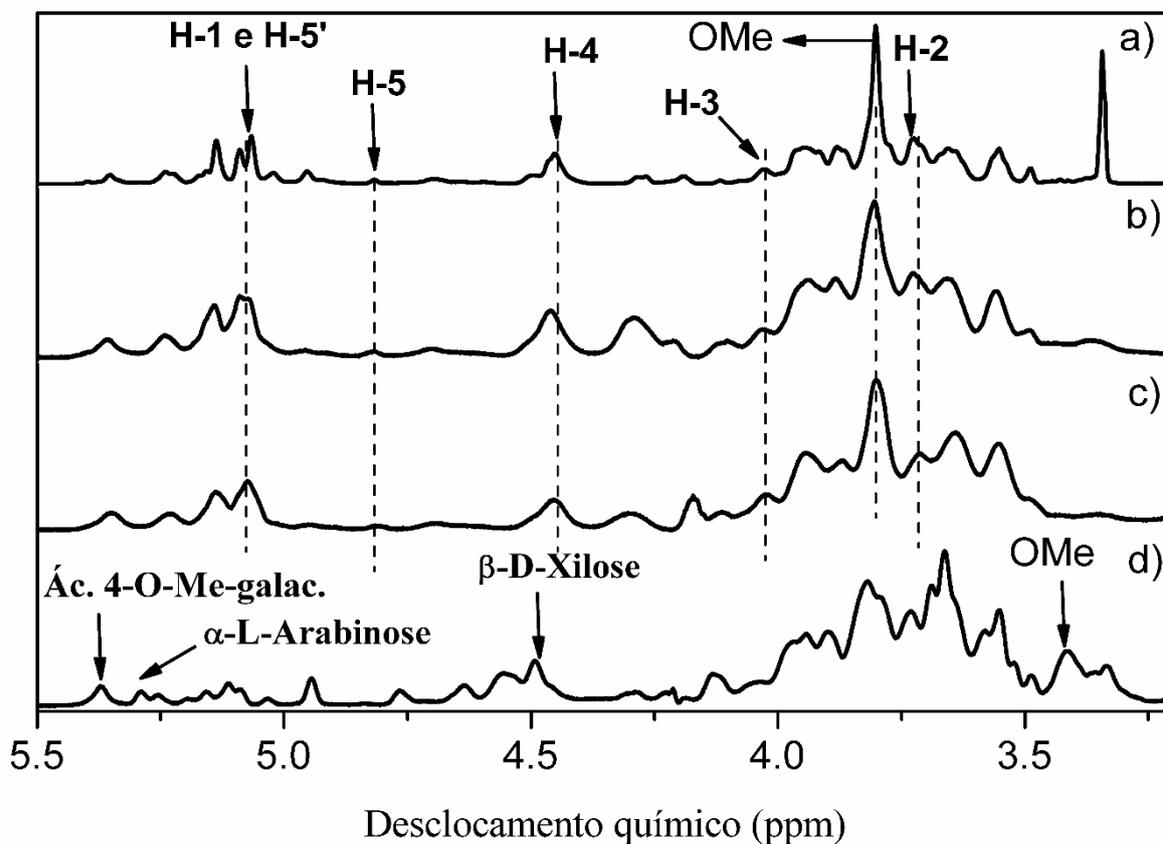
Acho que aqui pode-se discutir cada etapa do processo e o efeito no rendimento de cada fração.

5.2 Análise de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN-¹H), de Carbono (RMN-¹³C) e de Coerência Quântica Simples (HSQC RMN)

5.2.1 Casca da Manga

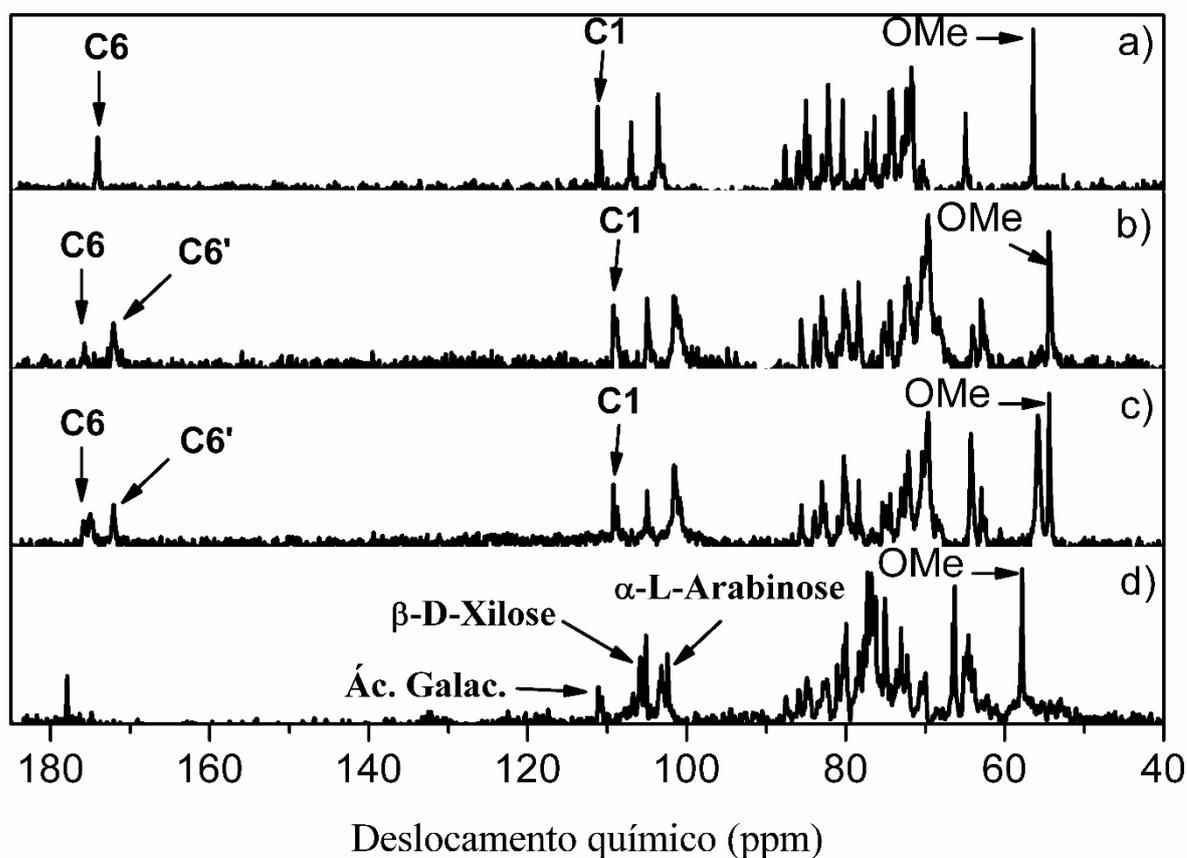
Os espectros de RMN-¹H obtidos de todas as frações da casca da manga se encontram na Figura 4. A partir destes espectros pode-se relacionar as diferenças e semelhanças das frações da amostra de casca da manga. Os espectros de RMN-¹H mostraram hidrogênios anoméricos típicos (H-1) em cerca 5,09 ppm em todas as amostras de pectina (a) WSP, b) CSP e c) SSP), além do também típico sinal em 3,80 ppm referente ao OMe. Os demais sinais também apresentam deslocamento químico semelhante e estes mostrando-se coerente com a literatura (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016). Avaliando os dados, pode-se observar a reprodutibilidade do método de extração, já que as pectinas da casca da manga são semelhantes. Já para a fração HC tem-se a presença de três resíduos glicosídicos principais, o ácido 4-O-metil-galacturônico, a β-D-Xilose e α-L-Arabinose que também são coerentes com o encontrado na literatura (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

Figura 6 – Espectro de RMN ^1H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga



Os espectros de RMN ^{13}C encontram-se na Figura 5 e corroboram com os espectros de ^1H sugerindo de fato a existência de estrutura de pectina de todas as frações (a) WSP, b) CSP e c) SSP). Além disso observa-se também os sinais de C6 e C6', referente a carbonila do ácido galacturônico e do ácido galacturônico esterificado, respectivamente. Na fração. Diante disso, tem-se que os valores de deslocamento químico são bastante semelhantes entre si e são coerentes com a literatura (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016). A similaridade dos valores de deslocamento químicos de ^{13}C com a literatura também é notada para a fração HC (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

Figura 7 – Espectro de RMN-¹³C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga



Na Figura 6, encontram-se os espectros de HSQC para cada fração da casca de manga que corroboram os dados apresentados anteriormente (unidimensionais correspondentes) em que fica claro a presença de pectinas (BARBIERI et al., 2019) e hemicelulose (KANG; GUO; SHI, 2019) na amostra. Na Tabela 2, entretanto, para um melhor entendimento, destacou-se apenas os valores de deslocamentos químicos para as frações que contém pectina a) WSP, b) CSP e c) SSP) e adicionou-se os valores de deslocamentos químicos de C6 e C6' encontrado no espectro de RMN-¹³C.

Figura 8 – Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da manga

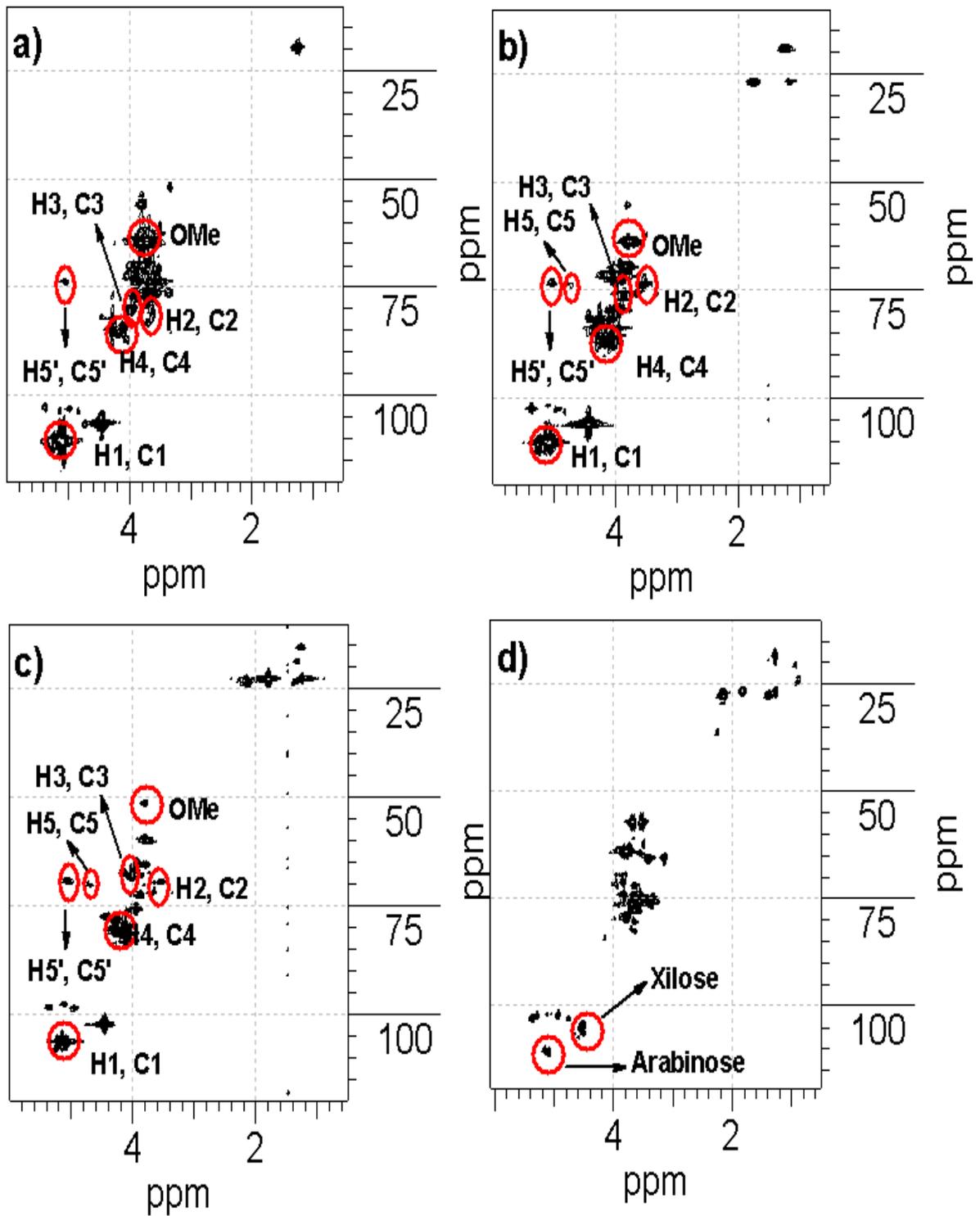


Tabela 2 – Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca da manga

Amostra	Deslocamento químico (ppm)								
	H-1/C1	H-2/C2	H-3/C3	H-4/C4	H-5/C5	H-5'/C5'	C6	C6'	OCH-3
WSP	110,98/ 5,08	75,92/ 3,65	80,23/ 3,95	84,94/ 4,29	-	73,96/ 5,03	173,3	-	56,0 / 3,80
CSP	110,32/ 5,09	75,65/ 3,64	87,10/ 4,02	81,69/ 4,44	73,53/ 4,71	73,38/ 5,02	175,9	172,3	55,65/ 3,80
SSP	106,25/ 5,09	71,93/ 3,65	83,06/ 4,02	77,50/ 4,44	69,89/ 4,71	69,34/ 5,02	175,5	172,0	51,61/ 3,80

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.1.1 Grau de Esterificação

Como descrito anteriormente o Grau de Esterificação (GE) é um dos principais critérios para classificação de uma pectina. Os valores de GE usualmente encontrados variam de acordo com as fontes de onde a pectina foi extraída. Com esse dado pode-se inferir importantes parâmetros qualitativos, como a viscosidade e a capacidade de gelificação. Na Tabela 3, tem-se os valores para GE das pectinas obtidas da casca da manga.

Tabela 3 – Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca da manga

Amostra	Grau de Esterificação (%)
WSP	84
CSP	89
SSP	83
BANERJEE et al., 2018	87; 77,6
GUANDALINI et al., 2019	58 – 67

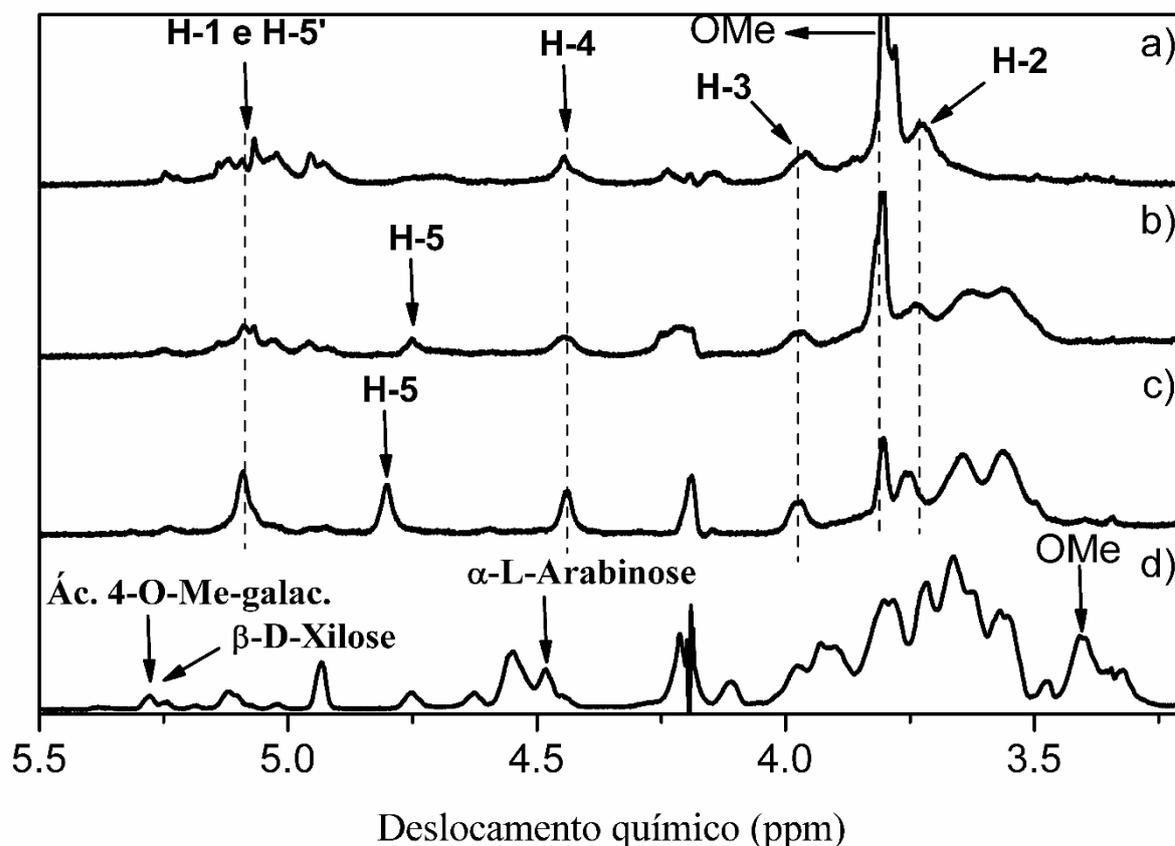
Fonte: elaborado pela autora.

Diante disso, tem-se que as pectinas extraídas da casca da manga são classificadas com altamente esterificadas e os valores obtidos mostram-se coerentes ao serem comparados com a literatura indicados na Tabela 3. Esse tipo de pectina quando colocada em uma solução aquosa e com pelo menos 65% de açúcar (sacarose), tende a formar gel, principalmente, por conta da presença dos grupos ésteres. Tais grupos aumentam as interações hidrofóbicas que, juntamente com as ligações de hidrogênio, formam redes emaranhadas na solução que por sua vez são necessárias para formar géis estáveis, por isso pectinas que são altamente esterificadas, formam géis em pH ácido e na presença de açúcares (BANERJEE et al., 2018; GUANDALINI; RODRIGUES; MARCZAK, 2019).

5.2.2 Casca do Maracujá

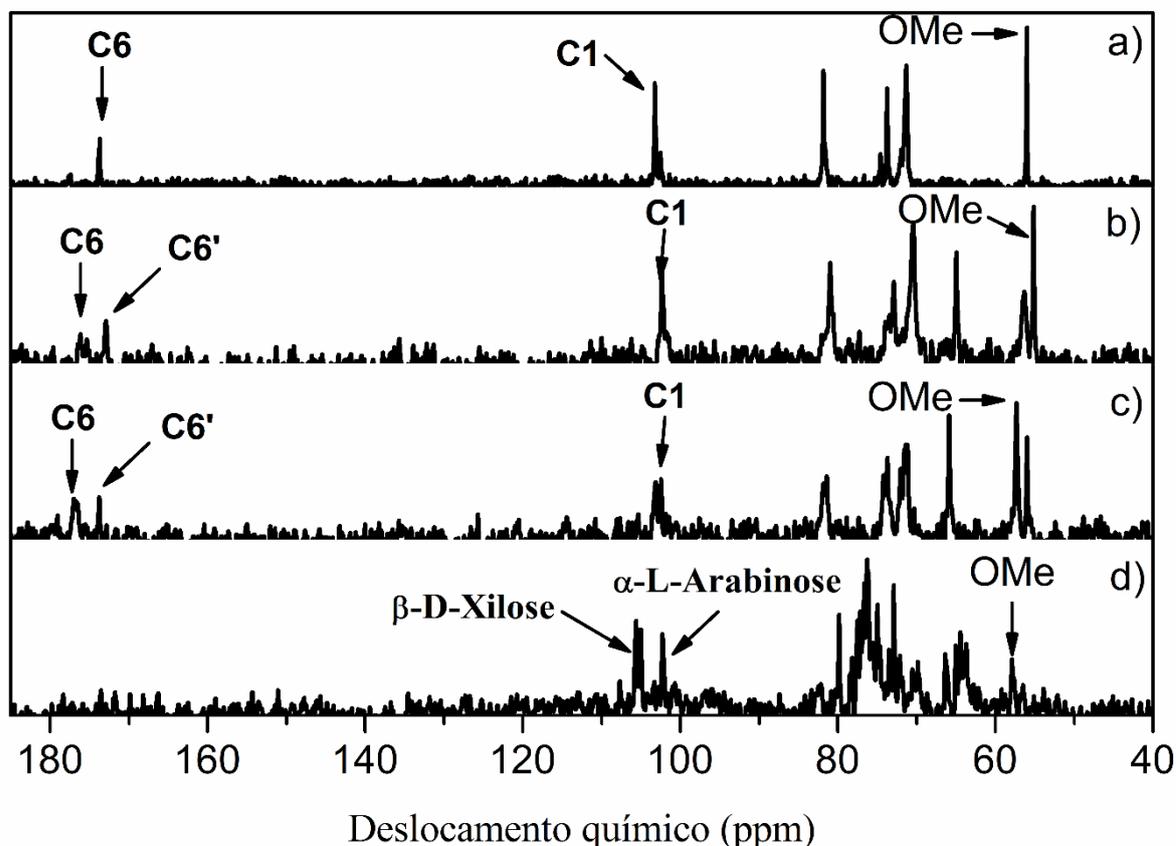
Os espectros de RMN-¹H obtidos de todas as frações da casca do maracujá se encontram na Figura 7. Os espectros mostraram hidrogênios anoméricos típicos (H-1) em cerca 5,09 ppm em todas as amostras de pectina a) WSP, b) CSP e c) SSP), além do também típico sinal em 3,80 ppm referente ao OMe, os demais sinais também apresentam deslocamento químico semelhantes, exceto o hidrogênio H-5 que na fração WSP não foi detectado, porém os demais mostraram-se coerente com a literatura (SILVA et al., 2012). Já para a fração HC pode-se observar a presença de três resíduos glicosídicos principais, o ácido 4-O-metil-galacturônico, a β -D-Xilose e α -L-Arabinose que também são coerentes com o encontrado na literatura (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019). Isso reforça, a já vista na amostra de casca da manga, reprodutibilidade do método de extração, já que as pectinas da casca da maracujá são parecidas entre si.

Figura 9 – Espectro de RMN-¹H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá



Os espectros de RMN-¹³C da casca do maracujá encontram-se na Figura 8 e corroboram com os espectros de ¹H sugerindo de fato a existência de estrutura de pectina de todas as frações (a) WSP, b) CSP e c) SSP), além disso observa-se também os sinais de C6 e C6'. Na fração WSP, assim como na casca da manga, apenas o sinal de C6 em 173,7 ppm, na fração CSP o C6 está em 175,9 ppm e o C6' em 172,9 ppm que é mais protegido por conta da metila do éster, em SSP o C6 está em 175,7 ppm e o C6' em 172,7 ppm. Diante disso, tem-se que os valores de deslocamento químico são bastante semelhantes entre si e são coerentes com a literatura (SILVA et al., 2012). A coerência dos valores de deslocamento químicos de ¹³C com a literatura também é notada para a fração HC (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

Figura 10 – Espectro de RMN-¹³C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá



Na Figura 9, encontram-se os espectros de HSQC para cada fração da casca do maracujá e reforçam o que foi dito em relação aos espectros unidimensionais com a presença de pectinas (SILVA et al., 2012) e hemicelulose (KANG; GUO; SHI, 2019) na amostra. Na Tabela 4, entretanto, para um melhor entendimento, destacou-se apenas os valores de deslocamentos químicos para as frações que contém pectina (a) WSP, b) CSP e c) SSP) e adicionou-se os valores de deslocamentos químicos de C6 e C6' encontrado no espectro de RMN-¹³C.

Figura 11 – Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca do maracujá

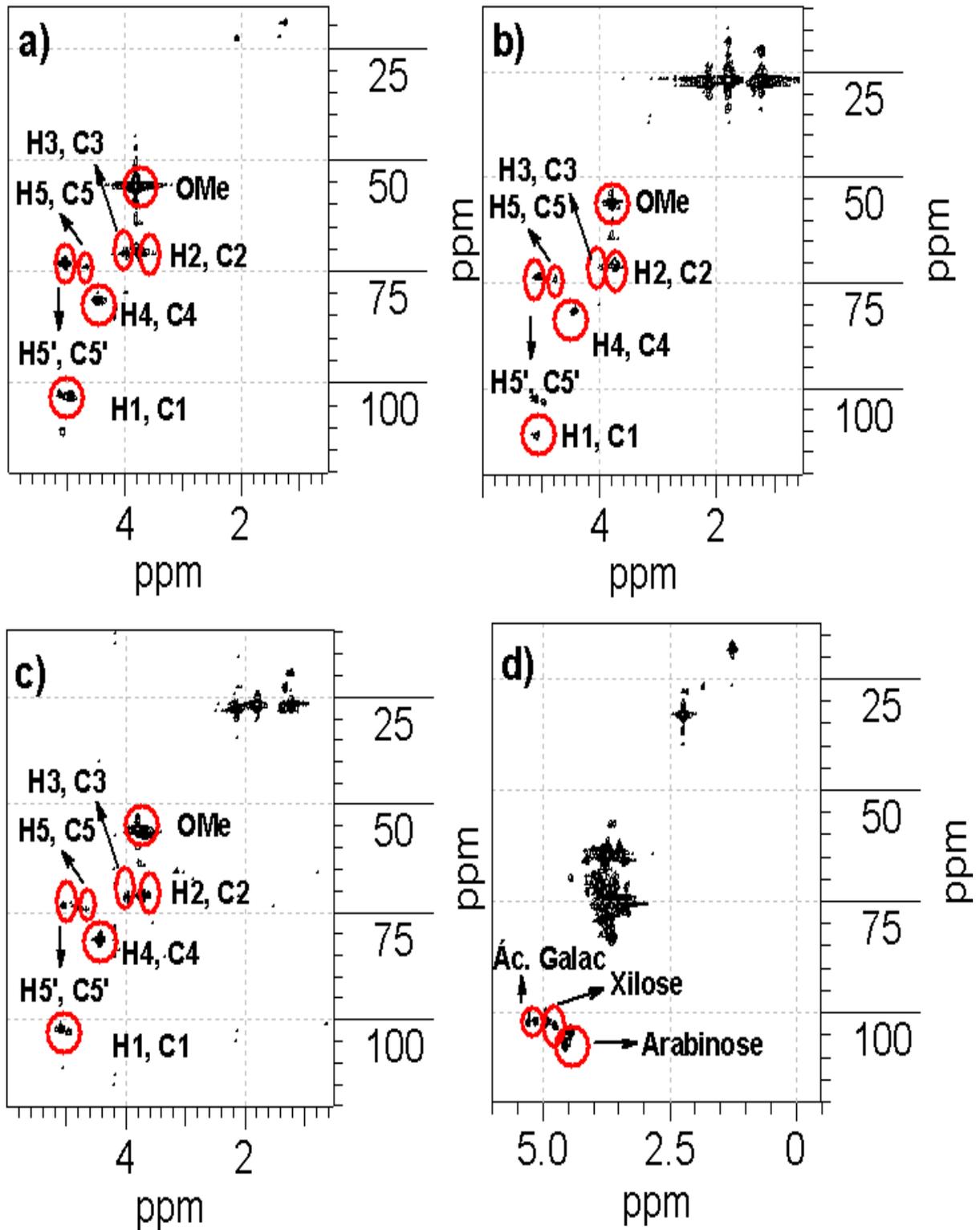


Tabela 4 – Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca do maracujá

Amostra	Deslocamento químico (ppm)								
	H-1/C1	H-2/C2	H-3/C3	H-4/C4	H-5/C5	H-5'/C5'	C6	C6'	OCH-3
WSP	110,82/ 5,08	71,29/ 3,72	71,37/ 3,98	81,72/ 4,45	74,35/ 4,67	73,8/ 5,02	173,7	-	56,08 / 3,80
CSP	102,51/ 5,08	71,53/ 3,71	71,27/ 3,97	81,96/ 4,42	74,51/ 4,73	73,80/ 5,01	175,9	172,9	56,0/ 3,80
SSP	102,88/ 5,09	71,35/ 3,73	71,82/ 3,98	81,71/ 4,43	74,1/ 4,77	73,94/ 5,04	175,7	173,7	56,0/ 3,80

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.2.1 Grau de Esterificação

Na Tabela 5 está apresentado o grau de esterificação das frações de pectinas da casca do maracujá. Não foi possível obter o GE para a fração WSP, devido a baixa intensidade de sinal de H-5. Já a fração CSP é classificada como altamente esterificada, e SSP é classificada como pouco esterificada, resultando na dificuldade para formação de géis.

Tabela 5 – Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do maracujá

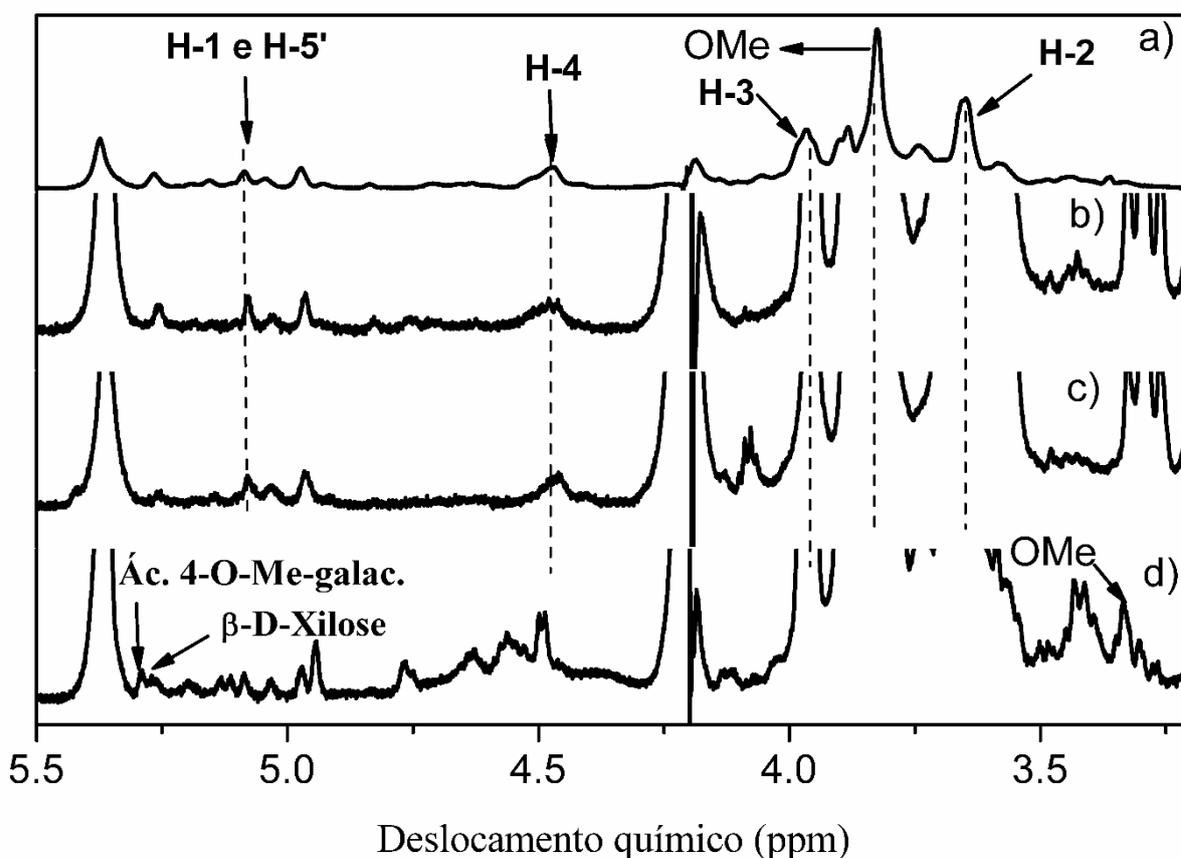
Amostra	Grau de Esterificação (%)
WSP	-
CSP	55,6
SSP	18,6
FREITAS DE OLIVEIRA et al., 2016	60,36 – 79,59
LIEW; CHIN; YUSOF, 2014	59,8

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.3 Bagaço do Caju

Os espectros de RMN-¹H obtidos de todas as frações do bagaço do caju se encontram na Figura 10. Os espectros mostraram hidrogênios anoméricos típicos (H-1) em cerca 5,09 ppm em todas as amostras de pectina (a) WSP, b) CSP e c) SSP), além do também típico sinal em 3,80 ppm referente ao OMe, os demais sinais também apresentam deslocamento químico semelhante, excetuando-se o H-5 da fração SSP que não pode ser detectado, entretanto os demais sinais mostraram-se coerente com a literatura (TAMIELLO-ROSA et al., 2019). Já para a fração HC tem-se a presença de apenas dois, diferentemente da casca da manga e do maracujá, resíduos glicosídicos principais, o ácido 4-O-metilgalacturônico e a β-D-Xilose, que são coerentes também com o encontrado na literatura (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

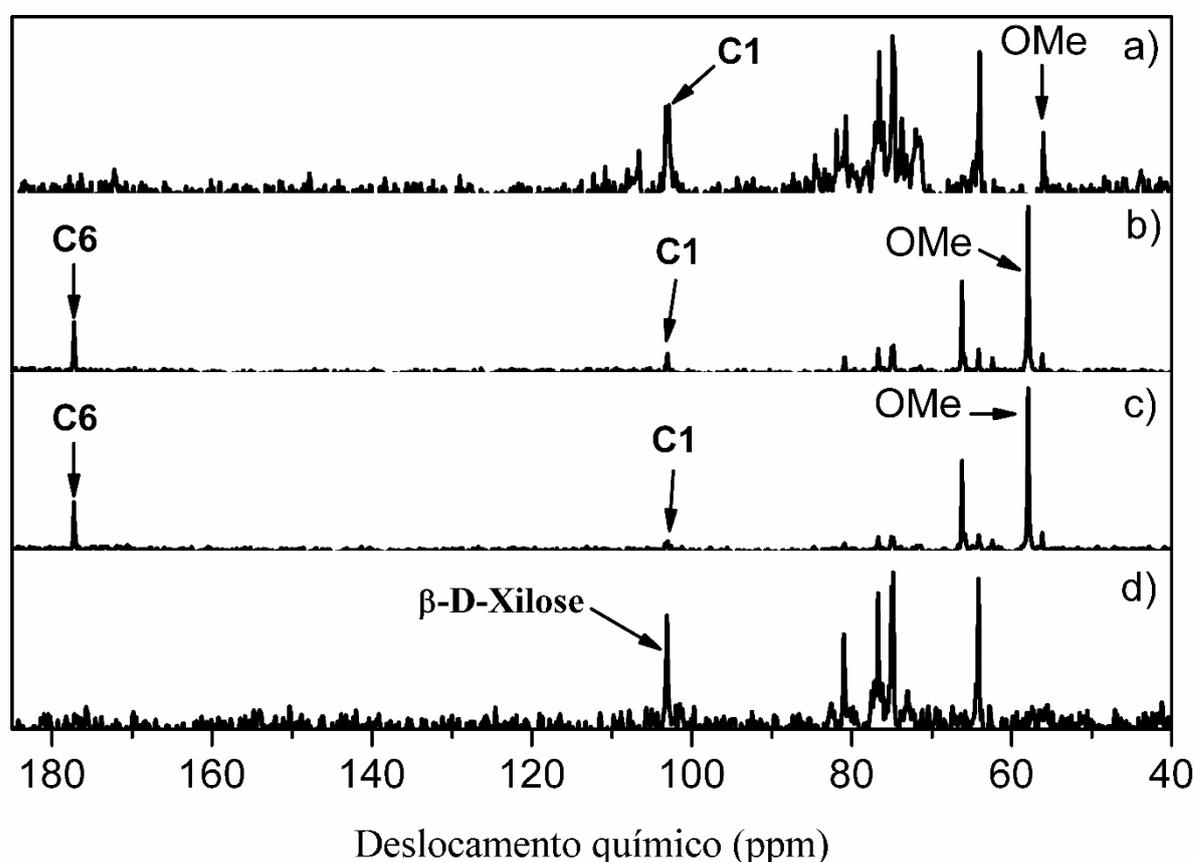
Figura 12 – Espectro de RMN ¹H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço de caju



Os espectros de RMN-¹³C encontram-se na Figura 11 e corroboram com os espectros de ¹H sugerindo de fato a existência de estrutura de pectina de todas as frações (a)

WSP, b) CSP e c) SSP). Entretanto na amostra de bagaço de caju apenas os deslocamentos químicos referentes ao C6, oriundos da carbonila do ácido galacturônico foram detectados e apenas nas frações CSP e SSP. Na fração CSP o C6 é observado em 177,3 ppm e em SSP o C6 é observado em 177,3 ppm. Diante disso, os valores de deslocamento químico encontrados estão coerentes com dados anteriormente reportados (TAMIELLO-ROSA et al., 2019). A coerência dos valores de deslocamento químicos de ^{13}C com a literatura também é notada para a fração HC (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

Figura 13 – Espectro de RMN- ^{13}C de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço do caju



Na Figura 12, encontram-se os espectros de HSQC para cada fração do bagaço de caju que corroboram com o que foi dito em relação aos espectro unidimensionais correspondendo com a presença de pectinas (TAMIELLO-ROSA et al., 2019) e hemicelulose (KANG; GUO; SHI, 2019) na amostra. Na Tabela 6, entretanto, para um melhor entendimento, destacou-se apenas os valores de deslocamentos químicos para as frações que contém pectina (a) WSP, b) CSP e c) SSP) e adicionou-se os valores de deslocamentos químicos de C6 encontrado no espectro de RMN- ^{13}C .

Figura 14 – Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC do bagaço do caju

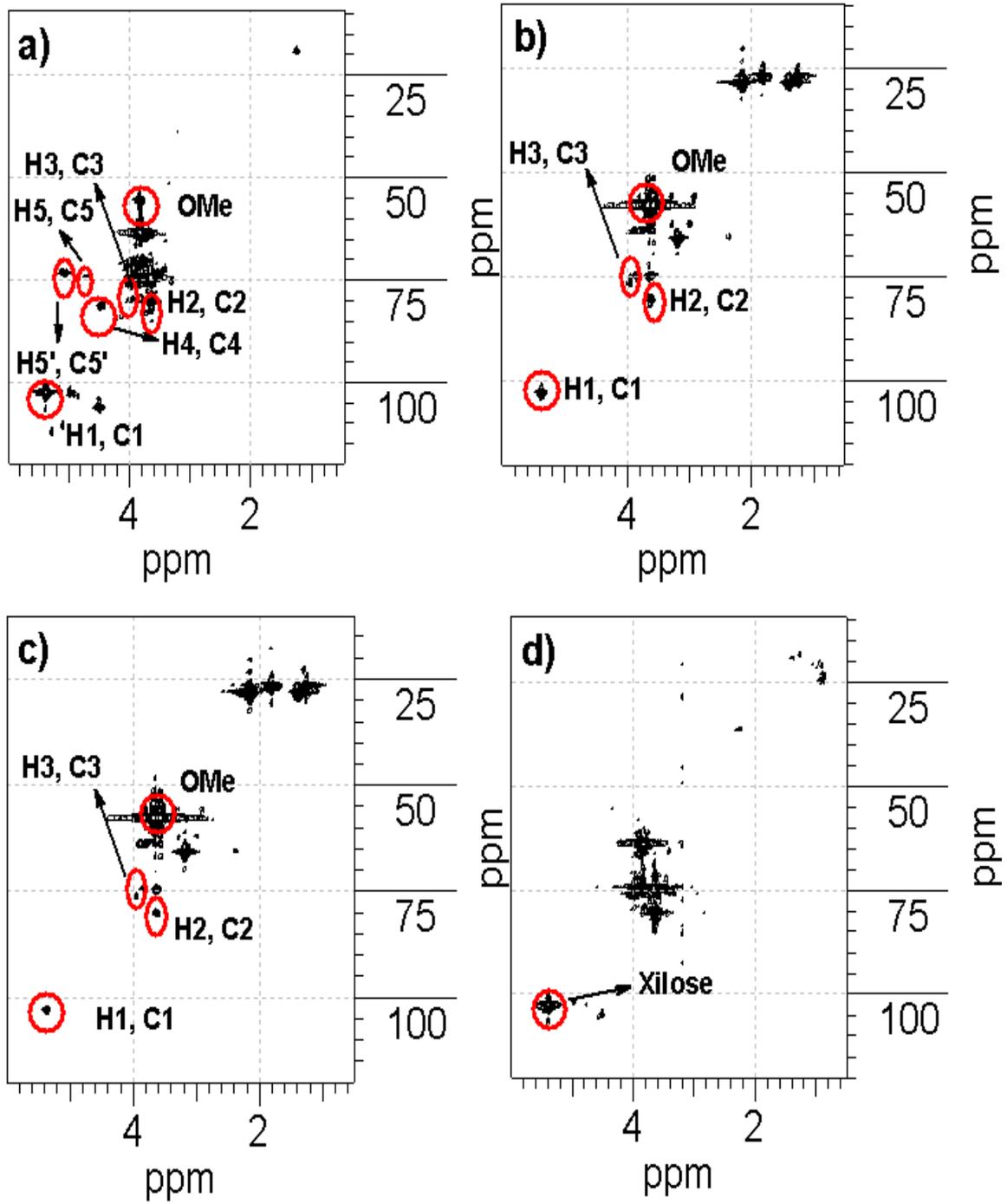


Tabela 6 – Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas do bagaço do caju

Amostra	Deslocamento químico (ppm)								
	H-1/C1	H-2/C2	H-3/C3	H-4/C4	H-5/C5	H-5'/C5'	C6	C6'	OCH-3
WSP	110,85/ 5,07	81,21/ 3,63	79,79/ 3,95	81,76/ 4,47	74,84/ 4,67	73,8/ 5,02	-	-	55,95/ 3,80
CSP	103,51/ 5,36	81,0/ 3,64	76,76/ 3,96	-	-	-	177,3	-	-
SSP	103,03/ 5,36	80,76/ 3,63	76,37/ 3,95	-	-	-	177,3	-	-

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.3.1 Grau de Esterificação

Na Tabela 7 está apresentado o GE para para as frações WSP, CSP e SSP obtidas do bagaço do caju. A fração WSP é classificada como altamente esterificada e CSP é classificada como pouco esterificada, ela não possui facilidade para formação de géis, já para SSP não foi possível determinar pela baixa intensidade de sinal de H-5.

Tabela 7 – Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do bagaço do caju

Amostra	Grau de Esterificação (%)
WSP	68,7
CSP	40,7
SSP	-

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.4 Casca do Coco Verde

Os espectros de RMN-¹H obtidos de todas as frações da casca do coco verde se

encontram na Figura 13. Os espectros de RMN-¹H mostraram hidrogênios anoméricos típicos (H-1) em cerca 5,09 ppm em todas as amostras de pectina (a) WSP, b) CSP e c) SSP), além do também típico sinal em 3,80 ppm referente ao OMe, os demais sinais também apresentam deslocamento químico semelhante, apenas o H-5 da fração WSP não foi detectado, contudo os demais sinais mostraram-se coerentes com a literatura (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016). Já para a fração HC, assim como na amostra de bagaço de caju, tem-se a presença de dois resíduos glicosídicos principais, o ácido 4-O-metil-galacturônico e a β-D-Xilose, mas que também são coerentes com o encontrado na literatura (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

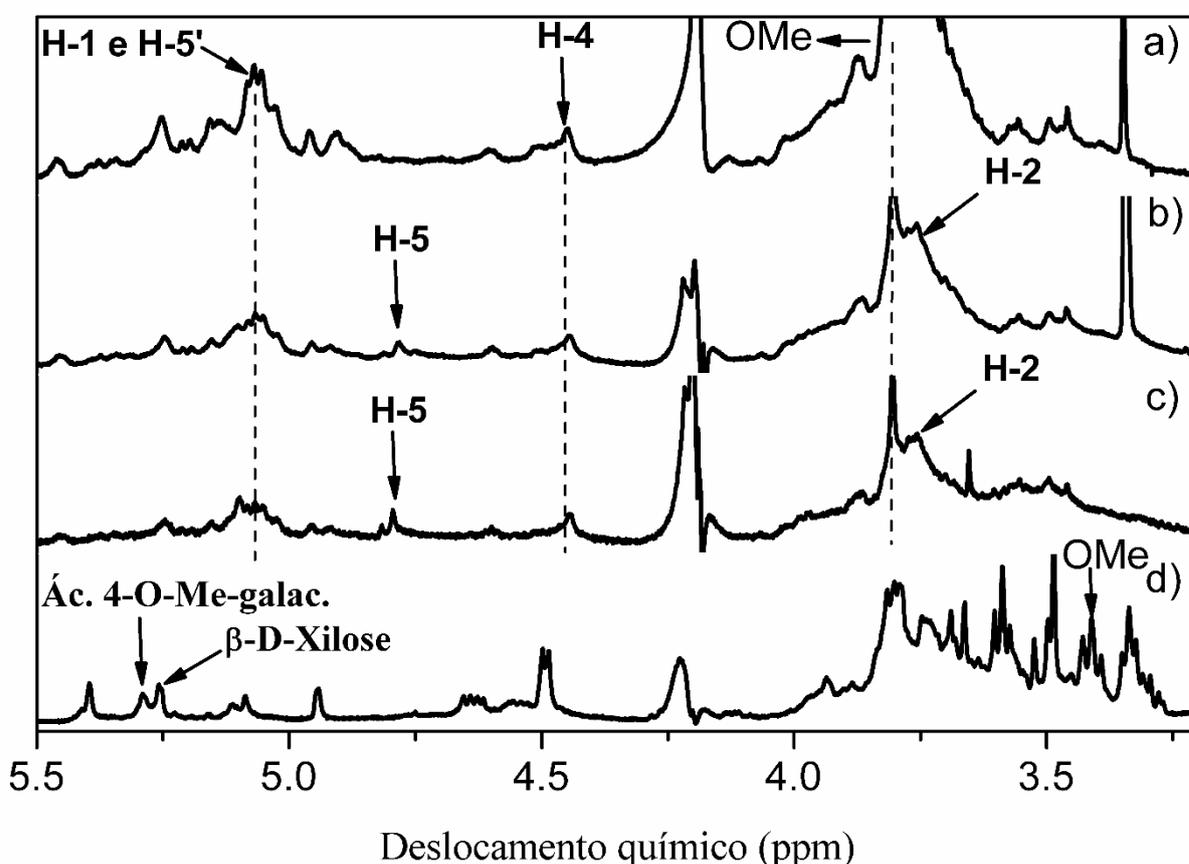
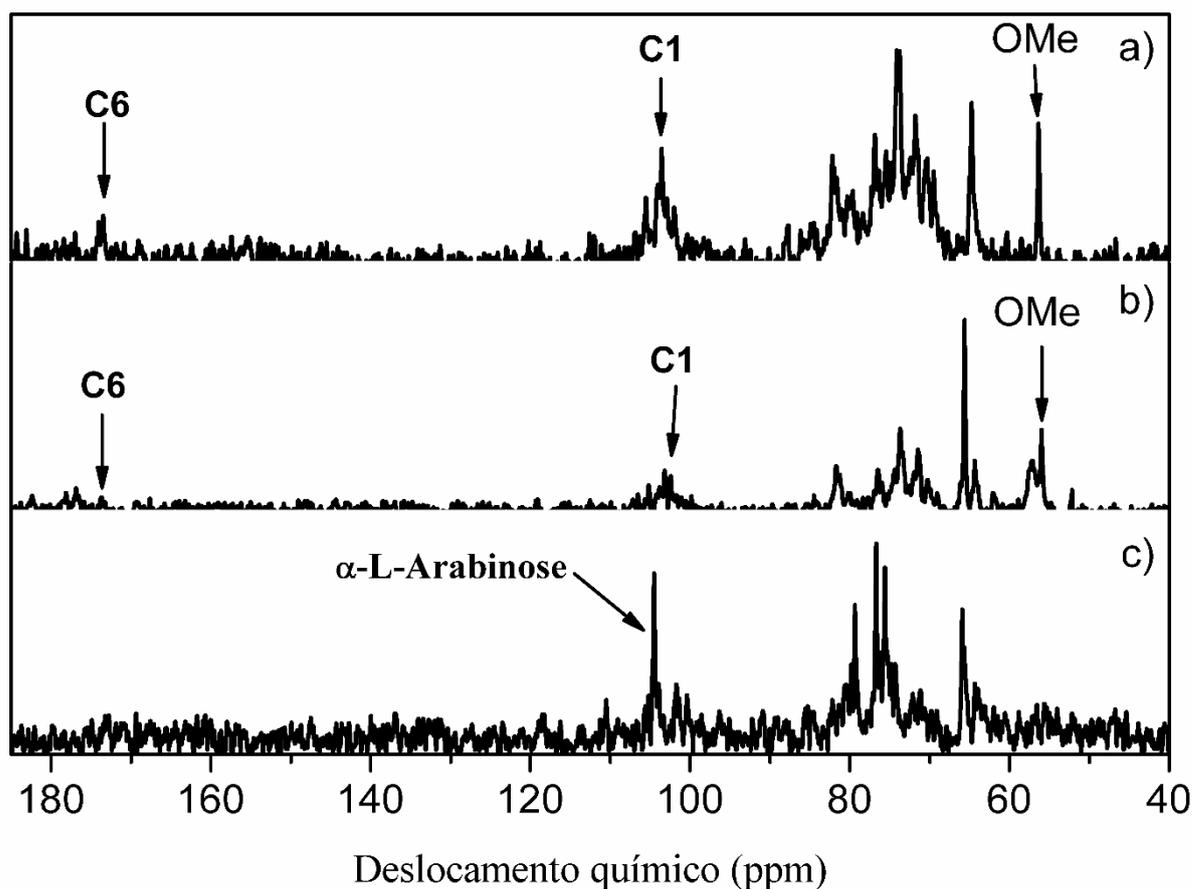


Figura 15 – Espectro de RMN-¹H de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da casca do coco verde.

Os espectros de RMN-¹³C encontram-se na Figura 14 e corroboram com os espectros de ¹H sugerindo de fato a existência de estrutura de pectina, entretanto somente para as frações a) WSP e b) CSP, pois o espectro de SSP teve problemas e não pode ser adicionado. Observa-se também apenas os sinais de C6 na fração WSP em 173,7 ppm e na fração CSP o

C6 está em 173,8 ppm. Diante disso, tem-se que os valores de deslocamento químico, apesar da ausência de C6', as frações WSP e CSP são bastante semelhantes entre si e são coerentes com a literatura (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016). A coerência dos valores de deslocamento químicos de ^{13}C com a literatura também é notada para a fração HC (BHAGIA et al., 2018; SUN et al., 2019).

Figura 16 – Espectro de ^{13}C RMN de a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC da casca da casca do coco verde



Na Figura 15, encontram-se os espectros de HSQC para cada fração da casca do coco verde que reforçam o que foi dito em relação aos espectro unidimensionais correspondendo com a presença de pectinas (BARBIERI et al., 2019) e hemicelulose (KANG; GUO; SHI, 2019) na amostra. Na Tabela 8, entretanto, para um melhor entendimento, destacou-se apenas os valores de deslocamentos químicos para as frações que contém pectina (a) WSP e b) CSP e adicionou-se os valores de deslocamentos químicos de C6 encontrado no espectro de RMN- ^{13}C .

Figura 17 – Espectro HSQC de a) WSP, b) CSP e c) HC da casca do coco verde

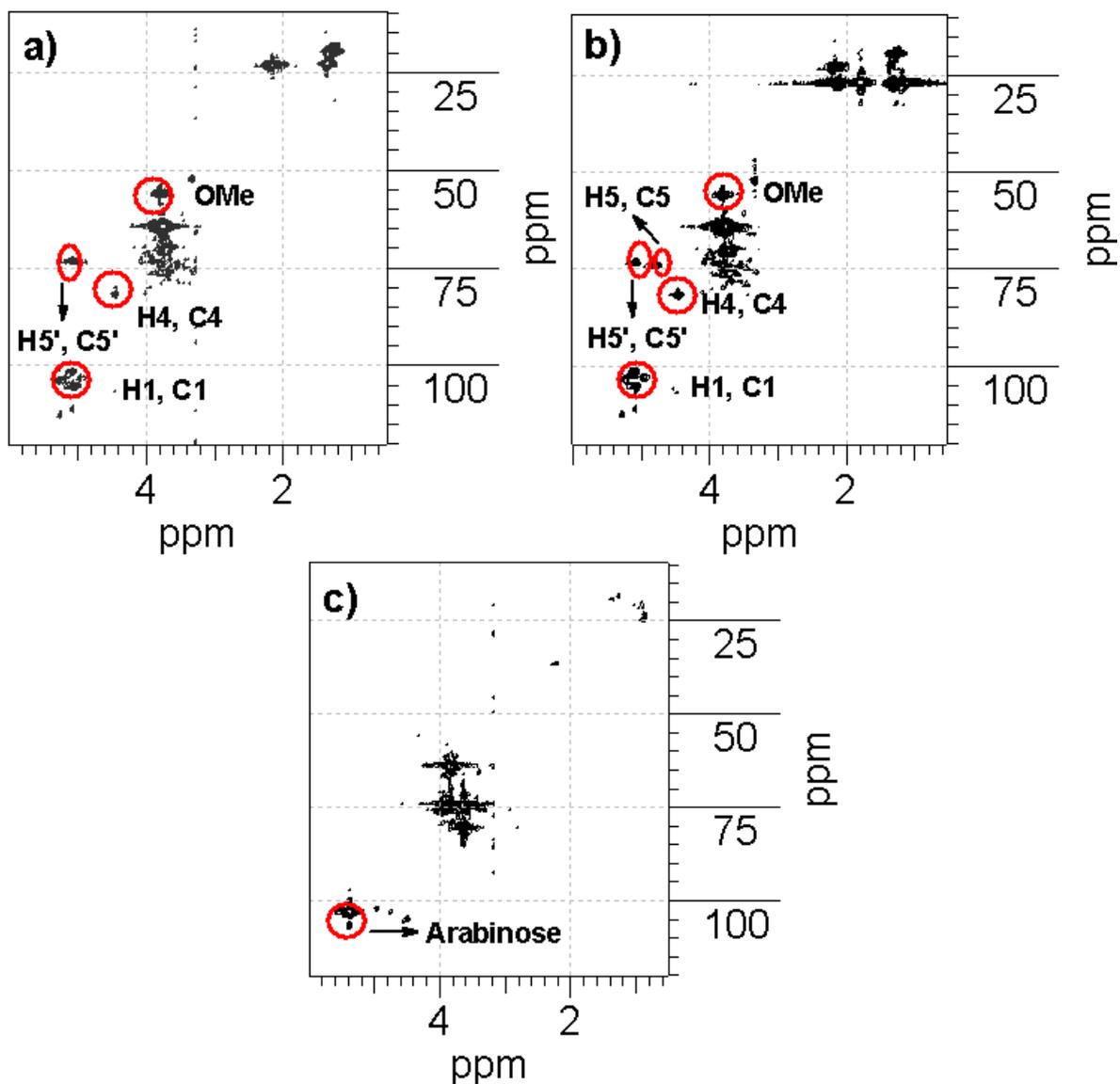


Tabela 8 – Valores de deslocamentos químicos do HSQC das frações obtidas da casca do coco

Amostra	Deslocamento químico (ppm)								
	H-1/C1	H-2/C2	H-3/C3	H-4/C4	H-5/C5	H-5'/C5'	C6	C6'	OCH-3
WSP	101,44/ 5,08	-	71,81/ 3,98	82,04/ 4,44	-	73,84/ 5,08	173,7	-	56,27/ 3,80
CSP	102,31/ 5,1	-	-	81,91/ 4,44	74,31/ 4,76	73,29/ 5,06	173,8	-	55,87/ 3,80

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.4.1 Grau de Esterificação

Na Tabela 9 estão apresentados os GE para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do coco, WSP, não foi possível ser determinada pela baixa intensidade de sinal de H-5. As frações CSP e SSP são classificadas como altamente esterificadas, elas possuem facilidade para formação de géis.

Tabela 9 – Grau de Esterificação para as frações WSP, CSP e SSP obtidas da casca do coco

Amostra	Grau de Esterificação (%)
WSP	-
CSP	71,6
SSP	61,3

Fonte: elaborada pela autora.

5.2.2 Frações

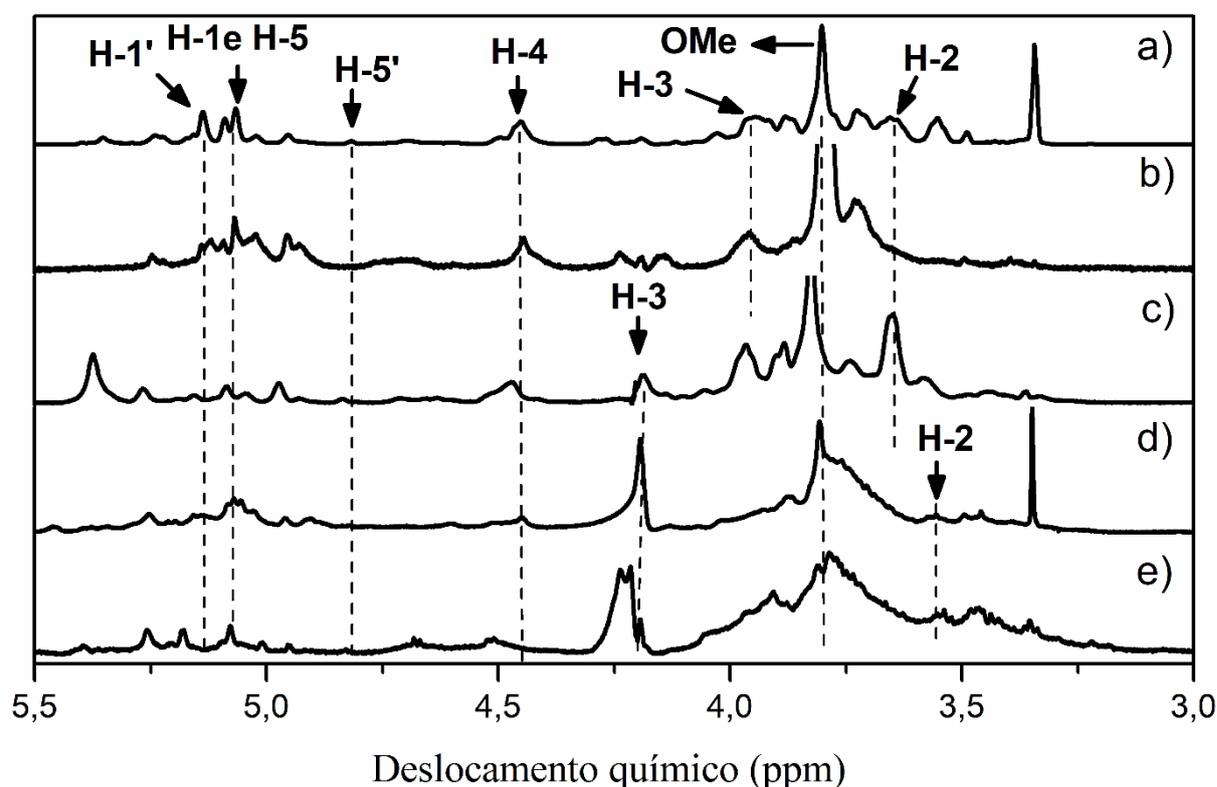
Neste item, foram comparados entre si os espectros de hidrogênio das frações extraídas das diferentes amostras estudadas a fim de investigar as semelhanças e as diferenças entre as frações, já que apesar de todas serem pectinas são extraídas de fontes distintas.

5.2.2.1 WSP

Na Figura 16, pode-se observar os espectros de hidrogênio das frações WSP obtidas da casca da manga, da casca do maracujá, do bagaço do caju, da casca do coco verde e do bagaço da cana-de-açúcar. Os sinais em torno de 5,09 e 5,14 ppm, para todas as amostras, são atribuídos, respectivamente, a H-1 e H-1' do monômero, ácido galacturônico, da pectina. Além disso, pode-se observar o sinal de grupo OMe em torno de δ 3,80 para todas as amostras e o hidrogênio H-5' que é observado em 4,82 ppm. Nas amostras de casca da manga, casca do maracujá e bagaço do caju o sinal de H-2 é atribuído a 3,65 ppm, já para as amostras de coco e cana-de-açúcar, tal sinal é observado em 3,55 ppm. Os hidrogênios H-3 são observados para quase todas as amostras em 4,20 ppm, exceto para a casca da manga que é 3,94 ppm. O

sinal H-4 possui o mesmo deslocamento químico para todas as amostras em torno de 4,45 ppm. Diante disso, pode-se perceber que as frações WSP de todas as amostras possuem bastante similaridade entre si e tais valores também estão coerentes com a literatura (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016; SILVA et al., 2012; YANG et al., 2018). Isso mostra que apesar de partir de diferentes materiais, todas as frações contêm pectina.

Figura 16 – Espectros de RMN ^1H das amostras de WSP: a) casca da manga, b) casca do maracujá, c) bagaço do caju, d) casca do coco verde e e) bagaço da cana-de-açúcar

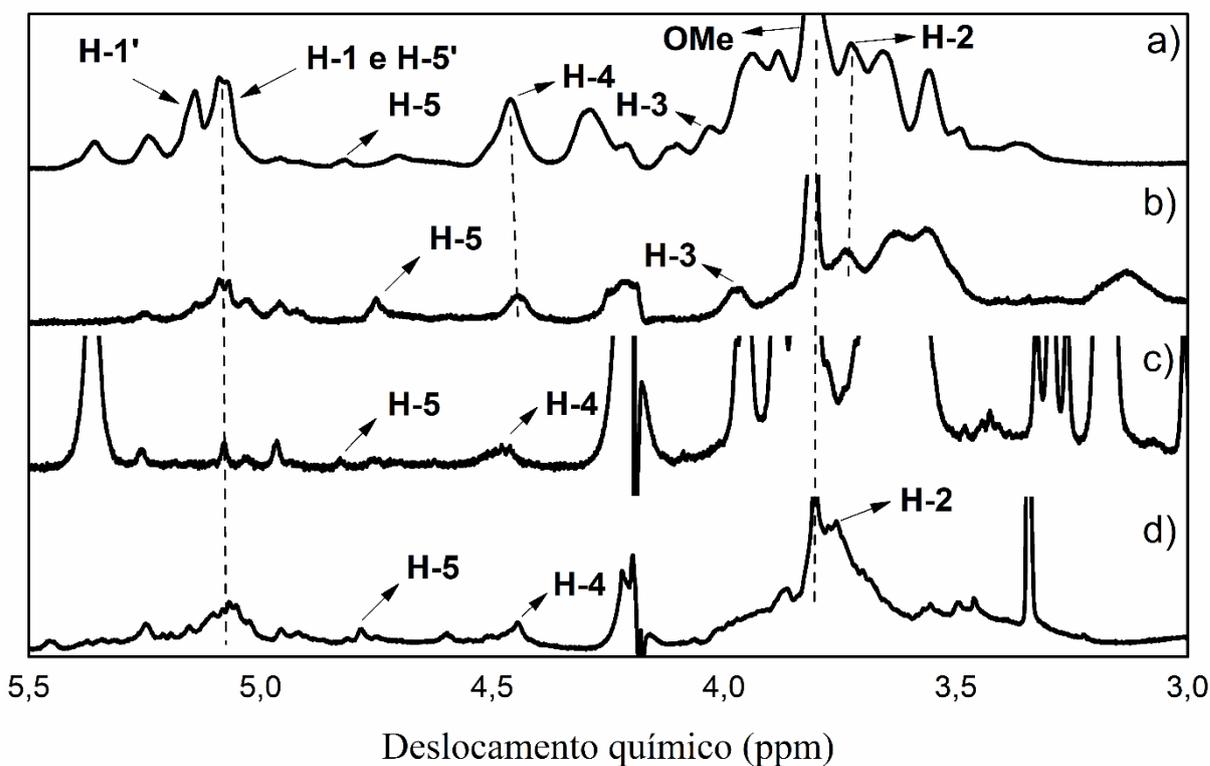


5.2.2.2 CSP

As pectinas têm uma solubilidade mais baixa em água devido à sua capacidade de reticulação na presença de íons Ca^{2+} (LI et al., 2019). Visando melhorar a capacidade de extrair pectina das amostras, utiliza-se um tampão contendo CDTA que é um forte agente quelante de Ca^{2+} que interrompe a formação desses complexos indesejados deixando a pectina mais acessível (LI et al., 2019). Na Figura 17, estão presentes os espectros de hidrogênios de todas as amostras utilizadas. Diferentemente das frações WSP, o perfil das frações CSP foi bastante distinto entre si evidenciando que o agente reticulante CDTA não agiu de forma igual para todas as amostras.

O sinal de H-1' em 5,14 ppm oriundo da pectina (BARBIERI et al., 2019; SILVA et al., 2012; WINNING et al., 2007) pode ser visto somente na fração CSP proveniente da casca da manga (fig. 17a). Já os sinais H-1 e H-5 estão sobrepostos em torno de 5,09 ppm (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016; QIN et al., 2020) para todas as frações. O sinal para o H-5' tem uma faixa de deslocamento, na qual, ele pode se apresentar, variando de 4,6 – 4,8 ppm (ROSENBOHM et al., 2003) para a amostra da casca de manga o H-5' está em 4,82 ppm, para a casca do maracujá em 4,75 ppm, para o bagaço do caju em 4,83 ppm e para a casca do coco verde em 4,78 ppm. De forma semelhante o sinal de H-4 apareceu em todas as amostras variando minimamente entre 4,44 – 4,47 ppm (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016), enquanto que só se pode notar o sinal de H-3 nas amostras de casca da manga e do maracujá em torno de 3,9 ppm (BARBIERI et al., 2019; QIN et al., 2020). O sinal característico do grupo OMe está presente em todas as amostras em torno de 3,80 ppm (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016; WINNING et al., 2007).

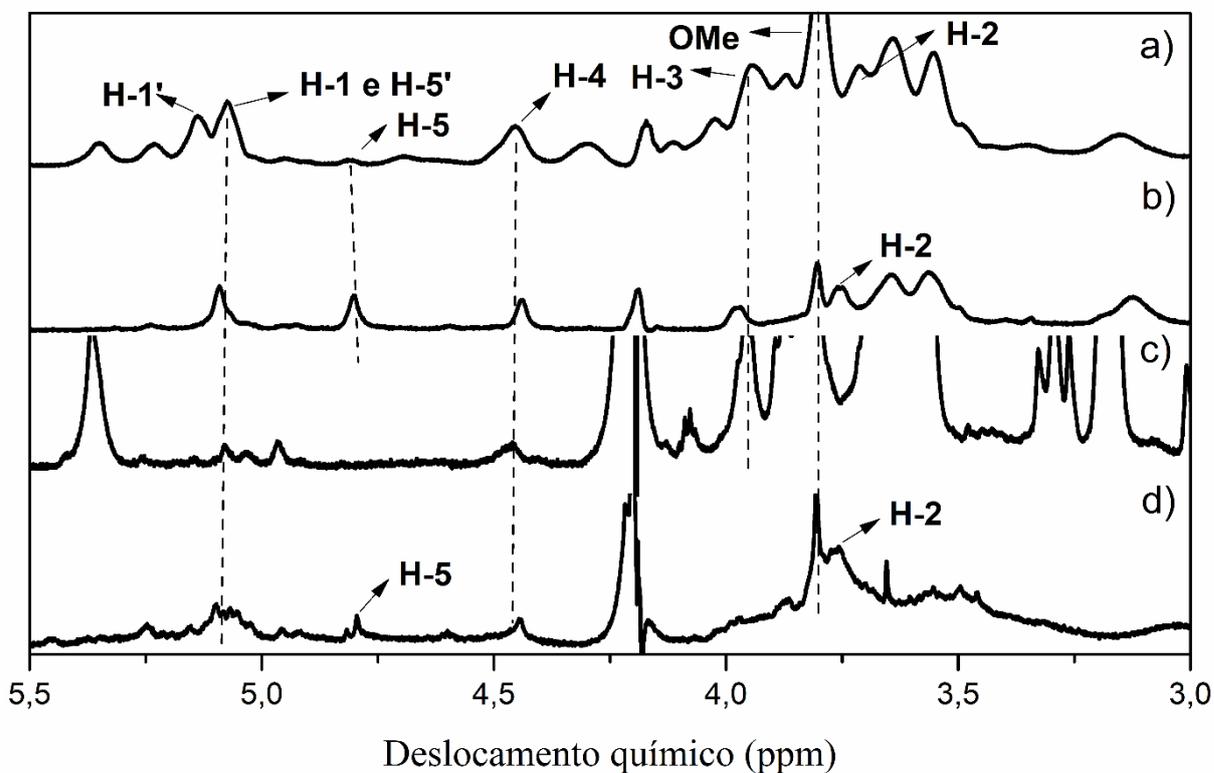
Figura 17 – Espectros de RMN ^1H das amostras de CSP: a) casca da manga, b) casca do maracujá, c) bagaço do caju e d) casca do coco verde



5.2.2.3 SSP

A solução de Na_2CO_3 extraiu as frações de pectina SSP ligadas por covalência (BASANTA et al., 2013). Na Figura 18, encontra-se os espectros de hidrogênio das frações SSP de todas as amostras estudadas. Assim como para as frações CSP, apenas no espectro da casca da manga é observado o deslocamento químico de 5,14 ppm para o H-1' (BARBIERI et al., 2019; SANTOS et al., 2020). Do mesmo modo, os sinais de H-1 e H-5 estão sobrepostos em todos os espectros das frações SSP com deslocamento entre 5,09 – 5,07 ppm (QIN et al., 2020; ROSENBOHM et al., 2003; SILVA et al., 2012). Já o H-5' foi encontrado em todas as amostras, excetuando-se a fração extraída do bagaço do caju, já para as demais amostras teve o deslocamento semelhante em torno de 4,80 ppm (ROSENBOHM et al., 2003; SANTOS et al., 2020; SILVA et al., 2012). Os sinais de H-4 está presente em todas as amostras e variam de 4,44 – 4,45 ppm (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016; SANTOS et al., 2020), enquanto que para H-3 os sinais variam 3,98 – 3,95 ppm (BARBIERI et al., 2019; QIN et al., 2020; SANTOS et al., 2020), exceto para a amostra da casca do coco verde, na qual, não foi possível observar o sinal de H-3. Já o sinal de H-2, não foi possível observá-lo apenas na amostra de bagaço de caju, para as demais amostras o deslocamento variou entre 3,71 – 3,77 ppm (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016). Por fim, o sinal do grupo OMe se mostrou claro em torno de 3,80 ppm em todas as amostras (BARBIERI et al., 2019; GRASSINO et al., 2016; WINNING et al., 2007).

Figura 18 – Espectros de RMN ^1H das amostras de SSP: a) casca da manga, b) casca do maracujá, c) bagaço do caju e d) casca do coco verde



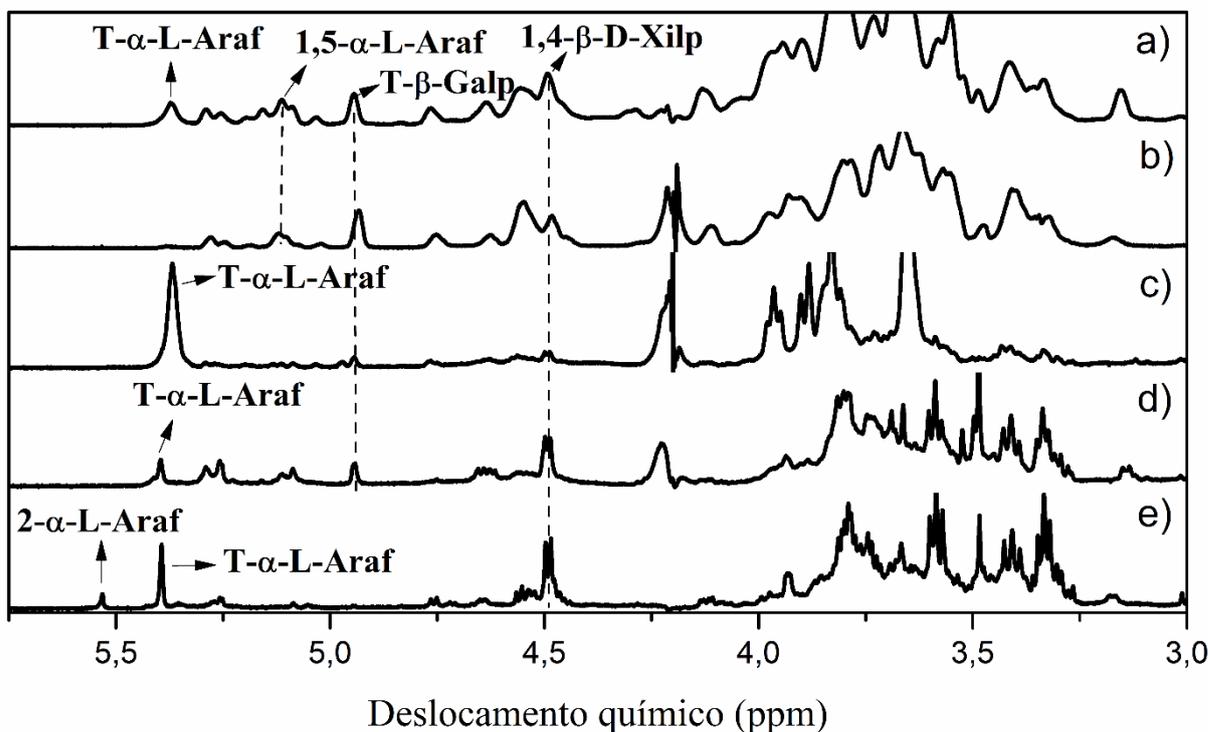
5.2.2.4 HC

Após a remoção dos polissacarídeos pécnicos, tem-se a última fração analisada, a hemicelulose que é composta por diferentes resíduos monossacarídicos, em sua maioria, xilanos e abarinoses. (BHAGIA et al., 2018). Diante disso, os sinais dos hidrogênios anoméricos da hemicelulose são divididos basicamente em duas regiões principais, na região δ 5,2-5,4 ppm, onde aparecem as unidades de arabinofuranosil e em δ 4,4-4,7 ppm os resíduos de xilopiranosil aparecem (WANG et al., 2019b). Na Figura 19, encontram-se os espectros de hidrogênio de todas as frações HC das amostras utilizadas neste trabalho. Os principais resíduos identificados foram o 1,2- α -L-Araf em 5,37 ppm (KANG; GUO; SHI, 2019) para casca da manga e bagaço do caju, este último, por sua vez com um sinal bem mais intenso, o que pode ser justificado pela sua elevada massa molar que foi determinada por GPC e pode ser vista no item 5.4, pois apesar de que a fração HC com maior massa molar ser a HC oriunda da casca do maracujá, ela não apresenta o resíduo 1,2- α -L-Araf, por isso a fração HC do bagaço do caju se torna a fração, na qual, este resíduo está presente com maior intensidade.

Já para as demais amostras, casca do coco verde e bagaço da cana-de-açúcar, o sinal de 1,2- α -L-Araf aparece em torno de 5,40 ppm. Com o sinal de maior intensidade no espectro de bagaço da cana-de-açúcar, por este possuir uma massa molar maior do que a fração oriunda da casca do coco verde.

Pode-se sugerir também que o sinal em 5,53 ppm que aparece apenas na fração HC na amostra de bagaço de cana-de-açúcar corresponde ao resíduo 2- α -L-Araf (KANG; GUO; SHI, 2019). Já o sinal em 5,10 ppm sugere-se que seja 1,5- α -L-Araf (QIN et al., 2020) que aparece apenas nas frações HC da casca da manga e do maracujá. O sinal em 4,9 ppm indica a presença do resíduo T- β -Galp (KANG; GUO; SHI, 2019) que está presente em todas as amostras excetuando a amostra de bagaço de cana-de-açúcar. O único resíduo que se mostrou presente em todas as amostras foi o 1,4- β -D-Xilp que também é bastante recorrente nas hemiceluloses reportadas (BHAGIA et al., 2018; KANG; GUO; SHI, 2019; QIN et al., 2020) com deslocamento químico em torno de 4,5 ppm. Assim, tal conjunto de evidências, sugere a presença de hemicelulose em todas as frações extraídas.

Figura 19 – Espectros de RMN ^1H das amostras de HC: a) casca da manga, b) casca do maracujá, c) bagaço do caju, d) casca do coco verde e e) cana-de-açúcar

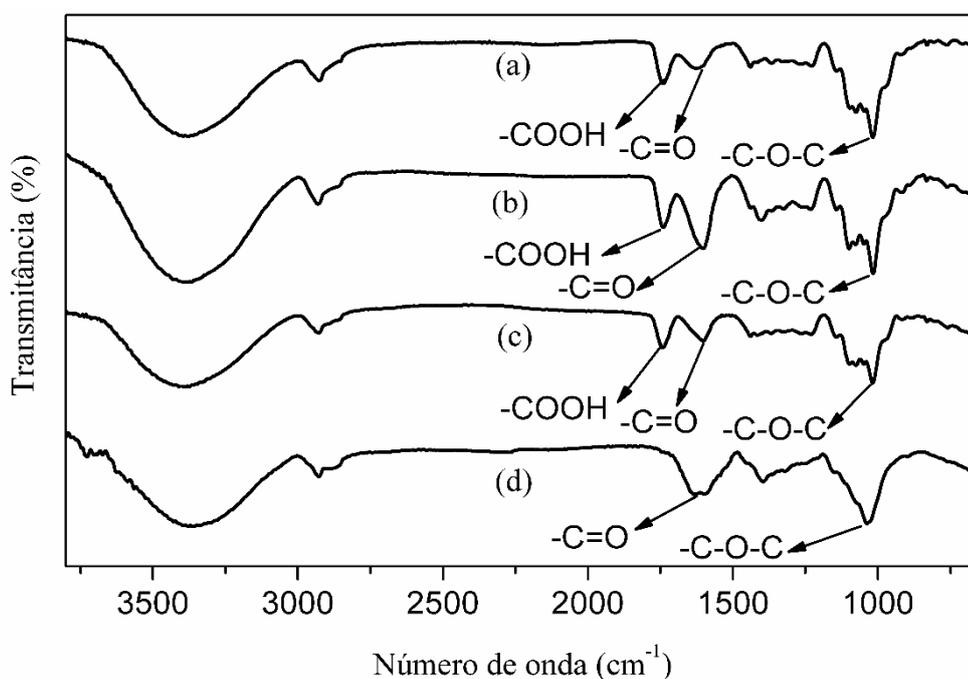


5.3 Análise por Espectroscopia por Refletância Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR – FTIR)

5.3.1 Casca da Manga

Os espectros de FTIR das amostras da casca da manga são encontrados na Figura 15. Pode-se observar as bandas de absorção em 1745 cm^{-1} de estiramento de $-\text{COOH}$, em 1610 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$, em 1017 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel glicosídico para as frações de pectina (BANERJEE et al., 2018). Para a fração HC tem-se bandas de absorção em 1610 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$ e em 1038 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel glicosídico (WANG et al., 2019a).

Figura 20 – Espectro de Infravermelho das frações obtidas da casca da manga: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC



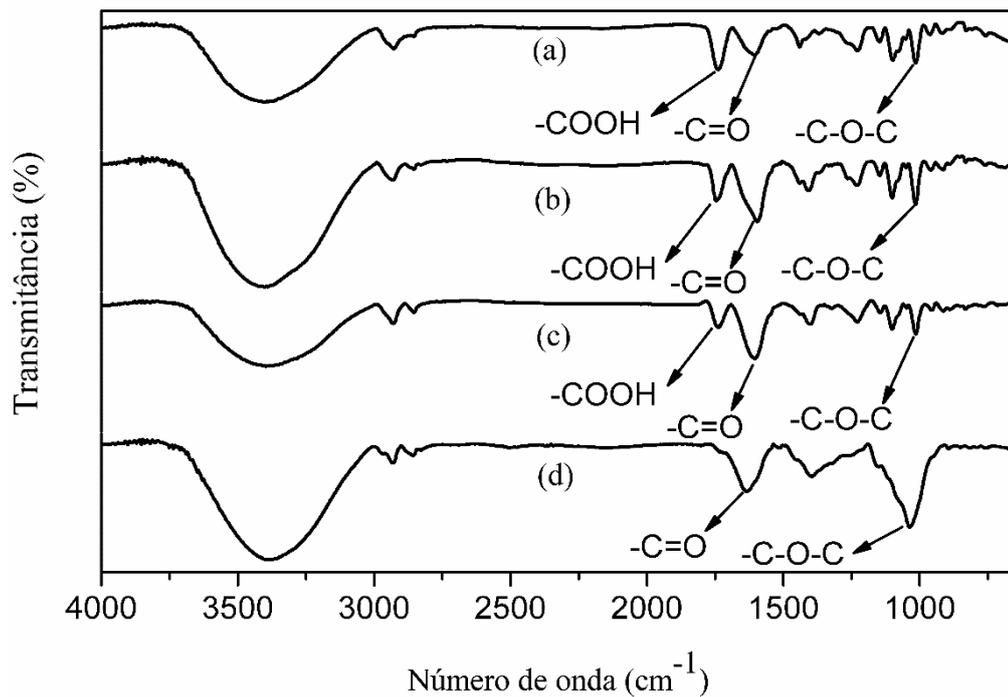
Fonte: elaborado pela autora.

5.3.2 Casca do Maracujá

Os espectros de FTIR das amostras da casca do maracujá são encontrados na Figura 16. Pode-se observar as bandas de absorção em 1738 cm^{-1} de estiramento de $-\text{COOH}$, em 1605 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$, em 1012 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel

glicosídico para as frações de pectina (SILVA et al., 2012). Para a fração HC tem-se bandas de absorção em 1638 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$ e em 1040 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel glicosídico (BHAGIA et al., 2018).

Figura 21 – Espectros de Infravermelho das frações obtidas da casca do maracujá: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC



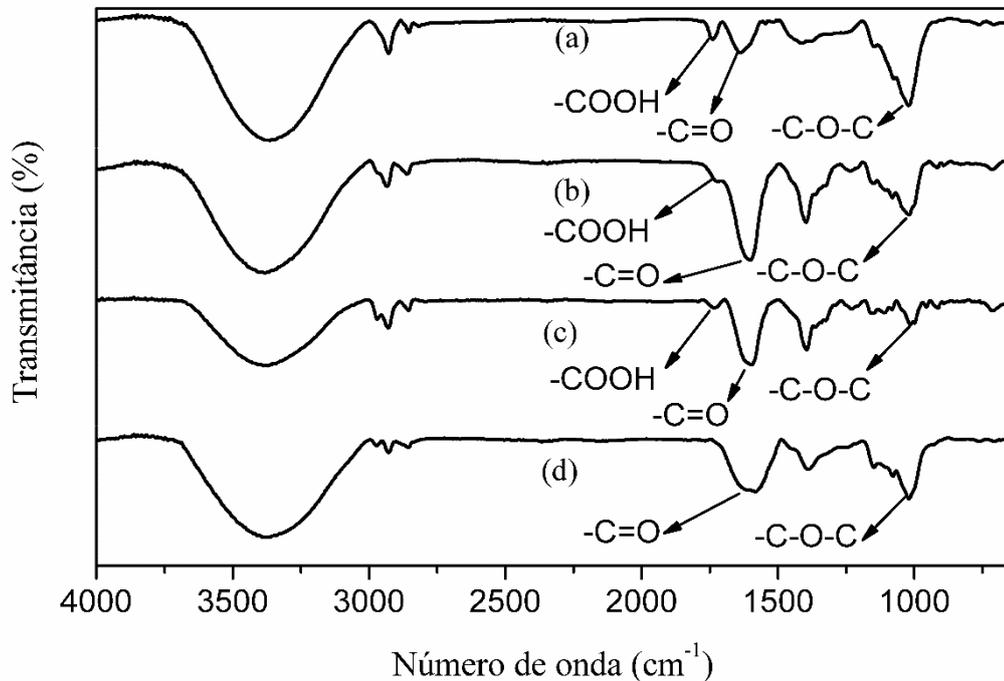
Fonte: elaborado pela autora.

5.3.3 Bagaço do Caju

Os espectros de FTIR das amostras do bagaço de caju são encontrados na Figura 17. Pode-se observar as bandas de absorção em 1742 cm^{-1} de estiramento de $-\text{COOH}$, em 1637 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$, em 1019 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel glicosídico para as frações de pectina (SANTOS et al., 2020). Para a fração HC tem-se bandas de absorção em 1606 cm^{-1} de estiramento de $-\text{C}=\text{O}$ e em 1019 cm^{-1} de vibrações de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ do anel glicosídico (WANG et al., 2019a).

Figura 22 – Espectro de Infravermelho das frações obtidas do bagaço do caju:

a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC

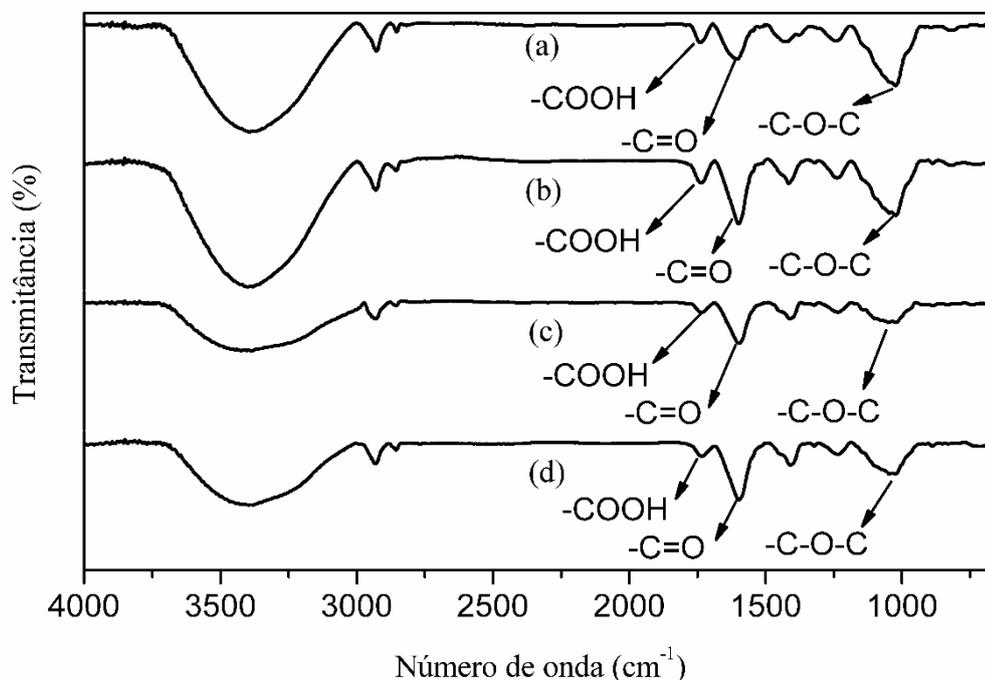


Fonte: elaborado pela autora.

5.3.4 Casca do Coco

Os espectros de FTIR das amostras da casca do coco são encontrados na Figura 18. Pode-se observar as bandas de absorção em 1738 cm⁻¹ de estiramento de -COOH, em 1612 cm⁻¹ de estiramento de -C=O, em 1023 cm⁻¹ de vibrações de -C-O-C do anel glicosídico para as frações de pectina (LU et al., 2019). Para a fração HC, ocorreu o aparecimento de uma banda até então só encontrada nas frações de pectina em 1738 cm⁻¹, além das bandas usuais em 1598 cm⁻¹ de estiramento de -C=O e em 1032 cm⁻¹ de vibrações de -C-O-C do anel glicosídico (CANTERI et al., 2019).

Figura 23 – Espectro de Infravermelho das frações obtidas da casca do coco verde: a) WSP, b) CSP, c) SSP e d) HC



Fonte: elaborado pela autora.

5.4 Análise por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A partir da verificação dos valores de massa molecular de diferentes frações de pectina, é possível investigar a polidispersividade e o grau de heterogeneidade das amostras analisadas, bem como prever a viabilidade para distintas aplicações, já que quanto maior a massa molecular, maior a rigidez do gel formado pela pectina, propícios para aplicações como estabilizadores em alimentos. Por outro lado, caso a massa molecular seja muito baixa, nem mesmo se pode observar a formação desse gel (JIANG et al., 2019; KURITA; FUJIWARA; YAMAZAKI, 2008; OGNJANOV; KUSSOVSKI, 2013; ZANELLA; TARANTO, 2015).

Nesse contexto, polissacarídeo é diretamente afetado pelo tamanho da sua cadeia. Assim, faz-se necessário estudar as distribuições da massa molecular (M_w) e o índice de polidispersividade (M_w/M_n) que é a medida da distribuição relativa da massa molar dos polissacarídeos (BANERJEE et al., 2018; CHEN et al., 2019). Na Tabela 10, tem-se a massa molar das frações de todas as amostras de resíduos, excetuando-se a fração WSP da casca de maracujá que não pode ser analisada. Desse modo, pode-se evidenciar que as massas de cada amostra variaram na faixa de 10^6 até 10^3 e os índices de polidispersividade variam de 1,01 a

10,5, classificando a maioria das frações como polidispersiva (BANERJEE et al., 2018) e esses valores estão coerentes com a literatura (CHEN et al., 2019; QIN et al., 2020).

Tabela 10 – Massas molares e índices de polidispersividades das frações de polissacarídeos

Amostra	M_w (kDa)	M_w/ M_n
Casca da manga	WSP	639,7
	CSP	2908,3
	SSP	2632,4
	HC	63,7
Casca do maracujá	WSP	-
	CSP	863,0
	SSP	395,1
	HC	92,6
Bagaço do caju	WSP	256,4
	CSP	876,6
	SSP	1066,2
	HC	85,5
Casca do coco verde	WSP	45,8
	CSP	47,1
	SSP	52,5
	HC	59,6
Bagaço da cana-de-açúcar	WSP	13,6
	CSP	6,9
	SSP	13,5
	HC	74,5

Fonte: elaborado pela autora.

Analisando a Tabela 10, observa-se que a gama de valores de massa molecular obtida para as frações extraídas de pectina, encontram-se dentro da variação de massa molecular observada em geral para pectinas, que vai de 50.000 a 150.000 kDa (SRIAMORNSAK, 2007). Entretanto, também é possível observar algumas frações acima e abaixo desse intervalo. Isso provavelmente se deve à constituição polimérica natural das matrizes utilizadas, bem como a possibilidade de reticulação entre moléculas de pectina e açúcares neutros polimerizados, durante o processo de extração, formando assim polímeros de mais elevada massa molecular (KURITA; FUJIWARA; YAMAZAKI, 2008; ZANELLA; TARANTO, 2015). As diversas frações obtidas corroboram ainda para enfatizar a versatilidade da metodologia padrão avaliada, possibilitando a obtenção de distintas frações de polissacarídeos para diferentes aplicações.

6 CONCLUSÃO

Foi possível extrair polissacarídeos da parede celular de *Mangifera indica*, *Passiflora eduli*, *Anacardium occidentale*, *Cocos nucifera*. e *Saccharum officinarum*. Os espectro de RMN de ^1H , ^{13}C e HSQC apresentaram similaridade com dados reportados, sugerindo que de fato as amostras obtidas são polissacarídeos de parede celular, tendo sido encontradas pectinas e hemicelulose. Desse modo, pode-se inferir que a metodologia pode ser aplicada a diferente matrizes, pois ela foi capaz de extrair pectina até de materiais lignocelulósicos como da casca do coco verde. O grau de esterificação das frações foi em sua maioria elevado, sendo assim sugestivo que os polissacarídeos possam ser aplicados para formação de géis com aplicação na indústria como espessantes e gelificantes. O resultados dos espectros de FTIR corroboraram com os espectros de RMN. As análises de GPC mostraram que a massa molecular dos polissacarídeos obtidos é elevada coerente com a literatura bem como seus respectivos índices de polidispersividades.

REFERÊNCIAS

- ARORA, A. et al. Process design and techno-economic analysis of an integrated mango processing waste biorefinery. **Industrial Crops and Products**, v. 116, n. October 2017, p. 24–34, 2018.
- BANERJEE, J. et al. A hydrocolloid based biorefinery approach to the valorisation of mango peel waste. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 142–151, 2018.
- BARBIERI, S. F. et al. Pectins from the pulp of gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Structural characterization and rheological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, n. March, p. 250–258, 2019.
- BASANTA, M. F. et al. Chemical and functional properties of cell wall polymers from two cherry varieties at two developmental stages. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 830–841, 2013.
- BHAGIA, S. et al. Hemicellulose characterization of deuterated switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 269, n. July, p. 567–570, 2018.
- BRAINER, M. S. DE C. P. et al. **CAJUCULTURA NORDESTINA EM RECUPERAÇÃO**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.bnb.gov.br/etene>>. Acesso em: 19 nov. 2019.
- BRAINER, M. S. DE C. P. et al. **PRODUÇÃO DE COCO: O NORDESTE É DESTAQUE NACIONAL**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.bnb.gov.br/etene>>. Acesso em: 20 nov. 2019.
- BRÍGIDA, A. I. S. et al. Effect of chemical treatments on properties of green coconut fiber. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 832–838, 2010.
- CANTERI, M. H. G. et al. ATR-FTIR spectroscopy to determine cell wall composition: Application on a large diversity of fruits and vegetables. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n. February, p. 186–196, 2019.
- CHEN, X. et al. Effect of ultrasound on the properties and antioxidant activity of hawthorn pectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 273–281, 2019.
- COELHO, E. M. et al. Passion fruit peel flour – Technological properties and application in food products. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 158–164, 2017.
- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira - Cana-de-áçúcar**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/17727_4e54c5103a0ab4a15529e35307c79b2e>. Acesso em: 21 nov. 2019.
- COSGROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 11, p. 850–861, 2005.
- DA COSTA NOGUEIRA, C. et al. Pressurized pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation with in situ detoxification to increase bioethanol production from green coconut fibers. **Industrial Crops and Products**, v. 130, n. December 2018, p. 259–266, 2019.

- DA S. PEREIRA, A.; FONTES-SANT'ANA, G. C.; AMARAL, P. F. F. Mango agro-industrial wastes for lipase production from *Yarrowia lipolytica* and the potential of the fermented solid as a biocatalyst. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 68–77, 2019.
- DE ABREU, F. P. et al. Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from by-product of juice processing: A focus on carotenoids. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 25–31, 2013.
- DE ARAÚJO PADILHA, C. E. et al. Fractionation of green coconut fiber using sequential hydrothermal/alkaline pretreatments and Amberlite XAD-7HP resin. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 6, p. 103474, 2019.
- DRANCA, F.; OROIAN, M. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. **Food Research International**, v. 113, n. February, p. 327–350, 2018.
- FIORELLI, J.; BUENO, S. B.; CABRAL, M. R. Assessment of multilayer particleboards produced with green coconut and sugarcane bagasse fibers. **Construction and Building Materials**, v. 205, p. 1–9, 2019.
- FONTELES, T. V. et al. Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and in vitro bioaccessibility of bioactive compounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 237–249, 2016.
- FREITAS DE OLIVEIRA, C. et al. Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 110–115, 2016.
- FRY, S. C. Cross-Linking of Matrix Polymers in the Growing Cell. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 37, p. 165–186, 1986.
- GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4775–4800, 2010.
- GRASSINO, A. N. et al. Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. **Food Chemistry**, v. 198, p. 93–100, 2016.
- GUANDALINI, B. B. V.; RODRIGUES, N. P.; MARCZAK, L. D. F. Sequential extraction of phenolics and pectin from mango peel assisted by ultrasound. **Food Research International**, p. 455–461, 2019.
- HOSSEINI, S. S. et al. Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 621–629, 2019.
- ISHII, T. et al. Structure of Plant Cell Walls. **Plant Physiology**, v. 89, n. 2, p. 421–428, 1989.
- JIANG, Y. et al. Effects of pectin polydispersity on zein/pectin composite nanoparticles (ZAPs) as high internal-phase Pickering emulsion stabilizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, n. February, p. 77–86, 2019.
- KANG, J.; GUO, Q.; SHI, Y. C. NMR and methylation analysis of hemicellulose purified from corn bran. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. January, p. 613–621, 2019.
- KAZEMI, M.; KHODAIYAN, F.; HOSSEINI, S. S. Utilization of food processing wastes of

eggplant as a high potential pectin source and characterization of extracted pectin. **Food Chemistry**, v. 294, n. May, p. 339–346, 2019.

KURITA, O.; FUJIWARA, T.; YAMAZAKI, E. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 725–730, 2008.

LI, J. et al. Structural analysis and biological activity of cell wall polysaccharides extracted from *Panax ginseng* marc. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 29–37, 2019.

LIEW, S. Q.; CHIN, N. L.; YUSOF, Y. A. Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 231–236, 2014.
LIU, H. et al. Effects of calcium treatment and low temperature storage on cell wall polysaccharide nanostructures and quality of postharvest apricot (*Prunus armeniaca*). **Food Chemistry**, v. 225, p. 87–97, 2017.

LU, J. et al. Extraction and characterization of pectin from *Premna microphylla* Turcz leaves. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 323–328, 2019.

MARAN, J. P. et al. Ultrasound assisted citric acid mediated pectin extraction from industrial waste of *Musa balbisiana*. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 35, p. 204–209, 2017.

MARIĆ, M. et al. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. **Trends in Food Science and Technology**, v. 76, n. January, p. 28–37, 2018.

MARTINS, M. D. et al. Valorization of passion fruit peel by-product: Xylanase production and its potential as bleaching agent for kraft pulp. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, n. July, p. 172–180, 2018.

MOHAMMAD, S. et al. Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (*Ficus carica* L.) skin : Optimization , characterization and bioactivity. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, n. April, p. 114992, 2019.

MOHAN, K. et al. Trends in the extraction, purification, characterisation and biological activities of polysaccharides from tropical and sub-tropical fruits – A comprehensive review. **Carbohydrate Polymers**, v. 238, n. November 2019, p. 116185, 2020.

MÜLLER-MAATSCH, J. et al. Pectin content and composition from different food waste streams in memory of Anna Surribas, scientist and friend. **Food Chemistry**, v. 201, p. 37–45, 2016.

OGNYANOV, M.; KUSSOVSKI, V. Isolation , characterization and modification of citrus pectins Isolation , characterization and modification of citrus pectins. v. 1, n. October, p. 223–233, 2013.

OLIVEIRA, D. A. et al. Nanoencapsulation of passion fruit by-products extracts for enhanced antimicrobial activity. **Food and Bioproducts Processing**, v. 104, p. 137–146, 2017.

PANCERZ, M. et al. Colligative and hydrodynamic properties of aqueous solutions of pectin from cornelian cherry and commercial apple pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 89, n. November 2018, p. 406–415, 2019.

PENG, P.; SHE, D. Isolation, structural characterization, and potential applications of hemicelluloses from bamboo: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 701–720, 2014.

QIN, Z. et al. Structure, rheological, thermal and antioxidant properties of cell wall polysaccharides from Chinese quince fruits. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 1146–1155, 2020.

ROSENBOHM, C. et al. Chemically methylated and reduced pectins: Preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 7, p. 637–649, 2003.

SABATER, C. et al. Enzymatic extraction of pectin from artichoke (*Cynara scolymus* L .) by-. **Carbohydrate Polymers**, v. 190, n. January, p. 43–49, 2018.

SANTOS, E. E. et al. Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. **Food Hydrocolloids**, v. 107, n. March, 2020.

SCHANES, K.; DOBERNIG, K.; GÖZET, B. Food waste matters - A systematic review of household food waste practices and their policy implications. **Journal of Cleaner Production**, v. 182, p. 978–991, 2018.

SEAPA. **PERFIL DA FRUTICULTURA DE MINAS GERAIS 2019**. Disponível em: <[http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/Perfil_fruticultura_2019\[1\].pdf](http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/Perfil_fruticultura_2019[1].pdf)>. Acesso em: 19 nov. 2019.

SILVA, D. C. et al. Polysaccharide isolated from *Passiflora edulis*: Characterization and antitumor properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 139–145, 2012.

SILVA, J. S. et al. Cashew apple bagasse as new feedstock for the hydrogen production using dark fermentation process. **Journal of Biotechnology**, v. 286, n. August, p. 71–78, 2018.

SINGH, R. S.; KAUR, N.; KENNEDY, J. F. Pullulan production from agro-industrial waste and its applications in food industry: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 217, n. April, p. 46–57, 2019.

SRIAMORNSAK, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. n. 28/06/2007, p. 207–228, 2007.

SUCHETA; MISRA, N. N.; YADAV, S. K. Extraction of pectin from black carrot pomace using intermittent microwave, ultrasound and conventional heating: Kinetics, characterization and process economics. **Food Hydrocolloids**, v. 102, n. December 2019, p. 105592, 2020.

SUN, D. et al. Comparative study of hemicelluloses from Hybrid Pennisetum via a green and clean integrated process. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, n. October 2018, p. 135–142, 2019.

TAMIELLO-ROSA, C. S. et al. Pectins from cashew apple fruit (*Anacardium occidentale*): Extraction and chemical characterization. **Carbohydrate Research**, v. 483, n. April, p. 107752, 2019.

VATS, N.; KHAN, A. A.; AHMAD, K. Observation of biogas production by sugarcane bagasse and food waste in different composition combinations. **Energy**, v. 185, p. 1100–1105, 2019.

WANG, C. et al. Structure and distribution changes of Eucalyptus hemicelluloses during hydrothermal and alkaline pretreatments. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 514–521, 2019a.

WANG, K. LI et al. Characterization of hemicelluloses in *Phyllostachys edulis* (moso bamboo) culm during xylogenesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 221, n. May, p. 127–136, 2019b.

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 and Technology**, v. 17, n. 3, p. 97–104, 2006.

WINNING, H. et al. Quantification of the degree of blockiness in pectins using ¹H NMR spectroscopy and chemometrics. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 2, p. 256–266, 2007.

YANG, X. et al. Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier. **Food Hydrocolloids**, v. 85, n. June, p. 30–38, 2018.

ZANELLA, K.; TARANTO, O. P. Influence of the drying operating conditions on the chemical characteristics of the citric acid extracted pectins from “pera” sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) albedo and flavedo. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 111–118, 2015.

ZHAO, X. et al. Characterization of hemicelluloses from *Neolamarckia cadamba* (Rubiaceae) during xylogenesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 333–339, 2017.